



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

DETERMINACION DEL EFECTO DEL POLIMORFISMO *rs12979860* DEL GEN *IL28B* EN PACIENTES CON GENOTIPO DE HEPATITIS C 1b DE LA CLINICA COLSANITAS

DAVID CARREÑO

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Maestría en Ciencias - Microbiología
Bogotá, Colombia
2016

DETERMINACION DEL EFECTO DEL POLIMORFISMO *rs12979860* DEL GEN *IL28B* EN PACIENTES CON GENOTIPO DE HEPATITIS C 1b DE LA CLINICA COLSANITAS

DAVID CARREÑO

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias - Microbiología

Director: William Alberto Otero Regino MD. Gastroenterólogo
Codirector: Juan Javier López. MD. M.Sc.

Línea de Investigación: Biología Celular

Grupo de Investigación: INPAC - Investigación en Patología Clínica.

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Posgrado Interfacultades Microbiología
Bogotá, Colombia
2016

*Bienaventurado el hombre que halla la sabiduría y que obtiene la
inteligencia; porque su ganancia es mejor que la ganancia de la plata,
y sus frutos más que el oro fino.*

Proverbios 3-13

AGRADECIMIENTOS

A Dios, sin él nada es posible.

A la Dra. Claudia Colmenares y la Dra. Johanna Echeverry por sus conocimientos, experiencia y paciencia, que me guiaron hasta la culminación de este proyecto.

A la Clínica Colsanitas, en especial a los profesionales y auxiliares del laboratorio Clínico, por su apoyo para la realización de este proyecto.

A los pacientes, por su información, sin ellos no se hubiera llevado a cabo esta investigación.

A la Unidad de Molecular de Laboratorios Roche, en especial a Karen Fernández y Diego Duarte por el apoyo para la realización de la fase experimental.

Al laboratorio de Biología Molecular de la Clínica Universitaria Colombia, por permitirme llevar a cabo los experimentos.

A Socorro Prieto, por su gestión, palabras y motivación en los momentos de crisis.

A la Profesora Martha Fontanilla quien con sus consejos y conocimientos me ha ayudado a formarme como persona e investigador.

Al Posgrado de Ciencias–Microbiología que me permitió crecer en el ámbito personal, académico y profesional.

Al Dr. Otero, por su conocimiento y experiencia.

A Ico por su paciencia, motivación y amor.

A mis amigos por su apoyo incondicional.

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	4
LISTA DE TABLAS	6
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
1. PROBLEMA	13
2. JUSTIFICACION	15
3. OBJETIVOS	16
3.1. Objetivo General	16
3.2. Objetivos Específicos	16
4. HIPOTESIS	17
5. MARCO DE REFERENCIA	18
5.1. Partícula viral	18
5.2. Epidemiología	21
5.3. Distribución de los genotipos	22
5.4. Historia natural de la enfermedad	23
5.5. Mecanismos de transmisión de la enfermedad	25
5.5.1. Transmisión parenteral	25
5.5.2. Transmisión nosocomial	26
5.5.3. Transmisión no parenteral	26
5.5.3.1. Transmisión sexual	26
5.5.3.2. Transmisión vertical o perinatal	26
5.6. Diagnostico	26
5.6.1. Marcadores serológicos	28
5.6.2. Tecnicas moleculares	28
5.6.2.1. Técnicas cualitativas	28
5.6.2.2. Técnicas cuantitativas	29
5.7. Interleucina 28B	30
5.7.1. Mecanismo de acción	31
6.2. Población	34
6.3. Muestra	35
6.3.1. Selección de la muestra	35
6.4. Variables	37
6.5. Proceso de selección	38
6.6. Recolección de datos	38

6.7. Técnicas de laboratorio	39
6.7.1. Genotipificación del VHC	39
6.7.2. Genotipificación IL-28B	40
6.8. Análisis de estadístico	40
7. RESULTADOS	42
8. DISCUSION	49
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
10. LIMITACIONES	57
11. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y LEGALES	59
BIBLIOGRAFIA	60
ANEXOS	68

ABREVIATURAS

ARN: Ácido Ribonucleico

AAD: Antivirales de Acción Directa

Ac-VHC: Anticuerpos contra el Virus de la Hepatitis C

BOC: Boceprevir

CHC: Carcinoma Hepatocelular

CH: Cirrosis Hepática

CMH: Complejo Mayor de Histocompatibilidad

EIA: Ensayo inmunoenzimático

ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

G1: Genotipo 1

HC: Hepatitis C

HCC: Hepatitis C Crónica

IL28B: Interleucina 28B

INF: Interferón

ISG: gen estimulado por el interferón (interferón stimulated gene)

LDL: Proteína de baja densidad (low density lipoproteins)

NS: No Estructural (non structural)

NTR: Región larga de nucleótidos no traducida (nucleotide-long nontranslated region)

PegINF: Interferón Pegilado alfa

OMS: Organización Mundial de la Salud

ORF: Marco abierto de lectura (open reading frame)

PCR: Reacción en cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction)

RT: Transcriptasa Reversa (Reverse Transcriptase).

RVS: Respuesta Viroológica Sostenida

RBV: Ribavirina

SNP: Polimorfismo de nucleótidos simple

TVR: Telaprevir

UTR: Región No Traducible (un-translated region)

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VHC: Virus de la hepatitis C

VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad (very low-density lipoprotein)

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Datos para la Selección del tamaño de la Muestra.

Tabla 2. Variables y escalas de medición.

Tabla 3. Características de los pacientes.

Tabla 4. Frecuencias genotípicas por género y procedencia.

Tabla 5. Frecuencias de RVS según genotipo rs12979860.

Tabla 6. Equilibrio de Hardy- Weinberg para los controles

Tabla 7. Comparación de frecuencias con la base de datos 1000 genomes.

Tabla 8. Modelo de regresión logística con ajuste progresivo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Organización genética y procesamiento de poliproteína del VHC.

Figura 2. Proceso de invasión del VHC.

Figura 3. Distribución de los Genotipos Virus de la Hepatitis C y prevalencia de la infección por VHC.

Figura 4. Locus del gen IL28B-IL29.

Figura 5. Posible mecanismo de acción del genotipo desfavorable (CT/TT) del SNP rs12979860 IL28B en la respuesta a la terapia con interferón.

Figura 6. Posible mecanismo de acción del genotipo favorable (CC) del SNP rs12979860 IL28B en la respuesta a la terapia con interferón.

Figura 7. Comportamiento de la CV pretratamiento según la RVS.

RESUMEN

Introducción: La OMS estima a nivel mundial existen entre 130-150 millones de personas infectadas con el VHC (1). En Estados Unidos hay cerca de 3,5 millones de individuos infectados (2). La prevalencia en Europa es del 1,7% y en Latinoamérica es del 1.23% (3,4). En Colombia se estima una prevalencia del 1.2%. Se calcula que en el territorio colombiano existen entre 400.000 y 500.000 personas infectadas con el VHC (5). La evidencia acumulada muestra que el análisis del polimorfismo rs12979860 del gen de la *IL28B*, es una herramienta útil para determinar la respuesta por parte del paciente infectado con el genotipo 1b del VHC ante un tratamiento con PegIFN/RBV (6). En Colombia no se conoce la frecuencia del genotipo del polimorfismo rs12979860 *IL28B* en la población, ni el impacto de esta sobre la infección por el virus de la hepatitis C (VHC). Este trabajo se convierte en un primer resultado de las frecuencias presentes del genotipo de este polimorfismo en una población colombiana analizada y además establece una asociación entre la presencia del genotipo CC y la RVS (respuesta viral sostenida) después de un tratamiento inicial con PegIFN/RBV. **Objetivo:** Determinar la asociación del polimorfismo rs12979860 y la RVS en pacientes con hepatitis C genotipo 1b, tratados en Clínica Colsanitas **Materiales y métodos:** Estudio de casos y controles. Se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo y a conveniencia de los que cumplieron los criterios de elegibilidad. Se analizaron 60 pacientes. Se realizó análisis estadístico que incluyó: Una estadística descriptiva, análisis bivariado y un modelo de regresión logística. **Resultados y conclusiones** La muestra de controles analizados se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg. El resultado de las frecuencias alélicas mostro que el alelo T fue mayor por una mínima diferencia con respecto al alelo C. El genotipo homocigoto CC mostro ser el de menor frecuencia en el número total de pacientes analizados. Se observó que el 71,4% de los pacientes que poseían el genotipo CC habían alcanzado una RVS. Se logró determinar una asociación entre la presencia del SNP rs12979860 genotipo CC y la RVS en pacientes con hepatitis C genotipo 1b tratados con PegINF/RBV de la Clínica Colsanitas. El análisis multivariado demostró que los pacientes con este polimorfismo tienen 5 veces más probabilidades de alcanzar una RVS al tratamiento estándar.

ABSTRACT

Introduction: WHO estimates a global level between 130 and 150 million people infected with HCV (1). In the United States there are about 3.5 million infected individuals (2). The prevalence in Europe is 1.7% and in Latin America is 1.23% (3,4). In Colombia a prevalence of 1.2% is estimated. It is estimated that in the Colombian territory there are between 400,000 and 500,000 people infected with HCV (5). The accumulated evidence shows that the rs12979860 polymorphism analysis of the IL28B gene is a useful tool to determine the response of patients infected with HCV genotype 1b to a treatment with PegIFN/RBV (6). In Colombia the frequency of the polymorphism rs12979860 *IL28B* in a population is unknown, nor is the impact of this on hepatitis C virus (HCV) infection. This work becomes a first result of the genotype frequencies of this polymorphism in a Colombian population analyzed and also establishes an association between the presence of CC genotype and SVR (sustained viral response) after an initial treatment with PegIFN/RBV. **Objective:** To determine the association of polymorphism and SVR in patients with hepatitis C genotype 1b treated in Clinical Colsanitas **Materials and methods:** Case-control study. A consecutive non-probabilistic sampling and a convenience of those meeting the eligibility criteria were used. Sixty patients were analyzed. A statistical analysis was performed that included: Descriptive statistics, bivariate analysis and a logistic regression model. **Results and conclusions:** The sample of controls analyzed is in Hardy-Weinberg equilibrium. The result of the allelic frequencies showed that the T allele was greater by a minimal difference with respect to the C allele. The homozygous genotype CC is the smallest of the frequency in the total number of patients analyzed. It was observed that 71.4% of the patients who presented the CC genotype had reached SVR. We were able to determine the association between the presence of SNP rs12979860 CC genotype and SVR in patients with hepatitis C genotype 1b treated with PegINF/RBV from the Colsanitas Clinic. Multivariate analysis showed that patients with this polymorphism are 5 times more likely to achieve SVR than standard treatment.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en la actualidad se encuentran entre 130 y 150 millones de personas infectadas con el virus de la hepatitis C (VHC) (1). Entre 300.000 y 500.000 personas mueren anualmente por enfermedades hepáticas relacionadas con esta infección (7). En Europa cuatro millones de personas son portadoras de este virus. En los países occidentales, la hepatitis C (HC) representa la primera causa de morbilidad por enfermedad hepática (8).

La hepatitis C es una enfermedad infecciosa causada por el VHC que afecta principalmente al hígado, aunque causa enfermedades extrahepáticas. La infección aguda generalmente es asintomática, en un 80% progresa a enfermedad hepática y el 20% de estos casos desarrollan cirrosis, insuficiencia hepática o cáncer de hígado (9). El principal factor de riesgo para la transmisión del VHC antes de 1990 era la transfusión de sangre; cuando no se disponía de pruebas diagnósticas para detectar la infección (10). En la actualidad aún se considera la transfusión un factor de riesgo junto con la utilización de drogas ilícitas vía intravenosa, tatuajes y contacto sexual con pacientes infectados (11).

En los últimos cinco años el tratamiento de la infección crónica por el VHC genotipo 1 ha tenido un progreso inesperado. Hasta hace tres años el tratamiento estándar era el interferón pegilado (PegINF) combinado con ribavirina (RBV), con lo cual se lograba curar la infección en el 40 a 50% de los pacientes infectados (12). En los últimos 5 años ha ocurrido una revolución en el tratamiento de la HC, ya que ha permitido tratar pacientes con terapias libres de IFN, agrupando varios antivirales de acción directa (AAD) que actúan a diferentes niveles de la síntesis de proteínas virales (13),(14).

Actualmente se han desarrollado inhibidores de la proteasa (telaprevir, boceprevir, simeprevir, paritaprevir, grazoprevir), inhibidores de la proteína no estructural NS5A (daclatasvir, ledipasvir, ombitasvir, elbasvir) e inhibidores de la proteína no

estructural NS5B (sofosbuvir, dasabuvir), todos ellos con una elevada eficacia antiviral (12,15). A pesar de que en Colombia los primeros antivirales de acción directa (AAD) (Telaprevir y Boceprevir) aparecieron en el 2011, a la fecha aún se aplican combinaciones con PegIFN alfa 2a o alfa 2b y ribavirina (RBV). Los pacientes infectados pueden responder de forma diferencial a los tratamientos antivirales. Una de las posibles explicaciones de esta respuesta diferencial es el genotipo que infecta al paciente, el cual es considerado un factor predictivo independiente en la respuesta virológica al tratamiento, por lo tanto, un factor clave en la elección del mismo (16).

Con base en análisis filogenéticos de los virus circulantes en la población mundial y con el desarrollo de métodos moleculares de detección y genotipificación; se han identificado 7 genotipos del virus de la hepatitis C (1-7), estos genotipos se subdividen en 67 subtipos (a, b, c y otros)(17). Los genotipos 1a, 1b y 3a se encuentran ampliamente distribuidos por todo el mundo (7). En Europa y América los subtipos 1a y 1b son los más frecuentes (18). La presencia del genotipo 1 no solo es predictiva de una posible enfermedad hepática más severa cuando se lo compara con otros genotipos, sino que también, y en particular el subtipo 1b; es el más resistente al tratamiento con interferón alfa pegilado (IFN- α). Las respuestas terapéuticas más eficientes y sostenidas frente al IFN- α son observadas en pacientes infectados con los genotipos 2 y 3 en comparación con genotipos 1 y 4 (19).

El gen de la *IL28B* codifica para el interferón lambda 3. La inducción de los interferones tipo I, II y III (alfa, beta y lambda) en las células infectadas es un evento temprano y crucial en la defensa del huésped contra el virus (20). Estudios recientes han encontrado una fuerte asociación entre las variantes alélicas del locus rs12979860 del gen de la *IL28B* en el cromosoma 19, con la resolución espontánea del virus (aclaramiento)(21,22). Goldestein y colaboradores en el 2009 identificaron en el cromosoma 19 un polimorfismo del gen *IL28B*, relacionado con la respuesta viral sostenida (RVS) en una muestra superior a 1600 pacientes con infección crónica por VHC de genotipo 1 que habían sido

tratados con PegINF y RVB (6). Estos hallazgos evidencian la gran importancia del sistema inmune innato en el aclaramiento del VHC (23).

La presencia de estos polimorfismos en la región del gen *IL28B* está fuertemente relacionada con la probabilidad de lograr una respuesta viral sostenida (RVS) con los esquemas de tratamiento que tienen PegIFN alfa 2a o alfa 2b y ribavirina(RBV) en pacientes infectados con el genotipo 1 del VHC (24). Este resultado se alcanza cuando el ARN del VHC es indetectable a las 24 semanas posteriores al haber terminado el tratamiento. Las frecuencias del genotipo del polimorfismo *IL28B* varía entre las diferentes poblaciones y permite explicar la heterogeneidad que existe en la respuesta a los regímenes basados en INF en los diferentes grupos étnicos (25).

El objetivo de la presente investigación es determinar del efecto del polimorfismo rs12979860 del gen *IL28B* en la eficacia el tratamiento en pacientes infectados con genotipo de hepatitis C 1b en una población colombiana, atendida en la Clínica Colsanitas.

1. PROBLEMA

La genotipificación del VHC es un tema de interés clínico y epidemiológico ya que es crucial para el correcto manejo terapéutico del paciente infectado. En los países en vías de desarrollo no siempre se tiene suficiente información sobre la prevalencia de los diferentes genotipos y su distribución geográfica (26). El genotipo del VHC es un factor pronóstico con importancia estadística propia e independiente de otros factores (carga viral o daño hepático previo) de la RVS al tratamiento antiviral (22). Los pacientes infectados por los genotipos 2 y 3 tienen de 2 a 3 veces más posibilidades de alcanzar una RVS que los infectados por el genotipo 1, con una menor dosis de RBV y en un régimen terapéutico más corto. En caso de que el paciente no responda a tratamiento inicial tienen mayor probabilidad de responder a un segundo curso terapéutico si está infectado por los genotipos 2 o 3 que si lo estuviera por el genotipo 1 (12).

El gen *IL28B* que codifica para el interferón lambda ($\text{INF-}\lambda$) está implicado en la respuesta inmunológica contra virus, incluyendo el VHC. Existen tres genotipos del gen *IL28B*: CC, CT y TT. Las personas con el genotipo CC presentan una respuesta inmunológica más potente frente a la infección por VHC que las que tienen los genotipos CT o TT (también denominados genotipos no-CC) (27). Esta respuesta inmunológica hace que los pacientes que presentan un genotipo CC tengan más probabilidades de eliminar espontáneamente el VHC sin tratamiento (aclaramiento viral) en los primeros meses de la infección (19). Las personas con un genotipo CC también son de dos a tres veces más propensas a controlar la infección con PegINF y RBV, con independencia de su origen étnico (28).

El efecto de los SNPs de *IL28B* se ha observado principalmente en los pacientes infectados por los genotipo 1 y 4 del VHC, a los que comúnmente se les denomina como pacientes malos respondedores (29). Así, los pacientes que poseían el alelo C en estado homocigoto (genotipo CC) en rs12979860, presentaron una tasa de RVS aproximadamente dos veces superior a la que presentaron los pacientes que

presentaban un genotipo CT y casi tres veces superior a la que presentaron los pacientes homocigotos para el alelo T (TT) (30).

La identificación del polimorfismo en el gen *IL28B* (CC frente a CT/TT) y de los subtipos del genotipo 1 del VHC (1b) son factores que permiten pronosticar con bastante solidez la probabilidad de responder al tratamiento estándar en pacientes con infección por VHC difícil de tratar (21). En Colombia los estudios de genotipos de HCV han sido muy pocos y con una población limitada; aunque no dejan de ser significativos, se requiere la incorporación de variables como la determinación de este polimorfismo en pacientes con pronóstico no favorable y la frecuencia en que se presenta.

Las guías de diagnóstico y tratamiento de HC desarrolladas por la Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología y apoyadas en la evidencia, recalcan la importancia de la genotipificación de los polimorfismos del gen *IL28B*, ya que son varias las publicaciones que relacionan la probabilidad de lograr una RVS con un tratamiento de PegINF y la RBV en pacientes infectados con el genotipo 1 del virus (31). Por lo que acelera la necesidad de estudios de asociación del polimorfismo con la RVS en pacientes colombianos, que reciban un tratamiento convencional para la HC.

2. JUSTIFICACION

Durante la infección por el VHC la mayoría de los pacientes (>70%) quedarán con infección crónica, la cual puede llevar a cirrosis, a carcinoma hepato-celular o a ambos. Teniendo en cuenta estas complicaciones y su alta frecuencia, se realizan permanentemente múltiples estudios para ampliar los conocimientos de la historia natural de la enfermedad (5,11,18).

Los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de una enfermedad hepática grave causada por la infección son la edad, el sexo y el consumo de alcohol (32). Aunque en algunas ocasiones pacientes con las mismas características muestran una progresión diferente de la enfermedad. Por ello es significativo realizar estudios de factores genéticos en el huésped para determinar si polimorfismos específicos están asociados con la progresión de la hepatitis C y poder conocer de antemano qué pacientes son los que probablemente desarrollarán la enfermedad hepática crónica (33). Esto permitiría un uso racional de la terapia y potencialmente ayudaría a la identificación de nuevas dianas terapéuticas (34).

La determinación del genotipo es una herramienta clave en estudios de epidemiología molecular, ensayos de diagnóstico y tratamiento de la infección por virus por lo que su estudio es crucial en países en vías de desarrollo que permita acceder a todas los alcances médicos de tratamiento sin error a seleccionar la terapia adecuada (11,15,35).

En la actualidad, una de las asociaciones más estudiadas es la de los polimorfismos del gen *IL28B* concretamente rs12979860 y rs8099917 y la fuerte asociación con una respuesta virológica sostenida al tratamiento (21,36,37). Este proyecto tiene como objetivo determinar el efecto del polimorfismo rs12979860 del gen *IL28B* en pacientes con genotipo de hepatitis c 1b de la clínica Colsanitas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Determinar la asociación del polimorfismo rs12979860 y la RVS en pacientes con hepatitis C genotipo 1b, tratados en Clínica Colsanitas.

3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar la población de la Clínica Colsanitas con diagnóstico hepatitis C genotipo 1b en seguimiento médico.
- Estimar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs12979860 en el gen *IL28B* en pacientes con hepatitis C 1b.
- Describir la carga viral pretratamiento en la población de pacientes con hepatitis C 1b.

4. HIPOTESIS

H0: El polimorfismo CC del gen *IL28B* no influye en el alcance de la respuesta viral sostenida (RVS) al tratamiento con interferón pegilado (PegINF) más ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis C genotipo 1b.

H1: El polimorfismo CC del gen *IL28B* influye en el alcance de la respuesta viral sostenida (RVS) al tratamiento con interferón pegilado (PegINF) más ribavirina (RBV) en pacientes con hepatitis C genotipo 1b.

5. MARCO DE REFERENCIA

5.1. Partícula viral

El VHC es un virus ARN de cadena simple positiva, con envoltura, que pertenece a la familia *Flaviviridae* y al género *Hepacivirus* (38). Se conocen siete genotipos que muestran una variación del 30% al 35% en su secuencia de nucleótidos, con una capacidad diferente de producir infección persistente y causar daño hepático; así como respuesta diferente a los anticuerpos neutralizantes cruzados y a los medicamentos antivirales (11). Dentro de cada uno de los siete genotipos hay más de 50 subtipos que se denominan a, b, c, d y así sucesivamente. De igual manera en cada individuo infectado se encuentran cuasiespecies, que representan la gran heterogeneidad genética de este virus. Esta variabilidad genética está dada por la enzima ARN polimerasa viral, que no corrige los errores durante la replicación del genoma viral y la cual dificulta el desarrollo de una vacuna efectiva (18).

La partícula viral tiene forma esférica, con un diámetro aproximado de 40nm a 70nm. Su genoma contiene un solo marco de lectura que en sus extremos tiene las regiones no codificantes (NTR, del inglés *non-translated RNA*) 5' y 3' entre las que se encuentra un marco abierto de lectura (ORF, del inglés *open reading frame*) que codifica una poliproteína formadora de proteínas víricas que pueden ser estructurales (C: core o nucleocápside; E1 y E2: glicoproteínas 1 y 2 de la envoltura, con dos regiones hipervariables), o no estructurales (NS, del inglés *non-structural*). Ambas están separadas por el péptido de membrana p7. Este virus circula en varias formas y tiene la capacidad de unirse a las lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés *low density lipoproteins*) y de muy baja densidad (VLDL, del inglés *very low-density lipoprotein*), lo cual le facilita la entrada a la célula, utilizando los receptores para estas lipoproteínas (9,11,38).

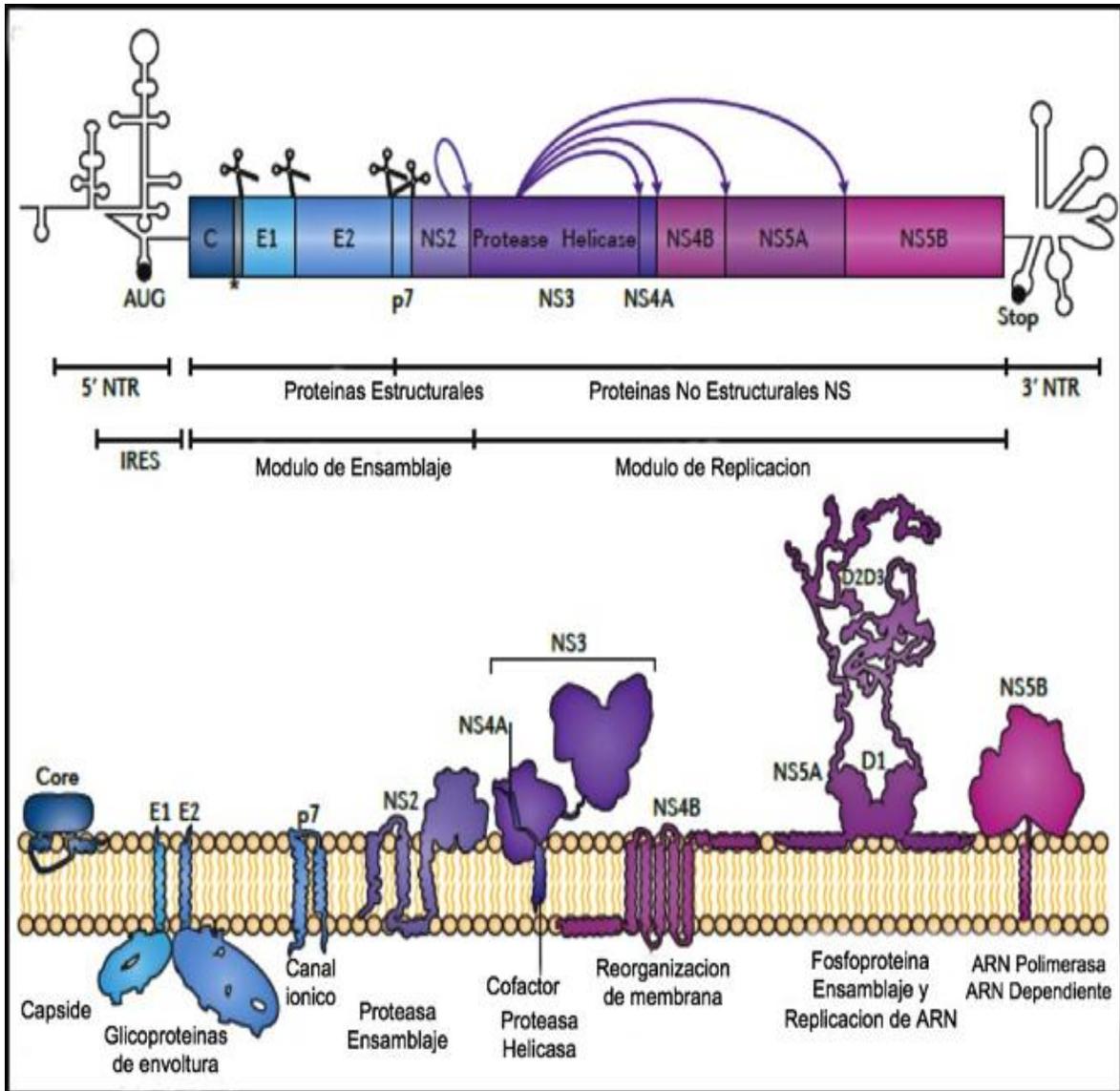


Figura 1. Organización genética y procesamiento de poliproteína del VHC. Modificado de Ralf B., Volker L., and Francois P. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection (39).

Las regiones hipervariables codifican las proteínas de la envoltura viral que cambian entre los diferentes tipos y que permite al virus evadir las defensas inmunitarias del huésped dirigidas contra las proteínas de la cubierta vírica, confiriéndole una elevada heterogeneidad genética (como en todos los virus ARN) (32). Esta gran heterogeneidad del VHC genera una respuesta variable al tratamiento con PegIFN, así como el desarrollo de una amplia gama de presentaciones clínicas de la enfermedad desde formas asintomáticas hasta

formas crónicas, cirrosis y carcinoma hepatocelular (40). El índice de multiplicación del VHC es altísimo (de hasta 1012 viriones al día), y quizás la causa de que circule a concentraciones muy bajas en suero sea que su vida media es de tan sólo 2,7 horas (35).

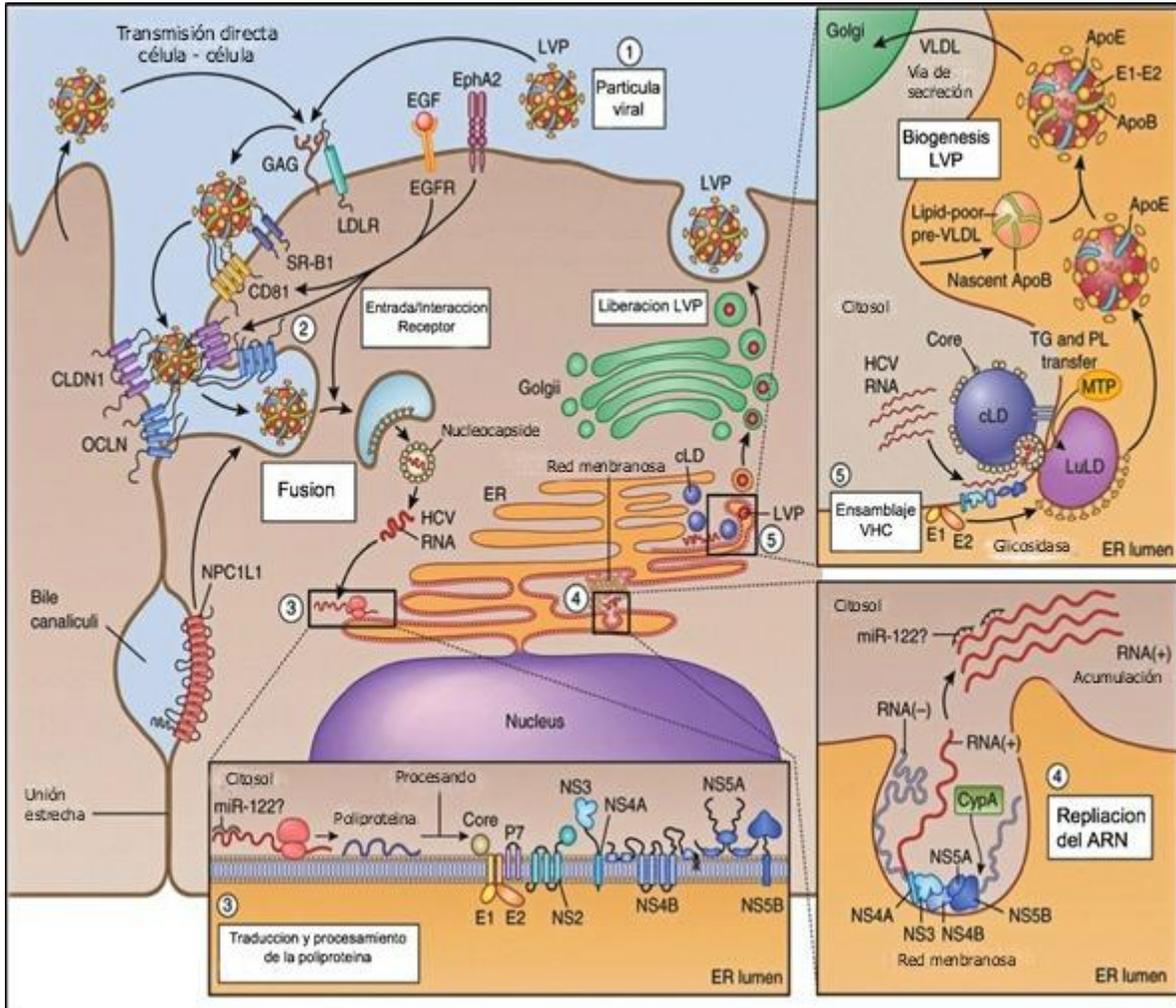


Figura 2. Proceso de invasión del VHC. 1. La partícula viral (Neutralización de anticuerpos, péptidos víricos) 2. Ingreso e interacción con el receptor (anticuerpos y receptores de pequeñas moléculas blanco, inhibidores de quinasas.) 3. Traducción y procesamiento de la poliproteína (Inhibidores de proteasa N53-NS4A) 4. Replificación del ARN del HCV (Polimerasa NS5B e inhibidores, antagonistas miR-122, inhibidores de ciclofilinas, inhibidores PI4KIII α). 5. Ensamblaje y morfogénesis del virion (Inhibidores NS5A, inhibidores DGTA1, inhibidores de glicosidasa, inhibidores MTP). Modificado de Scheel TKH, Rice CM. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. Nat Med; 2013;19(7):837–49 (41).

5.2. Epidemiología

Se estima que a nivel mundial existen entre 130 y 150 millones de personas infectadas con el VHC, lo que significa que entre el 2-3% de la población padece la infección, y más de 350.000 individuos fallecen anualmente debido a complicaciones relacionadas con esta patología. Se considera que el 27% de las cirrosis y 25% de los carcinomas hepatocelulares (CHC) en general son causados por el VHC (1,11,42).

La HC es una infección que se encuentra presente a nivel mundial. Dentro de las regiones más afectadas están Asia central, Asia oriental y el norte de África (43). Las tasas más altas de prevalencia se encuentran en Egipto (14%), Mongolia (10,7%), Japón (2,4%) y China (2,2%). Los países europeos tienen una amplia heterogeneidad en sus cifras; en países como Suecia, Noruega, Reino Unido, Alemania, Francia y Hungría la prevalencia es menor del 1%. Esta cifra aumenta en Islandia, Portugal, Suiza, norte de Italia, República Checa, Polonia, Grecia y Turquía que se encuentran entre el 1 a 1,9% de prevalencia. Las cifras de se destacan en España y Rusia (2 a 2,9%) y el centro y sur de Italia y en Rumania (>3%) (3,11).

En Canadá se estima que la prevalencia de la infección es de 1,1% (3). La incidencia en los Estados Unidos es de 0,3 por 100.000 habitantes, y la prevalencia está entre el 1 y 1,9% (40). Las cifras en América Latina muestran una mayor homogeneidad comparada con Europa; con una prevalencia general entre 1 y 2%. Los datos más altos se encuentran en Granada (5%), Bolivia (4,7%) y Haití (4,4%). En la media encontramos a Puerto Rico (2,3%), Argentina (1,9%), El Salvador (2,5%), Cuba (1,8%), Ecuador (1,4%), Brasil (1,4%) y Paraguay (1,2%). Colombia junto con México, Venezuela, Uruguay, Chile, Perú, Panamá, Costa Rica, Guyana, Honduras, Nicaragua, Guatemala, Belice y República Dominicana tienen cifras de prevalencia menores al 1% de la población (44).

5.3. Distribución de los genotipos

Actualmente se han identificado 7 genotipos del VHC, cada uno con múltiples subtipos, los genotipos 1, 2 y 3 son los de mayor distribución a nivel mundial, sin embargo la prevalencia varía en cada región geográfica (17). En los Estados Unidos y Europa predominan los subtipos 1a y 1b. Así mismo en el 70% de los casos de infección por VHC en Japón, el responsable es el subtipo 1b (12). Los subtipos 2a y 2b son comunes en Norteamérica, Europa y Japón, en tanto que el subtipo 2c se encuentra con frecuencia en el norte de Italia. El genotipo 3a es altamente prevalente en las personas que usan drogas ilícitas intravenosas en Europa y Estados Unidos, en tanto que el genotipo 4 tiene mayor prevalencia en el norte de África y en el Medio Oriente (45). Finalmente, los genotipos 5 y 6 se encuentran en Sudáfrica y en Hong Kong, respectivamente. En Latinoamérica el genotipo más prevalente es el 1 (46).

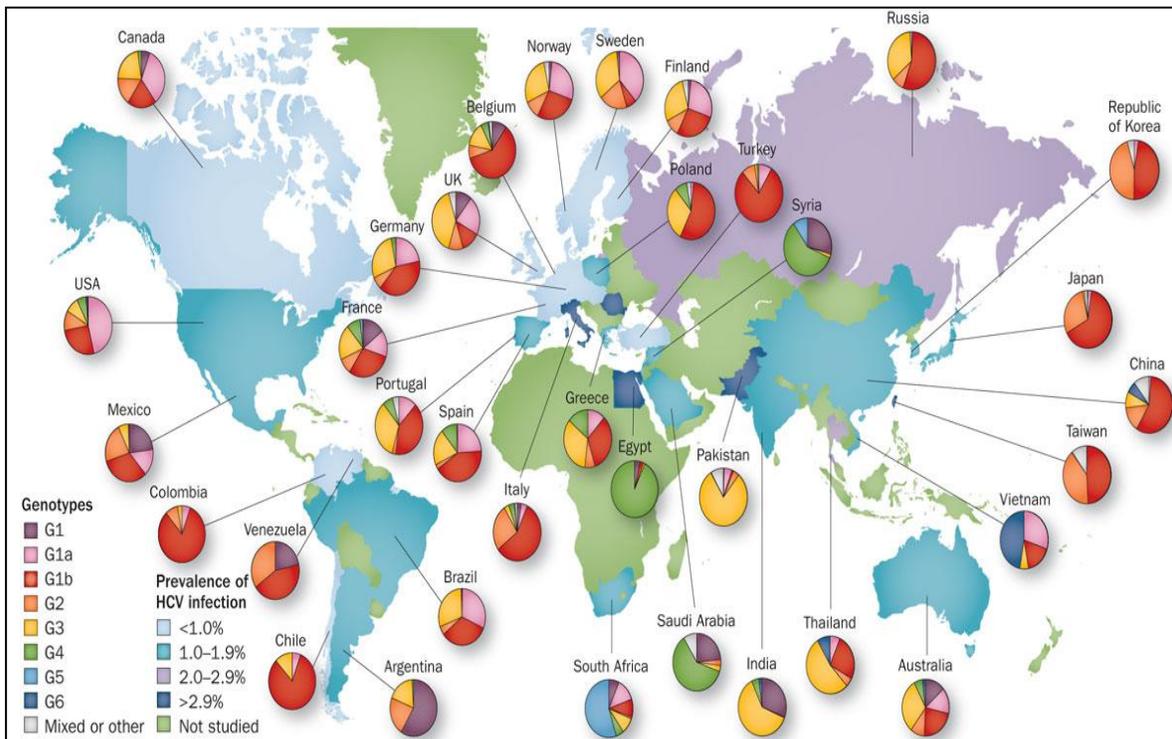


Figura 3. Distribución de los Genotipos Virus de la Hepatitis C y prevalencia de la infección por VHC. Tomado de Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. Nat Rev Gastroenterol Hepatol; 2013;10(9):553–62 (47).

5.4. Historia natural de la enfermedad

La infección aguda por el VHC solo representa 15% de los casos de hepatitis a nivel mundial. De 25-30% de los pacientes son sintomáticos, con manifestaciones típicas de cualquier hepatitis viral (48). La mayoría de personas que desarrolla hepatitis C aguda no es capaz de identificar el comienzo o el factor de riesgo asociado a la enfermedad según la potencial circunstancia de exposición. Se define la progresión de hepatitis aguda a crónica tradicionalmente como la persistencia de niveles elevados de aminotransferasas por seis meses o más, con la persistencia del VHC en sangre durante este periodo de tiempo. Luego de la infección aguda, diferentes estudios han demostrado que no se logra depurar el virus en cerca del 60 al 85% de los casos de hepatitis C aguda (40). Generalmente esta transición de la hepatitis aguda a crónica casi siempre ocurre de forma asintomática (49).

La principal forma de presentación causada por el VHC es una infección crónica asociada con inflamación y fibrosis hepática variable, cuya progresión hacia la enfermedad hepática severa puede durar varios años, de tal forma que puede tomar de quince a cuarenta años hasta llegar a la cirrosis en el 15 al 20% de los pacientes, pero este tiempo puede acelerarse dependiendo de factores propios del virus y del huésped (45). En cuanto a los factores asociados al virus están la carga viral elevada o nivel de RNA mayor a 800.000 UI y los genotipos 2 y 3, que responden mejor al tratamiento que el genotipo 1, especialmente 1a respecto al 1b y al 4, que se asocian a mayor progresión a la fibrosis (43). Entre los factores asociados al huésped están la ingesta de alcohol, diabetes mellitus, edad en la que se adquiere la infección, sexo masculino, raza afroamericana y latinos, drogadicción. Dependiendo de la presencia de cofactores de 10-40% de los pacientes con hepatitis crónica C (HCC) evoluciona a cirrosis. La muerte asociada a complicaciones de la cirrosis tiene una incidencia aproximada de 4% por año, mientras que la incidencia de CHC se estima en 1-5% por año, de los cuales 33% tiene probabilidades de morir durante el primer año (16).

Actualmente el polimorfismo rs12979860 del gen *IL28B* (CC, TT, CT) que se localiza cerca al gen del interferón lambda está relacionado con tasas de depuración espontánea de la hepatitis aguda por virus C; el genotipo CC está claramente asociado con una alta tasa de recuperación espontánea y alta tasa de respuesta viral sostenida durante el tratamiento antiviral con PegINF y RBV (8).

La hepatitis C aguda puede seguir tres cursos evolutivos

1. En un 10-30% de los casos se normalizan las transaminasas de forma más o menos rápida y se negativiza el ARN-VHC, lo que marca la erradicación del virus con recuperación completa. Es recomendable confirmar la negatividad con una segunda determinación de ARN (Carga viral).
2. En un 10-20% de los casos el paciente experimenta una normalización de las transaminasas con persistencia de ARN-VHC positivo, constituyendo una HCC generalmente con lesión hepática mínima, aunque en una cuarta parte de los casos pueden cursar con una lesión hepática más grave.
3. El 40-60% restante mantienen elevadas las transaminasas y positivo el ARN-VHC más allá de 6 meses tras la infección, con una evolución a la forma crónica de la enfermedad, siendo a partir de este momento cuando pasa a considerarse el caso como HCC.

Existen manifestaciones extrahepáticas de la infección por VHC tales como crioglobulinemia, liquen plano, porfiria cutánea tarda, sialoadenitis linfocítica y glomerulonefritis membranosa, que pueden favorecer la infección y responden favorablemente al tratamiento. Existe una relación entre la infección por el VHC y el linfoma No Hodgkin (7). En resumen, las consecuencias que a largo plazo puede tener la infección por el VHC: hepatitis crónica, cirrosis hepática y hepatocarcinoma; varían dependiendo de las características individuales teniendo en cuenta los factores propios del virus y del huésped, que ocasionan un importante problema de salud pública y un alto costo para el sistema de salud, con

el aumento en la tasa de trasplantes por VHC al ser detectados tarde en la evolución natural (16).

5.5. Mecanismos de transmisión de la enfermedad

La transmisión parenteral es la vía más importante de transmisión del VHC. Basados en estudios epidemiológicos, se ha demostrado la transmisión a través de transfusiones de sangre o derivados, hemodiálisis, uso de drogas por vía parenteral y trasplante de órganos sólidos de donantes infectados (9). En aproximadamente uno de cada dos pacientes con infección crónica por VHC o de los donantes voluntarios de sangre VHC positivos no existen antecedentes reconocidos de posible adquisición parenteral, por lo que se han considerado otras vías diferentes: transmisión intrafamiliar, transmisión sexual y vertical o materno infantil (50).

5.5.1. Transmisión parenteral

El uso de drogas por vía intravenosa es la principal forma de transmisión del VHC. También se puede transmitir a pacientes que reciben una transfusión sanguínea de hemoderivados (esta vía casi desapareció tras la aparición del cribado anti-VHC en 1992, si bien aún puede producirse de manera excepcional durante el periodo ventana, antes de la seroconversión en HC aguda, lo que supone una probabilidad de 1 caso por cada 100.000 unidades transfundidas) (51).

Otras vías de transmisión parenteral incluyen la hemodiálisis, el trasplante de órganos (antes de 1992), los tatuajes y los piercing (52). La transmisión por exposición ocupacional tras pinchazo accidental en personal sanitario es rara. La incidencia media de seroconversión es del 1,8% (rango: 0%-7%) (44). Es poco frecuente la transmisión por exposición mucosa a sangre. No se han descrito casos de contagio por contacto con piel no intacta.

5.5.2. Transmisión nosocomial

La hospitalización es un factor de riesgo para adquirir la infección por VHC; por desinfección inadecuada del material quirúrgico u hospitalario, compartir material contaminado entre los pacientes y la práctica de procedimientos invasivos (47).

5.5.3. Transmisión no parenteral

5.5.3.1. Transmisión sexual

El riesgo de transmisión a largo plazo en relaciones monógamas heterosexuales es menor del 5%. El riesgo se incrementa hasta el doble si el paciente mantiene relaciones sexuales sin protección con múltiples parejas sexuales, en caso de infección por el VIH y si se padecen enfermedades de transmisión sexual (50). No existen evidencias que sustenten la transmisión del VHC a través del sexo oral, excepto en casos de lesiones mucosas (38).

5.5.3.2. Transmisión vertical o perinatal

El riesgo de transmisión vertical es del 5% de promedio, porcentaje que se triplica en los niños nacidos de madres coinfectadas por VIH. No está claro si la práctica de amniocentesis o una rotura prolongada de membranas están asociadas con un mayor riesgo de transmisión materno-infantil. La lactancia materna no ha sido implicada a largo plazo en la transmisión del VHC al recién nacido, excepto en casos de grietas en el pezón con sangrado (9).

5.6. Diagnóstico

La HC se diagnostica mediante la detección de anti-VHC y de ARN viral, asociados en general a valores elevados de ALT (alanina transaminasa). En el examen previo al tratamiento se debe cuantificar el ARN-VHC y determinar el genotipo viral. La infección por el VHC se confirma al usar la combinación de prueba de anticuerpos para VHC y la detección del ARN-VHC. La positividad de la prueba de anticuerpos anti-VHC implica una infección previa por el virus de la hepatitis C, mientras que la positividad ARN-VHC implica una infección actual. En

todo paciente con hepatitis aguda deben determinarse anticuerpos anti-VHC y ARN viral mediante una técnica sensible (53).

La muestra más adecuada es la sangre o suero. Las pruebas de anticuerpos, pero no de ARN, también pueden realizarse en saliva y en gotas de sangre seca. Dado que en la infección aguda, la aparición de anticuerpos anti-VHC (seroconversión) detectables por técnicas de enzimoimmunoensayo (EIA) de tercera o cuarta generación ocurre entre 6 y 12 semanas después de la exposición (período ventana). La determinación de ARN o de antígeno Core permite identificar la infección por el VHC durante el período ventana; antes de la aparición de anticuerpos, lo que resulta especialmente útil en el cribado de donantes de sangre, en pacientes con hepatitis aguda seronegativa, o tras exposición accidental percutánea con sangre contaminada. La posterior seroconversión suele confirmar el diagnóstico a las pocas semanas (7,15).

La presencia simultánea de anticuerpos anti-VHC y ARN no permite distinguir infección aguda de otra causa de hepatitis en un portador crónico. La presencia de anticuerpos anti-VHC en ausencia repetida de ARN viral suele observarse en pacientes que sufrieron exposición al VHC y resolvieron espontáneamente la infección o pueden corresponder a falsos positivos (5,11). Por otra parte, en el seguimiento de una hepatitis aguda C, la normalización del nivel de transaminasas a menudo se acompaña de la desaparición transitoria del ARN viral durante varias semanas, la resolución espontánea de la infección requiere demostrar la ausencia de ARN en una nueva muestra obtenida entre 3 y 6 meses después. Los marcadores de replicación también permiten el diagnóstico de HC en pacientes hemodializados o inmunodeprimidos que pueden no ser capaces de desarrollar anticuerpos específicos, cuando una alteración de pruebas hepáticas sugiere la presencia de hepatitis aguda (15,54).

En los neonatos de madre con infección activa por el VHC, debido a la transferencia pasiva de anti-VHC maternos, la transmisión de la infección sólo puede confirmarse durante los primeros 12 meses de vida mediante detección de ARN circulante. La persistencia de anti-VHC más allá de los 18 meses de vida

confirma que se ha producido transmisión, cuya resolución o persistencia requiere la determinación de ARN (11).

5.6.1. Marcadores serológicos

Los anticuerpos anti-VHC se determinan mediante técnicas de EIA (Enzimoimmunoanálisis) de tercera y cuarta generación. En sujetos inmunocompetentes y con HCC la sensibilidad y especificidad de las mismas está en torno al 99% (7). En pacientes inmunodeprimidos su sensibilidad es menor, por lo que un resultado negativo no descarta exposición o infección. En este tipo de pacientes estaría indicada la realización de técnicas de inmunoblot, como la técnica RIBA.

La positividad de las pruebas serológicas no indica infección activa, ya que en los sujetos que han resuelto la infección, los anticuerpos anti-VHC pueden ser positivos durante mucho tiempo.

5.6.2. Técnicas moleculares

Se basan en la determinación del ARN del VHC e indican una infección activa en el caso de positividad. Si el resultado es negativo en caso de sospecha de infección VHC se debe pensar en infección curada, ausencia transitoria de viremia en la evolución de una HCC, nivel de viremia inferior al del límite detectado por la prueba o resultado no específico de la prueba ELISA (acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) falso positivo del anti-VHC (39). El ARN del VHC se puede analizar por técnicas cualitativas, que determinan la presencia o ausencia de ARN, y mediante técnicas cuantitativas, que miden la cantidad de ARN (carga viral) en el suero o en plasma (9).

5.6.2.1. Técnicas cualitativas

Las técnicas cualitativas determinan el ARN del VHC en el suero o en el plasma mediante PCR (del inglés *polymerase chain reaction*) o a través de TMA (del inglés *transcription mediated amplification*). La positividad indica infección activa y tiende a persistir mientras dure la infección por el VHC (54). Ahora bien, en

pacientes con infección crónica por VHC cabe la posibilidad de que el ARN del VHC se detecte solamente de forma intermitente por serlo también la viremia; por lo que el ARN del VHC negativo no descarta con seguridad la infección en este tipo de pacientes (55).

5.6.2.2. Técnicas cuantitativas

Miden la carga vírica y son muy útiles para establecer la pauta terapéutica más eficaz así como para valorar la respuesta al mismo. El indicador más sensible para la detección del VHC es la presencia en suero de ARN del VHC. Es útil para el diagnóstico de la infección aguda por VHC ya que se detecta mucho antes que los anticuerpos anti-VHC; el ARN es positivo en 1-2 semanas post-exposición, mientras que los anti-VHC pueden positivizarse entre 6 y 12 semanas post-exposición, así como para el diagnóstico de la infección por VHC en sujetos inmunosuprimidos, ya que los anticuerpos anti-VHC pueden ser negativos (39,50,55).

5.7. Interleucina 28B

La interleucina 28B (IL28B, OMIM 607402), también conocida como la IFN- λ 3, junto con otras interleucinas, juega un papel en la modulación y resolución de los procesos víricos, antiproliferativos y antitumoral in vivo (56). La familia de IFN λ de tipo III consta de tres miembros: las citocinas IL29, IL28A e IL28B (también conocidas como IFN λ 1, IFN λ 2 e IFN λ 3, respectivamente). La transducción de señales de la familia de citoquinas IFN λ se realiza por la vía de señalización intracelular JAK/STAT (del inglés, *Janus kinase/signal transducers and activators of transcription*) que apunta hacia la transcripción de un conjunto común de genes conocidos como genes estimulados por interferón (ISG, del inglés *Interferon-stimulated genes*). El receptor de Ifn λ (IfnLr1) es expresado únicamente sobre los hepatocitos, linfocitos B y en células dendríticas (57).

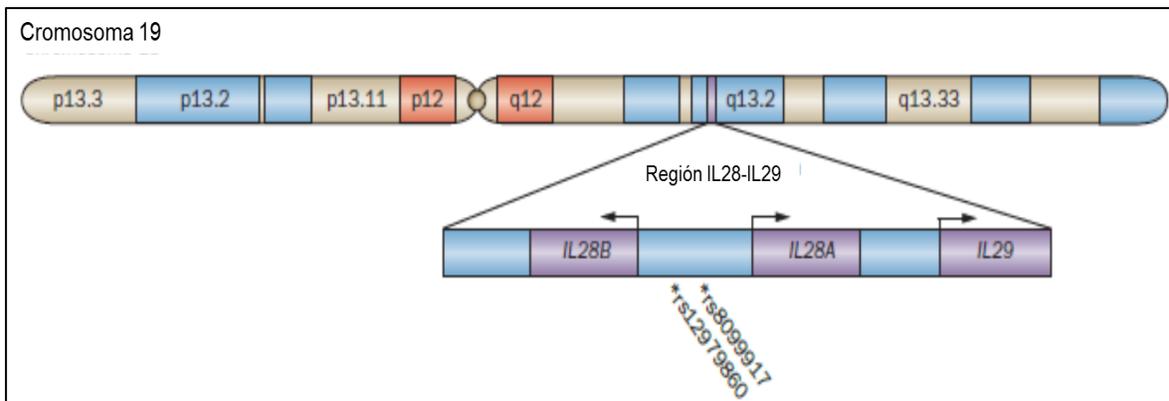


Figura 4. Locus del gen IL28B-IL29. Los genes que codifican los tres miembros de la familia IFN- λ , IL28A (IFN- λ 2), IL28B (IFN- λ 3) e IL29, (IFN- λ 1) se agrupan juntos en el cromosoma 19. Los SNP más importantes y validados con respecto a la respuesta a la terapia con IFN- α , rs12979860 y rs8099917, están corriente arriba tanto de IL28B como de IL28A (debido a su orientación antiparalela), pero están físicamente más cerca de IL28B. Modificado de Hayes, C. N. et al. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.2012.(23)

5.7.1. Mecanismo de acción

Cuando el ARN libre del VHC es detectado través de la vía RIGI-IFIH1 (también conocidas como MDA5) o Tolllike 3, la proteína adaptadora MAVS (también conocida como VISA o IPS1) induce la expresión de IFN α , IFN β e IFN λ , que inducen un estado antiviral intracelular que suprime la replicación viral. El reconocimiento de IFN α y IFN β es a través del receptor de IFN (IFNAR), mientras que el de IFN λ es a través del complejo de receptor IL10R-IL28R. Ambos receptores activan la vía JAK/STAT, que regula positivamente un gran número de ISG por unión al elemento de respuesta estimulado por IFN (ISRE). El mecanismo específico por el cual el SNP rs12979860 del gen *IL28B* ejerce su efecto aún no está claro, pero el alelo desfavorable (CT/TT) parece conducir a la activación continua de un subconjunto de ISGs en presencia de ARN libre de VHC. Aunque este nivel de expresión no es suficiente para eliminar eficazmente el virus de la célula, la sobreexpresión conduce a un aumento en el número de moléculas inhibitoras de IFN tales como SOCS3 y PIAS que regulan negativamente la señalización JAK/STAT, reduciendo así la sensibilidad a la señalización IFN. Por lo tanto, el hepatocito no sólo es incapaz de eliminar el virus sino que es incapaz de inducir una expresión de ISG más fuerte cuando se administra IFN durante el tratamiento (58).

Pueden surgir varios escenarios en respuesta al tratamiento con IFN dependiendo del genotipo *IL28B* del huésped. En pacientes con el genotipo desfavorable (rs12979860 CT/TT), antes del tratamiento, la presencia de ARN viral induce la expresión continua de ISG en los hepatocitos. Aunque la expresión moderada de ISG puede alterar parcialmente la replicación viral, también estimula vías reguladoras negativas que en última instancia reducen la sensibilidad a IFN. El IFN α administrado durante la terapia no logra inducir la expresión de ISG lo suficientemente fuerte como para eliminar el virus, como resultado, el paciente no responde al tratamiento (23,25,34).

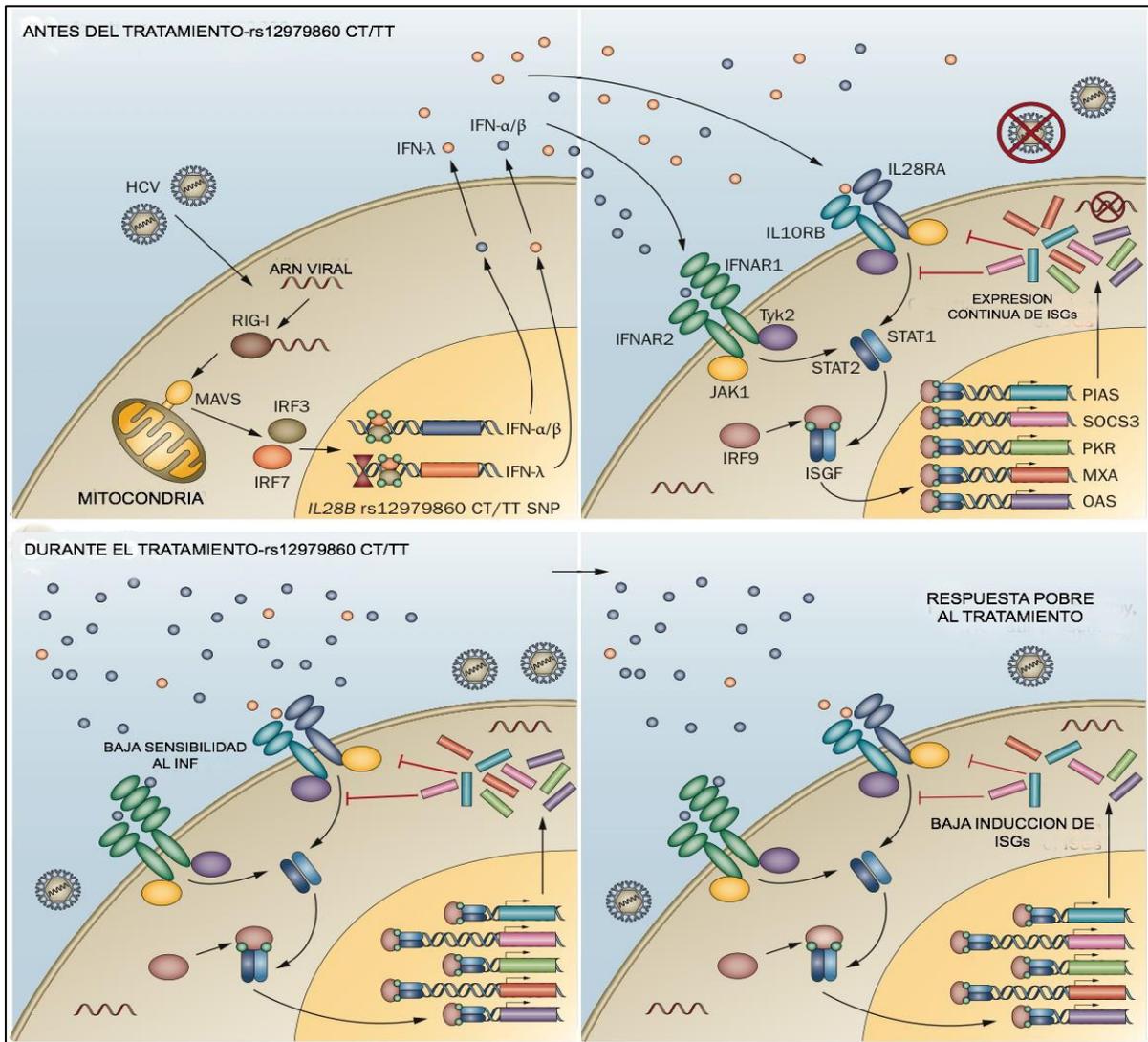


Figura 5. Posible papel del genotipo desfavorable (TT/CT) del SNP rs12979860 IL28B en la respuesta a la terapia con interferón. Modificado de Hayes, C. N. et al. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2012.(23)

En aquellos con el alelo IL28B favorable (rs12979860 CC), antes del tratamiento con IFN α , la presencia de ARN de VHC parece resultar en una expresión mínima de IFN λ , como resultado, la expresión de ISG en los hepatocitos permanece baja, incluso en presencia de ARN de VHC. Aunque este fenómeno podría resultar en una carga viral inicial más alta en los pacientes con el genotipo CC, que en pacientes con el genotipo de IL28B desfavorable; las células permanecen más sensibles al IFN. Por lo tanto, el IFN α administrado durante el tratamiento puede

resultar en una inducción más fuerte de la expresión de ISG y una eliminación más eficaz del virus (16,20,57)

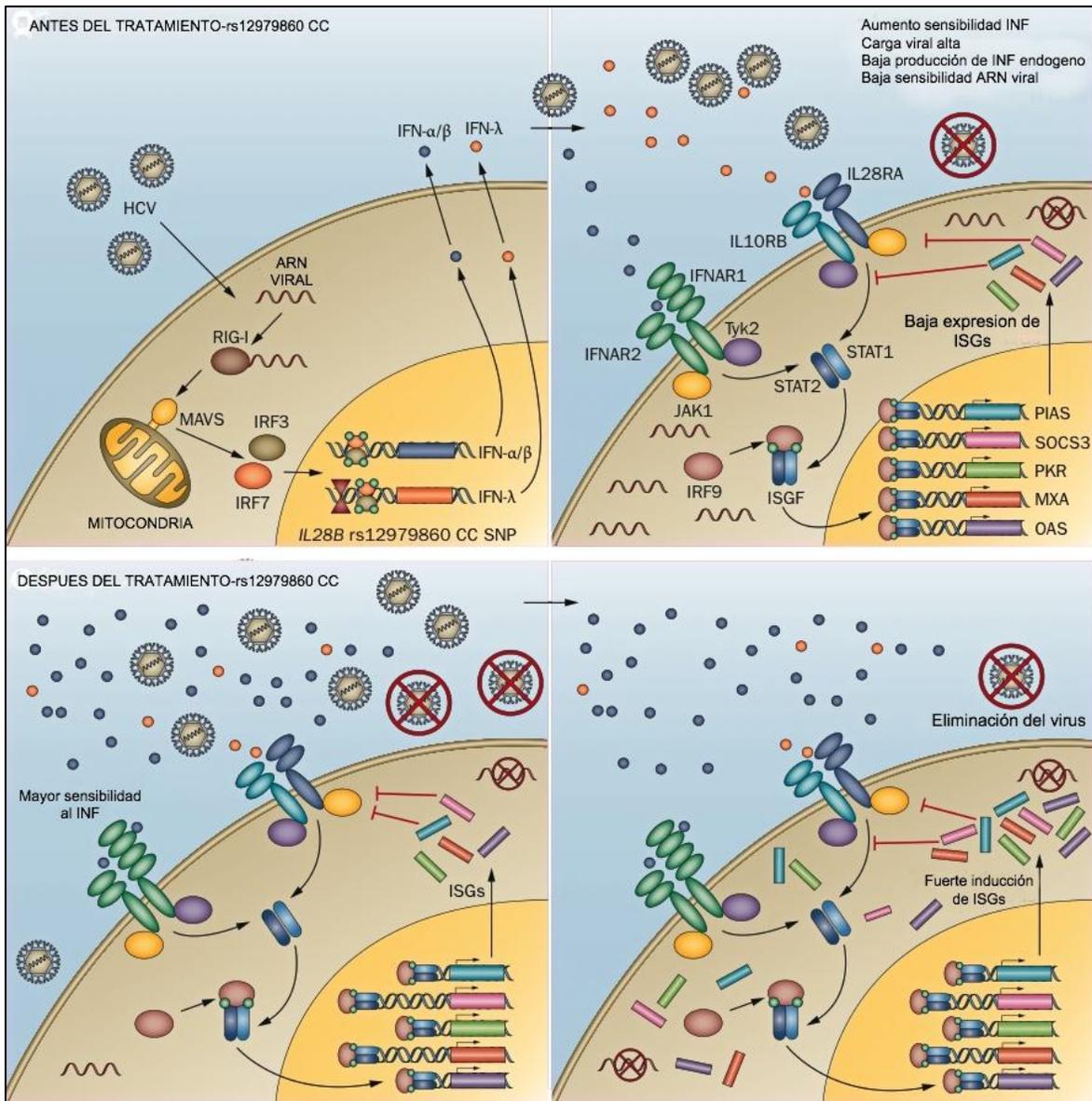


Figura 6. Posible mecanismo de acción del genotipo favorable (CC) del SNP rs12979860 IL28B en la respuesta a la terapia con interferón. Modificado de Hayes, C. N. et al. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 2012.(23)

6. METODOLOGIA

6.1. Diseño del estudio

Estudio de casos y controles prospectivo.

Definición de control: Paciente en RVS con genotipo de hepatitis C 1b con un periodo de post tratamiento mayor a 24 semanas.

Definición de caso: Paciente con genotipo de hepatitis C 1b con un periodo de post tratamiento mayor a 24 semanas sin alcanzar la RVS.

Respuesta Viral Sostenida: Pacientes con una carga viral indetectable (<15 copias/mL y Log: <1.18) post 6 meses de tratamiento concluido con PegINF y RBV.

Para el análisis de asociación, se tendrá en cuenta como variable dependiente la RVS y variable independiente el polimorfismo *IL28B* [rs12979860, Genotipo C/C, vs Genotipo No-CC (C/T o T/T)].

Ámbito de Estudio: Laboratorio de Biología Molecular de la Clínica Colsanitas.

6.2. Población

Población a estudio: Pacientes con diagnóstico de hepatitis C genotipo 1b en la Clínica Colsanitas.

Población blanco: Pacientes con diagnóstico de hepatitis C con genotipo 1b

Población accesible: Pacientes que cumplan los siguientes criterios de elegibilidad:

Criterios de inclusión

- Pacientes de Clínica Colsanitas mayores de 18 años.
- Pacientes con diagnóstico de hepatitis C desde el año 2008 al año 2015.
- Pacientes con genotipo de hepatitis C 1b.

- Pacientes con carga viral de hepatitis C de seguimiento anual (6 meses posterior a la genotipificación) entre los años 2008 al 2015.
- Pacientes que hayan finalizado un primer tratamiento por 48 semanas con Interferón pegilado Alfa 2a: 180 microgramos/semana o interferón pegilado Alfa 2b: 1.5 microgramos/kilogramo/semana más Ribavirina (1000 a 1200 miligramos/día).

Criterios de exclusión

- Pacientes con coinfección por VIH.

6.3. Muestra

La muestra estuvo conformada por un total de 60 pacientes.

Para el cálculo del tamaño de muestra se tuvieron en cuenta los siguientes supuestos:

- 60% de los casos con genotipo CC para el polimorfismo rs12979860 de la IL28B
- 30% de los controles con genotipo CC para el polimorfismo rs12979860 de la IL28B

Se realizó una búsqueda de bibliográfica, que se resume en la tabla 1, con la cual se estableció como mínimo un valor de OR detectar de 3.56, intervalo de confianza (95%) y poder de 80%.

6.3.1. Selección de la muestra

Se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo y a conveniencia de los que cumplieron los criterios de elegibilidad.

ARTICULO	PAIS	REFERENCIA	AÑO	TAMAÑO POBLACION	FRECUENCIA	OR
Genetic variation in Interleukin-28B predicts SVR in hepatitis C genotype 1 Argentine patients treated with PEG IFN and ribavirin.	Argentina	(59)	2011	102	CC: 18% No-CC: 82%	OR: 4.64 95%IC: 1.56-13.65 p: 0.006
A single IL28B genotype SNP rs12979860 determination predicts treatment response in patients with chronic hepatitis C Genotype 1 virus.	Francia	(60)	2011	198	CC: 31% No-CC: 69%	OR: 3.30 95%IC: 1.58-6.90 p: 0.03
IL28B polymorphisms predict the response to chronic hepatitis C virus infection treatment in a Mexican population	Mexico	(61)	2012	85	CC: 24% CT: 41% TT: 35%	OR: 4.83 95%IC: 1.12-20.8 p: 0.033
Association of IL28B Polymorphisms With the Response to Peginterferon Plus Ribavirin Combined Therapy in Polish Patients Infected With HCV Genotype 1 and 4	Polonia	(62)	2013	174	CC: 27.1% CT: 56.4% TT: 16.5%	OR: 3.4 95%IC: 1.5-7.4 p: 0.001
Response to treatment in Brazilian patients with chronic hepatitis C is associated with a single-nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene	Brasil	(63)	2013	263	CC: 14.4% CT: 48.7% TT: 36.9%	OR: 5.31 95%IC: 2.29-13.30 p: <0.001
IL28B polymorphism genotyping as predictor of rapid virologic response during interferon plus ribavirin treatment in hepatitis C virus genotype 1 patients	Italia	(64)	2014	118	CC: 25% CT: 62% TT: 13%	No Significativo
Interferon-λ polymorphisms and response to pegylated interferon in Iranian hepatitis C patients.	Iran	(65)	2015	152	CC: 37.5% CT: 47.3% TT: 13.2%	OR: 6.2 95%IC: 1.2-31.9 p: 0.03
The complete title: The effect of interleukin-28B rs12979860 polymorphism on the therapeutic response of Moroccan patients with chronic hepatitis C	Marruecos	(66)	2015	187	CC: 25% CT: 41% TT: 34%	OR: 4.10 95%IC: 1.92-8.72 p: 0.001

Tabla 1. Datos para la Selección del tamaño de la Muestra.

6.4. Variables

Tabla 2. Variables y escalas de medición

Nombre	Definición	Escala	Unidad de medición
Edad	Años cumplidos del paciente	Cuantitativa Continua	18-100
Sexo	Características físicas, biológicas, anatómicas y fisiológicas de los seres humanos	Cualitativa Nominal	Hombre o Mujer
Procedencia	Ciudad de la cual proviene	Cualitativa Nominal	Barranquilla, Bogotá, Cali y Villavicencio
Duración del tratamiento	Tiempo en el que el paciente recibe medicamento específico contra el VHC	Cuantitativa Continua	Semanas
Polimorfismo de nucleótido simple (SNP)	Variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de una secuencia del genoma.	Cualitativa Nominal	0:CC 1:CT - TT
Frecuencia alélica	Proporción que se observa de un alelo específico respecto al conjunto de los que pueden ocupar un locus determinado en la población	Cuantitativa Continua	0 - 1
Carga viral	RNA del virus detectable	Cuantitativa continua	UI/mL, Log
Genotipo de HCV	Información genética que posee un organismo en particular	Cualitativa Nominal	1, 2, 3,4,5 y 6
RVS	RNA del VHC es indetectable a las 24 semanas después de haber terminado el tratamiento	Cualitativa Nominal	0: Si 1: No

6.5. Proceso de selección

Se seleccionaron los pacientes que cumplieran con la totalidad de los criterios de inclusión, se generó una base de datos en el software Microsoft Excel 2010® (Microsoft, Seattle, WA, USA) importando la información registrada en el software ERP® (versión 1.0.32.00230, CD. Colombia) y completándola con los datos del software de historias clínicas Sophia Sistema Personal (versión 4.0.8. Organización Sanitas Internacional, CD. Colombia)

Las muestras fueron tomadas en los Clinicentros de las Clínica Colsanitas S.A. por parte de los auxiliares y bacteriólogos de cada sede que han sido informados del protocolo del estudio, se diligencio el formato de recolección de datos ya establecido para la prueba y las muestra se remitieron cumpliendo con los requisitos del manual de envío y remisión de muestras al laboratorio de Biología Molecular de la Clínica Universitaria Colombia.

6.6. Recolección de datos

Los datos de interés para este estudio fueron tomados de los resultados de Genotipificación de HCV y carga viral de HCV entre año 2008 al año 2014 consignados en el sistema de información del laboratorio clínico Sanitas software ERP® (versión 1.0.32.00230, CD. Colombia) todos provenientes de pacientes quienes cumplieron con los criterios de inclusión. Para realizar la genotipificación de IL-28B fueron ingresados a una base de datos en el software Microsoft Excel 2010® (Microsoft, Seattle, WA, USA) para su respectiva depuración y uso.

6.7. Técnicas de laboratorio

6.7.1. Genotipificación del VHC

Para la genotipificación del virus, se aplicó el siguiente protocolo de procesamiento:

Obtención de plasma

Las muestras de los pacientes fueron recolectadas por el sistema BD Vacutainer® (Becton Dickinson & Company, Franklin Lakes, NJ USA) en tubos EDTA. Para la obtención de plasma la muestra fue centrifugada a 3500 revoluciones por minuto (rpm) por 20 minutos y el plasma fue separado del tubo primario para ser congelado a -20°C hasta su procesamiento.

Extracción de RNA y Genotipificación Viral de HCV

La extracción de RNA se realizó utilizando el protocolo QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) con 140 uL de plasma y el genotipo de HCV se obtuvo mediante el sistema TRUGENE-SIEMENS HCV 5'NC Genotyping Kit (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY, USA), usándose inicialmente la técnica LIPA (del inglés *Line Probe Assay*, Versant HCV Genotype assay 1.0/2.0; Innogenetics, Ghent, Belgium; Distribucion Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) para la obtención de ADNc, obteniéndose una secuencia bidireccional desde la región no codificante 5'. La detección de los segmentos de secuenciación resultantes se realizó usando el sistema de secuenciación OpenGene® DNA Sequencing System (Siemens AG, Healthcare Sector, Erlangen, Germany).

Análisis y reporte

Las secuencias directa y reversa fueron combinadas y comparadas con la biblioteca del TRUGENE-SIEMENS HCV 5' (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY, USA), se cumplió una serie de puntos de chequeo

para la obtención del resultado del genotipo y subtipo viral: validación del control negativo, validación del control positivo, evaluación de la presencia de una región de poli C en la secuencia VHC 5'NC en 27pb, análisis de la presencia de una región de poli G/C comprendida entre 140 a 148 pb y por último el análisis de la secuencia de 183 pb.

6.7.2. Genotipificación IL-28B

Obtención de Sangre total

Para la obtención de ADN se tomó una muestra de sangre total en EDTA que se mantuvo refrigerada a 4°C hasta su procesamiento.

Extracción Automatizada de ADN

La extracción de ADN genómico de muestras de sangre total se realizó utilizando el kit Abbott *mSample* Prep System DNA y el sistema *m2000* Realtime System[®] (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)

Genotipificación IL28B

Se genotipificó la variante *rs12979860* de IL28B utilizando el Kit LightMix[®] Kit IL28B *rs12979860* (TIB MOLBIOL GmbH, Berlín, Germany) y la plataforma LightCycler[®] Z480 Instruments (Roche Diagnostics Rotkreuz, Suiza), que permitió la detección del polimorfismo en el gen de la IL28B para buscar un efecto sobre los pacientes infectados con el VHC genotipo 1b. Para evidenciar el genotipo del polimorfismo en los pacientes con HCV; cada genotipo fue sometido a una revisión manual en donde se confirmaba la temperatura de cada pico y la asignación de cada alelo del polimorfismo, seguidamente todos los resultados fueron exportados en una tabla para su análisis.

6.8. Análisis de estadístico

1. Estadística descriptiva: Los resultados de las variables cualitativas fueron reportados en frecuencias absolutas y relativas. Las variables cuantitativas fueron descritas utilizando medidas de tendencia central y dispersión según

su naturaleza estadística. La estimación de las frecuencias genotípicas fueron reportadas según el modelo de herencia (homocigoto/heterocigoto). Las frecuencias alélicas se calcularon a partir de las frecuencias genotípicas del polimorfismo estudiado. El cálculo de las frecuencias alélicas se obtuvo al sumar el número de individuos heterocigotos con el doble de los individuos homocigotos para cada alelo, y se dividió por el total de los individuos multiplicado por 2 (ya que cada individuo lleva dos alelos); para calcular la frecuencia del otro alelo (q) se restó de 1, es decir, $q=1-p$.

2. Análisis bivariado: Para establecer las diferencias entre casos y controles se utilizó la prueba de Mann-Whitney las variables cuantitativas y el estadístico de X^2 o Fisher para las cualitativas, según correspondiese. Se establecerán como significativas las diferencias con una $p<0.05$ con pruebas de hipótesis a dos colas.
3. Para establecer la asociación entre el SNP y la RVS, se construyó un modelo de regresión logística siguiendo el protocolo descrito a continuación:
 - Se codificaron las variables independientes categóricas u ordinales en variables ficticias o simuladas y la variable dependiente en 0 y 1.
 - Se evaluó el efecto de confusión y de interacción entre las variables: sexo, edad y procedencia del modelo explicativo.
 - Se analizó la fuerza, sentido y significación de los coeficientes, sus exponenciales y estadísticos de prueba Wald.

La asociación se reportó mediante el estimador de Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza con un nivel de significancia del 95%. El análisis estadístico se realizó en STATA® statistical software (versión 13.0, StataCorp, College Station, TX, USA).

7. RESULTADOS

Se analizaron 60 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión provenientes de las ciudades de Barranquilla, Bogotá, Cali y Villavicencio. El 65% de los pacientes analizados no alcanzaron una RVS posterior tratamiento con interferón pegilado y ribavirina, mientras que el porcentaje restante (35%) lo alcanzó en un periodo de 24 semanas posterior al haber terminado el tratamiento farmacológico. Las demás características se exponen en la Tabla 3.

Tabla 3. Características de los pacientes.

Variable	TOTAL(n=60)	Casos (n=39)	Controles (n=21)	p
Sexo				0,74
Femenino	24(40%)	15(38.5%)	9(45.9%)	
Masculino	36(60%)	24(61.5)	12(57.1%)	
Edad*	62.5 (53-70.5)	62 (55-70)	64 (43-72)	0,52
Procedencia				0,66
Barranquilla	2(3.3%)	1(2.6%)	1(4.8%)	
Bogotá	50(83.3%)	31(79.5%)	19(90.5%)	
Cali	7(11.7%)	6(15.4%)	1(4.8%)	
Villavicencio	1(1.7%)	1(2.3%)	0	

*.Mediana (RIQ)

Los pacientes tenían mediana de carga viral basal antes de iniciar el tratamiento de 629891 UI/mL (RIQ 216789 - 1546470). Así mismo, la mediana de la carga viral pretratamiento de los pacientes que lograron una respuesta viral a los seis meses post-tratamiento resultó menor respecto a los casos (Figura 7).

Los pacientes en RVS mantuvieron una carga viral indetectable (<15 Copias/mL). Los participantes que no alcanzaron una RVS y que recibieron el tratamiento durante 48 semanas de PegINF y RBV obtuvieron una carga viral promedio de 871,400 Copias/mL (DE±249324 Copias/mL).

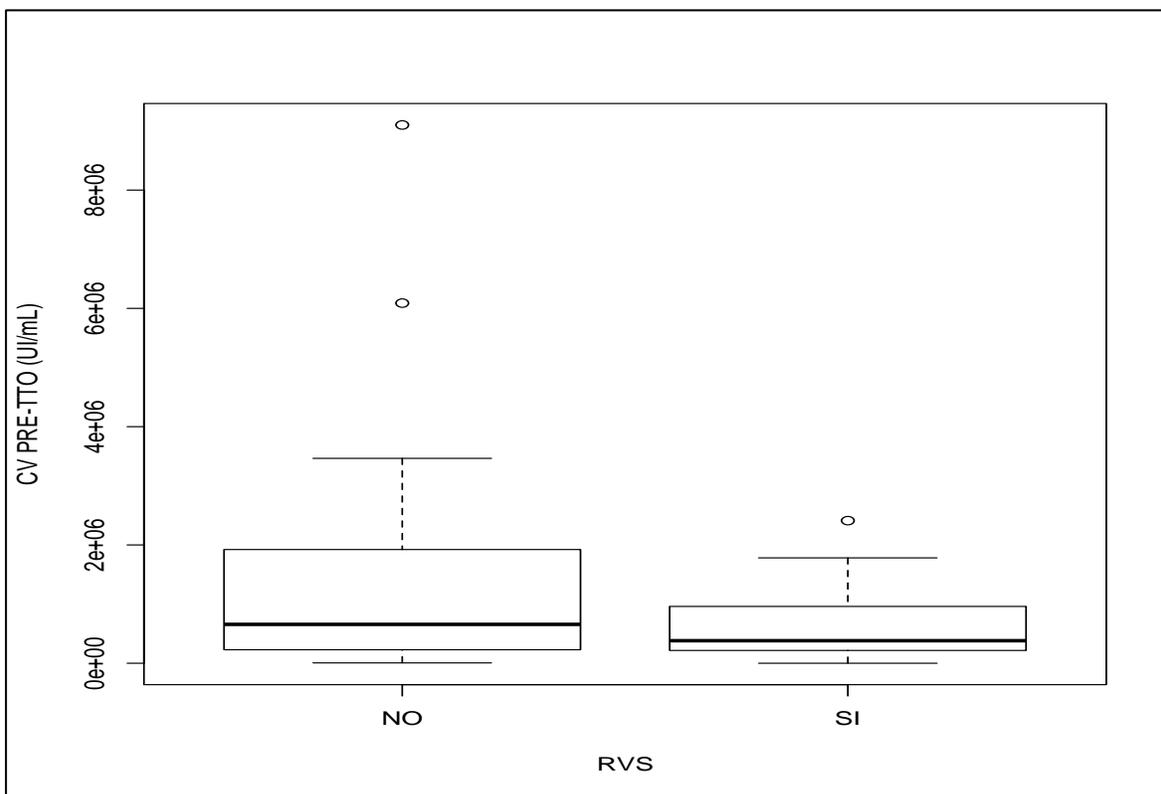


Figura 7. Comportamiento de la CV pretratamiento según la RVS. Se omitió un valor extremo para mejor visualización de la gráfica.

Frecuencias genotípicas

Una vez se determinó el polimorfismo *rs12979860* del gen IL28B para cada paciente; se estimó la frecuencia de cada genotipo. De la población general el 11,67% (7) resultó homocigoto CC, el 21,67% (13) homocigoto TT y el 66,67% heterocigoto. Las frecuencias genotípicas con género y procedencia se exponen en la tabla 4.

Tabla 4. Frecuencias genotípicas por género y procedencia

	CC	CT	TT	<i>p</i>
Sexo				
Femenino	3 (42,86%)	18(45%)	3(23,08%)	0,37
Masculino	4(57,14%)	22(55%)	10(76,92%)	
Procedencia				0,74
Barranquilla	-	2(3,3%)	-	
Bogotá	7(11,7%)	33(55%)	10(16,7%)	
Cali	-	4(6,7%)	3(5%)	
Villavicencio	-	1(1,7%)	-	

El análisis por genotipo determinó que el 71,43% de pacientes con el genotipo CC alcanzaron una respuesta viral sostenida, mientras que el 28,57% no lo logro, la frecuencia de RVS en los pacientes con genotipo CT/TT fue de 30.19%, siendo una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.03$) comparada con el mismo grupo de pacientes que no se encontraban con RVS como se presenta en la tabla 5.

Tabla 5. Frecuencias de RVS según genotipo *rs12979860*

RVS	Genotipo <i>rs12979860</i>		TOTAL
	CC	CT/TT	
SI	5 (71,43%)	16(30,19%)	21(35%)
NO	2 (28,57%)	37(69,81%)	39(65%)
TOTAL	7(100%)	53(100%)	60(100%)

Para los tres posibles genotipos de polimorfismo se presentaron en frecuencias similares tanto en hombres como mujeres, a excepción del genotipo homocigoto TT, en el cual se evidencio una diferencia significativa, ya que en hombres fue del 76,92% mientras que en las mujeres fue del 23,08%.

Frecuencias alélicas

En cuanto a la determinación de la frecuencia alélica para el polimorfismo *rs12979860* para el gen *IL28b* se observó que alelo C fue de menor frecuencia (45%) que el alelo T (55%).

Equilibrio de Hardy- Weinberg

De acuerdo al valor de p, no hay una diferencia estadísticamente significativa (0.51) entre lo observado y lo esperado en la frecuencia de los genotipos para los controles, lo cual sugeriría un equilibrio de HW y eso es lo ideal.

Tabla 6. Equilibrio de Hardy- Weinberg para los controles

Genotipo	Observados	Esperados
rs12979860 TT	5	5,8
rs12979860 CT	12	10,5
rs12979860 CC	4	4,8
Frec. Alelo Variante	0,476190476	
$X^2 =$	0,44	
X^2 test p value =	0,51	con 1°de libertad

Con respecto a las frecuencias reportadas en 1000 Genomes Project (Fase 3 Publicada¹⁷ - Nov 2015[©]EBI) las proporciones difieren con respecto a la población de origen americano, las diferencias entre los reportes para la población estudiada de Colsonitas y los datos de la base de datos pueden ser explicados en función al tamaño de muestra analizado, así como a diferencias en la composición genética ancestral.

Tabla 7. Comparación de frecuencias con la base de datos 1000 genomes

		1000 Genomes						COLSANITAS
		ALL	AFR	AMR	EAS	EUR	SAS	
ALELO	C	0.644 (3226)	0.331 (437)	0.601 (417)	0.920 (927)	0.691 (695)	0.767 (750)	0.45(34)
	T	0.356 (1782)	0.669 (885)	0.399 (277)	0.080 (81)	0.309 (311)	0.233 (228)	0.55(46)
GENOTIPO	CC	0.460 (1151)	0.104 (69)	0.375 (130)	0.845 (426)	0.481 (242)	0.581 (284)	0.116(7)
	CT	0.369 (924)	0.452 (299)	0.452 (157)	0.149 (75)	0.419 (211)	0.372 (182)	0.666(40)
	TT	0.171 (429)	0.443 (293)	0.173 (60)	0.006 (3)	0.099 (50)	0.047 (23)	0.216(13)

ALL: Total. AFR: Africanos. AMR: Americanos EAS: Asiáticos orientales EUR: Europeos SAS: Sur Asiáticos

Análisis bivariado

Se realizó un análisis bivariado entre los pacientes que alcanzaron una RVS después de recibir un tratamiento de PegINF y RBV por un periodo de 48 semanas y los que no alcanzaron esta respuesta 24 semanas posteriores al haber terminado el esquema de tratamiento.

Las variables cuantitativas comparadas entre estos dos grupos de pacientes fue la edad y la carga viral pretratamiento. El resultado de la prueba de Mann-Whitney estableció que no había una diferencia significativa entre los dos grupos de pacientes analizados según el número de años con los que contaban en el momento de recibir el tratamiento o la carga viral del virus antes de iniciar el consumo de los medicamentos.

En cuanto a las variables cualitativas, el análisis por Chi-cuadrado determinó que el sexo no se encontraba asociado con la RVS, eliminando una hipótesis de

posible asociación con un p-valor (0,37). El análisis de asociación entre la RVS y la presencia del genotipo CC vs No-CC (CT/TT) en los pacientes infectados con VHC genotipo 1B mediante la prueba de Fisher, estableció una asociación estadísticamente significativa (p=0,045), lo que permite confirmar la hipótesis establecida en el proyecto.

Regresión logística

Finalmente se realizó un análisis multivariado mediante un modelo de regresión logística para comprobar si existe alguna asociación significativa entre las variables estudiadas. Se determinó una asociación significativa entre la RVS y la presencia del genotipo CC vs genotipo no CC (CT/TT) del polimorfismo rs12979860 para el gen IL28b (OR: 5.78 IC 95%:1.0 - 32.9, p 0.048).

Tabla 8. Modelo de regresión logística con ajuste progresivo

MODELO	OR	[95% IC]	p
1	5,78	3,7-32,9	0,048
2	5,76	1,0-32,9	0,049
3	6,03	0,6-59,9	0,125
4	5,19	0,5-51,4	0,159
5	5,20	0,5-52,3	0,162
6	6,03	3,83-46,5	0,041
7	6,12	3,86-47,8	0,046
8	5,17	3,67-39,4	0,067
9	6,15	3,83-46,5	0,041
10	6,18	3,89-49,3	0,047

OR: Odds ratio, IC: intervalo de confianza.

Modelo 1: RVS y SNP rs12979860 IL28B. Modelo 2: Modelo 1+ Sexo. Modelo 3: Modelo 2 + Edad. Modelo 4: Modelo 3 + Carga viral pre-tratamiento. Modelo 5: Modelo 4 + procedencia. Modelo 6: Modelo 1 + Procedencia. Modelo 7: Modelo 1+ Sexo+ Carga viral pre-tratamiento. Modelo 8: Modelo 1+ Sexo+ Carga viral pre-tratamiento sin valor extremo. Modelo 9: Modelo 1+ Sexo+ Carga viral pre-tratamiento sin valor extremo + procedencia. Modelo 10: Modelo 1+ Sexo+ Carga viral pre-tratamiento sin valor extremo + procedencia + edad.

Se estableció una asociación entre la presencia del genotipo favorable del gen IL28b (genotipo CC) y el riesgo positivo de alcanzar una RVS posterior a las 24 semanas de haber terminado el tratamiento (OR: 5.78 IC 95%:1.01-32.9, p 0.048). Al ajustar por el sexo la asociación no se modificó, sin embargo al incluir como variables confusoras la edad, carga viral pre tratamiento y la procedencia se eliminó el efecto del polimorfismo.

El análisis multivariado demostró que el genotipo del polimorfismo se encontraba relacionado con que el paciente alcance una respuesta viral sostenida, por lo que se continuó con un análisis multivariado. Las variables que se consideraron para el análisis multivariado fueron el sexo y carga viral pre tratamiento ya que alcanzaron una asociación estadísticamente significativa con un $p < 0,05$. El modelo multivariado ajustado por sexo y carga viral pretratamiento (modelo 7 en la tabla 7) mostro un cambio del 40% en el odds ratio comparado con el modelo crudo, manteniendo una asociación estadísticamente significativa (OR:6,12 p :0.046 IC: 3,86-47,8).

8. DISCUSION

En Colombia no se tienen reportes actuales de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs12979860 del gen de la *IL28B*, mucho menos se han realizado estudios de asociación de este polimorfismo con la respuesta al tratamiento estándar de PegINF y RBV. El presente estudio logro estimar la proporciones alélicas y genotípicas para este SNP en una muestra de pacientes colombianos, provenientes de cuatro ciudades del país. Además se logro establecer la asociación del genotipo CC del SNP rs12979860 y la RVS en pacientes colombianos infectados con el genotipo 1b del VHC tratados con PegINF y RBV.

En cuanto a las frecuencias genotípicas obtenidas para el polimorfismo, los resultados fueron concordantes con poblaciones de Europa, Norteamérica y América latina (67,68). La proporción del genotipo heterocigoto CT en la muestra de pacientes colombianos analizados fue la mayor, resultados similares se han reportado en estudios con población Alemana, Italiana, Inglesa y Polaca, con frecuencias entre el 53% y 56,4% para el mismo genotipo (62,69). Con respecto a la frecuencia para el genotipo CC, se puede indicar que es comparable con los reportes en poblaciones de Brasil, Estados Unidos y Chile (70). Al comparar estas frecuencias con los reportes de algunos países del continente asiático, se presenta una diferencia significativa; ya que en poblaciones estudiadas de Corea del Sur y China los porcentajes más altos se presentan para el genotipo CC con frecuencias de 86,6% y 81,6% (71,72).

Los resultados obtenidos para las frecuencias fueron comparados con individuos africanos, americanos, asiáticos orientales, europeos y sur asiáticos reportados en el proyecto 1000 genomas. Estas comparaciones permiten establecer las diferencias entre nuestra población y las reportadas en bases de datos de acceso universal; las diferencias que se observaron podrían estar basadas en el origen

geográfico y ancestría de las poblaciones comparadas. Estos reportes de frecuencias alélicas y genotípicas en diferentes áreas geográficas, evidencian una selección positiva a favor de un alelo puntual que quizás se deba a presiones selectivas específicas de cada región geográfica; esto resulta importante en términos de asociación de estas variantes, con los procesos de respuesta a enfermedades infecciosas como la HC y unido al genotipo del virus predominante en la región comparada.

Dado el tipo de diseño metodológico; un estudio de casos y controles, se evaluó únicamente el equilibrio de Hardy Weinberg (EHW) en la población control; ya que para la población de casos se espera que alguna de las frecuencias genotípicas observadas sean distintas a las esperadas, ya que el polimorfismo puede estar asociado al riesgo en estudio. El polimorfismo rs12979860 del gen la *IL28B* se encontraba en EHW en la población de pacientes con HC en RVS posterior al tratamiento con PegINF y RBV. El cumplimiento del EHW en la muestra de controles, disminuye la ocurrencia en un sesgo de selección.

Con respecto al análisis de asociación entre el SNP y la RVS, los resultados obtenidos fueron consistentes con los hallazgos reportados en investigaciones previas (6,68,73). El resultado que se obtuvo en esta investigación fue cercano a múltiples reportes a nivel mundial (61,67,70). Desde la primera publicación de Ge, Dongliang y colaboradores en el año 2009, son varios los investigadores que han demostrado a través de estudios de casos y controles la relación entre la presencia del genotipo CC del SNP 12979860 del gen de la *IL28B* y una RVS en pacientes infectados con diferentes genotipos de HC y que han sido tratados con INF y RBV (21,29,59,74). Entre los estudios con diseño, poblaciones y resultados similares, se destacan los realizados en países cercanos como Brasil, Chile y Argentina (33,61,63,67,68,75,76). Los resultados descritos en este estudio muestran que los pacientes analizados que poseían el genotipo CC del SNP rs12979860 de la *IL28B* tenían 5 veces más probabilidades de alcanzar una RVS al ser tratado con PegINF y RBV de los pacientes que poseían un genotipo no-CC (CT/TT).

El resultado obtenido para la carga viral pretratamiento o basal, en el modelo de multivariado, y la inconsistencia de los resultados entre varias investigaciones para la misma variable, llevan a pensar que puede relacionarse a un posible sesgo de información; ya que como en el presente estudio, investigadores en China, Egipto e Irán, no lograron demostrar la interacción de la CV pretratamiento en el modelo inicial de asociación (77). Un factor común entre estos reportes, es el tipo de estudio retrospectivo, lo que limita el control de la información requerida para el análisis; por lo que se parte de la premisa que la técnica de detección y cuantificación del número de copias de ARN, la adherencia al tratamiento por parte del paciente y el cumplimiento al cronograma de seguimiento por parte del profesional médico, se realizaron de la manera indicada.

El modelo multivariado en el que se incluye el sexo no perdió significancia estadística y mantuvo el valor del OR, por lo que se podría inferir que en este grupo analizado, esta variable se comporta como de manera protectora en modelo de asociación, sería interesante realizar un estudio con un número mayor de pacientes y generar un modelo estadístico similar que permitiera concluir el papel de esta variable en el análisis.

Aunque la asociación de este polimorfismo y la RVS ya ha sido previamente identificada en población Europea (45), Asiática (33), Africana (24) y Estadounidense (56), entre algunos; el resultado de esta investigación constituye el primer reporte de asociación en población Colombiana. Aun con una disminución en la potencia del estudio, se logró obtener un valor de asociación estadísticamente significativo.

Estudios ya publicados sobre el tratamiento de la infección crónica por VHC han demostrado diferencias notables en la respuesta a la terapia antiviral entre grupos raciales o étnicos diferentes, destacando la poca eficacia en la eliminación espontánea del virus y en la respuesta al tratamiento en pacientes afroamericanos. Debido a la limitación para completar el número de pacientes a analizar no se incluyó esta variable en el diseño metodológico, pero abre la posibilidad a futuras investigaciones que permitan establecer las discrepancias

raciales en las tasas de RVS y resolución espontánea de la infección en pacientes colombianos.

El hecho que no se hayan incluido otras variables como el estado de fibrosis del paciente, los niveles de transaminasas, o el tiempo de diagnóstico, como varios estudios si lo realizan, y en algunos estas variables potencian el modelo de asociación; imposibilitaron ampliar el análisis y por la tanto la comparación de estudios entre varios reportes, unas de las mayores limitaciones se presenta con la evaluación de la adherencia al tratamiento por parte del paciente, y aunque se tuvo acceso a la información completa de la paciente, esta variable es muy difícil controlar en un estudio de tipo retrospectivo, ya que muchos profesionales médicos no incluyen una descripción o evaluación de esta característica.

Aunque en los últimos 6 años en Colombia se hayan aprobado algunos de los antivirales de acción directa (AAD) como el Telaprevir y Boceprevir y otros estén por ingresar al mercado farmacéutico para el tratamiento de la HC, el uso del polimorfismo IL28 como predictor de la respuesta viral sigue siendo útil ya que varios estudios han logrado demostrar la asociación de este SNP con terapias en las que incluyen además el INF un AAD (38). Por lo tanto se abre posibilidad que se realicen estudios de este tipo en nuestro país, aun mas cuando la legislación colombiana aprobó el uso de estos medicamentos en la tratamiento de los pacientes infectados con el VHC (32). Con la implementación de estas nuevas terapias se requiere el desarrollo de estudios que muestren la tasa de respuesta a estos fármacos, ampliando las variables analizadas en este proyecto y enfocándose en el valor predictivo o factor de asociación del polimorfismo rs12979860 del gen de la *IL28B*.

En la era actual en la que se busca ofrecer una terapia personalizada, la determinación del SNP de la IL28B en pacientes infectados con VHC, se convierte en una estrategia en la toma de decisiones terapéuticas, que reducen el tiempo y los costos del tratamiento. La genotipificación IL28B es altamente predictiva de la RVS en pacientes infectados por el VHC GT1, su poder de predicción a nivel del paciente individual es lejos de ser absoluta (34), por lo que no debe ser el único

factor para decidir sobre una estrategia de tratamiento en el paciente infectado (45).

Dado el diseño del estudio; el sesgo de información y el sesgo de selección fueron los errores de mayor control en esta investigación. El resultado de los intervalos de confianza en los modelos de regresión logística, pueden estar asociados a la al número pequeño de pacientes estudiados que cumplían con los criterios de inclusión. El hecho que se haya planteado un estudio de casos y controles lo hace particularmente más susceptible a este tipo de sesgo.

Conociendo la limitante en el número de pacientes analizados, era de vital importancia disminuir la probabilidad de ocurrencia en un sesgo de selección; por lo que todos los pacientes fueron seleccionados de una misma base de datos, proveniente de un único sistema de información, todos cumplían con exactitud con la medición de la carga viral pre y pos tratamiento; evento que desencadenaba la clasificación como respondedor o no al tratamiento de PegINF/RVB. Además de que todos los participantes cumplían con la finalización de la terapia y la posterior carga viral de seguimiento, lo que generaliza la exposición a los eventos en interés por parte del estudio, sin conocer su genotipo de polimorfismo.

En cuanto al sesgo de información, las técnicas de biología molecular fueron iguales para todos los participantes y realizadas por el mismo profesional, disminuyendo la ocurrencia en los errores de medición. La variación en los modelos de regresión logística al ajustar por carga viral, incluyendo o no el valor extremo, puede asociarse a un posible sesgo de información; ya que no se tiene un control exacto de la adherencia al tratamiento por parte del paciente, resultando en un valor extremo del número de copias de ARN del virus. Al final lleva a descartar la inclusión de esta variable en el análisis multivariado, aunque el resultado obtenido descarta la interacción en el modelo de asociación, se sugiere a futuro ampliar el número de pacientes a analizar y evaluarla de nuevo.

La muestra de controles analizados se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg. El resultado de las frecuencias alélicas mostro que el alelo T fue mayor por una mínima diferencia con respecto al alelo C. El genotipo homocigoto CC mostro ser el de menor frecuencia en el número total de pacientes analizados. Se observó que el 71,4% de los pacientes que poseían el genotipo CC habían alcanzado una RVS 24 semanas posteriores al recibir el tratamiento.

De acuerdo a los objetivos del estudio, se logró determinar una asociación entre la presencia del SNP rs12979860 genotipo CC y la RVS en pacientes con hepatitis C genotipo 1b tratados con PegINF/RBV de la Clínica Colsanitas. Después de ajustar por sexo se mantuvo una asociación estadísticamente significativa. El análisis multivariado demostró que los pacientes con este polimorfismo tienen 5 veces más probabilidades de alcanzar una RVS al tratamiento estándar.

9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La genotipificación del polimorfismo rs12979860 del gen *IL28B* aporta información importante sobre las probabilidades que tiene un paciente infectado con el VHC de alcanzar una RVS con un tratamiento de PegINF y Rivabirina.

El genotipo heterocigoto CT mostro ser el de mayor frecuencia en la población de pacientes colombianos analizados con una tasa de 66,6%, el genotipo homocigoto TT fue el segundo en frecuencia con un valor de 21,66% y por el ultimo el genotipo homocigoto CC con una frecuencia de 11,66%. La frecuencia alélica para el alelo C (0,45) resulto menor al alelo T (0,55).

La diferencia en las frecuencias genotípicas para polimorfismo rs12979860 del gen *IL28B* obtenidas comparadas con los reportes en hapman y 1000genomes evidencian una selección positiva a favor de un alelo puntual que quizás se deba a presiones selectivas específicas de cada región geográfica; lo que se asocia a diferentes grados de respuesta a enfermedades infecciosas como la HC.

La tasa de RVS en pacientes con genotipo CC fue del 71,43% mientras que para pacientes con genotipo no CC fue del 30,19%, lo que inicialmente relaciona la presencia del genotipo con una respuesta positiva a la terapia con PegINF y RVB en pacientes infectados con el genotipo 1b del VHC. El uso de esta información, le permite al médico clínico, conocer de manera clara el porcentaje de respuesta cuando su paciente carece del polimorfismo CC y entrar a evaluar la pertinencia del tratamiento incluyendo los efectos colaterales del mismo, y el alto costo del tratamiento.

Se estableció que los pacientes analizados que se encontraban infectados el VHC genotipo 1b y presentaban CC del polimorfismo rs12979860 de la *IL28B* y tenían 5 veces más de posibilidades de alcanzar una RVS cuando reciben un tratamiento de PegINF y RBV, sin tener en cuenta su carga viral pretratamiento o sexo.

Se determinó que la carga viral pretratamiento esta asociada a una RVS en presencia del polimorfismo favorable. El hecho que se realicen futuras investigaciones, de tipo prospectivo y retrospectivo, con un número mayor de pacientes; no solo permitiría aumentar el número de variables como la raza/etnia, estado de fibrosis y niveles de transaminasas, entre otros, sino también aumentar el número de datos a analizar, y de esta manera precisar la significancia en un modelo multivariado similar al realizado en este proyecto.

Disponer de la información de que menos del 12% de los pacientes son homocigotos CC para la IL28, será muy importante hacia el futuro si la eficacia de los medicamentos antivirales se asociaran con una respuesta diferente en ese grupo de pacientes. Recientemente se encontró que la combinación de simeprevir con PegINF en tratamiento de 12 semanas tuvo una respuesta viral sostenida en el 82% de los pacientes (78). En pacientes con genotipo 4 se ha encontrado una tasa de RVS del 97% cuando el polimorfismo para IL-28 es CC y para el genotipo 1 94% cuando son tratados con PegINF y Simeprevir (79). Esta combinación podría ser una alternativa de tratamiento para los países en vías de desarrollo como el nuestro que tienen limitaciones económicas.

Determinar el polimorfismo del gen *IL28B* se ha convertido en una herramienta de impacto en el tratamiento del paciente con HC. En nuestro país, donde los tratamientos para esta patología son de tan alto costo, la combinación de PegINF con antivirales directos, se convierte en manejo terapéutico acertado, si se tiene conocimiento de que el paciente no va a responder al tratamiento estándar. A corto plazo se requiere analizar los costos de determinación de la IL-28 en todos los pacientes con HC y de esta manera puedan acceder a un tratamiento adecuado.

10. LIMITACIONES

Inicialmente se calculó trabajar con un mínimo de 120 pacientes, pero a medida que se elaboraban los criterios de inclusión, fue más difícil hallar el número sugerido, del total del universo que se tenía. Al incluir pruebas de biología molecular en la fase experimental, se elevó el valor económico total del proyecto y ya que se tenía un costo limitado de financiación se decidió ajustar e incluir a un número de 60 pacientes a analizar. Los resultados de este proyecto se plantean como un estudio piloto, que abre las puertas a futuras investigaciones con una población mayor y de diferentes procedencias y etnias, que permitan extrapolar los resultados obtenidos a una población en general.

Dentro de las limitaciones que se presentaron en este estudio, esta inicialmente el tamaño de la muestra, que fue relativamente pequeña, aunque varios artículos citados han trabajado con un número de pacientes similar al analizado en este trabajo y han obtenido resultados estadísticamente significativos, concordantes a los de este proyecto (68,80). En segundo lugar, dentro de las variables no se incluyó la categoría de raza/etnia (blanco/negro/indígena) ni el estado de fibrosis del hígado como algunas publicaciones lo reportan, esto debido al número limitado de pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión y a la falta de datos para esta clasificación patológica.

Otra de las limitaciones que se presentó en este estudio fue la naturaleza retrospectiva del análisis, lo que limitó la obtención de los datos y generó la pérdida de algunas variables. Aunque es una característica común en la mayoría de trabajos publicados sobre este tema, se requieren que se realicen estudios prospectivos controlados para evaluar la influencia de diferentes polimorfismos del gen IL28B, especialmente *rs12979860*, en el resultado del tratamiento de los pacientes con hepatitis C crónica.

Se debe tener en cuenta que en el desarrollo de este proyecto presento un sesgo de selección o de muestreo, los hallazgos encontrados en este estudio reflejan el comportamiento de polimorfismo rs12979860 del gen de la *IL28B* en una muestra representativa de pacientes de una empresa prestadora de servicios de salud (EPS). No se puede asumir que estos resultados representan el comportamiento a nivel de toda la población de pacientes con hepatitis c genotipo 1b a nacional, pero se convierte en un primer producto a nivel nacional, con el que futuros investigadores pueden partir de estadísticas concretas y ampliar la muestra de individuos para obtener un resultado general.

11. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y LEGALES

Este proyecto de investigación se desarrolló bajo la resolución 008430 de 1993 que ha establecido el Ministerio de Salud, al igual que en la Declaración de Helsinki donde están estipuladas las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Así mismo se cumplieron con los lineamientos de la resolución 2378 del 2008 del Ministerio de la Protección Social en la que se obliga a una implementación, desarrollo y aplicación de las buenas Prácticas Clínicas en las diferentes instituciones que conduzcan investigaciones en seres humanos.

Esta investigación es de bajo riesgo donde se emplearon técnicas y métodos de investigación experimental, análisis documental y reporte. Se protegió la privacidad de los individuos ya que los datos obtenidos no fueron divulgados con nombres e identificación de los pacientes objeto a estudio. Se asignó un código para identificar cada una de las muestras analizadas.

Finalmente, el proyecto de investigación conto con la evaluación por personal especializado tanto de forma metodológica como temática desde el mismo momento en que se eligió el tema de estudio con el fin de garantizar una adecuada preparación de las técnicas que se utilizaron en el proceso investigativo.

BIBLIOGRAFIA

1. World Health Organization. Hepatitis C. Fact sheet [Internet]. World Health Organization; Julio 2016. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>
2. Carter W, Connelly S, Struble K. Reinventing HCV Treatment: Past and Future Perspectives. *J Clin Pharmacol*. 2017;57(3):287-296.
3. Petruzzello A, Marigliano S, Loquercio G, Cozzolino A, Cacciapuoti C. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: An up-date of the distribution and circulation of hepatitis C virus genotypes. *World J Gastroenterol*. 2016;22(34):7824.
4. Soza A, Lopez-Lastra M. IL28B Polymorphisms Among Latin American HCV Patients. *Curr Hepat Rep*. 2013;1-4.
5. Restrepo Gutierrez JC, Toro Montoya AI. Hepatitis C. *Med Lab*. 2011;17:411–28.
6. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, Simon JS, Shianna K V, Urban TJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. 2009;461(7262):399–401.
7. Ansaldi F, Orsi A, Sticchi L, Bruzzone B, Icardi G. Hepatitis C virus in the new era: perspectives in epidemiology, prevention, diagnostics and predictors of response to therapy. *World J Gastroenterol* . 2014;20(29):9633–52.
8. Rosen HR. Emerging concepts in immunity to hepatitis C virus infection. *J Clin Invest*. 2013;123(10):4121–30.
9. Preciado MV, Valva P, Escobar-Gutierrez A, Rahal P, Ruiz-Tovar K, Yamasaki L, et al. Hepatitis C virus molecular evolution: transmission, disease progression and antiviral therapy. *World J Gastroenterol*. 2014;20(43):15992–6013.
10. Firpi RJ, Dong H, Clark VC, Soldevila-Pico C, Morelli G, Cabrera R, et al. CC genotype donors for the interleukin-28B single nucleotide polymorphism are associated with better outcomes in hepatitis C after liver transplant. *Liver Int*. 2013;33(1):72–8.
11. Lee M-H, Yang H-I, Yuan Y, L'Italien G, Chen C-J. Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2014;20(28):9270–80.
12. Zhu Y, Chen S. Antiviral treatment of hepatitis C virus infection and factors affecting efficacy. *World J Gastroenterol*. 2013;19(47):8963–73.
13. Cheng J-J, Li J-R, Huang M-H, Ma L-L, Wu Z-Y, Jiang C-C, et al. CD36 is a co-receptor for hepatitis C virus E1 protein attachment. *Sci Rep*. 2016;6:21808.

14. Qian X-J, Zhu Y-Z, Zhao P, Qi Z-T. Entry inhibitors: New advances in HCV treatment. *Emerg Microbes Infect.* 2016;5(1):e3.
15. Li H-C, Lo S-Y. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. *World J Hepatol.* 2015;7(10):1377–89.
16. Chuang W-L, Yu M-L. Host factors determining the efficacy of hepatitis C treatment. *J Gastroenterol.* 2013;48(1):22–30.
17. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014;59(1):318–27.
18. Lavanchy D, Ticino M. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(2):107–15.
19. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T, et al. Genetic variation in IL28B is associated with chronic hepatitis C and treatment failure: a genome-wide association study. *Gastroenterology.* Elsevier Inc.; 2010;138(4):1338–45.
20. Chayama K, Hayes CN. Interleukin-28B polymorphisms and hepatitis C virus clearance. *Genome Med.* 2013;5(1):6.
21. Chen Y, Xu HX, Wang LJ, Liu XX, Mahato RI, Zhao YR. Meta-analysis: IL28B polymorphisms predict sustained viral response in HCV patients treated with pegylated interferon- α and ribavirin. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36(2):91–103.
22. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, Qi Y, Ge D, Kidd J, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature.* 2011;461(7265):798–801.
23. Hayes CN, Imamura M, Aikata H, Chayama K. Genetics of IL28B and HCV—response to infection and treatment. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9(7):406–17.
24. Berger CT, Kim AY. IL28B Polymorphisms as a Pretreatment Predictor of Response to HCV Treatment. *Infect Dis Clin North Am.* 2012;26(4):864–77.
25. Chevaliez S, Hézode C. IL28B polymorphisms and chronic hepatitis C. *Gastroentérologie Clin Biol.* Elsevier Masson SAS; 2010;34(11):587–9.
26. Yuan H, Adams-Huet B, Petersen T, Attar N, Lee WM, Jain MK. A single nucleotide polymorphism in IL28B affects viral evolution of hepatitis C quasispecies after pegylated interferon and ribavirin therapy. *J Med Virol.* 2012;84(12):1913–9.
27. Abu Dayyeh BK, Gupta N, Sherman KE, de Bakker PIW, Chung RT. IL28B alleles exert an additive dose effect when applied to HCV-HIV coinfecting persons undergoing peginterferon and ribavirin therapy. *PLoS One.* 2011;6(10):1–8.

28. Fischer J, Böhm S, Müller T, Witt H, Sarrazin C, Susser S, et al. Association of IFNL3 rs12979860 and rs8099917 with biochemical predictors of interferon responsiveness in chronic hepatitis C virus infection. *PLoS One*. 2013;8(10):e77530.
29. Jiménez-Sousa MA, Fernández-Rodríguez A, Guzmán-Fulgencio M, García-Álvarez M, Resino S. Meta-analysis: implications of interleukin-28B polymorphisms in spontaneous and treatment-related clearance for patients with hepatitis C. *BMC Med*. 2013;11(1):6.
30. Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Bitetto D, Fontanini E, Bignulin S, et al. IL-28B rs12979860 C/T allele distribution in patients with liver cirrhosis: role in the course of chronic viral hepatitis and the development of HCC. *J Hepatol. European Association for the Study of the Liver*; 2011;54(4):716–22.
31. Ministerio de Salud y Protección Social, Salud, Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud. Guía de práctica clínica para la tamización, diagnóstico y tratamiento de personas con infección por el virus de la hepatitis C. 2016.
32. Zhu Y-Z, Qian X-J, Zhao P, Qi Z-T. How hepatitis C virus invades hepatocytes: the mystery of viral entry. *World J Gastroenterol*. 2014 Apr;20(13):3457–67.
33. Aguilar-olivios N, Motola-kuba M, Briones-torres CA, Lizardi-cervera J, Méndez-sánchez N, Uribe M. Distribución del genotipo de la IL-28B sr12979860 en pacientes con hepatitis C crónica estudiados en la Fundación Clínica Médica Sur. 2012;19(3):156–9.
34. De Re V, Gragnani L, Fognani E, Piluso A, Izzo F, Mangia A, et al. Impact of immunogenetic IL28B polymorphism on natural outcome of HCV infection. *Biomed Res Int*. 2014;2014(Mc).
35. Chayama K, Hayes CN. Hepatitis C virus: How genetic variability affects pathobiology of disease. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011;26(SUPPL. 1):83–95.
36. Lin CY, Chen JY, Lin TN, Jeng WJ, Huang CH, Huang CW, et al. IL28B SNP rs12979860 is a critical predictor for on-treatment and sustained virologic response in patients with hepatitis C virus genotype-1 infection. *PLoS One*. 2011;6(3).
37. El-Awady MK, Mostafa L, Tabll AA, Abdelhafez TH, El Din NGB, Zayed N, et al. Association of il28b snp with progression of egyptian hcv genotype 4 patients to end stage liver disease. *Hepat Mon*. 2012;12(4):271–7.
38. Kim CW, Chang K-M. Hepatitis C virus: virology and life cycle. *Clin Mol Hepatol*. 2013;19(1):17–25.
39. Bartenschlager R, Lohmann V, Penin F. The molecular and structural basis of advanced antiviral therapy for hepatitis C virus infection. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(7):482–96.

40. Kumada T, Toyoda H, Kiriyaama S, Tanikawa M, Hisanaga Y, Kanamori A, et al. Characteristics of elderly hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013;28(2):357–64.
41. Scheel TKH, Rice CM. Understanding the hepatitis C virus life cycle paves the way for highly effective therapies. *Nat Med*.; 2013;19(7):837–49.
42. Lavanchy D. Evolving epidemiology of hepatitis C virus. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(2):107–15.
43. Strahotin CS, Babich M. Hepatitis C variability, patterns of resistance, and impact on therapy. *Adv Virol*. 2012;2012:267483.
44. Hoz FD La. Epidemiología de la hepatitis C en Latinoamérica y Colombia. *Biomédica*. 2012;20(1):66–72.
45. Liver EA for the study of the. Clinical Practice Guidelines EASL Clinical Practice Guidelines : Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60:392–420.
46. Arias Y, Echeverry SJ, Castro M, Rios MF, Martinez O. Frecuencia de genotipos y subtipos de virus de la hepatitis C en pacientes colombianos con infección crónica. *Rev Medica Sanitas*. 2010;13(3):10–9.
47. Hajarizadeh B, Grebely J, Dore GJ. Epidemiology and natural history of HCV infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2013;10(9):553–62.
48. Toyoda H, Kumada T, Hayashi K, Honda T, Katano Y, Goto H, et al. Antiviral combination therapy with peginterferon and ribavirin does not induce a therapeutically resistant mutation in the HCV core region regardless of genetic polymorphism near the IL28B gene. *J Med Virol*. 2011;83(9):1559–64.
49. Webster DP, Klenerman P, Dusheiko GM. Hepatitis C. *Lancet*. Elsevier; 2017;385(9973):1124–35.
50. Yin W, Huang C, Qiu F, Liu L, Wang F, Zhou J, et al. Risk factors of hepatitis C virus transmission and genotype distribution in former blood donors from Chinese rural area. *BMC Public Health*. 2015;15(1):184.
51. May S, Ngui SL, Collins S, Lattimore S, Ramsay M, Tedder RS, et al. Molecular epidemiology of newly acquired hepatitis C infections in England 2008-2011: Genotype, phylogeny and mutation analysis. *J Clin Virol*. 2015;64:6–11.
52. Hoyos A, Vanegas N, Medellín EP. Epidemiología de la hepatitis C b en Colombia. *Acta Medica Colombia*. 2016;27(4):209–17.
53. Aspinall EJ, Hutchinson SJ, Janjua NZ, Grebely J, Yu A, Alavi M, et al. Trends in mortality after diagnosis of hepatitis C virus infection : An international comparison and implications for monitoring the population impact of treatment. *J Hepatol*. 2015;62(2):269–77.

54. Abdelwahab SF, Zakaria Z, Allam WR, Hamdy S, Mahmoud MA, Sobhy M, et al. Role of viral and host factors in interferon based therapy of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol.* Nature Publishing Group; 2013;20(1):6.
55. Chan SW. Establishment of chronic hepatitis C virus infection: Translational evasion of oxidative defence. *World J Gastroenterol.* 2014;20(11):2785–800.
56. El-Awady MK, Mostafa L, Tabll A a, Abdelhafez TH, Bader El Din NG, Zayed N, et al. Association of IL28B SNP With Progression of Egyptian HCV Genotype 4 Patients to End Stage Liver Disease. *Hepat Mon.* 2012;12(4):271–7.
57. Boisvert M, Shoukry NH. Type III Interferons in Hepatitis C Virus Infection. *Frontiers in Immunology.* 2016.p.628.
58. Heim MH, Bochud P-Y, George J. Host – hepatitis C viral interactions: The role of genetics. *J Hepatol.* Elsevier; 2017 Apr 1;65(1):S22–32.
59. Ridruejo E, Solano A, Delettieres D, Martínez A, Marciano S, Mandó OG, et al. Interleukin-28B Predicts SVR in Latin American Hepatitis C Genotype 1 Patients Treated With Peg Ifn and Ribavirin. *J Hepatol.* 2011;54(4):S465.
60. Halfon P, Bourliere M, Ouzan D, Maor Y, Renou C, Wartelle C, et al. A single IL28B genotype SNP rs12979860 determination predicts treatment response in patients with chronic hepatitis C Genotype 1 virus. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23(10).
61. Martinez Gomez LE, Chavez Tapia NC, Burguete Garcia AI, Aguilar Olivos N, Madrid Marina V, Roman-Bahena M, et al. IL28B polymorphisms predict the response to chronic hepatitis C virus infection treatment in a Mexican population. *Ann Hepatol.* 2012;11(6):876–81.
62. Domagalski K, Pawlowska M, Tretyn A, Halota W, Tyczyno M, Kozielowicz D, et al. Association of IL28B polymorphisms with the response to peginterferon plus ribavirin combined therapy in polish patients infected with HCV Genotype 1 and 4. *Hepat Mon.* 2013;13(11).
63. Grandi T, da Silva CMD, Amaral KM, Picon PD, Costi C, da Fré NN, et al. Response to treatment in Brazilian patients with chronic hepatitis C is associated with a single-nucleotide polymorphism near the interleukin-28B gene. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2013;108(1):48–53.
64. Rosso C, Abate ML, Ciancio A, Strona S, Caviglia GP, Olivero A, et al. IL28B polymorphism genotyping as predictor of rapid virologic response during interferon plus ribavirin treatment in hepatitis C virus genotype 1 patients. *World J Gastroenterol.* Baishideng Publishing Group Inc; 2014;20(36):13146–52.
65. Haj-sheykholeslami A, Keshvari M, Sharafi H, Pouryasyn A, Hemmati K, Mohammadzadehparjikolaei F. Interferon- λ polymorphisms and response to pegylated interferon in Iranian hepatitis C patients. *World J Gastroenterol.* Baishideng Publishing Group Inc; 2015;21(29):8935–42.

66. Nadia K, Hicham E, Reda TM, Nadia T, Elarbi B, Saâd E, et al. The complete title: The effect of interleukin-28B rs12979860 polymorphism on the therapeutic response of Moroccan patients with chronic hepatitis C. *Gene*. 2015;568(1):31–4.
67. Macedo Á, Aires RS, Meira S. Original article association between the IL28b rs12979860 polymorphism and therapy response in patients infected with genotype 1 of hepatitis c virus in central brazil. 2016;45(2):152–60.
68. Venegas M, Villanueva RA, González K, Brahm J. IL28B polymorphisms associated with therapy response in Chilean chronic hepatitis C patients. *World J Gastroenterol*. 2011;17(31):3636–9.
69. Fischer J, Böhm S, Scholz M, Müller T, Witt H, George J, et al. Combined effects of different interleukin-28B gene variants on the outcome of dual combination therapy in chronic hepatitis C virus type 1 infection. *Hepatology*. 2012;55(6):1700–10.
70. Olmedo DB, Cader SA, Porto LC. IFN- λ gene polymorphisms as predictive factors in chronic hepatitis C treatment-naive patients without access to protease inhibitors. *J Med Virol*. 2015 Oct 1 [cited 2016;87(10):1702–15].
71. Kil H, Jeong S-H, Kim J-W, Byoun YS, Min BY, Woo B-H, et al. Role of interleukin-28B genetic polymorphisms in Korean patients with hepatitis C virus infection. *Gut Liver*. 2014;8(1):70–8.
72. Ling Q, Chen J, Zhou H, Zhong J, Chen Y, Ye Q, et al. Baseline factors associated with treatment response in patients infected with hepatitis C virus 1b by stratification of IL28B polymorphisms. *Arch Virol*. 2015;160(4):1105–12.
73. Rauch A, Kutalik Z, Descombes P, Cai T, Di Iulio J, Mueller T, et al. Genetic Variation in IL28B Is Associated With Chronic Hepatitis C and Treatment Failure: A Genome-Wide Association Study. *Gastroenterology*. Elsevier Inc.; 2010;138(4):1338–1345.
74. Susser S, Herrmann E, Lange C, Hamdi N, Müller T, Berg T, et al. Predictive value of interferon-lambda gene polymorphisms for treatment response in chronic hepatitis C. *PLoS One*. 2014;9(11):1–10.
75. Venegas M, Torres C, Brahm J. Distribución nacional y regional de genotipos del virus hepatitis C en Chile. *Rev Chil Infectol*. 2013;1(5):566–8.
76. Pozzetto B, Memmi M, Garraud O, Roblin X, Berthelot P, Pozzetto B, et al. A clinically relevant, syngeneic model of spontaneous, highly metastatic B16 mouse melanoma. *World J Gastroenterol*. Nature Publishing Group; 2013;20(1):4799–804.
77. Asselah T. Genetic polymorphism and response to treatment in chronic hepatitis C: The future of personalized medicine. *J Hepatol*. European Association for the Study of the Liver; 2010;52(3):452–4.

78. Asselah T, Moreno C, Sarrazin C, Gschwantler M, Foster GR, Craxí A, et al. An Open-Label Trial of 12-Week Simeprevir plus Peginterferon/Ribavirin (PR) in Treatment-Naïve Patients with Hepatitis C Virus (HCV) Genotype 1 (GT1). *PLoS One. Public Library of Science*; 2016;11(7):e0158526.
79. Offizi GD, Cammà C, Taibi C, Schlag M, Palma M, Demasi R, et al. Clinical and virological predictors of sustained response with an interferon-based simeprevir regimen for patients with chronic genotype 1 hepatitis C virus infection. *New Microbiol.* 2017;40(1):19-26.
80. Lyoo K, Song MJ, Hur W, Choi JE, Hong SW, Kim CW, et al. Polymorphism near the IL28B gene in Korean hepatitis C virus-infected patients treated with peg-interferon plus ribavirin. *J Clin Virol. Elsevier*; 2011;52(4):363–6.

ANEXO I. APROBACION COMITE DE ETICA



CEIFUS 2311 – 15
Bogotá D.C, Abril 20 de 2015

Doctores:
DAVID CARREÑO
Investigador Principal
Consultorios Clínica Universitaria Colombia
Calle 23 # 66-46 – Consultorio 1121
Ciudad

JUAN JAVIER LÓPEZ
WILLIAM ALBERTO OTERO
Co-Investigadores
Consultorios Clínica Universitaria Colombia
Calle 23 # 66-46 – Consultorio 1121
Ciudad

Ref.: Protocolo Titulado "Determinación del efecto del polimorfismo RS12979860 del gen IL28B en pacientes con genotipo de hepatitis c 1b de la clínica Colsanitas"

Respetados Doctores:

El día 17 de Abril de 2015, en la sesión No. 553, se reunió el Comité de Ética en Investigación de la Fundación Universitaria Sanitas, según los principios institucionales establecidos y dado que el proyecto no compromete la seguridad, bienestar y respeta los derechos del sujeto de investigación, se aprueba el protocolo, permitiendo el desarrollo de la investigación propuesta que se realizará bajo su dirección en la Clínica Universitaria Sanitas, Ubicado en la Calle 23 No. 66-46 Consultorio 1121

El CEI recomienda realizar el Curso de Buenas Prácticas Clínicas y enviar el certificado al Comité de Ética en Investigaciones.

Para que haya Quórum deben asistir a la sesión cuatro (04) de los seis (06) miembros del Comité de Ética en Investigación de la Fundación Universitaria Sanitas, y en la sesión estuvieron presentes los siguientes miembros:

Dr. Edgar Cifuentes Traslaviña – Presidente CEI
Dra. Luz Myriam Báez de Cantor – Secretaria CEI
Lic. Alba Lucía Roncancio – Miembro Deliberativo
Lic. Martha María Sarralde Escobar – Representante de la Comunidad

El Comité de Ética de Investigación de la Fundación Universitaria Sanitas declara que el desarrollo de sus actividades se rigen bajo la normatividad vigente en temas relacionados con investigación en salud, (Ley Colombiana Resolución No 8430 de 1993 del Ministerio de Salud, resolución 2378 de 2008 del Ministerio de la Protección Social), las Normas de Buenas Practicas de Investigación Clínica (Good Clinical Practice GCP), Declaración de Helsinki octubre 2013 y todo la normativa Internacional vigente.

Cordialmente,


EDGAR CIFUENTES TRASLAVIÑA
Presidente CEI
Comité de Ética en Investigación
Fundación Universitaria Sanitas
©: G. Viviana Camelo

CONSENTIMIENTO INFORMADO DE VENOPUNCIÓN

Beneficios

La venopunción es un procedimiento frecuente en el laboratorio clínico para la obtención de muestras de suero, plasma y sangre total, los cuales son importantes para realizar análisis paraclínicos y cuyos reportes son de ayuda para el médico tratante en el momento de esclarecer diagnósticos, monitorizar afecciones de salud crónicas o en forma preventiva. Este procedimiento no tiene ninguna restricción y puede hacerse en la población en general.

Riesgos

En el momento de la toma de muestra de sangre por venopunción, sentirá un leve dolor tipo pinchazo. En casos esporádicos se podrían presentar complicaciones de este procedimiento, como hematoma y/o dolor leve, los cuales mejorarán espontáneamente o con medidas locales. En casos excepcionales, este dolor podría ser más severo y persistente o presentarse inflamación de la vena, infección o trombosis localizadas. Ocasionalmente en estos casos incluso se requerirá valoración médica para definir el manejo de acuerdo con la complicación presentada.

Si se llegara a presentar alguna de estas complicaciones por favor comuníquese con el Laboratorio Clínico.

Yo _____ identificado(a) con
número _____ de _____, autorizo al personal del Laboratorio
Clínico, Clínica Colsanitas S.A. para realizar el procedimiento de venopunción para la toma
de la muestra en mí o en el usuario _____

Declaro que he leído y comprendido la información sobre la venopunción, que se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas y todas ellas han sido contestadas satisfactoriamente y que me encuentro en capacidad de expresar mi consentimiento.

Firma persona responsable

Documento identidad

Parentesco

Fecha en el que se firma _____ de _____ de _____, Ciudad _____