

Hepatitis C: Del Descubrimiento a la Curación. A Propósito del Premio Nobel de Medicina y Fisiología 2020

Autor Robert V. León B

Afiliación Unidad de Hepatología, Gastroenterología y Endoscopia Digestiva. Instituto Médico La Floresta. Caracas, Venezuela. E-mail: robertoleon_218@hotmail.com

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2021; 75(1): 25-33.

© Sociedad Venezolana de Gastroenterología. Caracas, Venezuela- ISSN 2477-975X.

Fecha de recepción: 26/09/2020

Fecha de revisión: 17/11/2020

Fecha de Aprobación: 13/12/2020

Introducción

Se estima que actualmente 71 millones de individuos a nivel mundial son portadores del virus de la hepatitis C (HCV), infección que se asocia en porcentajes variables a la aparición de cirrosis hepática y sus complicaciones al igual que carcinoma hepatocelular (HCC), siendo responsables de aproximadamente 355.000 muertes anuales mundialmente^{1,2}.

El HCV fue descubierto a finales de la década de los 80s, gracias a la admirable labor de los doctores Harvey J. Alter, Michael Houghton y Charles M. Rice, lo que permitió develar la etiología de la mayor parte de los casos de hepatopatía crónica, lo que se tradujo en extensas investigaciones que llevaron en forma progresiva al desarrollo de tratamientos antivirales, que han conducido a la posibilidad cierta de curar definitivamente esta infección.

En este artículo de revisión se describe el camino que llevo desde caracterizar una enfermedad sin agente etiológico (hepatitis NoA-NoB) hasta lograr su curación definitiva, y por supuesto rendir homenaje a los descubridores del HCV, quienes por su labor se hicieron merecedores del Premio Nobel de Medicina y Fisiología del año 2020.

Los descubridores: Justos merecedores del premio nobel de medicina y fisiología 2020

El *Dr. Harvey J. Alter* lideró los primeros y más importantes estudios sobre hepatitis post-transfusional, los cuales de manera muy sofisticada establecieron que esta entidad con toda seguridad era debida a una infección viral³⁻⁵. Nació en la ciudad de New York (USA) en el año 1935, graduándose de médico en la Escuela de Medicina de la Universidad de Rochester, obteniendo su formación de postgrado en el Strong Memorial Hospital y en el University Hospitals de Seattle.

En 1961 se incorpora al National Institutes of Health (NIH) como Asociado Clínico, pasando posteriormente varios años en la Universidad de Georgetown antes de retornar al NIH en 1969 como Investigador Senior del Centro de Medicina Transfusional.

El *Dr. Michael Houghton* desarrolló una novedosa y no probada estrategia que le permitió aislar el genoma del virus responsable de la mayor parte de los casos de hepatitis post-transfusional, el cual fue denominado virus de la hepatitis C (HCV)^{6,7}. Nació en Inglaterra, obteniendo en 1977 su PhD en el King's College de Londres. Se une a Searle & Company para luego trasladarse a Chiron Corporation (Emeryville, California) en 1982. Desde el año 2010 trabaja en la Universidad de Alberta (Canadá) en la cual se desempeña como Jefe de Virología del Instituto de Virología Aplicada Li Ka Shing.

El *Dr. Charles M. Rice* aportó las evidencias definitivas que el HCV en forma individual puede producir hepatitis⁸. Nació en 1952 en Sacramento (USA), recibiendo su grado PhD en 1981 en el California Institute of Technology, institución en la cual recibió entrenamiento post-doctoral entre 1981 a 1985. Desde el año 2001 ha sido profesor en Rockefeller University (New York) y entre los años 2001-2018 fue el Director Científica y Ejecutivo del Centro de Estudio de Hepatitis C en dicha universidad, en la cual se encuentra activo actualmente.

HCV: ¿revolución medica?

El descubrimiento del HCV definitivamente no constituye una "revolución" en el campo de la medicina. Las "revoluciones" se definen como cambios súbitos y rápidos en cualquier cosa, lo cual no ha sido el caso del largo camino del HCV, que se ha caracterizado por una sucesión lentamente progresiva y exitosa de descubrimientos en los cuales científicos, médicos clínicos y entidades comerciales (industria farmacéutica) estuvieron comprometidos de manera mancomunada⁹.

Era de la hepatitis infecciosa y hepatitis sérica

Desde mediados de los años 50s hasta principios de los años 70s, se consideraba que la hepatitis viral representaba dos entidades clínica y epidemiológicamente diferentes:

Hepatitis infecciosa

Marcada por un corto periodo de incubación (1 a 3 semanas), de transmisión fecal-oral con un alto grado de contagiosidad y cursando como enfermedad aguda y auto-limitada, pero que eventualmente podía ser severa e incluso fatal, pero sin resultar en hepatitis crónica ni cirrosis. En el año 1973, el grupo del Dr. Stephen Feinstone (NIH), describe el virus de la hepatitis A (HAV) como agente causal de la "hepatitis infecciosa"¹⁰.

Hepatitis sérica

En contraste con la anterior, el periodo de incubación es mayor (1 a 3 meses), de transmisión parenteral o sexual, con bajo grado de contagiosidad, cursando inicialmente con enfermedad aguda usualmente auto-limitada aunque potencialmente fatal en algunos casos, pero que podía resultar en hepatitis crónica e incluso cirrosis. En el año 1968, el grupo del Dr. Baruch Blumberg, describe el "Antígeno Australia" (actualmente antígeno de superficie), componente del virus de la hepatitis B (HBV), como agente causal de esta entidad¹⁰ y que junto con otros logros en el campo investigativo lo hace merecedor del Premio Nobel de Medicina en 1976. La implementación del HBsAg como prueba de rutina en donantes de sangre, logró reducir la incidencia de hepatitis post-transfusional en 25% a 50%, quedando el remanente muy importante de casos de etiología no identificada como "hepatitis NoA, NoB"

Era de la hepatitis NoA-NoB

Los siguientes 15 años siguiendo a la caracterización virológica y clínica de las infecciones por HAV y HBV se dedicaron a determinar el agente causal de la hepatitis de transmisión parenteral no debida a los virus antes mencionados, el cual se denominó "NoA-NoB"⁹.

Es notable destacar que en esta etapa se describen de manera precisa características clínicas y epidemiológicas de la entidad en ausencia de un agente viral identificable, lo cual a la postre coincidió de manera muy precisa con el cuadro clínico producido por el virus de la hepatitis C (HCV).

Tal era la certeza de los epidemiólogos y clínicos de que la hepatitis "NoA-NoB" era de etiología viral, que en la década de los años 80s se utiliza por primera vez el interferón alfa-2b (droga con propiedades antivirales e inmunomoduladoras) en el manejo de esta entidad. En un estudio¹¹, liderado por el Dr. Jay Hoofnagle -uno de las grandes figuras en la historia de la hepatitis viral-, se incluyeron 10 pacientes los cuales han sido seguidos por poco más de 25 años, cinco de estos pacientes demostraron respuesta virológica sostenida (SVR) y tres de los

que no lograron erradicar el virus, desarrollaron carcinoma hepatocelular (HCC) con el paso de los años.

En la figura 1 se ilustra el curso del tratamiento del sujeto Nro. 3 del estudio, el cual es considerado como el primer paciente curado de la infección por HCV a nivel mundial.

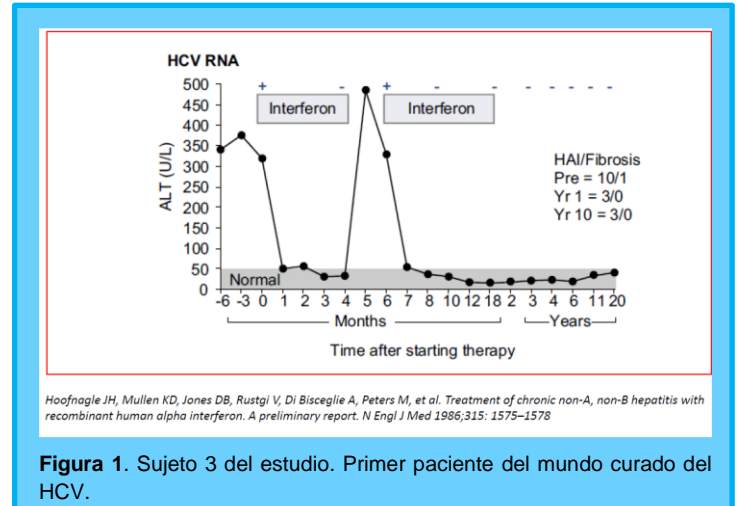


Figura 1. Sujeto 3 del estudio. Primer paciente del mundo curado del HCV.

Era de la hepatitis C

Esta etapa se inicia a partir del descubrimiento del virus y se extiende hasta la actualidad, la misma comprende diferentes aspectos que han permitido no solo llegar a la curación del HCV, sino a implementar estrategias de prevención efectivas.

- Descubrimiento y descripción del genoma del HCV
- Aspectos epidemiológicos
- Formas de transmisión
- Manifestaciones clínicas
- Historia natural
- Evolución del Tratamiento del HCV
 - La era del IFN-alfa
 - La era de las terapias libres de IFN-alfa
- Perspectivas futuras y reflexiones finales

En esta revisión se incluirá lo relativo al descubrimiento y descripción del genoma del HCV, las terapias antivirales empleadas y algunas consideraciones sobre las perspectivas futuras en el manejo de esta infección viral.

Descubrimiento y descripción del genoma del HCV

Houghton y colaboradores emplearon todas las técnicas disponibles para la época en su intento de identificar el agente causal de la hepatitis "NoA-NoB" (inmuno-difusión, fijación de complemento, microscopia de fluorescencia, radio y enzyme-linked-immunoassay, microscopia electrónica y cultivos celulares y tisulares), siendo todos ellos infructuosos.

Finalmente, la combinación de métodos de biología molecular y estudios de transmisión en animales les permitió identificar el virus^{6,9}.

Los investigadores crearon una colección de fragmentos de DNA derivados de ácidos nucleicos encontrados en sangre de chimpancés infectados. La mayoría de estos fragmentos derivaban del genoma del chimpancé, pero predijeron que algunos vendrían del virus desconocido.

Assumiendo que los anticuerpos contra el virus desconocido estarían presentes en la sangre de pacientes con hepatitis, los investigadores usaron el suero de pacientes para identificar fragmentos de DNA clonados que codificaran para proteínas virales, lográndose finalmente identificar un clon positivo que se denominó "5-1-1", demostrándose posteriormente que este clon se derivaba de un virus RNA perteneciente a la familia de los *Flavivirus*, al cual se le dio el nombre de virus de la hepatitis C¹². La figura 2 ilustra en forma esquemática el complejo proceso que llevó a la identificación del HCV y que hizo merecedor al Dr. Houghton en conjunto con los Dres Alter y Rice del premio Nobel de Medicina y Fisiología 2020

En la figura 3 se muestra el genoma del HCV, el cual está constituido por un RNA lineal que codifica para proteínas estructurales (nucleo-cápside y envoltura) y no estructurales, estas últimas son el blanco de los llamados "antivirales de acción directa" actualmente empleados en el tratamiento de la infección por HCV.

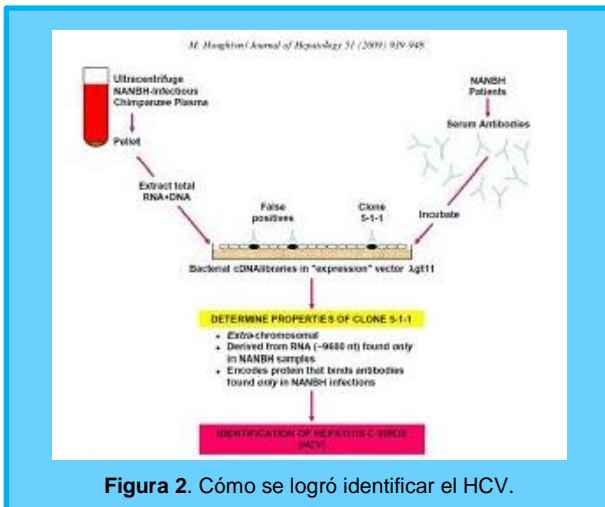


Figura 2. Cómo se logró identificar el HCV.

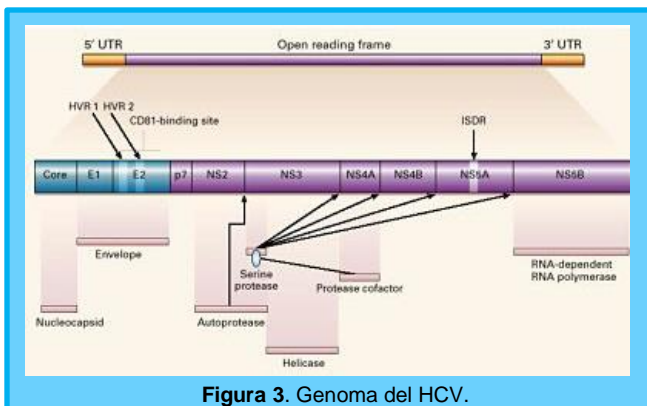


Figura 3. Genoma del HCV.

Evolución del tratamiento del HCV

La era del interferón (IFN): 1986 a 2014

El entusiasmo inicial por la terapia con IFN-alfa se perdió rápidamente en la medida que fue utilizado en un espectro más amplio de pacientes, se obtuvo información del seguimiento de los pacientes tratados y se comenzaron a desarrollar pruebas de biología molecular cada vez más sensibles.

En el año 1991 la FDA autorizó el uso del IFN-alfa 2b (Intron A®) y posteriormente en la Conferencia de Desarrollo de Consenso de HCV llevada a cabo en el año 1997 en el NIH, se recomendó de manera formal el uso del IFN-alfa en el tratamiento de la hepatitis C¹³, aunque ya desde varios años antes se venía utilizando en hepatitis "NoA-NoB" y a partir del descubrimiento del HCV, en el manejo de la misma.

El IFN-alfa fue empleado en el tratamiento del HCV, inicialmente en monoterapia y posteriormente en combinación con otras drogas con la finalidad de potenciar su actividad antiviral, a continuación, se describen en forma secuencial su forma de utilización:

- IFN alfa (2a y 2b) convencional en monoterapia
- IFN convencional (2a y 2b) + Ribavirina
- Interferon pegilado (PegIFN) (2a y 2b) + Ribavirina
- PegIFN (2a y 2b) + Ribavirina + inhibidores de proteasa de 1era generación (telaprevir, boceprevir)
- PegIFN (2a y 2b) + Ribavirina + antivirales de acción directa (sofosbuvir, simeprevir)

En la figura 4 se exponen los porcentajes de Respuesta Viroológica Sostenida (SVR) obtenidas con diferentes modalidades de terapia basadas en IFN-alfa.

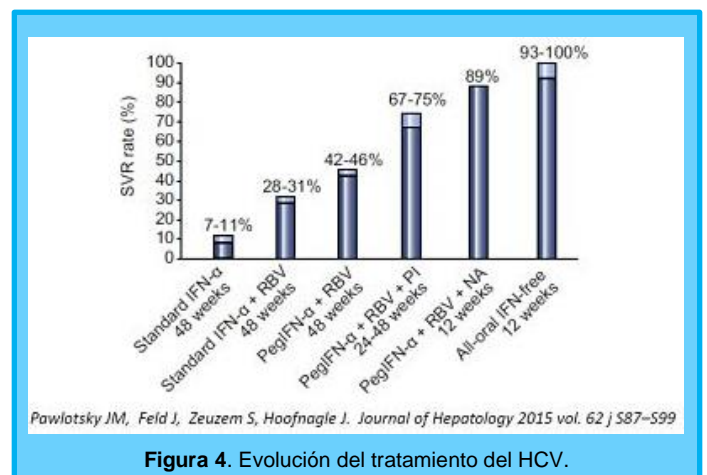


Figura 4. Evolución del tratamiento del HCV.

El uso del IFN-alfa se caracterizó por su marcada duración (24 a 72 semanas), su relativamente baja eficacia, y la aparición de una multitud de efectos adversos asociados a una tasa importante de abandono de tratamiento (tabla 1), lo cual supuso durante las casi dos décadas en las cuales fue el "esqueleto" de

la terapia antiviral, un importante reto para los médicos encargados del cuidado de estos pacientes.

Tabla 1. Efectos colaterales del IFN

Efectos colaterales	
Hematológicos	Plaquetopenia Leucopenia Anemia
Inmunológicos	Mayor susceptibilidad a infecciones
Autoinmunidad	Autoanticuerpos Ac anti-IFN Tiroiditis Púrpura trombocitopénica
Sistémicos	Fatiga Fiebre Cefalea Anorexia Pérdida de peso Vómitos Diarrea
Neuro-psiquiátricos	Trastornos del sueño Vértigo Retinopatía Ansiedad Irritabilidad Depresión

Igualmente, la candidatura para recibir IFN-alfa estaba limitada por el status funcional hepático (contraindicada en cirróticos Child's B y C) y en pacientes de edad avanzada y con comorbilidades importantes (tabla 2).

Tabla 2. Contraindicaciones del interferón

Contraindicaciones	
Absolutas	Psicosis o historia de la misma Depresión severa Neutropenia Trombocitopenia Cardiopatía sistémica Cirrosis descompensada Tx de órganos (menos hígado)
Relativas	Desórdenes autoinmunes Diabetes no controlada

Fuente: Lauger GM, et al. N Engl J Med. 2001; 345(1): 41-52.

IFN alfa (2a y 2b) convencional en monoterapia

Los resultados obtenidos fueron sumamente bajos en términos de SVR (7% a 11%) y en muchos casos sobrevalorada, ya que gran parte de los estudios usando monoterapia con IFN-alfa solo midieron la respuesta al final del tratamiento^{14,15}.

IFN convencional (2a y 2b) + Ribavirina

Esta etapa estuvo marcada por los trabajos del grupo de los doctores Poynard¹⁶ y McHutchinson¹⁷, en los cuales la adición

de Ribavirina al IFN-alfa llevó a importante mejoría en los porcentajes de RVS.

Igualmente se determinó en ambos estudios que el genotipo del HCV y el grado de fibrosis hepática eran importantes predictores de respuesta al tratamiento y permitieron optimizar la duración de la terapia (menor duración en portadores de genotipos 2 y 3).

En nuestro país se presentaron en el año 2000 los resultados obtenidos con esta modalidad de terapia combinada¹⁸, siendo los resultados obtenidos similares a los observados en los estudios antes mencionados.

Interferón pegilado (PegIFN) (2a y 2b) + Ribavirina

La incorporación de una molécula de PoliEtilenGlicol (PEG) lineal de 12KD al IFN-alfa 2b (PegIntron®, Schering-Plough) y ramificada de 40 KD al IFN-alfa 2a (Pegasys®, Roche) logró prolongar la vida media del IFN-alfa y para así ejercer una presión constante sobre el virus. De la misma manera, esta modificación permitió la inyección del PegIFN-alfa una vez a la semana en contraste con las tres inyecciones semanales del IFN-alfa convencional

Esta etapa de la terapia anti-HCV estuvo fundamentada en dos estudios seminales, de los doctores Manns¹⁹ y Fried²⁰, los cuales fueron la base de innumerables estudios posteriores que validaron estos resultados, incluyendo la experiencia local presentada por el grupo del autor del presente trabajo en eventos nacionales e internacionales^{21,22}.

El conocimiento cada vez más preciso de la cinética viral durante el curso de la terapia y su correlación con variables predictivas de respuesta (genotipo, viremia pre-tratamiento, y grado de fibrosis), llevaron al desarrollo de algoritmos de tratamiento basados en el concepto de "response-guided therapy" (tratamiento basado en la respuesta), cuya máxima expresión fue la publicación de los mismos por el EASL (European Association for the Study of the Liver) en el año 2011²³ (ver figuras 5 y 6).

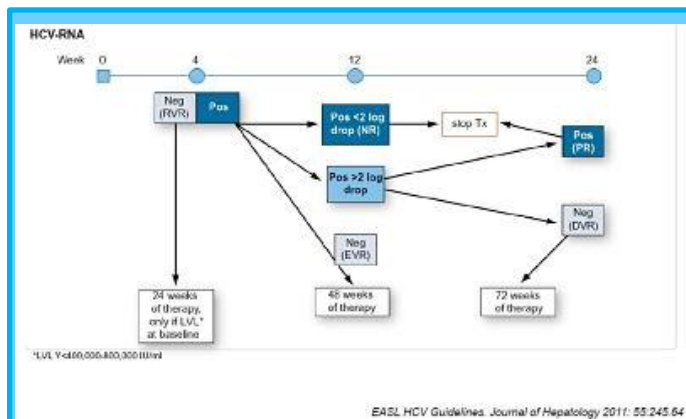


Figura 5. Guías EASL 2011. Tratamiento HCV. Genotipo 1 ("response-guided therapy")

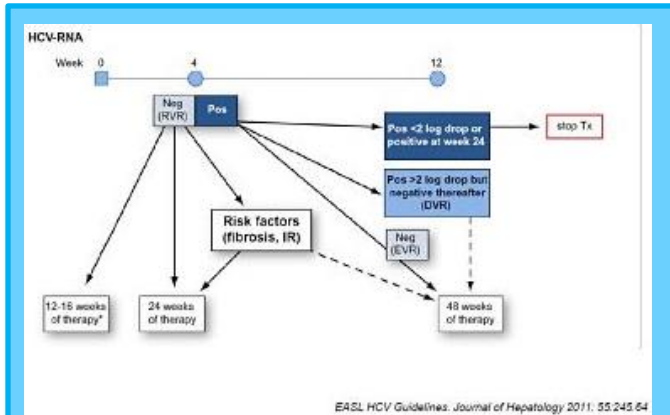


Figura 6. Guías EASL 2011. Tratamiento HCV. Genotipo 2 y 3 (“response-guided therapy”)

Hacia el final de esta era, se describió a través de estudios “GWAS” (“Genome-Wide Association Studies”), una mutación en el gen IL-28 (rs12979860) el cual codifica para el IFN-lambda 3, y que demostró ser el predictor más importante de RVS, incluso superior a los clásicamente utilizados como el genotipo, viremia pre-tratamiento, severidad histológica y raza²⁴. Desafortunadamente este marcador de respuesta, como se mencionó antes, llegó tardíamente y no ganó mucha popularidad entre los clínicos que se ocupaban del manejo de estos pacientes.

PegIFN (2a y 2b) + Ribavirina + inhibidores de proteasa de 1era generación (telaprevir, boceprevir)

En el año 2011, tanto la Federal Drug Administration (FDA) como la EMA (European Medicines Agency) aprobaron el uso de los dos primeros Antivirales de Acción Directa (DAAs) en el tratamiento de la infección por HCV.

Boceprevir y Telaprevir fueron aprobados para su uso con PegIFN alfa 2b + ribavirina y PegIFN alfa-2a + ribavirina respectivamente y diferentes estudios avalaron su utilidad en los escenarios de pacientes vírgenes a terapia y en previamente expuestos a PegIFN-alfa + ribavirina²⁵⁻²⁷.

Ambas drogas, las cuales pertenecen al grupo de Inhibidores de Proteasa NS3/4, añadieron una enorme complejidad al manejo de esta infección, debido en gran medida a la introducción del tema del desarrollo de resistencia del HCV a estas drogas -previamente inexistente en el terreno de la terapia del HCV-, y en opinión del autor a los importantes eventos adversos asociados al uso de las mismas (incluso en ocasiones siendo graves o fatales), lo cual se tradujo en una menor adherencia a la terapia y la reticencia de pacientes y médicos a utilizarlas, llevando todo esto de manera relativamente rápida a su desincorporación de los algoritmos de tratamiento.

PegIFN (2a y 2b) + Ribavirina + antivirales de acción directa (sofosbuvir, simeprevir)

Como se tratará más adelante, los años 2013 y 2014, marcaron el surgimiento de varios DAAs, los cuales se utilizaron en combinación con PegIFN-alfa y Ribavirina, mejorándose la RVS en un 15% a 20% en relación a la terapia triple con PegIFN-alfa + ribavirina + telaprevir ó boceprevir.

Sofosbuvir, Daclatasvir y Simeprevir fueron los nuevos DAAs utilizados en esta etapa y su uso fue avalado por la EASL en el año 2014²⁸ (ver tabla 3).

Tabla 3. Terapia triple para HCV con DAAs

Drogas	Población Blanco	Esquema de tratamiento	Observaciones
PegIFN + RBV + SOFOSBUVIR	Naive CI compensada	12 sem	No data en Tx previa
PegIFN + RBV + SIMEPREVIR	Naive Tx previo sin TEL o BOC CI compensada	12 sem Tx triple, seguida de: • Naive y recaídas: 12 sem Tx dual. • Resp. parcial y nula: 36 sem Tx dual.	• No usar en G1a con mutación Q80K • Suspender si viremia > 25 UI/mL
PegIFN + RBV + DACLATASVIR	Naive CI compensada	12 sem Tx triple, seguida de: • 12 sem: PegIFN + RBV si viremia < 25 UI/mL • 12 sem: PegIFN + RBV + DCV si viremia > 25 UI/mL	No usar en G1a

Fuente: EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C. J Hepatology. 2014; 60:392-420.

Esta etapa marca el fin de la era del IFN-alfa en el tratamiento de la infección por HCV y se constituye en una suerte de transición hacia el uso de modalidades de terapia en las cuales el IFN-alfa ya no constituye el “esqueleto” del mismo.

La era de la terapia libre de (IFN): 2014 a la actualidad

El desarrollo de fármacos antivirales que ejercen acción directa sobre la maquinaria replicativa del HCV marcó un cambio significativo en el manejo de esta infección.

En base al blanco específico del ciclo de replicación viral sobre el cual actúan, los Antivirales de Acción Directa (DAAs) se han clasificado en tres grupos, a saber: Inhibidores de proteasa NS3/4, Inhibidores de polimerasa [NS5B nucleos(t)idos y no nucleos(t)idos] e Inhibidores NS5A²⁸⁻³⁰.

En la tabla 4 se detallan los fármacos de acuerdo a sus características de clase.

Tabla 4. Características generales de los antivirales de acción directa

	Inhibidores de proteasas NS3/4	Inhibidores de polimerasa NSSB nucleós[t]idos	Inhibidores de polimerasa NSSB no-nucleós[t]idos	Inhibidores NSSA
Nomenclatura previr buvir buvir asvir
Disponibles [año 2015]	Telaprevir Boceprevir Simeprevir Asunaprevir Paritraprevir/RTV Voxilaprevir Gleceprevir	Sofosbuvir	Dasabuvir	Daclatasvir Ombitasvir Ledipasvir Velpatasvir
Eficacia	Alta Variable entre ganotipos	Moderada-alta Consistente en todos los genotipos y subtipos	Variable Variable entre genotipos	Alta Múltiples genotipos
Barrera genética (resistencia)	Baja 1a < 1b	Alta 1a = 1b	Muy baja 1a < 1b	Baja 1a < 1b
Efectos adversos	Rash, anemia, aumento de bilirrubina	Mitocondrial; interacciones con HAART	Variable	Variable
Uso en cirrosis	Solo en bien compensados	Si	Si	Si
Interacciones farmacológicas	Alta	Baja	Variable	Baja a moderada

Fuente: Asselah T, Marcellin P. Liver International. 2013 / Hézode C, et al. J. Hepatol. 2013 / Lange CM, Zeuzem S. J Hepatol 2013;58 j 583-592

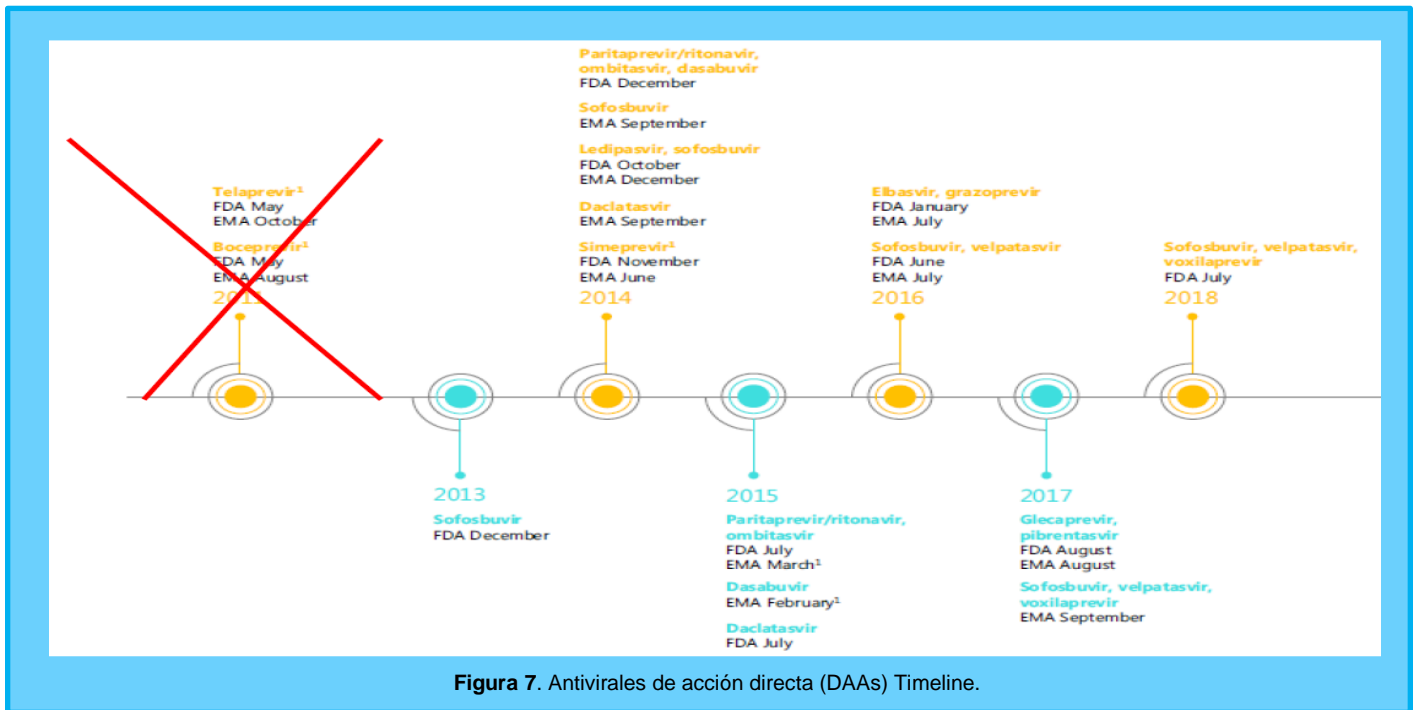


Figura 7. Antivirales de acción directa (DAAs) Timeline.

La aprobación del Sofosbuvir por la FDA en Diciembre 2013 seguida posteriormente por la de la EMA en Septiembre 2014, marcó un punto de inflexión en el manejo de la infección por HCV. Incluso cuando aún se utilizaba Sofosbuvir en combinación con IFN-alfa y Ribavirina, la disponibilidad en el mercado del Simeprevir y Daclatasvir, llevó a utilizar combinaciones de antivirales de acción directa omitiendo por primera vez la necesidad del IFN-alfa, lo cual marcó el inicio de la era de las llamadas terapias libres de IFN, las cuales hasta la fecha son las empleadas para el tratamiento de esta infección viral.²³

En la figura 7, se especifica la secuencia temporal en la cual fueron aprobados por las agencias reguladoras (FDA y EMA) los diferentes DAAs, siendo la más reciente la combinación en una sola tableta de Sofosbuvir + Velpatasvir + Voxilaprevir en el año 2018, habiéndose logrado para la fecha porcentajes de RVS del 93% al 100% con cursos de tratamiento que fluctúan entre 8 a 12 semanas, con ausencia casi completa de efectos colaterales y de contraindicaciones.

En nuestro país, la experiencia preliminar con estas drogas fue presentada en el año 2015 en el marco del XXXVI Congreso Nacional de Gastroenterología²⁸, y desde entonces ha sido la

modalidad de elección en el manejo de nuestros pacientes, con resultados equiparables a los reportados en la literatura internacional.

En la actualidad disponemos de combinaciones de DAAs con efectividad sobre todos los genotipos del HCV (actividad pangenotípica), lo cual ha llevado a la formulación de pautas simplificadas de terapia en pacientes no-cirróticos y cirróticos bien compensados (Child's A)^{29,30}, siendo en nuestra práctica la combinación en una sola tableta de Sofosbuvir + Velpatasvir la usualmente empleada.

Perspectivas futuras y reflexiones finales

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2016 estableció objetivos para el año 2030, los cuales incluyen la eliminación del HCV en un 80% de aquellos que sean elegibles para terapia, 90% de reducción en la incidencia de nuevas infecciones y 65% de reducción en la mortalidad relacionada a causas hepáticas³¹, pero la consecución de estos objetivos pasa necesariamente por implementar programas masivos de despistaje y tratamiento de esta infección, lo cual en el contexto actual de la pandemia COVID-19 se dificulta de manera importante.

El camino de poco más de tres décadas que llevó del descubrimiento a la curación del HCV abre una gran esperanza para los millones de personas infectadas a nivel mundial, brindando la posibilidad de intervenir en la historia natural de esta devastadora enfermedad.

El autor del presente artículo ha tenido el privilegio de ser testigo y participante activo de este proceso desde la era del uso de IFN-alfa en monoterapia y actualmente cuando valoro a un paciente con enfermedad hepática crónica, deseo fervientemente que la etiología sea la infección por HCV, ya que en mi opinión los Antivirales de Acción Directa son probablemente la mejor herramienta terapéutica de la que disponemos los Hepatólogos actualmente.

Referencias

- 1 Cacoub J, Saadoun D. *N Engl J Med* 2021;384:1038-52.
- 2 Lauer GM, Walker BD. *N Engl J Med* 2001;345(1):41-52.
- 3 Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, Alter HJ, Holland PV. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med*. 1975; 292:767-770.
- 4 Alter HJ, Holland PV, Morrow AG, Purcell RH, Feinstone SM, Moritsugu Y. Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. *Lancet*. 1975; 2:838-841.
- 5 Alter HJ, Purcell RH, Holland PV, Popper H. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet*. 1978; 1:459-463.
- 6 Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989; 244:359-362.

- 7 Kuo G., Choo QL, Alter HJ, Gitnick GL, Redeker AG, Purcell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter CE, Stevens CE, Tegtmeier GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C., Berger K, Shuster JR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science*. 1989; 244:362-364.
- 8 Kolykhalov AA, Agapov EV, Blight KJ, Mihalik K, Feinstone SM, Rice CM. Transmission of hepatitis C by intrahepatic inoculation with transcribed RNA. *Science*. 1997; 277:570-574.
- 9 Pawlotsky JM, Feld J, Zeuzem S, Hoofnagle J. *Journal of Hepatology* 2015 vol. 62 j S87-S99.
- 10 Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. *Science* 1973;182:1026-1028.
- 11 Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB, et al. *N Engl J Med* 1986;315: 1575-1578.
- 12 Press release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2020 (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2020/press-release/>).
- 13 National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel: management of hepatitis C. *Hepatology* 1997;26:5S-10S.
- 14 Di Bisceglie AM et al *N Engl J Med* 1989;321:1506-1510.
- 15 Davis GL et al. *N Engl J Med* 1989;321: 1501-1506.
- 16 Poynard et al. *Lancet* 1998;352;1426-32.
- 17 McHutchinson et al. *Hepatology* 1998;28(4);387A.
- 18 Beker B, Leon R et al. *GEN* 2000;54(3):143-52.
- 19 Manns MP et al. *Lancet* 2001;358:958.
- 20 Fried MW et al. *N Engl J Med* 2002;347:975-982.
- 21 Leon R et al. Congreso SVG 2002.
- 22 León R et al. Therapies for viral hepatitis. Boston. 2002
- 23 EASL HCV Guidelines. *Journal of Hepatology* 2011: 55:245.64.
- 24 Thompson AJ, et al. *Gastroenterology*. 2010;139:120-129.
- 25 Poordad et al. *N Engl J Med* 2011; 364:1195-1206.
- 26 Jacobson I et al. *N Engl J Med* 2011; 364:2405-2416.
- 27 Sherman KE, et al. AASLD 2010. Abstract LB-2.
- 28 Leon R et al. Presentación oral en el XXXVI Congreso Venezolano de Gastroenterología 2015.
- 29 EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. *Journal of Hepatology* 2020.
- 30 Hepatitis C Guidance 2019 Update: American Association for the Study of Liver Diseases-Infectious Diseases Society of America Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Hepatology* 2020 71 (2).
- 31 World Health Organization. Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/246177/WHO-HIV-2016.06>

- ng.pdf;jsessionid=60A93ADD1A191FF6A0FA823314D24C43?sequence=1(WHO, 2016)..
- 21 Ricciardiello L, Ahnen DJ, Lynch PM. Chemoprevention of hereditary colon cancers: time for new strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 352–61.
 - 22 Holme O, Loberg M, Kalager M, et al. Effect of flexible sigmoidoscopy screening on colorectal cancer incidence and mortality: a randomized clinical trial. *JAMA* 2014; 312: 606–15.
 - 23 Chiu HM, Chen SL, Yen AM, et al. Effectiveness of fecal immunochemical testing in reducing colorectal cancer mortality from the One Million Taiwanese Screening Program. *Cancer* 2015; 121: 3221–29.
 - 24 Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 2014;370: 1287–97.
 - 25 Wiland HOt, Shadrach B, Allende D, et al. Morphologic and molecular characterization of traditional serrated adenomas of the distal colon and rectum. *Am J Surg Pathol* 2014;38(9):1290-7.
 - 26 De Wijkerslooth TR, Stoop EM, Bossuyt PM, et al. Differences in proximal serrated polyp detection among endoscopists are associated with variability in withdrawal time. *Gastrointest Endosc* 2013;77(4):617-23.
 - 27 Bhurwal A, Bartel MJ, Heckman MG, et al. Endoscopic mucosal resection: learning curve for large nonpolypoid colorectal neoplasia. *Gastrointest Endosc* 2016; 84: 959–68.
 - 28 Hayashi N, Tanaka S, Hewett DG, et al. Endoscopic prediction of deep submucosal invasive carcinoma: validation of the narrow-band imaging international colorectal endoscopic (NICE) classification. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 625–32.
 - 29 Ferlitsch M, Moss A, Hassan C, et al. Colorectal polypectomy and endoscopic mucosal resection (EMR): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) clinical guideline. *Endoscopy* 2017; 49: 270–97.
 - 30 Law R, Das A, Gregory D, et al. Endoscopic resection is cost-effective compared with laparoscopic resection in the management of complex colon polyps: an economic analysis. *Gastrointest Endosc* 2016; 83: 1248–57.
 - 31 Kontovounisios C, Kinross J, Tan E, et al. Complete mesocolic excision in colorectal cancer: a systematic review. *Colorectal Dis.* 2015 Jan;17(1):7-16.
 - 32 Emmanuel A, Haji A. Complete mesocolic excision and extended (D3) lymphadenectomy for colonic cancer: is it worth that extra effort? A review of the literature. *Int J Colorectal Dis* 2016; 31: 797–804.
 - 33 Cleary RK, Morris AM, Chang GJ, Halverson AL. Controversies in surgical oncology: does the minimally invasive approach for rectal cancer provide equivalent oncologic outcomes compared with the open approach? *Ann Surg Oncol* 2018; 25: 3587–95.
 - 34 Jayne D, Pigazzi A, Marshall H, et al. Effect of robotic-assisted vs conventional laparoscopic surgery on risk of conversion to open laparotomy among patients undergoing resection for rectal cancer: the ROLARR randomized clinical trial. *JAMA* 2017; 318: 1569–80.
 - 35 Ma B, Gao P, Wang H, et al. What has preoperative radio(chemo) therapy brought to localized rectal cancer patients in terms of perioperative and long-term outcomes over the past decades? A systematic review and meta-analysis based on 41,121 patients. *Int J Cancer* 2017; 141: 1052–65.
 - 36 Glynne-Jones R, Wyrwicz L, Tiret E, et al. Rectal cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2018; 29 (suppl 4): 22–40.
 - 37 Lefevre JH, Mineur L, Kotti S, et al. Effect of interval (7 or 11 weeks) between neoadjuvant radiochemotherapy and surgery on complete pathologic response in rectal cancer: a multicenter, randomized, controlled trial (GRECCAR-6). *J Clin Oncol* 2016; 34: 3773–80.
 - 38 van der Valk MJM, Hilling DE, Bastiaannet E, et al. Long-term outcomes of clinical complete responders after neoadjuvant treatment for rectal cancer in the International Watch & Wait Database (IWWDD): an international multicentre registry study. *Lancet* 2018; 391: 2537–45.
 - 39 Abdel-Rahman O, Cheung WY. Integrating systemic therapies into the multimodality treatment of resectable colorectal liver metastases. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 4326082.
 - 40 Baratti D, Kusamura S, Pietrantonio F, et al. Progress in treatments for colorectal cancer peritoneal metastases during the years 2010–2015. A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 100: 209–22.
 - 41 Andre T, Boni C, Navarro M, et al. Improved overall survival with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment in stage II or III colon cancer in the MOSAIC trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3109–16.
 - 42 Grothey A, Sobrero AF, Shields AF, et al. Duration of adjuvant chemotherapy for stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2018; 378: 1177–88.
 - 43 Breugom AJ, Swets M, Bosset J-F, et al. Adjuvant chemotherapy after preoperative (chemo)radiotherapy and surgery for patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2015; 16: 200–17.
 - 44 Falcone A, Ricci S, Brunetti I, et al. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1670–16.
 - 45 Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335–42.
 - 46 Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, et al. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients

- with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatinbased regimen. *J Clin Oncol* 2012; 30: 3499–506.
- 47 Tabernero J, Yoshino T, Cohn AL, et al. Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after firstline therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015; 16: 499–508.
 - 48 Arnold D, Lueza B, Douillard JY, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomized trials. *Ann Oncol* 2017; 28: 1713–29.
 - 49 Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz HJ, et al. Effect of first-line chemotherapy combined with cetuximab or bevacizumab on overall survival in patients with KRAS wild-type advanced or metastatic colorectal cancer: a randomized clinical trial. *JAMA* 2017; 317: 2392–401.
 - 50 Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, et al. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60–00 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 466–74.
 - 51 Adenis A, de la Fouchardiere C, Paule B, et al. Survival, safety, and prognostic factors for outcome with regorafenib in patients with metastatic colorectal cancer refractory to standard therapies: results from a multicenter study (REBECCA) nested within a compassionate use program. *BMC Cancer* 2016; 16: 412.
 - 52 Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 Blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015; 372: 2509–20.
 - 53 Bendell JC, Bang Y-J, Chee CE, et al. A phase Ib study of safety and clinical activity of atezolizumab (A) and cobimetinib (C) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 2018; 36 (suppl 4): 560 (abstr).
 - 54 Eng C, Kim TW, Bendell J, et al. Atezolizumab with or without cobimetinib versus regorafenib in previously treated metastatic colorectal cancer (IMblaze370): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol* 2019; 20: 849–61.
 - 55 Ganesh K, Stadler ZK, Cercek A, et al. Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019; 16: 361–75.
 - 56 Ridolfi T, Berger N, Ludwig K. Low Anterior Resection Syndrome: Current Management and Future Directions. *Clin Colon Rectal Surg* 2016; 29:239- 45.
 - 57 Imigo F, Larach J. Síndrome de la resección anterior baja: un alto precio del tratamiento del cáncer de recto. *Rev. Cirugía.* 2019;71(2).
 - 58 Lange MM, van de Velde CJ. Urinary and sexual dysfunction after rectal cancer treatment. *Nat Rev Urol* 2011; 8: 51–57.
 - 59 Van Blarigan EL, Fuchs CS, Niedzwiecki D, et al. Association of survival with adherence to the American Cancer Society nutrition and physical activity guidelines for cancer survivors after colon cancer diagnosis: the CALGB 89803/alliance trial. *JAMA Oncol* 2018; 4: 783–90.
 - 60 Bibbins-Domingo, DC Grossman, SJ Curry, et al. Screening for colorectal cancer: US Preventive Services Task Force recommendation statement. *JAMA.* 2016;315 (23): 2564 – 2575.
 - 61 Rex D, Boland CR, Dominitz JA, et al. Colorectal Cancer Screening: Recommendations for Physicians and Patients from the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer. *Am J Gastroenterol.* 2017 Jul;112(7):1016-1030.
 - 62 Qaseem A, Crandall C, Mustafa R, et al. Screening for Colorectal Cancer in Asymptomatic Average-Risk Adults: A Guidance Statement From the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 2019; 171: 643-54.