

Tần số điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 trên gene IL28B ở bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C

rs12979860 and rs8099917 in IL28B gene of single nucleotide polymorphisms in patients with chronic hepatitis C

Hà Thị Anh¹, Cao Minh Nga², Nguyễn Tuấn Anh²

Tóm tắt Nghiên cứu cắt ngang trên 83 bệnh nhân viêm gan siêu vi C. Xác định kiểu gene của các điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 của gene IL28B bằng phương pháp real-time PCR dùng mẫu dò TaqMan. Quản lý số liệu và phân tích kết quả bằng phần mềm IBM SPSS (phiên bản 20.0, Armonk, NY: IBM Corp).

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ allele C (0,9036) và T (0,0964) của điểm đa hình rs12979860 ($p = 0,1214$) và allele T (0,8976) và G (0,1024) của điểm đa hình rs8099917 ($p = 0,1774$) cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). Tổ hợp kiểu gene CC/TT chiếm tỷ lệ cao nhất (81,9%). Phân tích tổ hợp kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 cho thấy chúng có khuynh hướng đi cùng nhau như CC/TT, CT/TG và TT/GG ($p < 0,0001$).

Từ khóa: IL28B, rs12979860, rs8099917, SNP

Abstract A cross-sectional study was conducted in 83 patients with chronic hepatitis C. The genotypes of rs12979860 and rs8099917 in IL28B gene were determined by real-time PCR with TaqMan probe. Data were stored and analyzed by IBM SPSS Statistic (version 20.0; Armonk, New York, USA).

Results: The C (0.9036) and T (0.0964) allelic frequencies of SNP rs12979860 ($p = 0.1214$) and the T (0.8976) and G (0.1024) allelic frequencies of SNP rs8099917 ($p = 0.1774$) of IL28B gene were in Hardy-Weinberg equilibrium ($p > 0.05$). The genotype combination analysis of SNPs rs12979860 and rs8099917 showed that they tended to exist together, such as CC/TT, CT/TG and TT/GG genotypes ($p < 0.0001$).

Keywords: IL28B, rs12979860, rs8099917, SNP

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan C là một bệnh lý ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng toàn cầu. Theo số liệu của Tổ chức Y tế Thế

giới (World Health Organisation - WHO) năm 2012, ước tính trên toàn thế giới có khoảng 170 triệu người nhiễm virus viêm gan siêu vi C (Hepatitis C Virus – HCV) mạn tính. Khoảng 20% đến 25% số người bị nhiễm mạn này có nguy cơ xảy ra biến chứng xơ gan hay ung thư gan. Hơn 350.000 người chết hằng năm do các bệnh về gan ở giai đoạn cuối có liên quan đến viêm gan siêu vi C mạn trước đó [1]. Hiện nay điều trị thuốc đặc hiệu có thể dẫn đến lành bệnh hoàn toàn cho khoảng 50-80% bệnh nhân [2-4].

Nhu cầu cần điều trị của bệnh nhân nhiễm HCV ở Việt Nam là rất lớn về số lượng và cấp thiết vì cần can thiệp sớm trước khi biến chứng xảy ra. Tuy nhiên, việc điều trị bệnh nhân viêm gan siêu vi C hiện nay còn nhiều hạn chế như giá thành cao, tác dụng phụ, tỷ lệ điều trị thành công thấp, v.v... Hướng khắc phục các nhược điểm này và nâng cao hiệu quả chữa lành bao gồm việc tìm kiếm các thuốc mới và xác định các yếu tố cho phép tiên lượng đáp ứng điều trị.

Bên cạnh các kiểu gene của virus viêm gan siêu vi C, kiểu gen 1, 2, 3, 4, 5 và 6 và các kiểu phụ, vẫn đang được nghiên cứu đánh giá liên quan đến sự phát triển của các bệnh về gan, đặc biệt là viêm, xơ và ung thư gan; sự đa hình của gene người, như IL-28B, đã cho thấy mối liên quan với đáp ứng điều trị dựa vào các nghiên cứu tương quan di truyền. Từ năm 2009 đến nay, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã được thực hiện nhằm xác định mối quan hệ giữa các đặc điểm di truyền của người và kết quả điều trị viêm gan siêu vi C mạn tính. Các nghiên cứu này cho thấy một số điểm đa hình di truyền hay còn gọi là SNP (Single Nucleotide Polymorphism) của gene IL28B ở người có ảnh hưởng đến khả năng đáp ứng thuốc ở bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C [5]. Một trong những điểm đa hình này là rs12979860 với kiểu gene CC thường xuất hiện ở bệnh nhân đáp ứng thuốc tốt và

¹ Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng

² Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM – Cơ sở II

kiểu gene TC và TT thường xuất hiện ở bệnh nhân đáp ứng thuốc kém. Tương tự, điểm đa hình rs8099917 với kiểu gene TT thường xuất hiện ở người cho thấy khả năng đáp ứng với thuốc tốt hơn ở người có kiểu gene TG và GG. Thông tin về kiểu gene của các điểm đa hình này sẽ giúp bác sĩ tiên lượng được khả năng điều trị thành công ở bệnh nhân [5-8]. Trong đó, kiểu gene CC tại điểm đa hình rs12979860 là “dấu ấn” cho phép dự đoán khả năng đáp ứng tốt với pegylated-interferon và ribavirin với những bệnh nhân nhiễm HCV mang genotype 1 [5, 7, 8]. Tuy nhiên, kiểu gene này cũng cho thấy liên quan đến tiên lượng viêm gan xấu hơn, mức độ alanine aminotransferase cao hơn và các hệ quả lâm sàng nghiêm trọng hơn [9].

Mục tiêu tổng quát: Nghiên cứu này nhằm mục đích xác định các kiểu gene của điểm đa hình rs8099917 và rs12979860 ở gene IL28B và xác định tỷ lệ các điểm đa hình này trên bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C đến khám và điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP. HCM Cơ sở II.

Mục tiêu cụ thể:

- (1) Xác định tần số và tỷ lệ các kiểu allele của SNP rs12979860.
- (2) Xác định tần số và tỷ lệ các kiểu allele của SNP rs8099917.
- (3) Xác định tần số và tỷ lệ tổ hợp các kiểu allele của SNP rs12979860 và rs8099917.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Tổng số 83 mẫu máu toàn phần của bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C, đang điều trị, được bác sĩ điều trị tư vấn và cho chỉ định làm xét nghiệm với sự chấp thuận của bệnh nhân, được sử dụng cho nghiên cứu khảo sát tỷ lệ các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 hiện diện trong bộ gene của thể chủ. Thời điểm thu mẫu từ 11/2012 đến tháng 07/2015.

2.2. Thu thập mẫu

Thu nhận máu toàn phần của bệnh nhân có chỉ định làm xét nghiệm. Tiêu chuẩn chọn mẫu: bệnh nhân có anti-HCV (+) và có chỉ định làm xét nghiệm xác định

các kiểu SNP rs8099917 và rs12979860. Tiêu chuẩn loại trừ: lấy không đúng loại mẫu yêu cầu là máu toàn phần của bệnh nhân, nghĩa là: loại trừ các mẫu là huyết thanh hay huyết tương, anti HCV âm tính. Cỡ mẫu được xác định theo cách chọn mẫu thuận tiện.

2.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu và tách chiết DNA bộ gene người

Tế bào bạch cầu người được thu nhận từ máu toàn phần thông qua bước lắng tự nhiên, sau khi ly tâm 6000 vòng/phút trong thời gian 15 phút. DNA bộ gene người được ly trích khỏi tế bào bạch cầu bằng bộ kit SolGent™ Genomic DNA Prep Kit của Hàn Quốc. Bộ kit SolGent™ Genomic DNA Prep Kit hoạt động theo nguyên lý sử dụng cột silica nên an toàn và thân thiện với môi trường. DNA bộ gene người tinh sạch, không chứa chất ức chế phản ứng PCR như ion kim loại, protein tạp, có thể được thu nhận và sử dụng cho phản ứng real-time PCR tiếp theo.

2.4. Phương pháp real-time PCR

Nghiên cứu sử dụng bộ hóa chất (kit) xác định kiểu gene của các điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 (AccuPid IL-28B Genotyping Kit) do do công ty Khoa Thương sản xuất, ứng dụng công nghệ real-time PCR với mẫu dò TaqMan cho phép xác định chính xác kiểu gen của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 trên gene IL28B của người bệnh với khoảng phát hiện rộng, độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Mọi thao tác đều thực hiện đúng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Trong quần thể người, nucleotide tại vị trí SNP rs12979860 có thể là Cytosine (gọi là allele C) hoặc Thymine (allele T). Việc xác định sản phẩm nhân bản mang nucleotide loại nào tại vị trí SNP được thực hiện bằng 2 mẫu dò TaqMan trong phản ứng real-time PCR; một mẫu dò có reporter là FAM bắt cặp hoàn chỉnh với vùng gene mang nucleotide C; mẫu dò còn lại có reporter là HEX thì bắt cặp hoàn chỉnh với vùng gene mang nucleotide T. Nếu màu huỳnh quang FAM thu nhận được từ tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được kết luận là có mang allele C tại vị trí SNP (đồng hợp tử CC). Ngược lại, nếu màu huỳnh quang HEX thu nhận được từ tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được kết luận là có mang allele T (đồng hợp tử TT). Trong trường hợp cả hai màu huỳnh quang đều được phát hiện ở tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được

kết luận là mang cả 2 allele (dị hợp tử CT).

Tương tự, nucleotide tại vị trí SNP rs8099917 trong quần thể người có thể là Thymine (gọi là allele T) hoặc Guanine (allele G). Việc xác định sản phẩm nhân bản mang nucleotide loại nào tại vị trí SNP được thực hiện bằng 2 mẫu dò TaqMan trong phản ứng real-time PCR; một mẫu dò có reporter là FAM bắt cặp hoàn chỉnh với vùng gene mang nucleotide T; mẫu dò còn lại có reporter là HEX thì bắt cặp hoàn chỉnh với vùng gene mang nucleotide G. Nếu màu huỳnh quang FAM thu nhận được từ tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được kết luận là có mang allele T tại vị trí SNP (đồng hợp tử TT). Ngược lại, nếu màu huỳnh quang HEX thu nhận được từ tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được kết luận là có mang allele G (đồng hợp tử GG). Trong trường hợp cả hai màu huỳnh quang đều được phát hiện ở tube phản ứng, mẫu DNA xét nghiệm được kết luận là mang cả 2 allele (dị hợp tử TG).

Độ nhạy được định nghĩa là hàm lượng DNA bộ gene người thấp nhất mà phản ứng real-time PCR cho tín hiệu dương tính. Độ nhạy của phương pháp real-time PCR xác định kiểu gene SNP rs12979860 và rs8099917 được công bố là 0.05 ng và hoạt động ổn định từ 0.5 ng DNA bộ gene trở lên.

Tín hiệu huỳnh quang không đặc hiệu thường xuất hiện trong phản ứng real-time PCR khi sử dụng một lượng lớn DNA bộ gene (100-500 ng), bao gồm 2 trường hợp: (1) Màu FAM xuất hiện vượt ngưỡng khi sử dụng mẫu DNA có genotype là CC/rs12979860 hay TT/rs8099917. (2) Màu HEX xuất hiện vượt ngưỡng khi sử dụng mẫu DNA có genotype là TT/rs12979860 hay GG/rs8099917. Phương pháp real-time PCR xác định kiểu gene SNP rs12979860 và rs8099917 hoạt động đặc hiệu khi lượng DNA bộ gene sử dụng dao động trong khoảng 0.05-500 ng.

2.5. Phương pháp thống kê

Phương pháp thống kê mô tả và một số kiểm định thống kê được sử dụng để đánh giá đặc điểm quần thể mẫu và tỷ lệ các điểm đa hình bằng phần mềm SPSS 20.0. Sự cân bằng của các điểm đa hình trong quần thể được đánh giá bằng định luật Hardy-Weinberg

(<http://scienceprimer.com/hardy-weinberg-equilibrium-calculator>).

3. KẾT QUẢ

3.1. Thông tin mẫu

Trong tổng số 83 mẫu máu toàn phần của bệnh nhân nhiễm virus viêm gan C đã thu thập có 41 (49,4%; 95%CI, 38,6-61,4%) mẫu thu từ bệnh nhân nam và 42 (50,6%; 95%CI, 38,6-61,4%) mẫu thu từ bệnh nhân nữ. Tỷ lệ nam nữ trong nghiên cứu là bình thường ($p = 1,000$) với phép kiểm tỷ lệ nhị thức (One Sample Binomial Test).

Tuổi trung bình của các bệnh nhân là $43,9 \pm 12,5$ (95%CI, 40,3-47,1); phân bố từ 17 đến 72 tuổi. Trong đó, tuổi trung bình của bệnh nhân nam là $42,3 \pm 12,1$ (95%CI, 38,4-45,8); phân bố từ 20 đến 72 tuổi và tuổi trung bình của bệnh nhân nữ là $45,5 \pm 12,8$ (95%CI, 41,4-48,6); phân bố từ 17 đến 65 tuổi. Phân bố tuổi của bệnh nhân là bình thường ($p = 0,839$) giữa hai nhóm giới tính với phép kiểm tỷ lệ Kolmogorov-Smirnov (One sample Kolmogorov-Smirnov Test).

3.2. Điểm đa hình di truyền rs12979860

Tần số và tỷ lệ điểm đa hình rs12979860 được xác định như Bảng 1.

Bảng 1. Tần số và tỷ lệ điểm đa hình rs12979860

rs12979860	Nam		Nữ		≤ 40 tuổi		> 40 tuổi		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CC	33	80,5	36	85,7	32	88,9	37	78,8	69	83,1
CT	8	19,5	4	9,5	4	11,1	8	17,0	12	14,5
TT	0	0	2	4,8	0	0	2	4,3	2	2,4
Tổng	41	100	42	100	36	100	47	100	83	100

Ghi chú: n = tần số; % = tỷ lệ

Tỷ lệ allele C (0,9036) và T (0,0964) của điểm đa hình rs12979860 phù hợp với sự cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg với $p = 0,1214$ ($> 0,05$). Tỷ lệ kiểu gene CC chiếm đa số (83,1%; 95%CI, 74,7-90,2%), còn lại là kiểu gene CT (14,5%; 95%CI, 7,4-24,0%) và TT (2,4%; 95%CI, 0,0-6,0%). Phân tích tỷ lệ phân bố các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 giữa hai giới tính cũng cho thấy kết quả phân bố không khác biệt về thống kê ($p = 0,604$) khi sử dụng phép kiểm Mann-Whitney với các mẫu độc lập. Tương tự, với hai nhóm tuổi (≤ 40 và > 40 tuổi), sự phân bố các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 cũng không khác biệt thống kê ($p = 0,203$) khi sử dụng phép kiểm tương tự.

3.3. Điểm đa hình di truyền rs8099917

Tần số và tỷ lệ điểm đa hình rs8099917 được xác định như Bảng 2.

Bảng 2. Tần số và tỷ lệ điểm đa hình rs8099917

rs8099917	Nam		Nữ		< 40 tuổi		≥ 40 tuổi		Tổng	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TT	32	78,0	36	85,7	32	88,9	36	76,6	68	81,9
TG	9	22,0	4	9,5	4	11,1	9	19,1	13	15,7
GG	0	0	2	4,8	0	0	2	4,3	2	2,4
Tổng	41	100	42	100	36	100	47	100	83	100

Ghi chú: n = tần số; % = tỷ lệ

Tỷ lệ allele T (0,8976) và G (0,1024) của điểm đa hình rs8099917 phù hợp với sự cân bằng theo định luật Hardy-Weinberg với $p = 0,1774$ ($>0,05$). Tỷ lệ kiểu gene TT chiếm đa số (81,9%; 95%CI, 70,0-89,0%), còn lại là kiểu gene TG (15,7%; 95%CI, 7,4-25,2%) và GG (2,4%; 95%CI, 0,0-7,2%). Phân tích tỷ lệ phân bố các kiểu gene của điểm đa hình rs8099917 giữa hai giới tính cũng cho thấy kết quả phân bố không khác biệt về thống kê ($p = 0,437$) khi sử dụng phép kiểm Mann-Whitney với các mẫu độc lập. Tương tự, với hai nhóm tuổi (≤ 40 và >40 tuổi), sự phân bố các kiểu gene của điểm đa hình rs8099917 cũng không khác biệt thống kê ($p = 0,137$) khi sử dụng phép kiểm tương tự.

3.4. Tổ hợp điểm đa hình di truyền rs12979860 và rs8099917

Tần số và tỷ lệ tổ hợp các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 được xác định như Bảng 3.

Bảng 3. Tần số (n) và tỷ lệ (%) tổ hợp điểm đa hình rs12979860 và rs8099917

Tổ hợp	rs8099917		
	TT, n (%)	TG, n (%)	GG, n (%)
rs12979860	CC 68 (81,9%)	1 (1,2%)	0
	CT 0	12 (14,5%)	0
	TT 0	0	2 (2,4%)

Ghi chú: n = tần số; % = tỷ lệ

Phân tích tần số tổ hợp các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 cho thấy chúng có khuynh hướng luôn đi cùng nhau như CC/TT, CT/TG và TT/GG, với $p < 0,0001$ (Fisher's Exact Test). Tổ hợp CC/TT chiếm tỷ lệ cao nhất (81,9%), kế đến là tổ hợp CT/TG (14,5%) và TT/GG (2,4%). Tổ hợp CC/TG chiếm tỷ lệ thấp nhất (1,2%). Không thấy sự xuất hiện của các tổ hợp CC/GG, CT/TT, CT/GG, TT/TT và TT/TG.

4. BÀN LUẬN

Các điểm đa hình di truyền (SNP) có vai trò trong sự đáp ứng thuốc cũng như khả năng điều trị khỏi bệnh. Đối với bệnh nhân nhiễm HCV mạn, một số điểm đa hình như rs12979860 và rs8099917 đã cho thấy khả năng tiên lượng thành công trong điều trị. Tại vị trí rs12979860, allele C đồng hợp liên quan đến đáp ứng điều trị bền vững (sustained virological response, SVR) khi so sánh với trạng thái dị hợp hoặc đồng hợp của allele T. Tại vị trí rs8099917, khi so sánh với allele T, trạng thái dị hợp hay đồng hợp của allele G liên quan đến nguy cơ tăng cao không đáp ứng với liệu pháp điều trị.

Nghiên cứu này đã xác định được tỷ lệ các kiểu gene của hai điểm đa hình rs12979860 và rs8099917, chủ yếu là kiểu gene CC/TT chiếm 81,9%; còn lại là kiểu gene CT/TG (14,5%) và TT/GG (2,4%). Theo nghiên cứu của Phạm Bá Chung (2015), khi xác định kiểu gen IL28B tại vị trí rs12979860 có kết quả như sau: kiểu gen CC chiếm tỷ lệ cao nhất (78,36%), kế đến là kiểu gen CT (20,90%) và kiểu gen TT có tỷ lệ thấp nhất (0,75%). Năm 2012, Phạm Hoàng Phiệt và cộng sự xác định kiểu gene IL28B. Kết quả: CC (78%), CT (20%), TT (2%). Cũng trong năm này, tác giả Nguyễn Bảo Toàn công bố kết quả tần suất IL28B ở 239 bệnh nhân: CC 77%, CT 22% và TT 1%. Có sự phù hợp giữa kết quả nghiên cứu của chúng tôi với các tác giả khác tại Việt Nam. Tuy nhiên, chưa có sự phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả phương Tây, sự khác biệt này có thể là do sự khác biệt về chủng tộc.

Tỷ lệ các kiểu gene trên cho thấy đa số trong quần thể bệnh nhân được khảo sát, người có kiểu gene dự đoán đáp ứng tốt với thuốc chiếm đa số. Để xác định tỷ lệ này có phù hợp với điều trị thực tế, cần có những nghiên cứu theo dõi xa hơn để đánh giá, nhằm khẳng định vai trò của những điểm đa hình này trong việc tiên lượng điều trị ở bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C mạn ở Việt Nam, như một số nghiên cứu khác trên thế giới đã cho thấy sự nhân lên của virus viêm gan siêu vi C có liên quan đến các kiểu gene của những điểm đa hình trên gen IL28B [10, 11]. Bên cạnh đó, kiểu gene CC của điểm đa hình rs12979860 cũng cho thấy liên quan đến tỷ lệ thấp trong đáp ứng điều trị bền vững ở bệnh nhân Mê-hi-cô nhiễm virus viêm gan siêu vi C genotype 1 khi điều trị với peg-IFN α và ribavirin [12].

Nghiên cứu của chúng tôi có một số giới hạn là chỉ

thuần túy đánh giá tỷ lệ các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860 và rs8099917, không xác định kiểu gene cũng như tải lượng của virus viêm gan siêu vi C khi bệnh nhân lần đầu tiên được tiếp nhận. Vì thế, không đánh giá được mối liên hệ giữa các yếu tố này với các kiểu gene của các điểm đa hình đang nghiên cứu. Như trong nghiên cứu của Lene và cs [13] cho thấy người mang kiểu gene CC có tải lượng virus viêm gan siêu vi C, trong lần đầu tiên đánh giá, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với người mang kiểu gene TC và TT đối với điểm đa hình rs12979860. Cũng trong nghiên cứu của Lene, tỷ lệ các kiểu gene của điểm đa hình rs12979860, nghiên cứu trên quần thể người da trắng, khác với kết quả của chúng tôi, với tỷ lệ các kiểu gen CC, CT và TT lần lượt là 37% 52% và 11%. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy trong quần thể khảo sát, các kiểu gene của hai điểm đa hình quan sát, rs12979860 và rs8099917, có khuynh hướng đi cùng nhau (CC/TT, CT/TG và TT/GG). Điều đó chỉ rõ rằng chỉ cần quan sát một trong hai điểm đa hình khi cần tiên lượng khả năng thành công của phác đồ điều trị.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được tỷ lệ các điểm đa hình rs12979860 và rs8099917 như sau. Tần số và tỷ lệ SNP rs12979860 là CC (83,1%), CT (14,5%) và TT (2,4%). Tần số và tỷ lệ rs8099917 là TT (81,9%), TG (15,7%) và GG (2,4%). Tần số và tỷ lệ tổ hợp các kiểu allele của SNP rs12979860 và rs8099917 lần lượt là CC/TT (81,9%), CT/TG (14,5%) và TT/TG (2,4%). Bệnh nhân có kiểu allele đồng hợp tử có khả năng đáp ứng tốt với điều trị bằng interferon chiếm đa số (81,9%). Kết quả này là nền tảng cho những nghiên cứu xa hơn về vai trò của các điểm đa hình này trong quần thể bệnh nhân nhiễm virus viêm gan siêu vi C đang điều trị với những phác đồ khác nhau và kiểu gene virus khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO | Hepatitis C (n.d.). WHO. Available. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/index.html>.
2. Tsubota, A., et al., *Peginterferon and ribavirin treatment for hepatitis C virus infection*. World J Gastroenterol, 2011. 17(4): p. 419-32.
3. Tencate, V., et al., *Potential treatment options and future research to increase hepatitis C virus treatment response rate*. Hepat Med, 2010. 2010(2): p. 125-145.
4. Ghany, M.G., et al., *Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update*. Hepatology, 2009. 49(4): p. 1335-74.
5. Ge, D., et al., *Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance*. Nature, 2009. 461(7262): p. 399-401.
6. Chen, Y., et al., *Meta-analysis: IL28B polymorphisms predict sustained viral response in HCV patients treated with pegylated interferon-alpha and ribavirin*. Aliment Pharmacol Ther, 2012. 36(2): p. 91-103.
7. Thomas, D.L., et al., *Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus*. Nature, 2009. 461(7265): p. 798-801.
8. Rauch, A., et al., *Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study*. Gastroenterology, 2010. 138(4): p. 1338-45, 1345 e1-7.
9. Noureddin, M., et al., *Association of IL28B genotype with fibrosis progression and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C: a longitudinal analysis*. Hepatology, 2013. 58(5): p. 1548-57.
10. McCarthy, J.J., et al., *Replicated association between an IL28B gene variant and a sustained response to pegylated interferon and ribavirin*. Gastroenterology, 2010. 138(7): p. 2307-14.
11. Labarga, P., et al., *Association between IL28B gene polymorphisms and plasma HCV-RNA levels in HIV/HCV-co-infected patients*. AIDS, 2011. 25(6): p. 761-6.
12. Martinez-Gomez, L.E., et al., *IL28B polymorphisms predict the response to chronic hepatitis C virus infection treatment in a Mexican population*. Ann Hepatol, 2012. 11(6): p. 876-81.
13. Lundbo, L.F., et al., *Influence of hepatitis C virus and IL28B genotypes on liver stiffness*. PLoS One, 2014. 9(12): p. e115882.

