

Identificación de los polimorfismos rs12979860 y rs8099917 de IL28B en el diagnóstico, control y determinación de tratamiento en pacientes venezolanos infectados con el virus de hepatitis C

Identification of IL28B rs12979860 and rs8099917 polymorphisms in the diagnosis, control, and determination of treatment in Venezuelan patients infected with hepatitis C virus

Christian Medina^{1a}, Félix Toro^{2a}, Idamelis Rodríguez^{3a}, Juan Bautista De Sanctis^{4ab}, Alexis García^{5a}

RESUMEN

El Virus de Hepatitis C (VHC) puede persistir en el 80 % de las personas infectadas, que conduce a desarrollar hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma. Sin embargo, el 10 % de los infectados pueden erradicar espontáneamente el virus mediante la respuesta viral sostenida (RVS). Durante muchos años, el tratamiento contra el VHC estaba basado en la combinación de interferón pegilado (IFN-PEG) y ribavirina (RIB), con una eficacia del 50 %. Varios estudios han encontrado que los polimorfismos de simple nucleótido (SNPs) como rs12979860 (C>T) y rs8099917 (T>G) ubicados

cerca del gen de IL-28B, tienen asociación significativa con la erradicación espontánea y con la respuesta al tratamiento con IFN-PEG y RIB. Evaluamos la presencia de los polimorfismos rs12979860 y rs8099917 en 26 pacientes infectados con el VHC del Hospital Universitario de Caracas, así como su relación con la respuesta al tratamiento con IFN-PEG/RIB, empleando la técnica de la amplificación de ADN por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida del análisis de los SNPs mediante el uso de enzimas de restricción (RFLP). Encontramos que 10 pacientes presentaron los genotipos heterocigotos para ambos polimorfismos rs12979860 y rs8099917 y 9 pacientes presentaron ambos genotipos homocigotos, genotipo C/C para el polimorfismo rs12979860 y genotipo T/T para el polimorfismo rs8099917. Entre los pacientes respondedores al tratamiento con IFN-PEG/RIB, el 100 % eran heterocigotos T/C para el polimorfismo

DOI: <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.3.10>

ORCID: 0000-0003-2056-0075¹

ORCID: 000-002-7467-0925²

ORCID: 0000-0002-8044-3279³

ORCID: 0000-0002-5480-4608⁴

ORCID: 0000-0002-2354-0160⁵

^aInstituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

Recibido: 16 de agosto 2022

Aceptado: 31 de agosto 2022

^bInstitute of Molecular and Translational Medicine. Faculty of Medicine and Dentistry. Palacky University. Olomouc. The Czech Republic.

Correspondencia: Dr. Alexis García. Profesor Asistente. Instituto de Inmunología. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

E-mail: alexisgarcia27@gmail.com

rs12979860 y para el polimorfismo rs8099917 el 60 % heterocigotos G/T, 30 % homocigotos T/T y 10 % homocigotos G/G. La identificación de los polimorfismos homocigotos del gen IL28B pudiera predecir la respuesta al tratamiento en pacientes mestizos venezolanos infectados con VHC.

Palabras clave: *Hepatitis C, interferones, polimorfismo de nucleótido simple, ribavirina.*

SUMMARY

Hepatitis C Virus (HCV) can persist in 80 % of infected persons, leading to the development of chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocarcinoma. However, 10 % of those infected patients can spontaneously eradicate the virus through sustained viral response (SVR). For many years, HCV treatment was based on the combination of pegylated interferon (PEG-IFN) and ribavirin (RIB), with an efficacy of 50 %. Several studies have found that single nucleotide polymorphisms (SNPs) such as rs12979860 (C>T) and rs8099917 (T>G) located near the IL-28B gene have a significant association with spontaneous eradication and response to PEG-IFN and RIB treatment. We evaluated the presence of rs12979860 and rs8099917 polymorphisms in 26 HCV-infected patients from the University Hospital of Caracas, as well as their relationship with response to PEG-IFN/RIB treatment, using the technique of DNA. We amplified genomic by polymerase chain reaction (PCR) by SNPs analysis using restriction enzyme profiling (RFLP). We found that 10 patients had heterozygous genotypes for both rs12979860 and rs8099917 polymorphisms and 9, patients had both homozygous genotypes, C/C genotype for rs12979860 polymorphism and T/T genotype for rs8099917 polymorphism. Among the PEG-IFN/RIB responders, 100 % were T/C heterozygotes for the rs12979860 polymorphism, and for the rs8099917 polymorphism 60 % were G/T heterozygotes, 30 % were T/T homozygotes and 10 % were G/G homozygotes. The identification of homozygous polymorphisms of the IL28B gene may predict response to treatment in Venezuelan mestizo patients infected with HCV.

Keywords: *Hepatitis C, interferons, polymorphism single nucleotide, ribavirin.*

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) para el año 2020 estimó que a nivel mundial había 71 millones de personas infectadas

crónicamente con el Virus de Hepatitis C (VHC), un importante agente causal de cirrosis hepática (CH) y carcinoma hepatocelular (CHC) (1). El VHC puede persistir entre un 70-80 % de las personas infectadas, lo que conduce a desarrollar hepatitis crónica (HC). Los sujetos con HC tienen un riesgo 25 % mayor de desarrollar CH y CHC, después de 10-40 años de infección, esto debido a la continua necrosis e inflamación que se produce en el hígado (2,3).

En América Latina, se dispone de pocas estimaciones de la carga epidemiológica, ya sea global o por país; y no se ha evaluado el impacto potencial de los tratamientos actualmente disponibles en la carga epidemiológica del VHC (4). En Venezuela, la obtención de datos confiables ha sido muy difícil, a pesar del esfuerzo de diferentes grupos de trabajo, el subregistro es una de las mayores dificultades, por ello se desconoce con exactitud la verdadera magnitud e impacto de esta enfermedad. La prevalencia del Virus C de Hepatitis en nuestro país solo recoge información parcial de grupos como los datos de nuestros indígenas (5), que nos muestran variaciones importantes con respecto a algunas referencias de la literatura mundial.

Los estudios de asociación del genoma completo o GWAS (Genome-wide association study por sus siglas en inglés) han permitido establecer la asociación entre polimorfismos de simple nucleótido (SNPs) (*Single Nucleotide Polymorphism* por sus siglas en inglés) y la presencia de factores genéticos que afectan la historia natural y respuesta al tratamiento de muchas enfermedades, incluyendo la infección por el VHC (6).

Durante muchos años el tratamiento contra la infección con VHC estaba basado en el uso de interferón-pegilado (IFN-PEG) combinado con ribavirina (RIB), con una eficacia que apenas sobrepasaba el 50 % (7). No obstante, actualmente se dispone de antivirales de acción directa (AAD), capaces de eliminar de forma sostenida la replicación viral es más de 80 % de los casos, siendo el tratamiento estándar (8). No obstante, existe un 10 % de pacientes que no responde o presentan resistencia a los AAD (8,9).

Los SNPs ubicados cerca del gen de IL-28B han sido asociados con la erradicación espontánea del VHC (10,11). También, se ha descrito la

importancia de estos SNPs con la respuesta al tratamiento con IFN-PEG /RIB. Venegas y col. (12), en un estudio realizado en pacientes que recibieron IFN-PEG /RIB, encontraron una presencia más elevada de los genotipos IL28B rs12979860 CC, rs12980275 AA y rs8099917 TT en aquellos sujetos con respuesta virológica sostenida en comparación con los que no respondieron (38 %, 44 % y 50 % frente a 2 %, 8,2 % y 8,2 %, respectivamente). Estas diferencias fueron altamente significativas en los tres casos ($P < 0,0001$) (12).

La identificación de los polimorfismos del gen IL28B, rs12979860 y rs8099917 constituye una herramienta útil para predecir respuesta terapéutica en pacientes con infección por el VHC, y particularmente en aquellos individuos que están infectados con el genotipo 1 del virus.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la identificación de los diversos polimorfismos se seleccionaron muestras sanguíneas de 26 pacientes infectados con el VHC provenientes del Servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario de Caracas. Como criterio de inclusión se consideró positividad para la prueba serológica de VHC. El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética del Instituto de Inmunología "Dr. Nicolás E. Bianco C." de la Universidad Central de Venezuela.

Los pacientes se clasificaron en 2 grupos: 1) pacientes que no recibieron tratamiento y 2) pacientes que recibieron tratamiento antiviral y a los cuales se le evaluó la respuesta al tratamiento. Las muestras de sangre periférica fueron obtenidas a partir de venopunción y para la obtención del ADN genómico (ADNg) se empleó el estuche comercial de QIAamp DNA Mini Kit de la casa comercial QIAGEN. Posteriormente se realizó la reacción en cadena de polimerasa (PCR) a cada muestra para amplificar una región del gen del IL-28B. Se emplearon como cebadores las secuencias oligonucleotídicas, sentido 5'-AGG-GCC-CCT-AAC-CTC-TGC-ACA-GTC-T-3' y anti-sentido 5'-GCT-GAG-GGA-CCG-CTA-CGT-AAG-TCA-CC-3' para el polimorfismo rs12979860 y las secuencias sentido 5'-TTC-ACC-ATC-CTC-CTC-TCA-

TCC-CTC-AT-3' y anti-sentido 5'-TCC-TAA-ATT-GAC-GGG-CCA-TCT-GTT-TC-3' para el polimorfismo rs8099917.

Se evaluó la presencia de polimorfismos para IL-28B en las muestras amplificadas por PCR mediante la técnica de polimorfismo en la longitud de los fragmentos restricción (RFLPs por sus siglas en inglés) utilizando la enzima de restricción Bsh1236I (BstUI) para el polimorfismo rs12979860; C/T [184pb, 130pb, 105pb, 89pb y 25pb], CC [184pb, 105pb 89pb y 25pb], TT [184pb, 130pb y 89pb]; y la enzima Mae III para el polimorfismo rs8099917; G/T [186pb, 147pb, 110pb, 105pb y 39pb], TT [186pb, 110pb y 105pb], GG [147pb, 110pb, 105pb y 39pb]. Finalmente, los genotipos fueron identificados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2 % y tinción con el colorante bromuro de etidio, como se puede ver en la Figura 1.

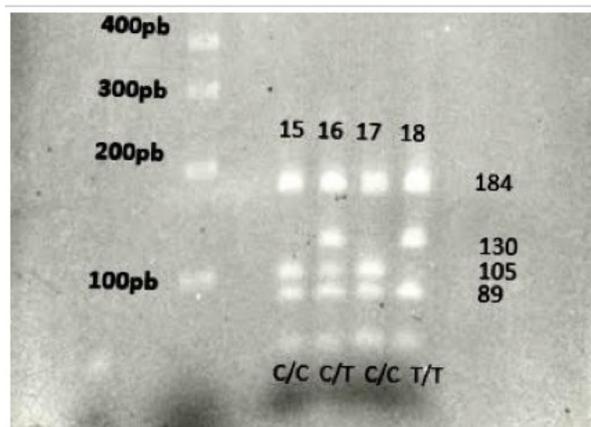


Figura 1. Imagen de un gel de electroforesis al 2% agarosa en el que se muestran los resultados en 4 muestras de pacientes para el polimorfismo rs12979860: Se muestra el marcador de peso molecular para ADN, escalera de 100 pares de bases (pb) y las muestras #15, #16, #17 y #18 de pacientes venezolanos infectados por VHC. Se observa la muestra #15 con tres bandas (184pb, 105pb y 89pb) correspondiente al alelo homocigoto C/C, la muestra #16 con cuatro bandas (184pb, 130pb 105pb y 89pb) correspondiente al alelo heterocigoto C/T; la muestra #17 con tres bandas (184pb, 105pb y 89pb) correspondiente al alelo homocigoto C/C y la muestra #18 con tres bandas visibles (184pb, 130pb y 89pb) correspondiente al alelo homocigoto T/T.

RESULTADOS

De los 26 pacientes estudiados, el 69 % (n: 18) fueron del sexo femenino y el 31 % (n: 8) fueron del sexo masculino. La mayoría de ellos (n:14) presentó el mismo riesgo biológico de transfusión sanguínea como posible vía de infección. Asimismo, en sólo 10 pacientes se pudo determinar el genotipo del VHC infectante, de los cuales 5 pacientes tenían el genotipo 1b, 3 el genotipo 1a, 1 tenía el genotipo 2a y 1 el genotipo 3a.

La mayor frecuencia encontrada para el polimorfismo rs12979860 fue el genotipo heterocigoto C/T en un 61,5 % y para el polimorfismo rs8099917 la mayoría, eran homocigotos T/T 57,7 %. Según la distribución de los haplotipos en los pacientes de nuestro estudio; 10 pacientes presentaron los genotipos heterocigotos para ambos polimorfismos rs12979860(T/C) y rs8099917(G/T) y 9 pacientes presentaron ambos genotipos homocigotos, genotipo C/C para el polimorfismo rs12979860 y genotipo T/T para el polimorfismo rs8099917, como se puede observar en el Cuadro 1.

Cuadro 1

Distribución de los haplotipos en pacientes con infección por VHC

| rs8099917 | rs12979860 | | | Total |
|--------------|------------|-----|-----|-------|
| | T/C | C/C | T/T | |
| G/T | 10 | 0 | 0 | 10 |
| T/T | 5 | 9 | 1 | 15 |
| G/G | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Total | 16 | 9 | 1 | 26 |

De acuerdo al tratamiento que recibieron los pacientes evaluados, el 54 % (n: 14) recibió tratamiento inicial con IFN-PEG /RIB; un 38 % de los pacientes (n: 10) no recibieron ningún tipo de tratamiento; un solo paciente recibió un AAD como tratamiento inicial y un paciente recibió triple terapia de IFN-PEG /RIB junto a un AAD. Los pacientes que recibieron IFN-PEG/RIB, el 71 % (n: 10) respondieron al tratamiento logrando

una RVS mientras que 29 % (n: 4) no tuvieron respuesta favorable al tratamiento.

Del total de los pacientes respondedores al tratamiento con IFN-PEG /RIB (n: 10); solo la mitad tenían carga viral pre y post tratamiento. El 100 % fueron heterocigotos para el polimorfismo rs12979860. Sin embargo, para el polimorfismo rs8099917, 60 % (n: 6) de los pacientes fueron heterocigotos para el genotipo G/T, 30 % (n: 3) tenían el genotipo homocigoto T/T y 10 % (n: 1) el genotipo homocigoto G/G; evidenciado en el Cuadro 2.

Cuadro 2

Respondedores al tratamiento IFN/RI

| rs8099917 | rs12979860 | | |
|--------------|------------|-----|-----|
| | T/C | C/C | T/T |
| G/T | 6 | 0 | 0 |
| T/T | 3 | 0 | 0 |
| G/G | 1 | 0 | 0 |
| Total | 10 | 0 | 0 |

Según la distribución de los pacientes no respondedores al protocolo de tratamiento con IFN-PEG /RIB (n: 4), la mayoría de los pacientes que no respondieron (n: 3) tenían ambos genotipos homocigotos de alta probabilidad de RVS, es decir, el genotipo homocigoto C/C para el polimorfismo rs12979860 y el genotipo homocigoto T/T para el polimorfismo rs8099917, expuesto en el Cuadro 3. No obstante, 2 de estos pacientes tenían antecedentes médicos de enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide), y estaban recibiendo inmunosupresores junto al protocolo IFN-PEG /RIB; y 1 paciente estaba infectado con el genotipo 3a del VHC.

Cuadro 3

No respondedores al tratamiento IFN/RIB

| rs8099917 | rs12979860 | | |
|-----------|------------|-----|-----|
| | T/C | C/C | T/T |
| G/T | 0 | 0 | 0 |
| T/T | 1 | 3 | 0 |
| G/G | 0 | 0 | 0 |

Entre los 10 pacientes evaluados sin tratamiento antiviral, encontramos que para el polimorfismo rs12979860, 60 % presentó el genotipo homocigoto respondedor C/C, 30 % fueron heterocigotos C/T y 10 % tenía el genotipo homocigoto no respondedor T/T. Por su parte, para el polimorfismo rs8099917, 80 % de los pacientes presentaron los genotipos homocigotos respondedores T/T y el 20 % eran heterocigotos G/T.

DISCUSIÓN

El tratamiento de la hepatitis C ha evolucionado rápidamente a lo largo de los últimos años (13). Por mucho tiempo el tratamiento estándar estaba basado en el uso de interferón pegilado junto a ribavirina, a pesar de los efectos secundarios descritos del interferón y una tasa de RVS que apenas sobrepasa el 50 % de los pacientes con el genotipo 1 del VHC (14).

Las respuestas al tratamiento e historia natural de la enfermedad, están condicionadas por múltiples factores (15); entre ellos los factores poblacionales, que juegan un rol importante en Venezuela por el mestizaje poblacional, demostrado en un estudio del año 2011 que afirma que existe en el país una mezcla entre aborígenes mongoloide primitivos, europeos caucásicos y migrantes negroides de África Occidental, ocasionando una variedad tanto en el desarrollo de enfermedades, como de su respuesta al tratamiento (16).

Otro factor que condiciona la respuesta al tratamiento y evolución de las enfermedades, es el factor genético (17). Estudios realizados en China establecieron que el gen IL28B representa un factor predictivo importante en la respuesta a tratamientos basados con IFN en pacientes infectados con el VHC 1b (18). Öksüz y col., reportaron una relación estadísticamente significativa entre el gen IL28B y el receptor tipo Toll 2 (TLR2) en pacientes infectados con VHC con manifestaciones de fibrosis; concluyendo que juntos son biomarcadores predictivos de enfermedad severa en pacientes con VHC (19).

Por su parte, se han asociado variaciones genéticas del gen IL28B con progresión a daño hepático en infección por VHC (20), reportándose

que aquellos pacientes con el alelo CC del SNPs; rs12979860 presentan menor probabilidad de progresión a un estadio final de la enfermedad hepática con necesidad de trasplante hepático. También, se ha reportado que aquellos pacientes infectados con el genotipo 1, que no posean el alelo TT del SNPs rs8099917 del IL28B, tienen un riesgo mayor de padecer fibrosis hepática (21,22). Un metaanálisis realizado por Heidarian y col., reportó la asociación de los alelos CC del SNPs rs12979860 del gen IL28B en la erradicación espontánea de la infección por VHC y asimismo dicho polimorfismo está asociado a la respuesta efectiva de la terapia dual IFN-PEG/RIB (23). De igual forma, Ito y col. (24); demostraron que el alelo TT del SNPs rs8099917 del gen IL28B es un factor predictor de respuesta favorable al tratamiento de IFN-PEG/RIB en pacientes japoneses infectados crónicamente con VHC. Kurniawan y col., demostraron que aquellos pacientes coinfectados con VHC-VIH y que adicionalmente posean el alelo CC del IL28B junto a una mutación de la región NS5A del VHC respondían exitosamente al tratamiento con INF-PEG/RIB (25).

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran resultados similares a los obtenidos por López y col. en el 2014 (26), donde reportaron que, en la población mestiza venezolana, para el gen IL28B, la mayor frecuencia del polimorfismo rs12979860 es el genotipo heterocigoto C/T (80 %), similar a lo encontrado en nuestro estudio (61,5 %). Para el SNPs rs8099917 no hay estudios en población venezolana por lo cual este es el primer reporte en población mestiza venezolana. Un estudio en población uruguaya, demostró una mayor distribución del homocigoto T/T (57,7 %) para el SNPs rs8099917 (27).

La respuesta a la terapia con IFN-PEG/RIB es parcialmente efectiva; por lo que, para mejorar la respuesta al tratamiento por la infección con el VHC, a partir del 2011 la FDA (*Food and Drug Administration*) en Estados Unidos, aprobó el uso del antiviral telaprevir, iniciándose la era de los antivirales de acción directa (AAD) (28). Posteriormente se comienzan a implementar los regímenes de triple terapia que se basaban en el uso de un AAD, IFN-PEG y ribavirina los cuales aumentaron la tasa de RVS al 75 % para el genotipo tipo 1 (29). Actualmente, tenemos

la posibilidad de una cura completa para el VHC con regímenes sin interferón. La terapia basada en AAD tiene un alto porcentaje de curación, alrededor del 90 %. Diferentes estudios han demostrado que 9 de cada 10 pacientes infectados con el VHC de genotipo 1b que no respondieron a la terapia dual convencional de IFN-PEG/RBV, lograron tener una RVS con los AAD, como daclatasvir (inhibidor de NS5A) y asunaprevir (inhibidor de proteasa NS3/4A) (29-33).

Los AAD pan-genotípicos siguen siendo costosos en muchos países de ingresos medios y bajos. Sin embargo, el acceso al tratamiento contra el VHC está mejorando debido a que los precios de estos medicamentos han disminuido drásticamente gracias a la introducción de versiones genéricas, pero su disponibilidad sigue siendo limitada en muchos países. Un ensayo de clínico reciente, en fase 2b, aleatorizado con faldaprevir (inhibidor de la proteasa NS3 / 4A) y deleobuvir (inhibidor de la polimerasa NS5B), demostró que pacientes que tenían el alelo CC del polimorfismo rs12979860 tenían tasas de RVS más elevadas en comparación a pacientes sin este alelo, sugiriendo que la inmunidad innata aún puede ser importante y el genotipo IL28B puede afectar la eficacia del tratamiento en ciertos regímenes sin IFN (33-36).

Incluso en pacientes con nula respuesta al IFN-PEG/RIB, se ha utilizado la terapia cuádruple: daclatasvir (inhibidor de la NS5A) y asunaprevir (inhibidor de la NS3/4A proteasa) + IFN-PEG/RIB, llegando a una RVS del 90 %. Estas terapias pueden descartar la relevancia del polimorfismo de IL28B en la respuesta al tratamiento. Sin embargo, hay diversos estudios que han reportado como los polimorfismos de este gen, pueden afectar la cinética viral en regímenes sin IFN-PEG/RIB (15). En el último año se ha estudiado la influencia del gen IL28B en la resistencia de pacientes infectados con VHC al tratamiento con sofosbuvir/daclastavir. Además, Loucks y col. han asociado este gen con las fallas a respuesta al tratamiento con sofosbuvir (37).

Estimamos necesario la genotipificación de ambos SNP de IL28B en pacientes infectados con el genotipo 1 del VHC para definir el tipo de terapia antiviral más efectiva: IFN-PEG/RBV, triple terapia y o antivirales de última generación.

La respuesta a tratamiento está fuertemente asociada a los genotipos; en Venezuela. Se han realizado estudios de genotipo del VHC, como Fortes y col., que reportaron que el genotipo con más frecuencia circulando en el país es el 1b, similar a lo señalado en nuestro estudio (38). La identificación de los polimorfismos homocigotos del gen IL28B pudiera predecir la respuesta al tratamiento en pacientes mestizos venezolanos infectados con VHC.

Se considera la cuarta semana de tratamiento con IFN-PEG/RBV, como el momento clave para conocer el genotipo IL28B del paciente en virtud de que, en pacientes con genotipos favorables, los médicos pueden mantener el tratamiento dual sin necesidad de agregar AAD. La meta es definir la terapia más eficiente y menos costosa. La comprensión de estos polimorfismos es sumamente importante; ya que constituyen una estrategia de estudio no invasivo y relativamente económica para obtener información sobre las características genéticas del individuo y su relación con la enfermedad que lo afecta. En el caso particular de la infección por VHC este tipo de abordaje aporta un valor pronóstico en la evaluación de la progresión de la enfermedad hepática y en la respuesta al tratamiento antiviral.

Conflicto de Interés: Ninguno

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. [Internet] Hepatitis C. 2017 [actualizada 2021 Jul, citado 2018 Ene 10] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/es/>
2. Tang H, Grisé H. Cellular and Molecular Biology of HCV Infection and Hepatitis. *Clinical Sci.* 2009;117:49-65.
3. Westbrook RH, Dusheiko G. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol.* 2014;61(1 Suppl):S58-S68.
4. Szabo SM, Bibby M, Yuan Y, Donato BM, Jiménez-Méndez R, Castañeda-Hernández G, et al. The epidemiologic burden of hepatitis C virus infection in Latin America. *Ann Hepatol.* 2012;11(5):623-635.
5. Betancourt C, Louis C, Machado I, Guzmán A, Dagher L, Delgado MG, et al. Guía Nacional de Tratamiento para Pacientes con Hepatitis C en Venezuela 2016. *Rev Gen* 2017;71(2):30-61.

6. El Proyecto de Genoma Humano. [Internet] Wikipedia, la enciclopedia libre. [citado 2018 Abr 11] Disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Proyecto_Genoma_Humano
7. Palumbo E. Pegylated interferon and ribavirin treatment for hepatitis C virus infection. *Ther Adv Chronic Dis.* 2011;2(1):39-45.
8. Cárdbaga-García ME, Abad-Lecha E, Calleja-Hernández MÁ. Effectiveness of direct-acting antiviral drugs against hepatitis C virus: Predictive factors of response to the treatment. *Libyan J Med.* 2021;16(1):1949797.
9. Cabezas J, Llerana S, Puente A, Fábrega E, Crespo J. Causa del Fracaso del tratamiento de la hepatitis C en la era de la terapia antiviral directa. *Rev Esp Enferm Dig.* 2016;108(7):421-430.
10. Kurbanov F, Abdel-Hamid M, Latanich R, Astemborski J, Mohamed M, Mikhail NM, et al. Genetic polymorphism in IL28B is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus genotype 4 infection in an Egyptian cohort. *J Infect Dis.* 2011;204(9):1391-1394.
11. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, O'Huigin C, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature.* 2009;461(7265):798-801.
12. Venegas M, Villanueva R, González K, Brahm J. IL28B polymorphisms associated with therapy response in Chilean chronic hepatitis C patients. *World J Gastroenterol.* 2011;17(31):3636-3639.
13. Almeida PH, Matielo CEL, Curvelo LA, Rocco RA, Felga G, Della Guardia B, et al. Update on the management and treatment of viral hepatitis. *World J Gastroenterol.* 2021;27(23):3249-3261.
14. Sulkowski MS, Cooper C, Hunyady B, Jia J, Ogurtsov P, Peck-Radosavljevic M, et al. Management of adverse effects of Peg-IFN and ribavirin therapy for hepatitis C. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011;8(4):212-223.
15. Matsuura K, Watanabe T, Tanaka Y. Role of IL28B for chronic hepatitis C treatment toward personalized medicine. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29(2):241-249.
16. Pilar Fortes M, Gill G, Paredes ME, Gamez LE, Palacios M, Blanca I, et al. Allele and haplotype frequencies at Human leukocyte antigen class I and II genes in Venezuela's population. *Ann Biol Clin.* 2012;70(2):175-181.
17. Cavalcante LN, Lyra AC. Predictive factors associated with hepatitis C antiviral therapy response. *World J Hepatol.* 2015;(12):1617-1631.
18. Jing JS, Wang ZQ, Jiang YQ, Zhang XY, Jiang WM. Association of cytokine gene polymorphisms with chronic hepatitis C virus genotype 1b infection in Chinese Han population. *Medicine.* 2020;99:38.
19. Öksüz Z, Üçbilek E, Sami Serin M, Yaraş S, Temel GO, Sezgin O. Possible relationship between IL28B rs12979860 and TLR2 -196 to -174 del/ins polymorphisms and the liver fibrosis stage in hepatitis C patients. *Arch Virology.* 2022;167:153-161.
20. Huang CI, Huang CF, Yeh M, Lin YH, Liang PC, Liu SV, et al. Role of IL-28B genetic variants in HCV-related liver disease severity in patients with different viral genotypes. *Medicine.* 2018;97:10.
21. Hayes CN, Imamura M, Aikata H, Chayama K. Genetics of IL28B and HCV—response to infection and treatment. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012;9:406-417.
22. Matsuura K, Tanaka Y. Host genetic variations associated with disease progression in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatol Res.* 2018;48(2):127-133.
23. Heidarian H, Fazeli P, Ali-Hassanzadeh M, Bemani P, Kabelitz D, Kalantar K. Correlation between IL-28 polymorphism and spontaneous clearance in HCV patients: Systematic review and meta-analysis. *Arch Virol.* 2021;166:2469-2478.
24. Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, et al. The rs8099917 polymorphism, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 2011;49(5):1853-1860.
25. Kurniawan J, Gani R, Djauzi S, Ibrahim F, Harimurti K, Nafrialdi, et al. The Role of Hepatitis C Virus NS5A Region Mutation and SNP IL-28B of Host to Support Successful Pegylated Interferon and Ribavirin Treatment in Patients with HCV-HIV Coinfection: A Prospective Cohort Study. *Acta Med Indones.* 2019;51(2):128-136.
26. López D, Chalbaud A, del Pilar Fortes M, Vargas-Lovelle B, Machado I. Tendencia preliminar del polimorfismo rs12979860 IL28B en la población mestiza venezolana. *Rev Gen.* 2014;68(1):12-15.
27. Echeverría N, Chiodi D, López P, Sanchez Ciceron A, Angulo J, López-Lastra M, Silvera P, Canavesi A, et al. IL28B gene polymorphism rs12979860, but not rs8099917, contributes to the occurrence of chronic HCV infection in Uruguayan patients. *Virology.* 2018;15(1):40.
28. U.S Food & Drug Administration [Internet] Drug Approval Package 2011. [citado 2022 junio] Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2011/201917Orig1s000Approv.pdf
29. Dhingra A, Kapoor S, Alqahtani SA. Recent advances in the treatment of hepatitis C. *Discov Med.* 2014;18(99):203-208.
30. Zeuli JD, Adie SK, Rizza SA, Temesgen Z. Asunaprevir plus daclatasvir for the treatment of

- chronic hepatitis C virus infection. *Drugs Today (Barc)*. 2015;51(11):629-643.
31. Akuta, N, Köklü S, Köksal I, Akarca US, Balkan A, Güner R, et al. Daclatasvir plus asunaprevir dual therapy for chronic HCV genotype 1b infection: Results of Turkish early access program. *Ann Hepatol*. 2017;16(1):71-76.
 32. De Clercq E. Current race in the development of DAAs (direct-acting antivirals) against HCV. *Biochem Pharmacol*. 2014;89(4):441-452.
 33. Gentile I, Buonomo AR, Zappulo E, Minei G, Morisco F, Borrelli F, et al. Asunaprevir, a protease inhibitor for the treatment of hepatitis C infection. *Ther Clin Risk Manag*. 2014;10:493-504.
 34. Zeuzem S, Soriano V, Asselah T, Bronowicki JP, Lohse AW, Müllhaupt B, et al. Faldaprevir and deleobuvir for HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2013;369(7):630-639.
 35. Zeuzem S, Mantry P, Soriano V, Buynak RJ, Dufour JF, Pockros PJ, et al. Short article: Faldaprevir, deleobuvir, and ribavirin in IL28B non-CC patients with HCV genotype-1a infection included in the SOUND-C3 phase 2b study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016;28(8):923-926.
 36. Kanda T, Yokosuka O, Omata M. Faldaprevir for the treatment of hepatitis C. *Int J Mol Sci*. 2015;16(3):4985-4996.
 37. Loucks CM, Lin JJ, Trueman JN, Drögemöller BI, Wright GEB, Chang WC, et al. Patient-specific genetic factors predict treatment failure in sofosbuvir-treated patients with chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2022;42(4):796-808.
 38. Fortes M, Trómpiz A, Canónico Y, Vargas-Lovelle B, Machado IV. Frequency of Hepatitis C Genotype 1 Virus has not varied in Venezuela. *Rev Col Gastroenterol*. 2009;24(3):253-255.