



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

JOANA FILIPA OLIVEIRA BAPTISTA

IL28B E RESPOSTA À TERAPÊUTICA NA HEPATITE

C GENÓTIPO 3

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE MEDICINA INTERNA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSOR DOUTOR ARMANDO DE CARVALHO**

MARÇO DE 2012

IL28B E RESPOSTA À TERAPÊUTICA NA HEPATITE C GENÓTIPO 3

ARTIGO DE REVISÃO

JOANA FILIPA OLIVEIRA BAPTISTA¹

¹ALUNA DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Ao meu Orientador, Professor Doutor Armando de Carvalho pelo seu contributo na realização deste trabalho, pela total disponibilidade e pelos conselhos e conhecimentos transmitidos.

Ao Doutor Martinho e a todo Centro de Histocompatibilidade da Região Centro pela simpatia com que me receberam e pelos dados disponibilizados.

Aos meu pais pelo apoio incondicional e por todos os sacrificios que realizaram ao longo destes anos.

À minha irmã pela sua presença constante e pela ajuda na concretização deste trabalho.

Ao Tiago pela revisão e por todo o apoio e calma transmitidos ao longo de todo o percurso.

Índice

Abstract.....	5
Keywords	5
Resumo	6
Palavras chave.....	6
Abreviaturas	7
Introdução	8
Mecanismo de acção dos IFN- λ	9
IL28B e controlo do VHC com terapêutica antiviral	11
Ilustração de casos de hepatite C crónica genótipo 3	15
IL28B e Coinfecção com VIH e outras doenças infecciosas	17
IL28 B e diferenças Raciais	18
IL28B e resolução espontânea da infecção.....	20
IL28B e cinética viral	22
IL28B e expressão intra-hepática de genes estimulados pelo IFN.....	24
Implicações clínicas.....	25
Conclusões	29
Referências Bibliográficas	30

Abstract

Hepatitis C virus infection progresses to a chronic disease in most infected patients. About 20% of these patients suffer from liver cirrhosis and some may develop hepatocellular carcinoma. Thus, the treatment is indicated in the great majority of patients, although the responses may vary, depending on the HCV genotype, among other factors. In the two most common genotypes in Portugal there is sustained viral response in about 40% in genotype 1 and 70% in genotype 3. Other viral and host factors are also related to the evolution to chronicity and response to therapy. Among these the immune response assumes great importance. A strong relationship between the IL28B genotypes and response to treatment with peginterferon α and ribavirin was recently found, especially in patients infected with genotype 1. Also, these genotypes were associated with severity of liver disease and spontaneous resolution of the infection. The interaction between the genotype of IL28B and resolution of infection with hepatitis C may bring impact on therapeutic decisions in the near future.

Keywords

IL28B; Interferon Lambda; Hepatitis C Virus; HCV treatment; Genome Wide Association Studies (GWAS);

Resumo

A infecção pelo vírus da hepatite C evolui para a cronicidade na maioria dos doentes infectados. Nestes, cerca de 20% sofrem de cirrose hepática, podendo ainda alguns deles desenvolver carcinoma hepatocelular. Desta forma o tratamento está indicado na grande maioria dos doentes, embora a resposta varie consoante o genótipo infectante. Nos dois genótipos mais frequentes em Portugal, há resposta viral mantida em cerca de 40% no genótipo 1 e em pouco mais de 70% no genótipo 3. Outros factores, virais e do hospedeiro, estão também relacionados com a evolução para a cronicidade e com a resposta à terapêutica. Destes, assume grande relevo a resposta imune. Recentemente, encontrou-se uma forte relação entre os genótipos da IL28B e a resposta ao tratamento com peginterferão α e ribavirina, sobretudo nos doentes infectados pelo genótipo 1. Também se encontrou associação destes genótipos com a gravidade da doença hepática e com a resolução espontânea da infecção. A interacção entre o genótipo da IL28B e a resolução da infecção pelo vírus da hepatite C poderá trazer, num futuro próximo, impacto na decisão terapêutica.

Palavras chave

IL28B; Interferão lambda; Vírus da hepatite C; Tratamento da infecção por VHC; Estudos de associação ampla do genoma (GWAS);

Abreviaturas

IL28B	Interleucina 28B
VHC	Vírus da Hepatite C
PEG-IFN α	interferão- α peguilado
RBV	Ribavirina
RVM	Resposta viral mantida
GWAS	Genome wide association studies
SNPs	Polimorfismos nucleares simples
RVR	Resposta virológica rápida
RVP	Resposta virológica precoce
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
VHB	Vírus da Hepatite B
ISG	Genes estimulados pelo interferão

Introdução

A infecção pelo Vírus da Hepatite C (VHC) é um problema de saúde pública, afectando cerca de 160 milhões de pessoas a nível mundial (Kelly, Klenerman et al. 2011; Lavanchy 2011), sendo uma das principais causas de doença hepática crónica (Lavanchy 2009; Kelly, Klenerman et al. 2011). As consequências da infecção pelo VHC podem ir desde alterações mínimas até ao aparecimento de cirrose hepática e carcinoma hepatocelular.

A terapêutica actualmente instituída nestes doentes é a associação de interferão- α peguilado (PEG-IFN) e ribavirina (RBV) com duração entre 24 e 48 semanas. O objectivo terapêutico é obter erradicação viral (resposta viral mantida - RVM), definida por níveis indetectáveis de ARN-VHC no soro (por PCR em tempo real) às 24 semanas, após o fim do tratamento.

A resposta à terapêutica é influenciada por vários factores virais, tais como genótipo e carga viral, e do hospedeiro, como idade, sexo, raça, peso, estágio de fibrose hepática e adesão à terapêutica (Afdhal, McHutchison et al. 2011). O genótipo viral é usado como factor preditivo de resposta na decisão terapêutica. O genótipo 1 está associado a uma taxa baixa de RVM (40%) com 48 semanas de tratamento; já o genótipo 2 e 3 estão associados a uma taxa de RVM bastante mais elevada (70%-80%), com apenas 24 semanas de terapêutica (Hadziyannis, Sette et al. 2004).

Mais recentemente, com base em estudos de associação ampla do genoma (GWAS - *genome wide association studies*), foram identificados diversos polimorfismos nucleares simples (SNPs), na vizinhança do gene do IFN- λ 3 (IL28B), que foram implicados na resposta à terapêutica com PEG-IFN/RBV em pacientes infectados com o VHC, genótipo 1 (Ge, Fellay et al. 2009; Suppiah, Moldovan et al. 2009; Tanaka, Nishida et al. 2009). Os mesmos polimorfismos foram também associados à resolução espontânea da infecção pelo VHC (Thomas, Thio et al. 2009; Rauch, Kutalik et al. 2010).

Mecanismo de acção dos IFN- λ

Os IFNs humanos são classificados em três tipos principais, consoante o tipo de receptores a que se ligam. O IFN tipo I inclui o IFN- α e o IFN- β ; o IFN tipo II o IFN- γ ; e o IFN tipo III consiste nos IFN- λ 1, IFN- λ 2 e no IFN- λ 3, sendo estes últimos também conhecidos como IL29, IL28A e IL28B, respectivamente (Kelly, Klenerman et al. 2011).

O IFN- λ humano encontra-se localizado no cromossoma 19 (Fox, Sheppard et al. 2009), sendo uma potente citocina antiviral endógena.

Funcionalmente similar ao IFN- α no que diz respeito às propriedades antivirais e imunomoduladoras, apresenta, no entanto, diferenças importantes e devido à expressão mais restricta dos seus receptores, é mais específico nos alvos tecidulares em que actua. (Afdhal, McHutchison et al. 2011).

O IFN- λ interage com o receptor transmembranar IFN λ R1/IL-10R2 e activa as vias de sinalização intracelulares JAK-STAT e MAPK, induzindo respostas antivirais potentes (Li, Liu et al. 2009). Aumenta a expressão dos genes estimulados pelo IFN (ISGs), que são necessários para controlar a infecção viral (Balagopal, Thomas et al. 2010). O receptor do IFN- α/β é, pelo contrário, o IFN α R1/IFN α R2 mas as vias de sinalização intracelulares são as mesmas que o IFN- λ .

Este facto levou a ponderar que a terapêutica com IFN- λ , comparativamente com o IFN- α , poderia estar associada a menores efeitos adversos e a uma actividade antiviral semelhante. Com base nesta hipótese foi realizado um ensaio clínico com PEG-IFN- λ 1 (IL29) em pacientes com hepatite C crónica, infectados pelo genótipo 1. O tratamento semanal com PEG-IFN- λ , com ou sem ribavirina, foi bem tolerado, apresentando reacções adversas e alterações hematológicas mínimas e foi associado a actividade antiviral nos pacientes com hepatite C crónica (Muir, Shiffman et al. 2010).

Acredita-se que a principal fonte de IFN- λ são as células dendríticas plasmocíticas, embora as células dendríticas convencionais e macrófagos possam também ter algum papel (Ank, West et al. 2006). Em relação às células hepáticas que possam estar envolvidas na produção de IFN- λ ainda persistem dúvidas. No entanto, pensa-se que as células de Kupffer, células dendríticas e as células endoteliais dos sinusóides hepáticos tenham um papel na sua produção. Além disso, os hepatócitos apresentam actividade imune inata em resposta a infecções virais e, conseqüentemente, poderão libertar IFN- λ s nestas situações (Robek, Boyd et al. 2005; Marcello, Grakoui et al. 2006).

IL28B e controlo do VHC com terapêutica antiviral

Desde Agosto de 2009 vários investigadores usando o GWAS identificaram SNPs associados com a resposta à terapêutica.

O primeiro GWAS foi realizado em pacientes infectados com VHC genótipo 1 a fazer tratamento com PEG-IFN α -2b ou PEG-IFN α -2a (Ge, Fellay et al. 2009). Neste estudo foi identificado o SNP rs12979860 (localizado aproximadamente 3Kb acima da IL28). Este polimorfismo esteve fortemente associado à RVM. Quando comparado com outros factores que também influenciam o resultado da terapêutica, este SNP foi significativamente mais relevante (em Americanos de descendência Europeia OR=7.3 vs OR=4.2 para carga viral baixa vs OR=3.0 para indivíduos com fibrose hepática moderada). O alelo C no rs12979860 foi associado positivamente à RVM. Deste modo, o genótipo C/C foi associado a taxas mais elevadas de RVM do que o genótipo desfavorável T/T, em todos os grupos étnicos estudados.

Outro grupo de investigadores conduziu um GWAS em pacientes Australianos de descendência Europeia (norte da Europa) (Suppiah, Moldovan et al. 2009). A coorte era constituída por pacientes infectados com VHC genótipo 1 que receberam PEG-IFN e RBV. Identificaram um SNP, rs8099917 (localizado, aproximadamente, 8Kb na vizinhança da IL28B), com forte associação à RVM ($P=9.25 \times 10^{-9}$). A resposta virológica sustentada foi alcançada em 55.9% de 442 pacientes com o genótipo T/T, em 36.4% dos 357 com genótipo G/T e em 30.6% dos 49 com genótipo G/G. Em análise multivariada, o alelo desfavorável (G) mostrou ser um factor independente, que prediz uma má resposta ao tratamento ($P<0,0001$). Os autores compararam, ainda, os níveis de RNA mensageiro do IFN- λ (IFN- λ 2 e IFN- λ 3) nas amostras sanguíneas de pacientes com o alelo T com pacientes com alelo G. Foram encontrados níveis mais elevados de IFN- λ em pacientes com o genótipo T/T, comparando com os que apresentavam genótipo T/G ou G/G, associando, deste modo, níveis mais elevados de IFN- λ endógeno com a eliminação do VHC.

Investigadores Japoneses confirmaram que o SNPs na vizinhança do gene IL28B, rs12980275 e rs8099917, apresentavam uma forte associação a não resposta virológica (rs12980275: $P=1.93 \times 10^{-13}$ e rs8099917: $P=3.11 \times 10^{-15}$) (Tanaka, Nishida et al. 2009). O alelo menor do SNP rs8099917 foi o factor mais importante para prever a não resposta à terapêutica (OR=37.68). De igual modo aos autores Australianos, também relataram níveis mais elevados de IFN- λ em pacientes com o genótipo T/T no SNP rs8099917 relativamente aos que apresentavam genótipo T/G ou G/G.

Um outro GWAS a confirmar a importância dos SNPs, na vizinhança do gene IL28B, na resposta à terapêutica foi realizado na Suíça (Rauch, Kutalik et al. 2010). Tal como nos estudos prévios, o SNP rs8099917 foi associado a má resposta à terapêutica. Os pacientes com o alelo menor (G) apresentavam 5 vezes menos probabilidade de responder à terapia ($P = 3.11 \times 10^{-8}$). O alelo menor G foi associado tanto à persistência da infecção como à não resposta à terapêutica (Quadro I).

Quadro I - Comparação entre a IL28B e a resposta ao tratamento com IFN- α e RBV

SNP estudado	RVM global (%)	RVM para homocigóticos com alelo favorável (%)	RVM para heterocigóticos ou homocigóticos para o alelo desfavorável (%)	% de RVM explicada pelo genótipo favorável	OR para o resultado do tratamento (95% CI)	Genótipo viral
Rs 129798960 Ge et al(USA) ^{a,1}	56	82	40	56	7.3 (95% CI 5.10-10.4) [‡]	1
Rs8099917 Suppiah et al (Australia) ²	46	56	36	63	1.64 (95% CI 1.15-2.32) [†]	1
Tanaka et al (Japão) ³	NA	NA	NA	NA	37.68 (95% CI 16.7-83.9) [†]	1
Rauch et al (Suíça) ⁴	64	74	50	68	5.19 (95% CI 2.90-9.30) [†]	1/2/3/4

1(Ge, Fellay et al. 2009); 2(Suppiah, Moldovan et al. 2009); 3(Tanaka, Nishida et al. 2009); 4(Rauch, Kutalik et al. 2010).

^a Apenas representado as taxas de RVM para a população caucasiana que entrou no estudo.

[‡] homocigóticos para o alelo favorável vs alelo desfavorável (homocigóticos e heterocigóticos) na população caucasiana que atingiram RVM.

[†] sem RVM vs RVM em pacientes com alelo desfavorável (heterocigóticos e homocigóticos).

NA, não avaliado

Adaptado de (Balagopal, Thomas et al. 2010) (Kelly, Klenerman et al. 2011).

Os estudos iniciais realizados sobre a IL28B e o VHC, foram centrados em pacientes com o genótipo 1 do vírus. Mais recentemente, foram realizados estudos sobre outros genótipos, nomeadamente o 2 e 3. No entanto, os trabalhos têm produzido resultados conflituosos e incluído um número reduzido de pacientes.

O estudo de maior dimensão incluiu 268 pacientes infectados com os genótipos 2 ou 3. Os pacientes foram aleatoriamente designados em dois grupos, um em que recebeu terapêutica de duração variável (12 ou 24 semanas, consoante atingissem resposta virológica rápida ou não, respectivamente) ou padrão (24 semanas) (Mangia, Thompson et al. 2010). As taxas de RVM foram mais elevadas nos doentes que receberam tratamento com duração padrão e naqueles em que a duração era variável e fizeram 12 semanas de tratamento, independentemente do genótipo da IL28B que apresentavam. Em contraste, a IL28B apresentou uma forte associação à RVM nos pacientes que não atingiram resposta virológica rápida (virémia indetectável à 4^a semana de tratamento) e receberam terapêutica de duração variável (24 semanas) ($P = 0.002$). Neste estudo, a IL28B foi apenas associada à RVM em pacientes com genótipo viral 2/3 que não atingiram resposta virológica rápida. Adicionalmente, verificou-se que a taxa de pacientes com o genótipo C/T que atingiram RVM era intermédio entre os pacientes com o genótipo C/C e T/T, sugerindo que a presença de só um alelo C confere benefício clínico relevante.

Outros estudos realizados sobre estes genótipos virais produziram resultados mistos. Um deles verificou que o polimorfismo rs12979860 prediz RVM independentemente do genótipo viral e de outras co-variáveis ($P = 9.0 \times 10^{-6}$) (McCarthy, Li et al. 2010). Um grupo de investigadores espanhóis mostrou que o genótipo favorável C/C do SNP rs12979860 era mais comum em pacientes infectados com o genótipo viral não 1 do que no genótipo 1 (66.7% vs 39.1%) (Montes-Cano, Garcia-Lozano et al. 2010). Deste modo, a taxa mais baixa de RVM foi encontrada em pacientes com o genótipo não C/C infectados com o genótipo viral 1

(29.6%), e a taxa mais elevada de RVM foi em pacientes com o genótipo C/C infectados com o genótipo viral não 1 (87.2%). Este estudo sugere a influência de factores tanto virais como do hospedeiro nas taxas de sucesso terapêutico. Pelo contrário, dois outros estudos não mostraram nenhuma associação com significado estatístico entre variações genéticas na IL28B e resposta à terapêutica, entre indivíduos com o genótipo 2 ou 3 (Rallon, Naggie et al. 2010; Rauch, Kutalik et al. 2010).

Devido a estes resultados dispare, o efeito da IL28B nos genótipos virais 2 ou 3 necessita de mais investigação para tentar esclarecer a sua relação.

Ilustração de casos de hepatite C crónica genótipo 3

Foi obtido uma amostra de 9 pacientes infectados com hepatite C crónica, com genótipo viral 3a, seguidos no Serviço de Infeciologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, tendo os dados sido disponibilizados pelo Centro de Histocompatibilidade da Região Centro.

As amostras de sangue periférico recolhido, foram avaliadas por métodos de sequenciação por PCR para averiguar qual o genótipo que apresentavam nos SNPs rs12979860 e rs8099917. Os pacientes foram relatados apresentando C/C, C/T e T/T para o rs12979860 T/T, T/G e G/G para o rs8099917, Quadro II.

Quadro II. Genótipos da IL28B e resposta terapêutica

SNP Rs 12979860	SNP Rs 8099917	Genótipo	RVR	RVM	VIH
C/T	T/G	3a	RNA+	+	
C/C	T/T	3a	+	+	
C/C	T/T	3a	+	+	
C/C	T/T	3a	+	+	VIH1
T/C	T/G	3a	RNA+	RNA+	VIH1
T/C	T/T	3a	+	+	
C/C	T/T	3a	+	+	VIH1
C/C	T/T	3a	+	+	
C/T	G/T	3a	RNA+	RNA+	

RVR , resposta virológica rápida

RVM, resposta viral mantida

VIH, vírus da imunodeficiência humana

RNA+, carga viral positiva

+, pacientes que atingiram RVR e/ou RVM

As frequências dos genótipos da IL28B foram de 5 (C/C) e 4 (C/T) para o rs12979860 e de 6 (T/T) e 3 (T/G) para o rs8099917. Sendo que a resposta virológica rápida verificou-se em 6 (67%) e a resposta viral mantida em 7 (78%) dos pacientes. De salientar que 3 dos pacientes apresentavam co-infecção com VIH. A RVM foi atingida em todos os pacientes (100%) que apresentavam os genótipos C/C do rs12979860 e T/T do rs8099917, genótipos

associados com depuração do vírus, e em 22% dos pacientes com genótipo C/T do rs12979860 e 11% dos pacientes com genótipo T/G do rs8099917, figura 1.

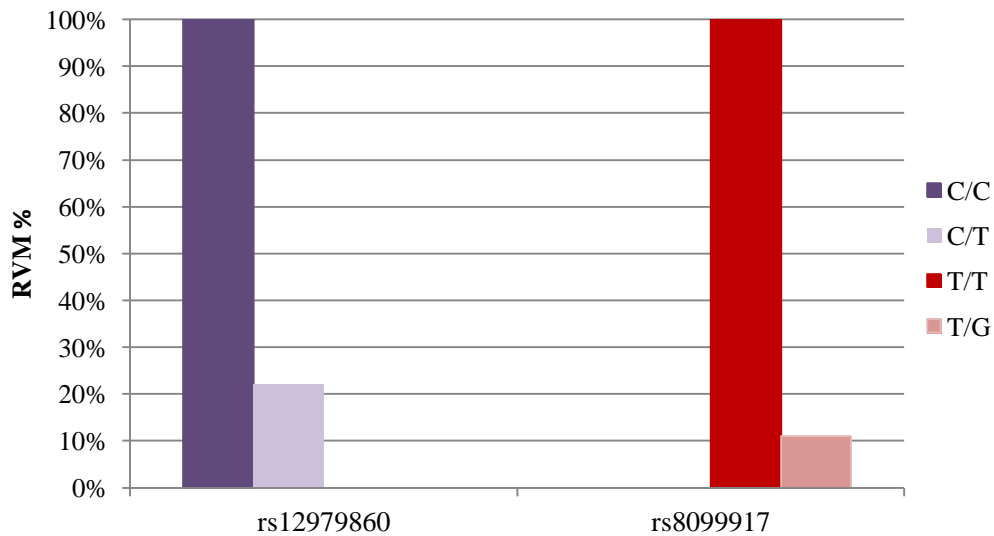


Figura 1. Taxas de RVM e genótipo da IL28B

Devido a amostra ser muito reduzida (n=9), não se pode tirar conclusões válidas sobre a associação dos genótipos da IL28B e resposta à terapêutica na hepatite C crónica genótipo 3. No entanto, pode-se verificar que os genótipos considerados associados à depuração do vírus (C/C-rs12979860 e T/T-rs8099917) foram os que apresentaram maiores taxas de RVM.

IL28B e Coinfecção com VIH e outras doenças infecciosas

Cerca de 4 a 5 dos 160 milhões de pessoas infectadas a nível mundial com o VHC, apresentam co-infecção com o vírus da imunodeficiência humana (VIH) (Operskalski and Kovacs 2011). Hoje em dia está bem estabelecido que a co-infecção com VIH traz um impacto negativo na evolução da infecção pelo VHC, incluindo uma taxa mais elevada de persistência viral, elevação da carga viral e progressão mais acelerada para fibrose, doença hepática terminal e morte. Apesar das alterações imunológicas que a co-infecção com VIH traz nos pacientes com VHC, esta não afecta a associação encontrada entre os SNPs na vizinhança da IL28B e a resolução da infecção pelo VHC.

Um grupo de investigadores demonstrou que a presença de co-infecção pelo VIH não alterava o efeito do SNP rs12979860 na resposta à terapêutica na hepatite C crónica (Thomas, Thio et al. 2009). De igual modo, outro estudo, mostrou que o SNP rs8099917 se mantinha associado à resolução da infecção pelo VHC, sem terem sido encontradas diferenças significativas entre pacientes com ou sem co-infecção pelo VIH (Rauch, Kutalik et al. 2010). *Rallon et al.* tirou as mesmas conclusões, referindo que o genótipo C/C no locus rs12979860 estava associado a RVM em pacientes co-infectados pelo VIH (Rallon, Naggie et al. 2010).

Relativamente a outras infecções virais, nomeadamente co-infecção pelo vírus da Hepatite B (VHB) e infecção isolada pelo VIH-1 não foi encontrada nenhuma associação entre a IL28B e a depuração dos vírus ou a progressão da doença (Fellay, Shianna et al. 2007; Kamatani, Wattanapokayakit et al. 2009).

IL28 B e diferenças Raciais

A frequência de doentes infectados que obtêm resolução da infecção pelo VHC varia entre as diferentes etnias (Thio, Thomas et al. 2000). Alguns estudos constataram uma variação na frequência dos alelos do SNP rs12979860 entre as diferentes etnias, tendo sido colocada a hipótese que esta variação poderia explicar as diferenças encontradas. *Thomas et al.* mostrou que a população Asiática do leste apresentava a maior frequência de alelos associados à resolução da infecção (C), a população da África Subsaariana tinha a menor frequência e a população Europeia uma frequência intermédia (figura 2) (Thomas, Thio et al. 2009). *Ge et al.* também encontraram a menor frequência do alelo associado à resolução da infecção entre pacientes de etnia Africana (frequência alélica ~0.42), a maior frequência entre pacientes da Ásia do leste (~0.95) e frequência intermédia entre pacientes Europeus (~0.73) e Hispânicos (~0.7) (Ge, Fellay et al. 2009).



Figura 2. Frequência alélica do SNP rs12979860 entre diferentes grupos étnicos. O mapa mostra a proporção da prevalência do alelo C (associado com depuração do VHC) e do alelo T (associado com persistência). Indivíduos do Este e Sudeste Asiático apresentam a frequência menor do alelo associado à resistência da infecção, na Europa apresentam frequência intermédia e a população da África Subsaariana apresentam a frequência mais elevada. Adaptado de (Thomas, Thio et al. 2009)

No entanto, este SNP (rs12979860) explica apenas cerca de metade da diferença nas taxas de resposta entre pacientes Africo-Americanos e de descendência Europeia (Ge, Fellay et al. 2009). Este facto aponta para outros factores genéticos, além da IL28B, associados à resolução da infecção pelo VHC.

IL28B e resolução espontânea da infecção

Na primeira exposição ao VHC apenas um terço dos indivíduos resolve espontaneamente a infecção, sendo que a maioria desenvolve infecção crónica (Barrera, Bruguera et al. 1995).

O primeiro grupo de investigadores a identificar o SNP rs12979860, observou que a frequência do alelo C era maior entre indivíduos em que a presença ou não da infecção era desconhecida (73%), do que entre os pacientes com infecção crónica que receberam tratamento (63%). Este facto sugere que este SNP teria uma maior frequência entre indivíduos com resolução espontânea da infecção (Ge, Fellay et al. 2009)

Para investigar o papel do SNP (rs12979860) na resolução natural da infecção foram comparados dois grupos, o primeiro que englobava indivíduos que obtiveram resolução espontânea (N=388) e o segundo incluía aqueles que tinham infecção persistente (N=620) (Thomas, Thio et al. 2009). O estudo demonstrou que o genótipo C/C, na rs12979860, estava fortemente associado à resolução da infecção ($P < 10^{-12}$). Estes indivíduos apresentavam três vezes mais probabilidade de cura espontânea do que aqueles com outra variante no genótipo (T/T ou C/T).

Um outro grupo de investigadores identificou o SNP (rs8099917) como sendo o que apresenta a associação mais forte com a resolução espontânea da infecção pelo VHC ($P = 6.07 \times 10^{-9}$). Este SNP é o determinante genético mais importante no desenlace da infecção aguda descoberto até à data (Rauch, Kutalik et al. 2010).

No entanto, estes estudos apresentaram limitações, entre as quais a população seleccionada ser muito heterogénea, por ter sido extraída de várias coortes independentes. Deste modo, as interacções entre os factores virais e do hospedeiro não puderam ser controladas separadamente (Pearlman 2011). Um grupo de autores conseguiu encontrar a coorte ideal de 2800 mulheres que receberam entre agosto de 1978 e março de 1979

imunoglobulina anti-D contaminada com VHC, genótipo 1b, de um único dador (Wiese, Berr et al. 2000). Neste estudo foi analisado o SNP rs 12979860 em 190 mulheres da coorte inicial (Tillmann, Thompson et al. 2010). Verificando-se que a resolução espontânea foi mais comum em pacientes com o genótipo C/C (64%) do que naqueles que tinham os genótipos C/T (24%) e T/T (6%).

Estes autores também correlacionaram o SNP com as manifestações clínicas e verificaram que a presença de icterícia durante a infecção aguda era mais comum em pacientes com o genótipo C/C (32.7%) do que em pacientes sem este genótipo (C/T ou T/T, 16.1%). No entanto, a presença de icterícia em pacientes com o genótipo C/C não foi associada a uma maior taxa de eliminação da infecção (56.3%), em comparação com os doentes que não apresentaram icterícia (60.6%). Pelo contrário, em pacientes sem este genótipo, a taxa de eliminação foi maior nos que apresentavam icterícia durante a infecção aguda (42.9% vs 13.7%).

Estes achados mostram o envolvimento dos SNPs da IL28B na resolução espontânea da infecção pelo VHC.

IL28B e cinética viral

As primeiras 24 a 48 horas após o início da terapêutica com IFN- α são caracterizadas por uma rápida queda, dose-dependente, da carga viral, conhecida como a primeira fase de declínio, e que representa inibição directa da replicação viral. Os pacientes que respondem à terapêutica entram numa segunda fase de declínio progressivo lento, que representa a eliminação de células infectadas. Os pacientes que não respondem à terapêutica apresentam uma fase de platêau ou de recaída na carga viral durante esta segunda fase (Herrmann, Neumann et al. 2000).

De forma a esclarecer melhor a relevância clínica dos polimorfismos da IL28B, alguns autores estudaram a relação entre os SNPs da IL28B e a cinética viral durante a terapêutica. A resposta virológica precoce (RVP) é definida com uma descida de pelo menos 2-log do ANR-VHC, relativamente ao seu valor de base, às 12 semanas de tratamento. Apresenta um excelente valor preditivo negativo, sendo que se os pacientes não atingirem este patamar é praticamente certo que serão não-respondedores (Davis, Wong et al. 2003). Por outro lado, a resposta virológica rápida (RVR), definida como virémia indetectável à 4^a semana de tratamento, tem um valor preditivo positivo para sucesso terapêutico (Poordad, Reddy et al. 2008).

Um grupo de investigadores documentou que apesar do alelo C do rs12979860 estar associado a resposta virológica mantida, também estava paradoxalmente associado a uma carga viral mais elevada, comparativamente ao alelo T (Ge, Fellay et al. 2009). Níveis mais elevados de ARN VHC também foram observados em pacientes com o alelo C que não se encontravam a realizar terapêutica antiviral (McCarthy, Li et al. 2010). Este facto sugere que estes níveis mais elevados de ARN viral facilitam a detecção e controlo do vírus pela imunidade inata.

O genótipo C/C, no rs12979860, foi associado a uma maior probabilidade de os pacientes atingirem resposta virológica rápida ($P < 0.0001$), resposta virológica precoce completa ($P < 0.0001$) e resposta virológica mantida ($P < 0.0001$), comparando com os genótipos C/T e T/T (Thompson, Muir et al. 2010).

IL28B e expressão intra-hepática de genes estimulados pelo IFN

Um grupo de investigadores Japoneses procuraram determinar se os SNPs da IL28B estavam correlacionados com a expressão intra-hepática de genes estimulados pelo IFN (ISGs), um importante factor que prediz a resposta ao PEG-IFN α e Ribavirina (Honda, Sakai et al. 2010). Já tinha sido sugerido anteriormente que um aumento da expressão dos níveis de ISGs antes do início do tratamento poderiam estar relacionados a uma menor erradicação do vírus durante o tratamento (Chen, Borozan et al. 2005; Sarasin-Filipowicz, Oakeley et al. 2008). Uma indução máxima da expressão de ISGs no pré-tratamento levaria a que não ocorresse uma indução suplementar da expressão aquando da administração de IFN exógeno, levando a falência terapêutica nestes pacientes. No estudo actual os investigadores confirmaram que pacientes com o genótipo T/T do rs8099917 (associado com RVM) apresentavam níveis de ISGs inferiores, no pré-tratamento, relativamente a pacientes com o genótipo T/G ou G/G, em que o aumento da expressão intra-hepática de ISGs pré-tratamento estava associado a não-resposta. Os autores concluíram que a resposta ao tratamento estava relacionada com expressão diferencial de ISGs hepáticos no pré-tratamento e, que, esta expressão poderia ser causado pela influência do polimorfismo da IL28B ($P < 0.001$). Estes dados foram também verificados na população Norte-Americana (Urban, Thompson et al. 2010).

Implicações clínicas

A IL28B mostrou ser um factor importante na probabilidade de um paciente com hepatite C crónica atingir RVM com o tratamento. A genotipagem da IL28B pode ser feita a partir de uma amostra de sangue ou a partir de um esfregaço bucal, sendo que para a última opção é necessário um teste-kit que já se encontra disponível, desde julho de 2010. O teste faz a genotipagem do SNP rs12979860.

O teste-kit da mutação minor do rs8099917 ainda não se encontra comercialmente disponível. No entanto, um estudo recente mostrou que o valor preditivo positivo do rs12979860 C/C para RVM era mais alto que do rs8099917 T/T (80.5% vs 71.6%) (Stattermayer, Stauber et al. 2011).

A utilidade clínica deste teste está relacionada com a previsão da resposta virológica à terapêutica com PEG-IFN α + ribavirina. Em teoria o teste ajudaria tantos os clínicos como os pacientes a saber a probabilidade de sucesso terapêutico ou de evolução crónica da infecção. No entanto, como o valor preditivo positivo do SNP não é de 100% não pode ser usado como o único factor predictor de resposta à terapêutica. Desta forma a decisão terapêutica na infecção pelo VHC não pode ser baseada somente no genótipo da IL28B.

Nos pacientes com infecção aguda pelo VHC o teste do polimorfismo da IL28B poderá ser importante no seguimento e decisão terapêutica (Pearlman 2011). Se o genótipo da IL28B for favorável, o paciente terá grande probabilidade de resolver espontaneamente a infecção e necessitar só de observação. Por outro lado, se o genótipo for desfavorável, a terapêutica poderá ser iniciada mais precocemente, principalmente nos doentes assintomáticos. Os pacientes sintomáticos com genótipo desfavorável poderiam manter observação para possível resolução espontânea da infecção, porque estes pacientes conseguem, em cerca de 50% dos casos, eliminar o vírus sem recurso à terapêutica (Tillmann, Thompson et al. 2010). No entanto, se após 12 a 20 semanas de observação não ocorrer

resolução da infecção deverá ser iniciada terapêutica independentemente do genótipo da IL28B que apresentam, uma vez que indivíduos que adquiriram recentemente o vírus geralmente resolvem espontaneamente a infecção até às 20 semanas (Gerlach, Diepolder et al. 2003; Santantonio, Sinisi et al. 2003). Um possível algoritmo para esta situação encontra-se na figura 3.

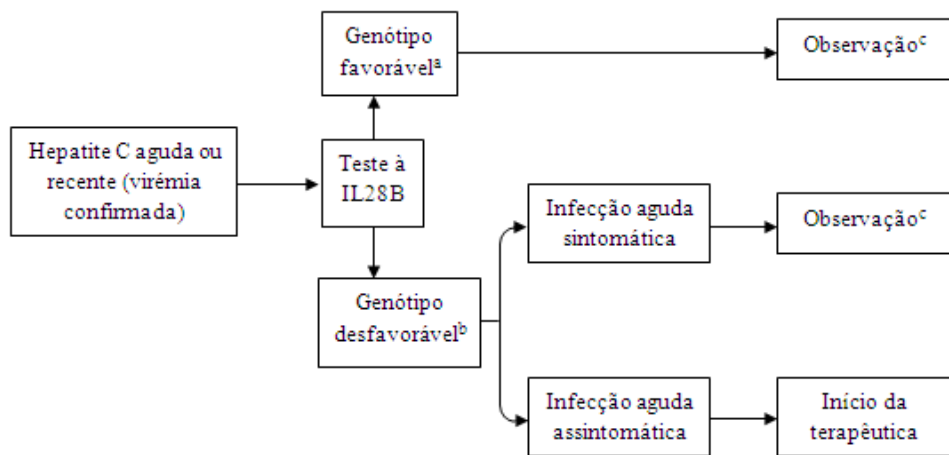


Figura 3. Sugestão de algoritmo clínico para hepatite C aguda ou recentemente adquirida, usando o teste de genotipagem da IL28B. ^aGenótipo C/C para o rs12979860; ^bgenótipo C/T ou T/T para o rs 12979860; ^c tratar se resolução espontânea não ocorrer entre as 12 e 20 semanas pós exposição. Adaptado de (Pearlman 2011).

Em indivíduos de raça branca infectados com o VHC genótipo 1, o genótipo C/C da IL28B está associado a RVM em 70% das vezes. Por outro lado, indivíduos com genótipo não-C/C podem atingir taxas de RVM entre 27% e 33% (Thompson, Muir et al. 2010). Deste modo, os pacientes com genótipo da IL28B favorável, mesmo que não consigam atingir RVR, devem continuar o tratamento porque tendo o genótipo C/C apresentam ainda duas vezes maior probabilidade de virem a atingir RVM que os pacientes com genótipo da IL28B desfavorável (Thompson, Muir et al. 2010). Por outro lado, os pacientes que atingirem RVR poderão ser bons candidatos a reduzir a duração da terapêutica (Pearlman 2011).

A RVR apresenta um excelente valor preditivo positivo nos pacientes com genótipo da IL28B desfavorável, porque aqueles que conseguirem atingir RVR vêm a atingir RVM em 84% das vezes. Pelo contrário, os pacientes com genótipo da IL28B desfavorável (T/T) que não atingiam RVR poderá ser considerado a cessação terapêutica devido às chances de virem a atingir RVM serem de apenas 14% na etnia Afro-Americana e de 24% nos Caucasianos (Thompson, Muir et al. 2010). Um possível algoritmo para pacientes infectados com VHC genótipo 1 encontra-se na figura 4.

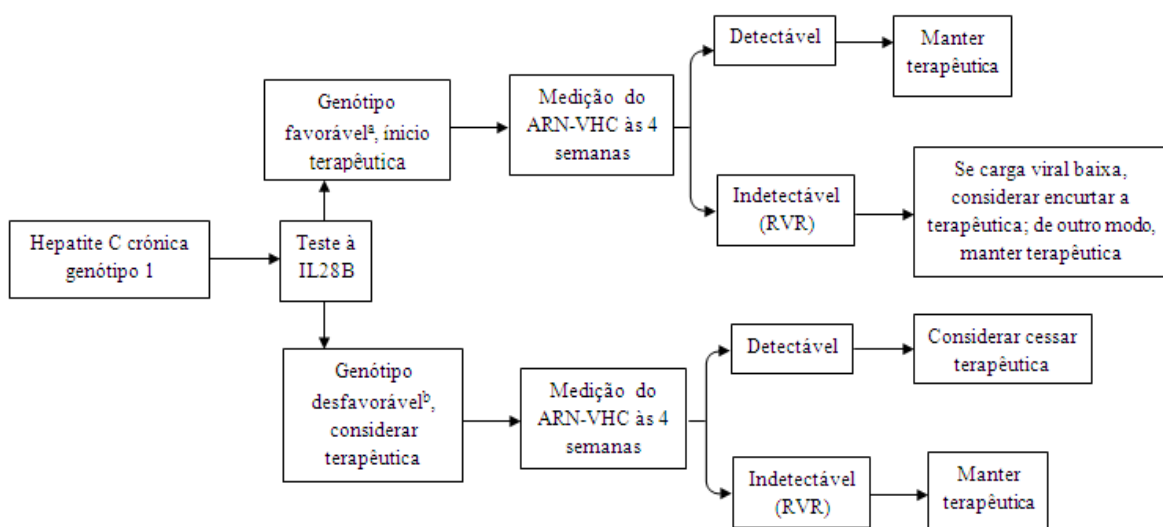


Figura 4. Sugestão de algoritmo clínico para hepatite C crônica usando teste de genotipagem da IL28B. ^a Genótipo C/C para o rs 12979860; ^b genótipo C/T ou T/T para o rs12979860. Adaptado de (Pearlman 2011).

Nos genótipos virais 2 ou 3 o teste de genotipagem da IL28B poderá ter um maior interesse nos pacientes que não atingiram RVR. Isto porque, aqueles que atingem RVR, a IL28B não foi associada à RVM (Mangia, Thompson et al. 2010). Deste modo, os pacientes que não atingissem RVR seriam submetidos ao teste de genotipagem da IL28B, e aqueles que apresentassem um genótipo favorável (C/C do rs12979860) continuariam a terapêutica com duração padrão (24 semanas), aqueles com genótipo desfavorável (T/T do rs12979860) poderia ser considerada uma extensão na duração da terapêutica (Pearlman 2011).

Contudo, o uso do teste de genotipagem da IL28B em pacientes infectados com VHC genótipo 2/3 é controversa, devido a vários autores não terem encontrado uma correlação entre a IL28B e RVM nestes pacientes (Rauch, Kutalik et al. 2010; Stattermayer, Stauber et al. 2011). Esta área necessita, portanto, de mais estudo e investigação.

O desenvolvimento recente de novos fármacos contra a infecção pelo VHC, os inibidores da protease telepravir e boceprevir, apresentam acção antiviral directa contra a infecção pelo VHC principalmente contra o genótipo viral 1. Ambos os fármacos mostraram actividade antiviral, mas com desenvolvimento precoce de resistências (Rowe and Mutimer 2011). Deste modo, estes novos fármacos devem ser administrados em associação a PEG-IFN e RBV, em terapêutica tripla. A duração deste tratamento pode variar de acordo com a resposta à terapêutica, e a genotipagem da IL28B pode ter alguma importância na selecção dos doentes. Em pacientes com genótipo da IL28B desfavorável o início imediato de terapia tripla com inibidor da protease será o mais indicado, optimizando o sucesso terapêutico. Os pacientes que apresentassem genótipo favorável (C/C do rs12979860) podem iniciar tratamento apenas com PEG-IFN e RBV e, caso atinjam RVR, o uso de um terceiro agente pode ser evitado, diminuindo os custos e potenciais efeitos secundários ao doente (Pearlman 2011).

Conclusões

Em quatro estudos independentes foi encontrada associação clara entre os polimorfismos da IL28B e a resposta ao tratamento com PEG-IFN α e RBV em pacientes infectados com VHC com genótipo viral 1, com resultados consistentes entre doentes de diferentes etnias. Esta associação também foi encontrada entre a IL28B e a resolução espontânea da infecção por VHC. No entanto, esta associação em pacientes infectados com genótipo 3 tem produzido resultados conflituosos, sem uma associação clara e com amostras pequenas. São necessários, por isso, estudos mais abrangentes para esclarecer a possível associação.

A presença de níveis intra-hepáticos de ISGs inferiores no pré-tratamento foi associado a uma resposta terapêutica. Esta expressão diferencial de ISGs hepáticos no pré-tratamento poderia ser causada pela influência do polimorfismo da IL28B.

A associação paradoxal encontrada entre os genótipos da IL28B associados a resolução da infecção e níveis mais elevados de ARN-VHC pré-tratamento deverá ser esclarecida, uma vez que usualmente pacientes com pior resposta apresentam níveis mais elevados de ARN-VHC no pré-tratamento.

No futuro o uso do teste de genotipagem da IL28B nos pacientes infectados com VHC poderá ser usado como um critério inicial na escolha da terapêutica a instituir, de forma a tornar uma terapêutica mais personalizada, com objectivo de obter taxa mais elevada de RVM. De salientar, no entanto, que apesar de ser um factor predictor de resposta à terapêutica o seu valor preditivo positivo não é de 100%, não podendo ser usado como único critério na decisão terapêutica.

Apesar da associação clara entre a IL28B e o controlo do VHC, os mecanismos entre o IFN- λ e a supressão do VHC ainda não estão claros sendo necessários mais estudos de investigação.

Referências Bibliográficas

Afdhal, N. H., J. G. McHutchison, S. Zeuzem, A. Mangia, J. M. Pawlotsky, J. S. Murray, K. V. Shianna, Y. Tanaka, D. L. Thomas, D. R. Booth and D. B. Goldstein (2011). "Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010." Hepatology **53**(1): 336-345.

Ank, N., H. West and S. R. Paludan (2006). "IFN-lambda: novel antiviral cytokines." J Interferon Cytokine Res **26**(6): 373-379.

Balogopal, A., D. L. Thomas and C. L. Thio (2010). "IL28B and the control of hepatitis C virus infection." Gastroenterology **139**(6): 1865-1876.

Barrera, J. M., M. Bruguera, M. G. Ercilla, C. Gil, R. Celis, M. P. Gil, M. del Valle Onorato, J. Rodes and A. Ordinas (1995). "Persistent hepatitis C viremia after acute self-limiting posttransfusion hepatitis C." Hepatology **21**(3): 639-644.

Chen, L., I. Borozan, J. Feld, J. Sun, L. L. Tannis, C. Coltescu, J. Heathcote, A. M. Edwards and I. D. McGilvray (2005). "Hepatic gene expression discriminates responders and nonresponders in treatment of chronic hepatitis C viral infection." Gastroenterology **128**(5): 1437-1444.

Davis, G. L., J. B. Wong, J. G. McHutchison, M. P. Manns, J. Harvey and J. Albrecht (2003). "Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C." Hepatology **38**(3): 645-652.

Fellay, J., K. V. Shianna, D. Ge, S. Colombo, B. Ledergerber, M. Weale, K. Zhang, C. Gumbs, A. Castagna, A. Cossarizza, A. Cozzi-Lepri, A. De Luca, P. Easterbrook, P. Francioli, S. Mallal, J. Martinez-Picado, J. M. Miro, N. Obel, J. P. Smith, J. Wyniger, P. Descombes, S. E. Antonarakis, N. L. Letvin, A. J. McMichael, B. F. Haynes, A. Telenti and D. B. Goldstein (2007). "A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1." Science **317**(5840): 944-947.

Fox, B. A., P. O. Sheppard and P. J. O'Hara (2009). "The role of genomic data in the discovery, annotation and evolutionary interpretation of the interferon-lambda family." PLoS One **4**(3): e4933.

Ge, D., J. Fellay, A. J. Thompson, J. S. Simon, K. V. Shianna, T. J. Urban, E. L. Heinzen, P. Qiu, A. H. Bertelsen, A. J. Muir, M. Sulkowski, J. G. McHutchison and D. B. Goldstein (2009). "Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance." Nature **461**(7262): 399-401.

Gerlach, J. T., H. M. Diepolder, R. Zachoval, N. H. Gruener, M. C. Jung, A. Ulsenheimer, W. W. Schraut, C. A. Schirren, M. Waechtler, M. Backmund and G. R. Pape (2003). "Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance." Gastroenterology **125**(1): 80-88.

Hadziyannis, S. J., H. Sette, Jr., T. R. Morgan, V. Balan, M. Diago, P. Marcellin, G. Ramadori, H. Bodenheimer, Jr., D. Bernstein, M. Rizzetto, S. Zeuzem, P. J. Pockros, A. Lin and A. M. Ackrill (2004). "Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose." Ann Intern Med **140**(5): 346-355.

Herrmann, E., A. U. Neumann, J. M. Schmidt and S. Zeuzem (2000). "Hepatitis C virus kinetics." Antivir Ther **5**(2): 85-90.

Honda, M., A. Sakai, T. Yamashita, Y. Nakamoto, E. Mizukoshi, Y. Sakai, M. Nakamura, T. Shirasaki, K. Horimoto, Y. Tanaka, K. Tokunaga, M. Mizokami and S. Kaneko (2010). "Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C." Gastroenterology **139**(2): 499-509.

Kamatani, Y., S. Wattanapokayakit, H. Ochi, T. Kawaguchi, A. Takahashi, N. Hosono, M. Kubo, T. Tsunoda, N. Kamatani, H. Kumada, A. Puseenam, T. Sura, Y. Daigo, K. Chayama, W. Chantratita, Y. Nakamura and K. Matsuda (2009). "A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians." Nat Genet **41**(5): 591-595.

Kelly, C., P. Klenerman and E. Barnes (2011). "Interferon lambdas: the next cytokine storm." Gut **60**(9): 1284-1293.

Lavanchy, D. (2009). "The global burden of hepatitis C." Liver Int **29 Suppl 1**: 74-81.

Lavanchy, D. (2011). "Evolving epidemiology of hepatitis C virus." Clin Microbiol Infect **17**(2): 107-115.

Li, M., X. Liu, Y. Zhou and S. B. Su (2009). "Interferon-lambdas: the modulators of antiviral, antitumor, and immune responses." J Leukoc Biol **86**(1): 23-32.

Mangia, A., A. J. Thompson, R. Santoro, V. Piazzolla, H. L. Tillmann, K. Patel, K. V. Shianna, L. Mottola, D. Petruzzellis, D. Bacca, V. Carretta, N. Minerva, D. B. Goldstein and J. G. McHutchison (2010). "An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virologic response." Gastroenterology **139**(3): 821-827, 827 e821.

Marcello, T., A. Grakoui, G. Barba-Spaeth, E. S. Machlin, S. V. Kotenko, M. R. MacDonald and C. M. Rice (2006). "Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics." Gastroenterology **131**(6): 1887-1898.

McCarthy, J. J., J. H. Li, A. Thompson, S. Suchindran, X. Q. Lao, K. Patel, H. L. Tillmann, A. J. Muir and J. G. McHutchison (2010). "Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin." Gastroenterology **138**(7): 2307-2314.

Montes-Cano, M. A., J. R. Garcia-Lozano, C. Abad-Molina, M. Romero-Gomez, N. Barroso, J. Aguilar-Reina, A. Nunez-Roldan and M. F. Gonzalez-Escribano (2010). "Interleukin-28B genetic variants and hepatitis virus infection by different viral genotypes." Hepatology **52**(1): 33-37.

Muir, A. J., M. L. Shiffman, A. Zaman, B. Yoffe, A. de la Torre, S. Flamm, S. C. Gordon, P. Marotta, J. M. Vierling, J. C. Lopez-Talavera, K. Byrnes-Blake, D. Fontana, J. Freeman, T. Gray, D. Hausman, N. N. Hunder and E. Lawitz (2010). "Phase 1b study of pegylated interferon lambda 1 with or without ribavirin in patients with chronic genotype 1 hepatitis C virus infection." Hepatology **52**(3): 822-832.

Operskalski, E. A. and A. Kovacs (2011). "HIV/HCV co-infection: pathogenesis, clinical complications, treatment, and new therapeutic technologies." Curr HIV/AIDS Rep **8**(1): 12-22.

Pearlman, B. L. (2011). "The IL-28 genotype: how it will affect the care of patients with hepatitis C virus infection." Curr Gastroenterol Rep **13**(1): 78-86.

Poordad, F., K. R. Reddy and P. Martin (2008). "Rapid virologic response: a new milestone in the management of chronic hepatitis C." Clin Infect Dis **46**(1): 78-84.

Rallon, N. I., S. Naggie, J. M. Benito, J. Medrano, C. Restrepo, D. Goldstein, K. V. Shianna, E. Vispo, A. Thompson, J. McHutchison and V. Soriano (2010). "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 **24**(8): F23-29.

Rauch, A., Z. Kutalik, P. Descombes, T. Cai, J. Di Iulio, T. Mueller, M. Bochud, M. Battegay, E. Bernasconi, J. Borovicka, S. Colombo, A. Cerny, J. F. Dufour, H. Furrer, H. F. Gunthard, M. Heim, B. Hirschel, R. Malinverni, D. Moradpour, B. Mullhaupt, A. Witteck, J. S. Beckmann, T. Berg, S. Bergmann, F. Negro, A. Telenti and P. Y. Bochud (2010). "Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study." Gastroenterology **138**(4): 1338-1345, 1345 e1331-1337.

Robek, M. D., B. S. Boyd and F. V. Chisari (2005). "Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication." J Virol **79**(6): 3851-3854.

Rowe, I. A. and D. J. Mutimer (2011). "Protease inhibitors for treatment of genotype 1 hepatitis C virus infection." BMJ **343**: d6972.

Santantonio, T., E. Sinisi, A. Guastadisegni, C. Casalino, M. Mazzola, A. Gentile, G. Leandro and G. Pastore (2003). "Natural course of acute hepatitis C: a long-term prospective study." Dig Liver Dis **35**(2): 104-113.

Sarasin-Filipowicz, M., E. J. Oakeley, F. H. Duong, V. Christen, L. Terracciano, W. Filipowicz and M. H. Heim (2008). "Interferon signaling and treatment outcome in chronic hepatitis C." Proc Natl Acad Sci U S A **105**(19): 7034-7039.

Stattermayer, A. F., R. Stauber, H. Hofer, K. Rutter, S. Beinhardt, T. M. Scherzer, K. Zinober, C. Datz, A. Maieron, E. Dulic-Lakovic, H. H. Kessler, P. Steindl-Munda, M. Strasser, C. Krall and P. Ferenci (2011). "Impact of IL28B genotype on the early and sustained virologic response in treatment-naive patients with chronic hepatitis C." Clin Gastroenterol Hepatol **9**(4): 344-350 e342.

Suppiah, V., M. Moldovan, G. Ahlenstiel, T. Berg, M. Weltman, M. L. Abate, M. Bassendine, U. Spengler, G. J. Dore, E. Powell, S. Riordan, D. Sheridan, A. Smedile, V. Fragomeli, T. Muller, M. Bahlo, G. J. Stewart, D. R. Booth and J. George (2009). "IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy." Nat Genet **41**(10): 1100-1104.

Tanaka, Y., N. Nishida, M. Sugiyama, M. Kurosaki, K. Matsuura, N. Sakamoto, M. Nakagawa, M. Korenaga, K. Hino, S. Hige, Y. Ito, E. Mita, E. Tanaka, S. Mochida, Y. Murawaki, M. Honda, A. Sakai, Y. Hiasa, S. Nishiguchi, A. Koike, I. Sakaida, M. Imamura, K. Ito, K. Yano, N. Masaki, F. Sugauchi, N. Izumi, K. Tokunaga and M. Mizokami (2009). "Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C." Nat Genet **41**(10): 1105-1109.

Thio, C. L., D. L. Thomas and M. Carrington (2000). "Chronic viral hepatitis and the human genome." Hepatology **31**(4): 819-827.

Thomas, D. L., C. L. Thio, M. P. Martin, Y. Qi, D. Ge, C. O'Huigin, J. Kidd, K. Kidd, S. I. Khakoo, G. Alexander, J. J. Goedert, G. D. Kirk, S. M. Donfield, H. R. Rosen, L. H. Tobler, M. P. Busch, J. G. McHutchison, D. B. Goldstein and M. Carrington (2009). "Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus." Nature **461**(7265): 798-801.

Thompson, A. J., A. J. Muir, M. S. Sulkowski, D. Ge, J. Fellay, K. V. Shianna, T. Urban, N. H. Afdhal, I. M. Jacobson, R. Esteban, F. Poordad, E. J. Lawitz, J. McCone, M. L. Shiffman, G. W. Galler, W. M. Lee, R. Reindollar, J. W. King, P. Y. Kwo, R. H. Ghalib, B. Freilich, L. M. Nyberg, S. Zeuzem, T. Poynard, D. M. Vock, K. S. Pieper, K. Patel, H. L. Tillmann, S. Noviello, K. Koury, L. D. Pedicone, C. A. Brass, J. K. Albrecht, D. B. Goldstein and J. G. McHutchison (2010). "Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus." Gastroenterology **139**(1): 120-129 e118.

Tillmann, H. L., A. J. Thompson, K. Patel, M. Wiese, H. Tenckhoff, H. D. Nischalke, Y. Lokhnygina, U. Kullig, U. Gobel, E. Capka, J. Wiegand, I. Schiefke, W. Guthoff, K. Grungreiff, I. Konig, U. Spengler, J. McCarthy, K. V. Shianna, D. B. Goldstein, J. G. McHutchison, J. Timm and J. Nattermann (2010). "A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice." Gastroenterology **139**(5): 1586-1592, 1592 e1581.

Urban, T. J., A. J. Thompson, S. S. Bradrick, J. Fellay, D. Schuppan, K. D. Cronin, L. Hong, A. McKenzie, K. Patel, K. V. Shianna, J. G. McHutchison, D. B. Goldstein and N. Afdhal (2010). "IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C." Hepatology **52**(6): 1888-1896.

Wiese, M., F. Berr, M. Lafrenz, H. Porst and U. Oesen (2000). "Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study." Hepatology **32**(1): 91-96.