

# Polimorfizam interleukina 28B u osoba s kroničnim hepatitisom C u Hrvatskoj

**Ivana GRGIĆ<sup>1</sup>**, dr. sc., mag. molekularne biologije, znanstveni suradnik  
**Lana GORENEC<sup>1</sup>**, dr. sc., mag. molekularne biologije, poslijedoktorand  
**Martina GAŠPAR<sup>1</sup>**, mag. molekularne biologije  
**Mia ČERINA<sup>1</sup>**, mag. molekularne biologije  
**Ana PLANINIĆ<sup>1</sup>**, dr. sc., mag. molekularne biologije, poslijedoktorand  
**Maja TRUPKOVIĆ<sup>1</sup>**, mag. molekularne biologije, znanstveni novak  
**Adriana VINCE<sup>1</sup>**, prof. dr. sc., dr. med., specijalist infektologije i citologije  
**Snježana ŽIDOVEC LEPEJ<sup>1</sup>**, doc. dr. sc., mag. molekularne biologije, znanstveni savjetnik

<sup>1</sup>Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb

## Ključne riječi

kronični hepatitis C  
 interleukin 28B  
 trajni virusološki odgovor  
 polimorfizam jednog nukleotida

## Key words

chronic hepatitis C  
 interleukin 28B  
 sustained virological response  
 single nucleotide polymorphism

**Primljeno:** 2016-05-12

**Received:** 2016-05-12

**Prihvaćeno:** 2016-06-10

**Accepted:** 2016-06-10

Znanstveni rad

Polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP) rs12979860 u blizini promotora gena za interleukin-28B (IL-28B) tj. genotipizacija IL-28B povezana je s prirodnim tijekom infekcije virusom hepatitisa C kao i s odgovorom na antivirusno i imunomodulacijsko liječenje kombinacijom pegiliranog interferona alfa i ribavirina (tzv. dvojna terapija). U eri direktno djelujućih antivirusnih lijekova genotip IL-28B više nije značajan prediktor ishoda liječenja no i dalje je važan parametar koji određuje prirodni tijek povijesti HCV infekcije. U zemljama koje nemaju univerzalni pristup novim terapijskim opcijama genotipizacija IL-28B i dalje se primjenjuje u pred-terapijskoj obradi bolesnika koji se liječe dvojnog terapijom. Cilj ovog rada bio je analizirati rezultate genotipizacije IL-28B (udio homozigota za T i C alel te heterozigota) u 595 bolesnika s kroničnim hepatitisom C koji su bili uključeni u kliničku skrb Zavoda za virusni hepatitis Klinike za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu od siječnja 2013. do prosinca 2015. g. SNP rs12979860 detektiran je metodom lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu. Analiza SNP-a rs12979860 u genu za IL-28B pokazala je da su 335 od 595 (56,3 %) ispitanika bili CT heterozigoti, 173 od 595 ispitanika (29,1 %) C homozigoti i 87 od 595 ispitanika (14,6 %) T homozigoti. Distribucija C i T alela u SNP-u rs12979860 gena za IL-28B sukladni su literaturnim podatcima analize prevalencije ovih alela u osoba bijele rase europskog porijekla.

## Interleukin-28B polymorphism in persons with chronic hepatitis C in Croatia

Scientific paper

Single nucleotide polymorphism (SNP) rs12979860 in the promotor region of the gene coding for interleukin-28B (IL-28B) is associated with the natural history of hepatitis C virus (HCV) infection and response to antiviral and immunomodulatory therapy with combination of pegylated interferon alpha and ribavirin (dual therapy). Despite the fact that the predictive role IL-28B genotyping is decreasing in the era of highly successful direct acting antiviral (DAA)-based treatment, it remains to be useful as a tool for predicting a natural course of HCV infection. In resource-limited settings with restricted access to new treatment options IL-28B polymorphism typing is still a part of pre-treatment workup before admission of dual therapy. The aim of this study was to analyse the results of IL-28B genotyping (percentages of C and T homozygotes and heterozygotes) for 595 Caucasian patients with chronic hepatitis C receiving clinical care at the Department of Viral Hepatitis of the University Hospital for Infectious Diseases, Zagreb and Croatian Reference Center for Viral Hepatitis since January 2013 till December 2015. Detection of single nucleotide polymorphism (SNP) rs12979860 was determined by using a real-time PCR test. Analysis of rs12979860 SNP in the IL-28B gene showed that 335 of 595 (56.3 %) patients were CT heterozygotes, followed by C homozygotes (173 of 595 patients, 29.1 %) whereas T homozygotes were the least frequent (87 of 595 patients, 14.6 %). The patterns of IL-28 polymorphism in Croatian patients with chronic hepatitis C is in accordance with other results for Caucasians.

## Uvod

IL-28B ili interferon-lambda 3 (IFN- $\lambda$ 3) je citokin iz porodice IFN tipa III tj. IFN- $\lambda$  koji se klasificiraju u superporodicu IL-10 i njemu sličnih citokina iako su u funkcionalnom smislu značajnije povezani s IFN klase I [1, 2]. U porodicu IFN- $\lambda$  ubrajaju se i citokini IL-29 (IFN- $\lambda$ 1) i IL-28A (IFN- $\lambda$ 2). Interferoni tipa I i III sintetiziraju se u stanicama nakon virusne infekcije i iskazuju snažan indirektan antivirusni učinak koji je posredovan interferonima-inducibilnim antivirusnim proteinima [1, 2].

Polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP) predstavlja najčešći oblik varijacije u odsječku DNK. Genomska i klinička istraživanja pokazala su značajnu povezanost između prisutnosti SNP-a rs12979860 i rs809917 koji se nalaze 3kb uzvodno od gena za IL-28B na kromosomu broj 19 i učestalosti spontane eliminacije virusa tijekom akutne infekcije kao i ishoda liječenja kroničnog hepatitisa C kombinacijom pegiliranog interferona alfa (PEG IFN- $\alpha$ ) i ribavirina tj. dvojnog terapijom. Navedene spoznaje rezultat su četiri neovisna GWAS istraživanja (engl. *Genome-Wide Association Studies*, GWAS) koja su objavljena 2009. i 2010. godine [3, 4, 5, 6].

Analiza ekspresije pojedinih alela u SNP-u rs12979860 gena za IL-28B dokazala je značajno veću učestalost spontane eradikacije virusa tijekom akutne infekcije HCV-om u C homozigota u usporedbi s T homozigotima ili heterozigotima [7]. Pretpostavlja se da je aktivnost promotora gena za IL-28B značajno veća u C homozigota za SNP rs12979860 te da povećana endogena koncentracija ovog citokina, vjerojatno u kombinaciji s IFN klase I, iskazuje vrlo snažan antivirusni učinak koji je povezan s većom učestalosti spontane eradikacije virusa [3].

Thomson i sur. (2010) dokazali su značajno veći postotak trajnog virusološkog odgovora (engl. *sustained virologic response*, SVR) u C homozigota bijele rase s kroničnim hepatitisom C genotipa 1 liječenih kombinacijom PEG IFN- $\alpha$  i ribavirina u usporedbi s heterozigotima i T homozigotima (69 % vs. 33 % i 27 %;  $P < 0,0001$ ) [8]. Značajne razlike u postotku postizanja SVR-a tijekom dvojne terapije obzirom na ekspresiju C i T alela u SNP-u rs12979860 gena za IL-28B dokazana je i u Afroamerikanaca i Hispanoamerikanaca [8]. Rezultati multivarijantne analize pokazali su da je IL-28B CC genotip najznačajniji prediktor SVR-a (OR 5,2, 95 % CI 95 %, 4,1–6,7) [8].

Prediktivna vrijednost polimorfizma rs12979860 IL-28B za postizanje SVR-a tijekom dvojne terapije u bolesnika s kroničnim hepatitisom C genotipa 2 i 3 dokazana je samo u onih bolesnika koji nisu postigli rani virusološki odgovor tijekom liječenja (definiran kao nemjerljiva viremija nakon 4 tjedna liječenja) [9]. Dosadašnja istraživanja pokazala su da je polimorfizam gena za IL-28B bolji prediktor SVR-a nakon dvojne terapije u usporedbi s viremijom u serumu prije početka liječenja, stupnjem fi-

broje, dobi i spolom bolesnika [8, 9, 10]. Biološka i klinička značajnost genotipa IL-28B dokazana je i u bolesnika s HIV/HCV koinfekcijom [11, 12].

Distribucija polimorfizma IL-28B kao i frekvencije alela C i T razlikuju se s obzirom na rasu. Alel C češći je u osoba iz Istočne Azije i bijelaca europskog porijekla dok je alel T češći u osoba crne rase. C homozigoti najčešći su u Azijata, manje zastupljeni u osoba bijele rase, a vrlo rijetki u crnaca [3, 7, 13]. Stoga se pretpostavlja da je razlika u zastupljenosti C homozigota za SNP rs12979860 kao najpovoljnijeg prediktora ishoda liječenja dvojnog terapijom jedan od razloga razlike u uspješnosti liječenja obzirom na rasu koje su opažene i prije otkrića genotipa IL-28B [7, 13].

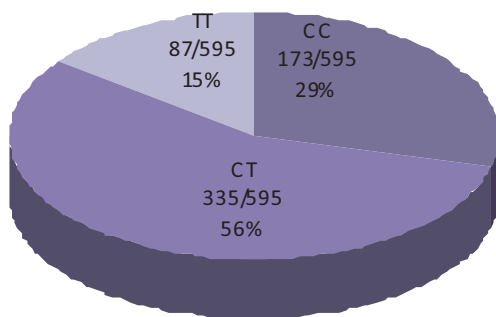
Dijagnostička vrijednost polimorfizma IL-28B kao prediktora SVR-a dokazana je i u bolesnika liječenih kombinacijom PEG IFN- $\alpha$  i ribavirina te prve generacije direktno djelujućih antivirusnih lijekova (DAA) tj. boceprevira i telaprevira [10, 16]. Suvremeno liječenje kroničnog hepatitisa C koje se temelji na kombinaciji DAA bez interferona (tzv. IFN-free terapijski protokoli) omogućuje postizanje SVR-a u >95 % bolesnika te novije preporuke EASL-a više ne predviđaju primjenu genotipa IL-28B kao prediktora ishoda liječenja [17]. Stoga se detekcija genotipa IL-28B danas primjenjuje u predterapijskoj obradi bolesnika samo u zemljama s ograničenim pristupom novim terapijskim opcijama no ostaje i dalje značajan u istraživanjima imunopatogeneze kroničnog hepatitisa C [17].

Detekcija SNP rs12979860 u genu za IL-28B u Klinici za infektivne bolesti uvedena je tijekom studenog 2012. g., sukladno tada važećim preporukama EASL (*European Association for the Study of the Liver*) kao obvezni dio predterapijske obrade bolesnika kod kojih je planirano liječenje kombinacijom PEG IFN- $\alpha$  i ribavirina [14]. Cilj ovog rada je analizirati rezultate genotipizacije IL-28B u bolesnika s kroničnim hepatitisom C liječenih u Klinici za infektivne bolesti u Zagrebu te odrediti distribuciju C i T alela u SNP rs12979860.

## Materijali i metode

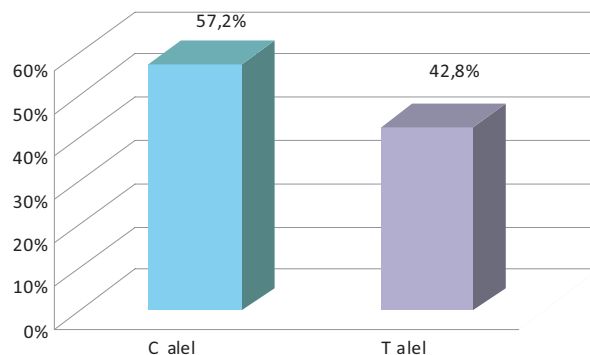
U istraživanje je uključeno 595 bolesnika (bijelci iz Hrvatske, 594/595; 99,8 %) s kroničnim hepatitisom C koji su liječeni u Zavodu za virusni hepatitis Klinike za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" u Zagrebu i u Referentnom centru za dijagnostiku i liječenje virusnih hepatitisa Ministarstva zdravlja Republike Hrvatske u razdoblju od siječnja 2013. do prosinca 2015. g.

Genomska DNK izolirana je iz uzorka periferne krvi s antikoagulantom K<sub>3</sub>EDTA pomoću standardiziranog kompleta reagensa Qiagen Blood Mini kit (QIAGEN, Hilden, Njemačka). SNP rs12979860 u genu za IL-28B određen je metodom lančane reakcije polimerazom u



**Slika 1.** Polimorfizam SNP-a rs12979860 u promotoru gena za IL-28B bolesnika s kroničnim hepatitisom C: zastupljenost homozigota i heterozigota

**Figure 1.** SNP polymorphism rs12979860 in a promoter of IL-28B gene in patients with chronic hepatitis C: homozygote and heterozygous frequency



**Slika 2.** Frekvencije alela C i T polimorfizma jednog nukleotida rs12979860 u promotoru gena za IL-28B bolesnika s kroničnim hepatitisom C

**Figure 2.** Frequencies of C and T alleles of single nucleotide polymorphism rs12979860 in a promoter of IL-28B gene in patients with chronic hepatitis C

stvarnom vremenu (eng. *real-time polymerase chain reaction*, PCR) primjenom testa IL28B LightMix® Kit IL28B rs12979860 (TIB Molbiol, Berlin, Njemačka) uz reagens LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe (Roche Diagnostics, Njemačka) prema preporukama proizvođača.

## Rezultati

Distribucija C i T alela u SNP-u rs12979860 u genu za IL-28B analizirana je u 595 bolesnika (351/595, 59 % muškaraca i 244/595, 41 % žena) s kroničnim hepatitisom C genotipa 1 (srednja vrijednost dobi 49 g,  $SD \pm 12,45$ ).

Ukupno 335 od 595 ispitanika (56,3 %) bili su CT heterozigoti za SNP rs12979860 u promotoru gena za IL-28B. Ukupno 173 od 595 ispitanika (29,1 %) bili su C homozigoti, a 87 od 595 ispitanika (14,6 %) T homozigoti (Slika 1).

Učestalost CT heterozigota te C ili T homozigota bila je slična u oba spola. U skupini ispitanika muškog spola ( $n=351$ ), 186 ispitanika su bili heterozigoti (53,0 %), 104 C homozigoti (29,6 %), a 61 ispitanik bio je T homozigot (17,4 %). U osoba ženskog spola ( $n=244$ ), 149 ispitanica bile su heterozigoti (61,0 %), 69 C homozigoti (28,3 %), a 26 T homozigoti (10,7 %).

Ukupna frekvencija alela C u bolesnika s kroničnim hepatitisom C iznosila je 57,2 %, a frekvencija alela T ukupno 42,8 % (Slika 2).

## Rasprava

Rezultati ovog istraživanja zastupljenosti C i T alela u SNP rs12979860 u genu za IL-28B bolesnika s kroničnim

hepatitisom C pokazali su da prevladavaju CT heterozigoti a zatim slijede C homozigoti dok je T homozigota vrlo malo (zastupljeni s oko 15,1 %).

Brojni literaturni podatci pokazuju da je stvaranje snažnog specifičnog imunološkog odgovora domaćina na infekciju HCV-om jedan od najvažnijih čimbenika koji, uz čimbenike virusa i epidemiološke parametre, određuje ishod akutne infekcije u smislu perzistencije ili eradikacije virusa. Varijacije u regulaciji ekspresije gena koji kodiraju sintezu bioloških regulatora imunološkog sustava mogu biti povezane s vjerojatnošću eradikacije HCV-a tijekom akutne infekcije. Upravo je SNP rs12979860 u genu za IL-28B važan parametar prirodne povijesti HCV infekcije te jedan od najbolje karakteriziranih čimbenika povezanih s vjerojatnošću spontane eradikacije HCV infekcije.

Thomas i sur. su 2009. g. analizirali mogući učinak varijacija u SNP rs12979860 gena za IL-28B u 388 osoba kod kojih je dokazana eradikacija virusa tijekom akutne faze infekcije te 620 osoba s kroničnom HCV infekcijom [7]. Dokazali su da kod C homozigota za SNP rs12979860 dolazi do češćeg spontanog izlječenja u odnosu na osobe koje su heterozigoti ili T homozigoti [7]. Stoga je analiza zastupljenosti C i T alela u SNP rs12979860 u genu za IL-28B u određenim populacijama i etničkim skupinama značajna za razumijevanje prirodne povijesti HCV infekcije te uloge genetskih varijanti u interferonskim genima s imunopatogeneom kroničnog hepatitisa C.

Distribucija genotipova IL-28B za SNP rs12979860 razlikuje se u pojedinim rasama i etničkim skupinama. Melis i sur. su 2010. g. usporedili učestalost T i C homozigote kao i CT heterozigota u bijelaca, Azijata, osoba porijeklom s Bliskog istoka, Latinoamerikanaca te Afroamerikanaca. C homozigoti bili su najčešći u populaciji Azijata (79 %), dok je T homozigota najviše bilo među Afroameri-

kancima (57 %). U populaciji bijelaca najčešći su bili heterozigoti, slijedili su ih C homozigoti, najmanje je bilo homozigota [20].

Rezultati istraživanja distribucije C i T alela SNP-a rs12979860 gena za IL-28B koje je provedeno u Hrvatskoj u skladu su s rezultatima Melis i sur. (2010).

Razlike u distribuciji C i T alela u SNP-a rs12979860 gena za IL-28B u pojedinim rasama djelomično su objasnile i razliku u vjerojatnosti postizanja SVR-a u osoba crne i bijele rase tijekom dvojne terapije kombinacijom PEG IFN- $\alpha$  i ribavirina. Naime, Ge i sur. su 2009. g. objavili jedno od četiri GWAS istraživanja u kojem su dokazali da je vjerojatnost postizanja SVR-a dvostruko veća u bolesnika s genotipom CC u odnosu na bolesnike s genotipom CT ili TT gena za IL-28B [3]. U tom su istraživanju autori također pokazali da je genotip CC češći u bijelaca nego osoba crne rase što se može povezati s manjom vjerojatnosti postizanja SVR-a u osoba crne rase primjenom dvojne terapije [3]. Navedene rezultate potvrdili su Thompson i sur. 2010. g. u analizi prediktora ishoda liječenja dvojnog terapijom u bolesnika s kroničnim hepatitisom C genotipa 1. Autori su dokazali da je čak 69 % C homozigota bijele rase postiglo SVR dok je uspješnost liječenja u heterozigota (33 %) i T homozigota (27 %) za SNP rs12979860 bila značajno niža [8]. U bolesnika crne rase, SVR je postignut u 48 % C homozigota, 15 % heterozigota i 13 % T homozigota za SNP rs12979860. Ovo je istraživanje pokazalo da su prethodno opisani značajno niži postotci SVR-a u bolesnika s kroničnim hepatitisom C crne rase u usporedbi s bolesnicima bijele rase nedvojbeno povezani sa značajno nižom učestalosti rs12979860 C homozigota u osoba crne rase [8].

Istraživanje koje su Tanaka i sur. (2009) proveli u Azijata (iz Japana) s kroničnim hepatitisom C genotipa 1 također je dokazalo da SNP gena za IL-28B utječe na vjerojatnost postizanja SVR-a. Uz to, autori su metodom kvantitativnog PCR-a analizirali količinu mRNA koja nastaje transkripcijom pojedinih interferonskih gena bolesnika. Dokazali su značajno veću ekspresiju gena za IL-28B u osoba s CC genotipom u odnosu na osobe s TT ili CT genotipom što je u skladu s hipotezom da povećana endogena sinteza IL-28B te sinergistički učinak s drugim endogenim interferonskim molekulama povoljno utječe na mogućnost eradikacije virusa [6].

Uloga polimorfizma u promotoru gena za IL-28 u imunopatogenezi bolesti te ishodu antivirusnog liječenja analiziran je i u osoba zaraženih virusom humane imunodefijencije (HIV) i virusom hepatitisa B (HBV).

Martin i sur su 2010. g. analizirali moguću važnost polimorfizma promotora gena za IL-28B u HBV infekciji genetičkom analizom 226 bolesnika s kroničnim hepatitisom B koji su bili uključeni u observacijska klinička istraživanja (HbsAg-pozitivne osobe u najmanje dva testiranja u razmaku od 6 mjeseci) te 384 osoba s prošlom infekcijom (anti-HBc- i anti-HBs pozitivne, HBsAg-nega-

tivne osobe u najmanje dva testiranja u razmaku od 6 mjeseci) no nije bilo statistički značajne razlike u postotku C homozigota u ove dvije skupine ispitanika (64,6 % vs. 63,7 %,  $p=0,76$ ) [19].

Machmach i sur. su 2013. g. analizirali domaćinske mehanizme koji su povezani s dugotrajnom spontanom kontrolom virusne replikacije u HIV-om zaraženih osoba ( $n=53$ ) u usporedbi s 389 HIV-om zaraženih osoba s uobičajenim tijekom progresije HIV-bolesti [20]. Dugotrajna spontana kontrola replikacije HIV-a bila je statistički značajno povezana s CC genotipom SNP-a rs12979860 u promotoru gena za IL-28B (omjer izgleda tj. engl. *odds ratio*, OR 2,669;  $P=0,017$ ), ženski spol (OR, 7,077;  $P\leq 0,001$ ) i ekspresijom HLA-B57 i/ili B27 alela (OR, 3,080;  $P=0,017$ ) [20].

Parczewski i sur. pokazali su 2012. g. u studiji provedenoj na 484 HIV-pozitivne osobe da je genotip CC povezan s višim mortalitetom (46 od 202 osobe s CC genotipom su preminule) u odnosu na heterozigote (31 od 225 osoba je preminula) te osobe s TT genotipom (7 od 57 osoba je preminulo) [21].

Prokunina-Olsson i sur. su pokazali da regija u kojoj je smješten polimorfizam rs12979860 regulira sintezu gena za još jedan citokin tj. interferon-lambda 4 (IFN- $\lambda 4$ ) te predložili da se za opis SNP-a koristi naziv "genotip IFN- $\lambda 4$ " što za sada nije šire prihvaćeno [22].

Distribucija C i T alela SNP-a rs12979860 u promotoru gena za IL-28B u bolesnika s kroničnim hepatitisom C iz Hrvatske uobičajena je za pripadnike bijele rase s dominacijom C homozigota te malom zastupljenosti T homozigota. Literaturni podatci nedvojbeno ukazuju da je polimorfizam SNP-a rs12979860 u promotoru gena za IL-28B jedan od ključnih čimbenika domaćina koji utječe na prirodnu povijest HCV infekcije.

## Literatura

- [1] Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV i sur. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol.* 2003;4(1):69–77.
- [2] Vilcek J. Novel interferons. *Nat Immunol.* 2003;4(1):8–9.
- [3] Ge D, Fellay J, Thompson AJ i sur. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature* 2009; 461: 399–401.
- [4] Rauch A, Kutalik Z, Descombes P i sur. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology* 2010; 138: 1338–45.
- [5] Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G i sur. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet.* 2009;41(10):1100–4.
- [6] Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M i sur. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009; 41: 1105–9.

- [7] Thomas DL, Thio CL, Martin MP i sur. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature* 2009; 461: 798–801.
- [8] Thompson AJ, Muir AJ, Sulkowski MS i sur. Interleukin-28B polymorphism improves viral kinetics and is the strongest pretreatment predictor of sustained virologic response in genotype 1 hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2010; 139: 120–9.
- [9] Mangia A, Thompson AJ, Santoro R i sur. An IL28B polymorphism determines treatment response of hepatitis C virus genotype 2 or 3 patients who do not achieve a rapid virological response. *Gastroenterology* 2010; 139: 821–7.
- [10] Lange CM, Zeuzem S. IL28B single nucleotide polymorphism in the treatment of hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 55: 692–701.
- [11] Rallón NI, Soriano V, Naggie S i sur. Impact of IL28B gene polymorphisms on interferon- $\alpha$ 3 plasma levels during pegylated interferon- $\alpha$ /ribavirin therapy for chronic hepatitis C in patients coinfecting with HIV. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 1246–9.
- [12] Sticchi L, Di Biagio A, Sartini M i sur. Ligurian HIV Network. Genetic polymorphisms of IL28b gene as predictors of response to dual therapy in genotypes 1 and 4-HCV and HIV/HCV-infected patients. *New Microbiol.* 2015;38(4):499–509.
- [13] Wu LS, Wang H, Geng XP. Two IL28B polymorphisms are associated with the treatment response of different genotypes of hepatitis C in different racial populations: A meta-analysis. *Exp Ther Med.* 2012; 3(2): 200–206.
- [14] European Association of the Study of the Liver. 2011 European Association of the Study of the Liver hepatitis C virus clinical practice guidelines. *Liver Int.* 2012;32 Suppl 1:2–8.
- [15] Vince A, Iscic-Bes J, Zidovec-Lepej S i sur. Distribution of Hepatitis C Virus Genotypes in Croatia – A 10 Year Retrospective Study of Four Geographic Regions. *Coll. Antropol.* 2006;30 (Suppl. 2):139–143.
- [16] Ghany MG, Nelson DR, Strader DB i sur. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association of the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54: 1433–44.
- [17] European Association for Study of Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2015. *J Hepatol* 2015;63(1):199–236.
- [18] Melis C, Fauron G, McMillin E i sur. Simultaneous Genotyping of rs12979860 and rs8099917 Variants Near the IL28B Locus Associated with HCV Clearance and Treatment Response. *J Mol Diagn.* 2011 Jul;13(4):446–51.
- [19] Martin MP, Ying Q, Goedert JJ i sur. IL28B Polymorphism Does Not Determine Outcomes of Hepatitis B Virus or HIV Infection. *J Infect Dis.* 2010;202(11):1749–53.
- [20] Machmach K, Abad-Molina C, Romero-Sanchez M i sur. IL28B Single-nucleotide polymorphism rs1299860 is associated with spontaneous HIV control in white subjects. *J Infect Dis.* 2013; 207(4):651–5.
- [21] Parczewski M, Bander D, Leszczyszyn-Pynka M i sur. 2012. IL28B CC genotype is associated with higher all-cause mortality in antiretroviral-treated HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012;28(12):1640–6.
- [22] Prokunina-Olsson L, Muchmore B, Tang W i sur. A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus. *Nat Genet.* 2013;45(2):164–71.