



**División de Ciencia Biológicas y de la Salud**

Posgrado en Biología Experimental

**Efecto del Virus de Hepatitis E sobre el perfil sérico de citocinas en  
pacientes con manifestaciones renales asociadas a la infección y  
de la variabilidad genética del virus sobre su desarrollo**

**T E S I S**

*Que para obtener el grado de*

**Maestra en Biología Experimental**

**P R E S E N T A:**

**Biol. Addi Pamela Figueroa Miranda**

**Matrícula:** 2233803982

**Correo:** [addipamela.miranda@gmail.com](mailto:addipamela.miranda@gmail.com)

**COMITÉ TUTORAL**

**Co- directora:**

Dra. Nora Alma Fierro González

**Co- directora**

Dra. Leticia Bucio Ortiz

**Asesor:**

Dr. Iván Uriel Bahena Ocampo

**J U R A D O:**

**Presidente:**

Dr. Iván Uriel Bahena Ocampo

**Secretaria:**

Dra. Roxana Uri Miranda Labra

**Vocal:**

Dr. Pavel Petrosyan

**Vocal:**

Dr. César Díaz Godínez

Iztapalapa, Ciudad de México a 27 de Marzo del 2026



# COMITÉ TUTORAL

**Directora Tesis**

**Dra. Nora Alma Fierro González - SNII-III**

Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM

Laboratorio de Inmuno-virología

[noraalma@iibiomedicas.unam.mx](mailto:noraalma@iibiomedicas.unam.mx)



---

**Co- director**

**Dra. Leticia Bucio Ortiz – SNII-II**

Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa

Laboratorio Medicina Experimental y Traslacional

[lebo@xanum.uam.mx](mailto:lebo@xanum.uam.mx)



---

**Asesor:**

**Dr. Iván Uriel Bahena Ocampo – SNII-I**

Universidad Autónoma Metropolitana- Unidad Iztapalapa

[ivan.bahena@gmail.com](mailto:ivan.bahena@gmail.com)



## DEDICATORIA

*A mis padres, Lulú y Marcos*

Les dedico este trabajo con el corazón, porque sembraron en mí la fuerza para avanzar y no rendirme. A ustedes, que con su ejemplo guiaron mi camino y con su amor sostuvieron cada uno de mis pasos, que han trabajado toda una vida para que yo pudiera llegar hasta aquí.

A ustedes, que, con cansancio en los hombros y amor en las manos, siempre procuraron darnos lo mejor a mis hermanas y a mí, incluso cuando significaba renunciar a sus propios descansos, a sus propios sueños, pero que construyó el suelo firme sobre el que caminé hoy.

Gracias por enseñarme, día tras día, que, con esfuerzo, con dignidad y con amor puedo lograr todo.

Este logro también es suyo.

Porque si hoy estoy aquí, es porque ustedes estuvieron antes, abriendo camino, sosteniendo mis pasos y creyendo en mí incluso cuando yo apenas aprendía a creer en mí misma.

Con todo mi amor y mi gratitud eterna.

## AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas e instituciones que formaron parte de esta etapa tan importante en mi formación (personal y académica). A la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), mi casa y alma mater, por haberme brindado un espacio de formación integral y por todos los profesores que con sus clases y consejos, dejaron una huella en mi camino. También agradezco al Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM (IIBO-UNAM) por abrirme las puertas para realizar el trabajo experimental de este proyecto, y al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) por proporcionar las muestras fundamentales para llevarlo a cabo.

En primer lugar, mi agradecimiento más profundo es para la Dra. Nora Alma Fierro González, directora de esta tesis, gracias por su guía, compromiso, confianza, Su apoyo constante y tiempo que fueron fundamentales, en especial en los momentos más difíciles (de frustración porque no salían las cosas); aprecio cada conversación, consejo y palabra de ánimo que me ayudaron a ver las cosas desde otra perspectiva y a entender que el camino de la investigación también implica tropiezos, aprendizaje y mucha resiliencia. Por todos los retos que me motivó a realizar y triunfos que alimentaron mi confianza, así mismo por todas las risas y por el espacio donde este proyecto pudo crecer.

A la Dra. Leticia Bucio Ortiz, co-directora de tesis, le agradezco su tiempo y su asesoría, que fueron clave para cerrar este trabajo. Así como las enseñanzas que me brindó en el aula y que han marcado mi formación académica.

Al Dr. Iván Uriel Bahena Ocampo, asesor de tesis, le agradezco su disposición, su amabilidad al aceptar acompañarme en este proyecto incluso sin conocerme previamente. Su apoyo hizo una gran diferencia.

Finalmente, agradezco al Programa de Maestría en Biología Experimental de la UAM, perteneciente al PNPC, así como a la Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada (Solicitud: 655415b0b2277129fceb1bbe; CVU: 1332087) y al financiamiento de DGAPA-UNAM (IA200324). Gracias a estos apoyos pude continuar y concluir esta etapa que significa tanto para mí.

## **AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL**

También quisiera dedicar unas palabras a todos quienes contribuyeron de manera directa o indirecta en la realización de este proyecto. Primero, a mis compañeros del laboratorio de Inmunología del IIBO: Ángeles, Rodolfo, Arón, Diego, Tamara y Mine. Gracias por acompañarme en los días largos y en los experimentos eternos, por las risas que rompían la rutina y por las conversaciones que hacían más ligero el peso del trabajo. Gracias por las recomendaciones, por las pláticas a la hora de la comida y por acompañarme en este camino. A la técnico académico, la Lic. Gisela Du Pont, gracias por tu apoyo técnico, por estar siempre pendiente de que no faltara nada para seguir avanzando, y por todas las conversaciones que se volvieron parte importante de mis días.

También deseo dedicar un espacio a quienes me acompañaron más allá de los muros del laboratorio y lo académico, en ese terreno íntimo. Gracias por ser mi refugio, mi pausa, mi risa y mi equilibrio.

A Arturo, amigo de consejos certeros cuando la mente ya no daba más. A Fernanda, la más joven del grupo, por su lealtad que inspira. A Dana, cómplice de risas y llantos, guardiana de los viernes de café o cena que se convirtieron en un pequeño rito de paz; gracias por permitirme soltar, reír, llorar, y por hacerme sentir menos sola en mi forma de habitar el mundo. Y a Saraí, por los conciertos que alimentaron el alma, los cafés que sanaban el cansancio, su serenidad que sostenía y su perseverancia inquebrantable; gracias por cuidar de todos, por escuchar sin reloj y por ser esa luz tranquila que sabía calmarnos (a todo el grupo).

A mi abuelita Isi, por su cariño sincero y por aquellos guisos que no sólo llenaban el estómago, sino también el corazón: cada plato era un abrazo, un gesto de amor. Gracias por creer, siempre, en su niña. A mi madrina, amiga y confidente Irma (mima), por ser luz en cada espacio que pisa y también en mi vida; gracias por sostenerme en silencio, por escucharme sin juicio y por guardar mis secretos con el cuidado con que se custodia un tesoro.

A mi hermanita Sofía, la más traviesa, compañera de desayunos sabatinos y de mañanas colmadas de juegos, risas y ocurrencias que tenían el día de colores nuevos.

Este logro es también de ustedes. Porque cada abrazo, cada palabra, cada risa y cada gesto hicieron más ligero el camino y más grande el corazón con el que hoy llevo aquí.

## INDICE

INDICE DE TABLAS .....	viii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
1. INTRODUCCIÓN .....	12
2. MARCO TEÓRICO .....	14
<b>CAPÍTULO 1. VIRUS DE HEPATITIS E.....</b>	<b>14</b>
1.1 Historia del VHE .....	14
1.2 Epidemiología del VHE.....	15
1.3 Clasificación, transmisión y genotipos del VHE. ....	16
1.4 Virología molecular del VHE.....	18
1.5 Ciclo replicativo del VHE .....	21
1.5.1 Conformaciones del VHE y su relevancia en el ciclo de vida viral .....	21
1.5.2 Entrada viral y primera etapa de infección del VHE .....	23
1.5.3 Reconocimiento de receptores y entrada del VHE a la célula hospedera.....	24
1.5.3.1 Mecanismos de entrada del nVHE.....	24
1.5.3.2 Mecanismos de entrada del eVHE.....	25
1.5.4. Internalización, tráfico endosomal y desnudamiento del genoma .....	26
1.5.4.1. Internalización y tráfico endosomal del nVHE .....	26
1.5.4.2. Internalización y tráfico endosomal de eVHE .....	27
1.5.5. Replicación y síntesis de proteínas virales.....	27
1.5.6. Ensamblaje de las partículas progenie y liberación .....	28
1.6 Patogénesis e Historia natural de la infección por VHE .....	30
1.7 Diagnóstico de hepatitis E .....	33
<b>CAPÍTULO 2: RESPUESTA INMUNE FRENTE A LA INFECCIÓN CON EL VHE .....</b>	<b>36</b>
2.1 Inmunidad innata frente a la infección con el VHE.....	36
2.2 Mecanismos de evasión de la inmunidad innata por el VHE.....	37
2.3 Células inmunitarias innatas durante la infección por VHE .....	38
2.4 Inmunidad adaptativa frente al VHE .....	39
2.5 Inmunidad celular en la infección crónica por VHE y agotamiento de células T.....	41
2.6 Respuesta humoral en la infección por VHE.....	42
<b>CAPÍTULO 3: MANIFESTACIONES RENALES Y HEPATITIS E .....</b>	<b>45</b>
3.1 Manifestaciones extrahepáticas del VHE.....	45
3.2 Manifestaciones renales asociadas a la infección por VHE .....	46
3.3 Enfermedad renal crónica: definición, causas, epidemiología y tratamiento .....	48
3. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN .....	50
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	53

<b>5.</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>53</b>
<b>6.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>53</b>
	6.1 Objetivo general .....	53
	6.2 Objetivos particulares .....	53
<b>7.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>54</b>
	7.1 Diseño del estudio .....	54
	7.2 Diagnóstico de infección por VHE .....	55
	7.2.1 Serología .....	55
	7.2.2 Detección molecular de VHE .....	55
	7.2.2.1 Extracción de ARN viral.....	55
	7.2.2.2 Reacción de retro transcripción (RT-PCR).....	56
	7.2.2.3 PCR semi-anidada .....	56
	7.3 Genotipificación del VHE .....	56
	7.3.1 Análisis de secuencias y construcción del árbol filogenético .....	57
	7.4 Caracterización del perfil de citocinas.....	58
	7.5 Cultivo celular e infección experimental.....	59
	7.5.1 Mantenimiento de la línea celular A549 y A549/N5 .....	59
	7.5.2 Propagación y titulación del VHE .....	60
	7.5.3 Preparación de las muestras para infección.....	61
	7.5.4 Infección de células A549 con suero de pacientes positivos a VHE y en HD .....	61
	7.5.5 Análisis de la infección por tinción de la cápside por inmunofluorescencia indirecta .....	61
	7.6 Análisis estadístico .....	62
<b>8.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>64</b>
	8.1 Características generales y sociodemográficas de la cohorte .....	64
	8.2 El VHE circula en pacientes en hemodiálisis en México. ....	64
	8.3 Discordancia serológica y seguimiento molecular del VHE revela infección predominantemente aguda y un caso crónico en pacientes en HD .....	65
	8.4 Mortalidad incrementada en pacientes en HD con infección por VHE .....	66
	8.5 Genotipo 3 del VHE circula en pacientes en HD en México.....	67
	8.6 Reducción de IL-10 en suero de pacientes en HD con infección aguda por VHE .....	70
	8.7 Diferencias morfológicas entre células A549 no infectadas y constitutivamente infectadas.....	71
	8.8 Determinación del título viral por TCID <sub>50</sub> día 3 como el mejor para obtener virus de manera <i>in vitro</i> .....	72
	8.9 Detección de ARN del VHE en sobrenadantes de cultivos infectados con sueros de pacientes.....	72
<b>9.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>74</b>

<b>10. CONCLUSIONES</b> .....	<b>81</b>
<b>11. REFERENCIAS</b> .....	<b>82</b>
<b>12. ANEXOS</b> .....	<b>94</b>
Anexo 1.- Carta de consentimiento informado para participación en protocolos de investigación adultos .....	94
Anexo 2.- Carta de consentimiento informado a niños o personas con discapacidad (Hoja 1).....	95
Anexo 3.- Aprobación de protocolo por los Comités de Ética en Investigación en Salud y de Investigación del IMSS .....	97
Anexo 4. - Aprobación de protocolo por los Comités de Ética en Investigación en Salud y de Investigación del IMSS .....	98
Anexo 5.- Carta de no inconveniente por parte de la Unidad Médica .....	99
Anexo 6.- Cédula de recolección de datos .....	100
Anexo 7.- Genomas de Referencia para Genotipificación del Virus de la Hepatitis E VHE	101
Anexo 8.- Pacientes positivos a ARN viral del VHE.....	103
Anexo 9.- Coeficiente de Determinación ( $R^2$ ): Los valores estuvieron entre 0.70 y 0.95. Un $R^2$ cercano a 1 indica que la curva se ajusta muy bien a los puntos de calibración. Un rango de 0.70-0.95 se considera aceptable a bueno para ensayos biológicos complejos, confirmando que las mediciones son fiables. a) IL-12p70; b) IL-10; c) IL-1 $\beta$ y d) IFN- $\gamma$ ....	104
Anexo 10.- Tabla 1 complementaria.....	107
Anexo 11.- Artículos publicados durante el desarrollo del proyecto .....	108
Anexo 12.- Premio 2do. Lugar categoría cartel maestría en la 2da Feria de Investigación Biomédica y participación en proyecto investigación a nivel licenciatura. ....	110
Anexo 13.-Participación modalidad ponente de cartel nivel maestría y asistencia al XXVI Congreso Nacional de Inmunología de la Sociedad Mexicana de Inmunología (SMI). ....	111
Anexo 14.- Participación 2do. Congreso de Investigación de la Facultad de Medicina .....	112

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Características biológicas y epidemiológicas de los genotipos del virus de la hepatitis E con relevancia clínica en humanos .....	17
<b>Tabla 2.</b> Manifestaciones renales de casos reportados de infección por el (VHE).....	46
<b>Tabla 3.</b> Seroprevalencia de la infección por el VHE (%) en población sana y pacientes en HD...	50
<b>Tabla 4.</b> Criterios de selección de los participantes del estudio .....	54
<b>Tabla 5.</b> Primers utilizados para realizar detección molecular de casos positivos al VHE .....	56
<b>Tabla 6.</b> Primers utilizados para la genotipificación de los casos positivos al VHE.....	57
<b>Tabla 7.</b> Grupos de estudio, número de muestras y tipo de análisis realizados .....	58
<b>Tabla 8.</b> Características clínicas y sociodemográficas de la cohorte de pacientes en hemodiálisis, según estatus de infección por VHE.....	67

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Organización del genoma del VHE .....	21
<b>Figura 2.</b> Estructuras básicas del VHE.....	22
<b>Figura 3.</b> Ciclo de vida del VHE.....	29
<b>Figura 4.</b> Historia natural de la infección por VHE.....	33
<b>Figura 5.</b> Regiones conservadas dentro del genoma del VHE.....	35
<b>Figura 6.</b> Reconocimiento del VHE por la inmunidad innata y activación de la respuesta mediada por interferón.....	39
<b>Figura 7.</b> Inmunidad frente al curso clínico de la infección del VHE.....	40
<b>Figura 8.</b> Respuesta inmunitaria celular en la infección aguda y crónica por el VHE.....	43
<b>Figura 9.</b> Clasificación fisiopatológica de las manifestaciones renales asociadas a la infección por VHE....	47
<b>Figura 10.</b> Esquema general de metodología experimental.....	63
<b>Figura 11.</b> Frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE en pacientes en HD (n = 67) .....	64
<b>Figura 12.</b> Detección de ARN del VHE por RT-PCR en pacientes en HD (n = 67).....	64
<b>Figura 13.</b> Detección de ARN del VHE en pacientes positivos.....	65
<b>Figura 14.</b> Distribución de pacientes en hemodiálisis según reactividad a IgG anti-VHE y resultado de RT-PCR para detección de ARN viral.....	66
<b>Figura 15.</b> Imagen representativa de la detección de productos amplificados correspondientes a una región parcial del gen ORF1 del VHE en muestras de pacientes positivos.....	68
<b>Figura 16.</b> Árbol filogenético construido con secuencias parciales del gen ORF 1 del VHE.....	69
<b>Figura 17.</b> Diferencias en los perfiles de citocinas séricas entre los grupos de estudio.....	70
<b>Figura 18.</b> Producción viral y morfología de células A549 no infectadas y A549/N5 constitutivamente infectadas.....	71
<b>Figura 19.</b> Producción viral.....	72
<b>Figura 20.</b> Detección de ARN del VHE en sobrenadantes de células A549 infectadas con sueros de pacientes PCR.....	73
<b>Figura 21.</b> Análisis por inmunofluorescencia de células A549 infectadas con sueros de pacientes y controles.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS

- A549** — Línea celular derivada de carcinoma epitelial alveolar humano  
**aa** — Aminoácidos  
**ACLF** — Insuficiencia hepática aguda sobre crónica (*Acute-on-chronic liver failure*)  
**ADN** — Ácido desoxirribonucleico  
**ALT** — Alanina aminotransferasa  
**ARN** — Ácido ribonucleico  
**ASGPR** — Receptor de asialoglucoproteína  
**AST** — Aspartato aminotransferasa  
**ATP5B** — Subunidad  $\beta$  de la ATP sintasa  
**CD4+** — Linfocitos T CD4 positivos  
**CD8+** — Linfocitos T CD8 positivos  
**CD9** — Grupo de diferenciación 9  
**CD63** — Grupo de diferenciación 63  
**CD81** — Grupo de diferenciación 81  
**CDC42** — Proteína de control del ciclo celular 42  
**CHC** — Carcinoma hepatocelular  
**CLTC** — Clatrina  
**CTSL** — Catepsina L  
**CxCL** — Quimiocinas de la familia C-X-C  
**dL** — Decilitro  
**DILI** — Lesión hepática inducida por fármacos  
**DNM2** — Dinamina 2  
**ELISA** — Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas  
**eVHE** — Virus de la hepatitis E cuasi-envuelto  
**ERC** — Enfermedad renal crónica  
**ERK** — Cinasa regulada por señales extracelulares  
**ESCRT** — Complejos requeridos para el transporte endosomal  
**GRP78** — Proteína regulada por glucosa de 78 kDa  
**HD** — Hemodiálisis  
**Hel** — Helicasa  
**HIF** — Factor inducible por hipoxia  
**HSP90** — Proteína de choque térmico 90  
**HSPG** — Proteoglicanos de sulfato de heparán  
**HVR** — Región hipervariable  
**IFN- $\gamma$**  — Interferón gamma  
**IgG** — Inmunoglobulina G  
**IgM** — Inmunoglobulina M  
**IKK** — Cinasa del inhibidor de NF- $\kappa$ B  
**IHA** — Insuficiencia hepática aguda  
**IL-10** — Interleucina 10  
**IL-18** — Interleucina 18  
**ISG** — Genes estimulados por interferón  
**ITGA3** — Integrina alfa 3  
**Kb** — Kilobases  
**KIM-1** — Molécula de lesión renal 1  
**LAL** — Lipasa ácida lisosomal  
**LDH** — Lactato deshidrogenasa

**m7G** — 7-metilguanósina  
**MAPKs** — Proteínas quinasas activadas por mitógenos  
**MEGA** — Molecular Evolutionary Genetics Analysis  
**Met** — Metiltransferasa  
**mg** — Miligramo  
**ml** — Mililitro  
**MVB** — Cuerpos multivesiculares  
**NF-κB** — Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras κ de células B activadas  
**NGAL** — Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos  
**NPC1** — Proteína Niemann-Pick tipo C1  
**nt** — Nucleótidos  
**nVHE** — Virus de la hepatitis E no envuelto  
**ORF** — Marco de lectura abierto  
**PAMP** — Patrones moleculares asociados a patógenos  
**PBS** — Solución salina tamponada con fosfatos  
**PCR** — Reacción en cadena de la polimerasa  
**PCP** — Proteasa de cisteína tipo papaína  
**pH** — Potencial de hidrógeno  
**pORF2** — Proteína de la cápside  
**pORF2c** — Proteína de la cápside asociada al genoma  
**pORF2s** — Proteína de la cápside secretada  
**PRRs** — Receptores de reconocimiento de patrones  
**PSAP** — Señal prolina-serina-alanina-prolina  
**qRT-PCR** — PCR cuantitativa con transcripción inversa en tiempo real  
**Rab** — Proteínas GTPasa Rab  
**RdRp** — ARN polimerasa dependiente de ARN  
**RE** — Retículo endoplásmico  
**RIG-I** — Gen inducible por ácido retinoico I  
**SFB** — Suero fetal bovino  
**siARN** — ARN interferente pequeño  
**ssARN+** — ARN monocatenario de sentido positivo  
**STAT** — Transductor de señal y activador de transcripción  
**TBK1** — Kinasa 1 de unión a TANK  
**TIM-1** — Receptor de inmunoglobulina de células T y dominio de mucina 1  
**TLR** — Receptores tipo Toll  
**TNF** — Factor de necrosis tumoral  
**TSG101** — Gen de susceptibilidad tumoral 101  
**UI** — Unidades internacionales  
**UTR** — Regiones no traducidas  
**VHA** — Virus de la hepatitis A  
**VHB** — Virus de la hepatitis B  
**VHC** — Virus de la hepatitis C  
**VHE** — Virus de la hepatitis E  
**VIH** — Virus de inmunodeficiencia humana  
**VLP** — Partículas similares a virus  
**Vp13** — Viroporina 13

## RESUMEN

El virus de la hepatitis E (VHE) es la principal causa de hepatitis aguda a nivel mundial. Además de afectar la función hepática, puede inducir manifestaciones extrahepáticas, entre las cuales las complicaciones renales se encuentran entre las más frecuentemente reportadas. Si bien, la mayoría de las infecciones por el VHE son agudas y autolimitadas, en pacientes con riesgo de recibir tratamiento inmunosupresor, como aquellos en terapia de reemplazo renal mediante hemodiálisis (HD), la infección puede volverse crónica, principalmente asociada al genotipo 3 (gt3). Este proceso ha sido ampliamente estudiado en el contexto de daño hepático, donde la hepatitis E crónica puede progresar a fibrosis y cirrosis, condiciones que se asocian con alteraciones en el perfil de citocinas. No obstante, el papel del perfil de citocinas en el desarrollo de manifestaciones renales asociadas a la infección por VHE permanece desconocido. En México, estudios de cohorte que incluyen hepatópatas, donadores de banco de sangre y pacientes pediátricos con hepatitis aguda han confirmado la circulación del VHE en el país. Sin embargo, no existe vigilancia epidemiológica sistemática para este virus y su frecuencia en pacientes con daño renal, incluidos aquellos en HD, no ha sido analizada. Este estudio tuvo como objetivo determinar la prevalencia VHE, el genotipo infeccioso y el perfil sérico de citocinas asociado a la infección en una cohorte de pacientes en HD. Se analizaron muestras de suero de 67 pacientes en HD para la detección de anticuerpos IgM e IgG anti-VHE mediante ELISA y el ARN viral se detectó por RT-PCR. El genotipo se determinó por secuenciación Sanger de regiones específicas del genoma viral y análisis filogenético. El perfil sérico de citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$  e IL-12p70) se evaluó mediante ensayo multiplex, comparando pacientes positivos y negativos a la detección de ARN viral; adicionalmente, se incluyeron muestras de pacientes con hepatitis E aguda y crónica sin alteraciones renales. No se detectaron anticuerpos IgM anti-VHE en ninguna muestra, mientras que la seroprevalencia de IgG fue de 14.9%. La detección molecular reveló ARN viral en 37.3% de los pacientes, evidenciando infección activa en ausencia de marcadores serológicos en una proporción considerable de casos. Todas las secuencias correspondieron al gt3. El seguimiento clínico identificó un caso de infección crónica en ausencia de inmunosupresión documentada; los demás casos se clasificaron como infecciones agudas. Ningún paciente presentó alteraciones bioquímicas o estructurales compatibles con daño hepático. El análisis inmunológico mostró concentraciones elevadas de IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  e IL-12p70 asociadas al contexto inflamatorio de la HD, así como una disminución significativa de IL-10 en pacientes con ARN viral detectable en comparación con pacientes no infectados.

En conclusión, nuestros hallazgos demuestran la circulación del VHE gt3 en pacientes en HD en México, la detección serológica no es suficiente para identificar la infección, por lo que la detección del genoma viral resulta esencial. La infección por VHE puede ocurrir en ausencia de disfunción hepática, y la disminución de IL-10 se asocia con la presencia del virus, lo que sugiere un papel relevante de la modulación inmunológica.

## 1. INTRODUCCIÓN

---

La hepatitis es un proceso inflamatorio del hígado que puede originarse por múltiples etiologías, incluyendo consumo excesivo de alcohol, enfermedades autoinmunes, esteatosis hepática, exposición a agentes tóxicos e infecciones virales (ISSSTE, 2025). Entre estas causas, las hepatitis virales constituyen un problema relevante de salud pública a nivel global. Son ocasionadas principalmente por los virus de la hepatitis A, B, C, D, E y G, los cuales difieren en sus características virológicas, mecanismos de transmisión, tropismo y evolución clínica (Odenwald et al., 2022).

En el contexto de esta investigación, la hepatitis E adquiere especial relevancia. Esta enfermedad infecciosa es causada por el virus de hepatitis E (VHE), identificado por primera vez en la década de 1980 (Fierro et al., 2023), y actualmente reconocido como la principal causa de hepatitis viral aguda a nivel mundial (OMS, 2023). El VHE presenta una distribución global, atribuible en gran medida a la diversidad de sus vías de transmisión. La principal es la vía fecal–oral, a través del consumo de agua o alimentos contaminados; sin embargo, también se han descrito rutas menos frecuentes, como la transmisión zoonótica, transfusional (mediante hemoderivados), por trasplante de órganos, transmisión vertical (madre–hijo) y contacto directo con personas infectadas (Rodríguez-Frías et al., 2012; Viera-Segura et al., 2023; Fotios et al., 2020; Yadav y Kenney, 2023).

El VHE es un virus de ARN monocatenario con una marcada diversidad genética (Wang et al., 2018). Hasta la fecha se han identificado ocho genotipos (gt1–gt8), de los cuales cinco (gt1, gt2, gt3, gt4 y gt7) infectan al ser humano (Fierro et al., 2023). Esta heterogeneidad genética influye de manera determinante en el curso clínico de la infección, que puede manifestarse como hepatitis aguda autolimitada o progresar hacia cronicidad, con desarrollo acelerado de fibrosis y cirrosis hepática e incluso cáncer hepatocelular (Gen y Wang et al., 2016). Desde el punto de vista clínico-epidemiológico, los gt1 y gt2 se asocian principalmente con infecciones agudas transmitidas por agua contaminada, mientras que los gt3 y gt4, de origen zoonótico, se han vinculado con el desarrollo de infección crónica, especialmente en individuos inmunosuprimidos (Gen y Wang et al., 2016 y Yadav y Kenney., 2023). En contraste, los gt5, gt6 y gt8 no han sido identificados en humanos y, hasta el momento, solo se ha documentado un caso de infección humana por el gt7 (Lee et al., 2016).

El VHE no es citopático, por lo que el daño tisular observado durante la infección se atribuye principalmente a la respuesta inmunitaria del hospedero, en este proceso, las alteraciones en la proporción y función de las células del sistema inmune, así como el balance entre citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias, desempeñan un papel central tanto en la resolución de la infección como en su progresión hacia la cronicidad (Orozco-Córdoba et al., 2023). Además, en años recientes, la hepatitis E ha dejado de considerarse una enfermedad exclusivamente hepática,

debido a la creciente evidencia de su capacidad para infectar diversos linajes celulares y generar manifestaciones extrahepáticas. Entre estas se incluyen alteraciones gastrointestinales, autoinmunes, neurológicas y renales, lo que sugiere un carácter sistémico de la infección (Sood et al., 2000; Yazaki et al., 2015; Guinault et al., 2016; Pischke et al., 2017; Bi et al., 2022; Elkhawaga et al., 2023).

En este sentido, la definición clínica de hepatitis E crónica se ha centrado predominantemente en el daño hepático (Ma et al., 2022), dejando escasamente caracterizado el impacto de la infección crónica y de la respuesta inmune en otros órganos, incluido el riñón. Dentro de las manifestaciones extrahepáticas, la afectación renal representa una de las complicaciones más relevantes asociadas a la infección por VHE (Elkhawaga et al., 2023). No obstante, los estudios disponibles se han enfocado principalmente en la determinación de la seroprevalencia de anticuerpos IgM e IgG anti-VHE en pacientes con enfermedad renal, relegando el análisis de los mecanismos inmunológicos implicados, las vías de transmisión y otros factores de riesgo en este grupo de pacientes (Janahi et al., 2020; Kogias et al., 2023; Kevorkyan et al., 2023).

En México, el VHE fue identificado a partir de un brote de hepatitis viral ocurrido a finales de la década de 1980, lo que permitió la recuperación y caracterización del virus, inicialmente clasificado como gt2 (Viera-Segura et al., 2023). Estudios posteriores han demostrado la circulación adicional de los gt1 y gt3 del VHE en México, lo que posiciona al país como una región hiperendémica para este virus (Realpe-Quintero et al., 2018 y Viera-Segura et al., 2019). De hecho, México representa un escenario epidemiológico particularmente relevante, ya que es el único país de América donde se ha documentado la presencia de tres gt distintos del VHE. De forma importante el gt3, se ha asociado con el desarrollo de infección crónica en otras regiones del mundo. Sin embargo, en México la vigilancia epidemiológica del VHE no es obligatoria, lo que limita su inclusión en los reportes oficiales de salud pública y contribuye a la escasez de información sobre su impacto clínico, particularmente en relación con las manifestaciones renales asociadas a la infección (Viera-Segura et al., 2023).

## 2. MARCO TEÓRICO

### CAPÍTULO 1. VIRUS DE HEPATITIS E

---

#### 1.1 Historia del VHE

La historia del VHE se remonta a la década de 1950, cuando en Delhi, India, se reportaron brotes de hepatitis aguda sin un agente causal identificado que afectaron aproximadamente a 29,000 personas (Arankalle et al., 1994). Posteriormente, se documentaron brotes similares transmitidos por agua en distintas regiones del país, como Ahmedabad, Kolhapur, Baroda y Cachemira, siendo este último uno de los más graves, con cerca de 52,000 casos y 1,700 muertes (Pallerla et al., 2020). Sin embargo, la mayoría de estos casos no correspondían a hepatitis A ni B, por lo que la enfermedad fue denominada hepatitis entérica no A no B (ENANBH) (Viera-Segura et al., 2023). Años más tarde, en 1981, durante la invasión soviética de Afganistán, se registró un brote en un campamento militar con características clínicas y vías de transmisión similares a las observadas en la India (Pallerla et al., 2020). En un intento por identificar el agente causal, el médico ruso Mikhail Balayan realizó un experimento decisivo al autoinocularse un filtrado preparado a partir de muestras fecales de soldados infectados. Tras desarrollar hepatitis aguda y obtener resultados negativos para los virus de hepatitis A y B, se sugirió la presencia de un nuevo agente etiológico. Posteriormente, mediante microscopía inmunoelectrónica, se detectaron en heces recuperadas tras la inoculación partículas virales no envueltas de 20–30 nm de diámetro, confirmando así la existencia de un virus distinto responsable de la ENANBH (Balayan et al., 1983).

Poco después, en 1986, se reportaron brotes de hepatitis viral en comunidades rurales de Huitzililla y Telixtac, en el estado de Morelos, México (Velázquez et al., 1990). Aproximadamente el 5 % de la población, principalmente adultos jóvenes, presentó síntomas de hepatitis aguda; los estudios serológicos descartaron infección por los virus de hepatitis A y B, y mediante microscopía inmunoelectrónica se observaron partículas virales no envueltas de 32–34 nm en muestras fecales (Huang et al., 1992). Estos hallazgos coincidieron con los brotes de ENANBH descritos en Asia y constituyeron el primer registro de infección por este agente en América (Viera-Segura et al., 2023).

Un año después, la comparación de genomas completos de aislados virales de Asia y México confirmó que se trataba del mismo agente, el cual fue denominado “Virus de la hepatitis E” (Huang et al., 1992). La caracterización molecular de la cepa mexicana reveló una estrecha relación con una cepa proveniente de Birmania, compartiendo ambas la misma longitud genómica y organización de marcos de lectura abiertos (ORF). Aunque las cepas de Birmania y Pakistán, las únicas disponibles en ese momento, mostraron mayor similitud entre sí, la cepa mexicana presentó una identidad nucleotídica de 76–77 % con ambas, alcanzando hasta 93 % de similitud en la región ORF2 (Huang et al., 1992). Estas diferencias genómicas condujeron a la clasificación del VHE en genotipos 1 y 2, correspondiendo el aislado mexicano a este último. Además de la caracterización

molecular, se demostró que las partículas virales obtenidas durante los brotes en México eran capaces de inducir hepatitis en primates no humanos, confirmando de manera definitiva su papel etiológico (Ticehurst et al., 1992). En conjunto, estos hallazgos consolidaron la identificación del VHE como un nuevo agente de hepatitis viral y sentaron las bases para su posterior estudio epidemiológico, molecular y clínico a nivel mundial.

## **1.2 Epidemiología del VHE**

La infección por el VHE constituye la principal causa de hepatitis viral aguda a nivel mundial (OMS, 2023). Se estima que, anualmente, ocurren al menos 20 millones de infecciones por VHE, que resultan en más de 3 millones de casos sintomáticos y alrededor de 60,000 muertes (IHME, 2024). No obstante, la verdadera prevalencia de esta enfermedad podría ser mayor ya que la infección tiende a ser subdiagnosticada, esto se debe a que los casos y brotes de hepatitis E a menudo no se detectan o se confunden con otras formas de hepatitis aguda, dada la similitud clínica y la limitada disponibilidad de pruebas diagnósticas específicas (Li et al., 2020). Esta situación se ve agravada por la escasa experiencia del personal médico y de salud pública en la identificación y el manejo de brotes de hepatitis E, sumada a la limitada orientación técnica disponible para responder a dichos eventos; estos factores pueden derivar en respuestas inadecuadas o tardías por parte de los administradores de salud y del personal en campo (OMS, 2023).

La hepatitis E se presenta en todo el mundo, tanto en brotes como en casos esporádicos. De acuerdo con el metaanálisis realizados por Li et al. (2020), que incluyó 419 estudios con un total de 1,519,872 individuos estima una seroprevalencia global de anticuerpos IgG anti-VHE del 12.47% (IC 95%), basada en 1,099,717 participantes de población general; dichos valores sugieren que aproximadamente 938.9 millones de personas, es decir, 1 de cada 8 individuos en el mundo, han tenido una infección previa por VHE (IgG positiva); además, se estimó una seroprevalencia global de IgM anti-VHE del 1.47 % (IC 95%), equivalente a cerca de 110.7 millones de personas con infección reciente o en curso, y una tasa de positividad para el ARN viral del VHE de 0.20 % (IC 95 %), correspondiente a aproximadamente 15.1 millones de personas con infección activa. Los autores destacan que el uso de distintos kits comerciales de ELISA influye significativamente en las estimaciones de seroprevalencia, reflejando variabilidad metodológica entre estudios.

### 1.3 Clasificación, transmisión y genotipos del VHE.

De acuerdo con el International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV, 2023), el VHE es el único miembro de la familia *Hepeviridae*, la cual ha sido recientemente reclasificada para incluir dos subfamilias principales que reflejan su diversidad de huéspedes: 1) *Orthohepevirinae*, que agrupa los virus que infectan mamíferos y aves, 2) *Parahepevirinae*, que comprende virus que infecta peces. Dentro de esta taxonomía actualizada, el VHE que afecta a humanos se clasifica de la siguiente manera:

**Familia:** *Hepeviridae*

- **Subfamilia:** *Orthohepevirinae*

- **Género:** *Paslahepevirus*

- **Especie:** *Paslahepevirus balayani*

Además del género que infecta a mamíferos (*Paslahepevirus*), dentro de la subfamilia *Orthohepevirinae* se han descrito otros tres géneros: *Rocahepevirus* (que infecta roedores), *Avihepevirus* (que infecta aves) y *Chirohepevirus* (que infecta murciélagos). La relevancia clínica del *Paslahepevirus balayani* radica en su diversidad genotípica; numerosos estudios han permitido identificar ocho gt y aproximadamente 30 subtipos (Haase et al., 2025). De ellos, cinco (gt1, gt2, gt3, gt4 y gt7) poseen relevancia clínica debido a su capacidad para infectar a humanos (Nimgaonkar et al., 2028; Wang et al., 2023), (Tabla 1). Esta amplia variabilidad genética es fundamental en su patogénesis, ya que influye en el desarrollo de la infección (aguda o crónica), su distribución geográfica, rango de hospedadores y vías de transmisión. No obstante, pese a esta diversidad, la mayoría de los genotipos pertenecen a un único serotipo; esta característica es relevante, pues implica que los anticuerpos generados frente a un genotipo pueden reconocer y neutralizar a los demás, lo que evidencia una notable conservación antigénica entre ellos (Duan y Feng, 2024).

Precisamente, un aspecto clave relacionado con la amplia distribución del VHE es su diversidad en las formas de transmisión, siendo la vía principal la entérica (fecal-oral), típicamente a través del consumo de agua o alimentos contaminados, estrechamente vinculada, se encuentra la transmisión zoonótica que ocurre por el consumo de carne o productos derivados de animales infectados (Viera-Segura et al., 2019; Yadav y Kenney, 2023 y Duan y Feng, 2024). Adicionalmente, se han documentado rutas de transmisión menos frecuentes, que incluyen la exposición a productos sanguíneos contaminados mediante transfusiones (Gallian et al., 2014; Bi et al., 2020; Copado-Villagrana et al., 2023), la transmisión a través de trasplantes de órganos (Janahi et al., 2020 y Hansrivijit et al., 2021), la transmisión vertical (de madre a hijo) (Sharma et al., 2017 y Geng et al., 2023) y el contacto directo con personas infectadas (Viera-Segura et al., 2019).

**Tabla 1. Características biológicas y epidemiológicas de los genotipos del virus de la hepatitis E con relevancia clínica en humanos**

gt	Sub gt	Hospedadores Principales	Distribución Geográfica	Vías de Transmisión Predominantes	Curso de la Infección en Humanos	Relevancia Clínica y Observaciones Clave	Referencias
1	a-e	Humanos	Asia, África, América Central	Fecal-oral (agua contaminada), vertical	Exclusivamente aguda	Causa grandes epidemias. Alta mortalidad en mujeres embarazadas. No progresa la cronicidad.	(Kumar et al., 2020 y Pérez-Gracia et al., 2023)
2	a, b	Humanos	África Occidental, México	Fecal-oral (agua contaminada)	Exclusivamente aguda	Brotos en contextos de saneamiento deficiente. Curso autolimitado. Sin casos crónicos reportados.	(Miyashita et al., 2020 y Nimgaonkar et al., 2018)
3	a-j	Humanos, cerdos, jabalíes, ciervos, conejos, caballos, mangostas	Europa, Américas, Japón	Alimentaria (carne mal cocida), zoonótica, transfusional	Aguda y crónica	Zoonosis predominante. Infecciones crónicas en inmunocomprometidos. Curso clínico variable, desde asintomático a hepatitis grave.	(Kamar et al., 2021 y Wang et al., 2023)
4	a-g	Humanos, cerdos, otros mamíferos	Asia Oriental y Sudoriental	Alimentaria, zoonótica, transfusional	Aguda y crónica	Considerado más virulento que el gt3. Puede causar hepatitis fulminante. También causa infección crónica en inmunodeprimidos.	(Yadav y Kenney, 2023 y Sridhar et al., 2021)
7	a	Camellos dromedarios, humanos	Medio Oriente	Alimentaria (leche/carne de camello cruda), zoonótica	Crónica (reportada)	Infecciones documentadas en individuos inmunosuprimidos. Potencial de persistencia viral. Curso clínico generalmente leve.	(Lee et al., 2016)
5	-	Jabalíes	Japón	Zoonótica (potencial)	Sin evidencia de infección humana	Bajo potencial zoonótico. No se han confirmado casos en humanos.	(Takahashi et al., 2022)
6	-	Jabalíes	Japón	Zoonótica (potencial)	Sin evidencia de infección humana	Similar al gt5. Información epidemiológica limitada.	(Takahashi et al., 2022)
8	-	Camellos bactrianos	China	Zoonótica (no demostrada)	Sin evidencia de infección humana	Datos muy limitados. Riesgo para humanos no establecido.	(Wang et al., 2020)

**gt=** Genotipos **Sub-gt=** subgenotipos

## 1.4 Virología molecular del VHE

El VHE es un virus icosaédrico y sin envoltura de 27 a 34 nm de diámetro, con un genoma de ARN monocatenario de sentido positivo (ssARN<sup>+</sup>), perteneciente al grupo IV de acuerdo con la clasificación de virus de Baltimore (Koonin et al., 2021). Su genoma tiene un tamaño de 7.2 kb y tiene características típicas de un ARN mensajero eucariote; está flanqueado por regiones no traducidas (UTR, del inglés *Untranslated region*) en sus extremos, con una caperuza de 7-metilguanosa (m<sup>7</sup>G) en el extremo 5' que protege el ARN e inicia la traducción y una cola poli(A) en el extremo 3' que garantiza su estabilidad y expresión eficiente (Nan y Zhang, 2016). La información genética se organiza en tres marcos de lectura abiertos (ORF principales: ORF1, ORF2 y ORF3 los cuales se expresan a través de estrategias moleculares distintas, además, los dos últimos se sobrepone) (Songtanin et al., 2023). Adicionalmente, se ha descrito un ORF4 en el gt1, el cual participa en la estimulación de la replicación viral bajo condiciones de estrés (Duan y Feng et al., 2024) (Figura 1).

ORF1 es el más extenso del genoma del VHE, con una longitud aproximada de 5,082 nucleótidos (nt), representa cerca del 70 % de la información genética del VHE (Cancela et al., 2022). Se traduce directamente a partir del ARN genómico completo para producir una poliproteína no estructural de 1,693 aminoácidos (aa) (~190 kDa) (Wang y Meng, 2021; Cancela et al., 2022). Esta poliproteína contiene los dominios enzimáticos no estructurales esenciales para la replicación viral, los cuales incluyen, en orden desde el extremo N- al C-terminal: una metiltransferasa (Met), un dominio Y, una cisteína-proteasa tipo papaína (PCP), una región hipervariable (HVR), una región rica en prolina, un dominio X, una helicasa (Hel) y la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) (Wang y Meng, 2021; He et al., 2023). Cabe destacar que, aunque se conoce la composición de la poliproteína ORF1 del VHE, aún existe controversia respecto a si su procesamiento proteolítico completo es necesario para alcanzar una funcionalidad óptima.

En general, los virus de ARN de cadena positiva suelen codificar proteasas que escinden sus poliproteínas en unidades funcionales como ocurre en los virus de hepatitis A y C (Lin et al., 2022; Francesco y Carfi, 2021), sin embargo, esto no se sabe bien para VHE. Algunos estudios han aportado evidencia a favor de dicho procesamiento en VHE en sistemas de expresión heterólogos, como vaccinia (Ropp et al., 2000) y baculovirus (Sehgal et al., 2006). De igual forma, se ha demostrado que la proteasa PCP del VHE purificada a partir de *E. coli* es capaz de escindir tanto ORF1 como ORF2 (Paliwal et al., 2014). Evidencia más reciente y directa proviene del uso del sistema BacMam, mediante el cual la expresión del genoma completo del VHE gt3 en células Huh7 generó fragmentos de aproximadamente 35, 37 y 56 kDa, correspondientes a PCP, Met y RdRp respectivamente, lo que sugiere la ocurrencia del procesamiento proteolítico (Kumar et al., 2020). No obstante, esta identificación contrasta con otros estudios que no han encontrado evidencia significativa de dicho procesamiento (Suppiah et al., 2011; Perttilä et al., 2013 y LeDesma et al.,

2023). A pesar de esta controversia, la funcionalidad de varios dominios predichos dentro de ORF1 ha sido confirmada de manera individual.

ORF2, por su parte, constituye el segundo marco de lectura abierto más grande del VHE con una longitud de 1,983 nt e inicia 37 nt río abajo del codón de terminación de ORF1, se sobrepone parcialmente con ORF3, finalizando 65 nt antes de la cola poli(A) (Nan y Zhang, 2016; Cancela et al., 2022). ORF2 se traduce a partir de un ARN subgenómico de aproximadamente 2.2 kb, generado durante la replicación viral, cuya traducción produce una proteína de 660 aa correspondiente a la proteína de la cápside viral (pORF2), responsable de proteger el genoma y conformar la envoltura externa del virión (Pallerla et al., 2020; He et al., 2024; Cancela et al., 2022). Sin embargo, su papel va más allá de lo estructural, pORF2 participa activamente en etapas clave del ciclo viral, como la unión al ARN genómico para facilitar el ensamblaje, la interacción con la superficie celular durante la entrada, y la interferencia con señales antivirales para evadir la respuesta inmune del huésped (He et al., 2024). Así mismo, constituye el principal sitio inmunogénico del virus y es el blanco de los anticuerpos neutralizantes (Songtanin et al., 2023).

Estructuralmente, la proteína pORF2 se organiza en tres dominios principales: S (Shell, aa 129–319), M (Middle, aa 320–455) y P (Protruding, aa 456–606), que en conjunto conforman la cápside icosaédrica del virión (320–350 Å) (Wang y Meng, 2021).

- **Dominio S:** constituye la base estructural o capa interna de la cápside y contiene el extremo N-terminal, caracterizado por una región rica en arginina que confiere una carga positiva capaz de neutralizar las cargas negativas del ARN viral, lo que facilita la unión entre la proteína de la cápside y el genoma e inicia el proceso de ensamblaje viral (Cancela et al., 2022). En esta misma región se localiza una secuencia señal peptídica (22–24 aa iniciales), indispensable para dirigir la proteína recién sintetizada hacia el retículo endoplásmico (RE) (Wang y Meng, 2021). Una vez en el retículo endoplásmico, la proteína sufre modificaciones postraduccionales, específicamente glicosilación en los residuos de asparagina 137, 310 y 562 (Xu et al., 2016; He et al., 2024), lo que da lugar a la generación de tres isoformas de pORF2. Estas isoformas han sido identificadas en líneas celulares (COS-1, HepG2 y BHK-21) y en muestras de pacientes, con masas moleculares de 72–74 kDa, 79–82 kDa y 84–88 kDa, respectivamente (Cancela et al., 2022).
- **Dominio M:** desempeña un papel estructural crucial al conectar el dominio interno (S) con el dominio externo (P). Presenta un motivo estructural hélice-giro-hélice (aa 376–391), propuesto como sitio putativo de unión al ácido siálico, lo que sugiere su participación en la etapa inicial de adhesión a receptores glicosilados de la superficie celular (He et al., 2024).
- **Dominio P:** sobresale hacia el exterior del virión y está unido al dominio M por una bisagra larga y rica en prolina, que le confiere flexibilidad estructural y resistencia a la degradación por proteasas (He et al., 2024). Este dominio cumple varias funciones esenciales: 1)

constituye el dominio antigénico principal y contiene los epítomos inmunodominantes, siendo la principal diana de los anticuerpos neutralizantes y de las vacunas en desarrollo; 2) participa directamente en la unión y entrada a la célula huésped, ya que mutaciones en residuos clave como E549 y K554 impiden la penetración viral y 3) forma dímeros en la superficie de la cápside, proceso indispensable para la estabilidad estructural del virión y sus interacciones con los receptores celulares (Cancela et al., 2022; He et al., 2024).

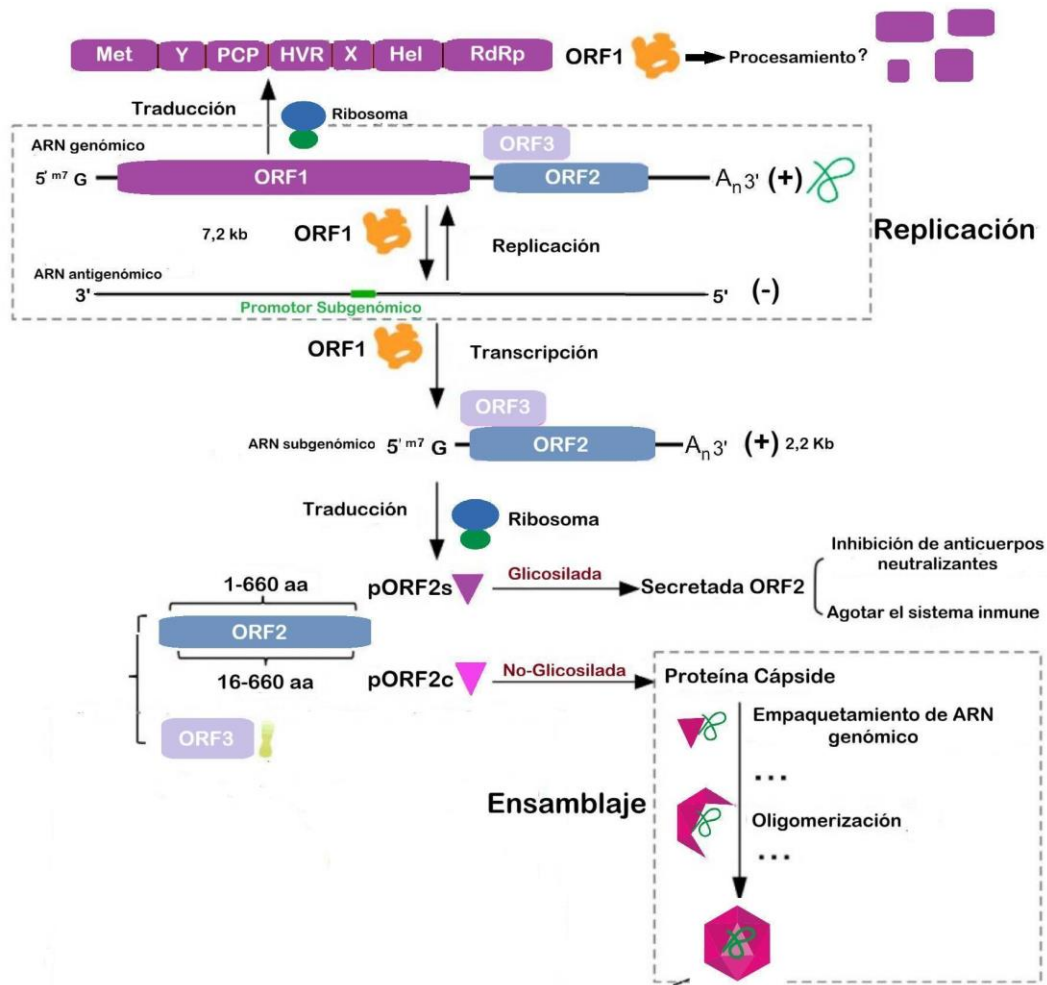
Además, durante la replicación del VHE se generan al menos dos formas funcionalmente especializadas de la pORF2, una forma glicosilada y secretada (pORF2s) y una forma no glicosilada asociada a la cápside (pORF2c). Estas isoformas difieren en su procesamiento postraduccional, localización subcelular y función biológica:

1. pORF2s (79–82 y 84–88 kDa): corresponde a la isoforma de ORF2 que no se asocia al ARN viral, se traduce a partir del codón de inicio completo de ORF2, conservando el péptido señal que dirige la proteína al retículo endoplasmático (RE). En esta vía, pORF2s es procesada y glicosilada antes de ser secretada mediante la ruta convencional (RE–Golgi–exterior celular) (Cancela et al., 2022). Esta forma ha sido identificada tanto en suero de pacientes (Montpellier et al., 2018; Leblond et al., 2025) como en suero de ratón y en sobrenadantes de cultivos celulares (Qi et al., 2015; Chen et al., 2022). Al no incorporarse a partículas virales; en su lugar, actúa como un señuelo inmunológico que interfiere con la neutralización mediada por anticuerpos (Cancela et al., 2022).

2. pORF2c (72–74 kDa): corresponde a la proteína estructural que conforma la cápside de los viriones infecciosos (Chen et al., 2022). Se traduce a partir de un codón de inicio interno, localizado 15 aminoácidos río abajo del inicio de pORF2s, por lo que carece del péptido señal necesario para la translocación al RE. En consecuencia, permanece en el citosol, donde se asocia rápidamente con el ARN genómico del VHE y participa en el ensamblaje de la cápside. Al no atravesar el RE, esta isoforma permanece no glicosilada, lo que se refleja en su peso molecular aproximado de 74 kDa, y constituye la principal forma incorporada en los viriones maduros (Cancela et al., 2022).

Finalmente, ORF3 corresponde al marco de lectura abierto más pequeño del genoma del VHE, con 369 nt de longitud, su transcripción proviene del mismo ARN subgenómico de ~2.2 kb utilizado por ORF2, con el que se sobrepone aproximadamente 300 nt, pero codifica en un marco de lectura distinto (Wang y Meng et al., 2021). ORF3 codifica para una fosfoproteína de 113–115 aminoácidos (~13 kDa), conocida como vioporina 13 (Vp13) (Songtanin et al., 2023). Estructuralmente, presenta dos dominios hidrofóbicos (D) en el extremo N-terminal (D1: aa 7–23 y D2: aa 28–53) y dos regiones ricas en prolina (P) en el extremo C-terminal (P1: aa 66–77 y P2: aa 95–111) (Cancela et al., 2022). Además de su papel esencial en la liberación de viriones, ORF3 actúa como una proteína multifuncional que modula diversas vías de señalización celular como MAPKs (Nan y Zhang, 2016), ERK (Kar-Roy et al., 2004), HIF1 (Moin et al., 2007, 2009) y NF-κB (He et al., 2016) e interactúa con proteínas reguladoras como la hemopexina (Ratra et al., 2008) y STAT3 (Chandra et al., 2008).

Estas interacciones le permiten favorecer la supervivencia de la célula huésped, establecer un entorno propicio para la replicación viral y modular procesos asociados con la inflamación y la respuesta antiviral. En conjunto, las proteínas codificadas por los tres marcos de lectura abiertos del VHE actúan de manera coordinada para asegurar la replicación, el ensamblaje y la liberación de nuevas partículas virales.



**Figura 1. Organización del genoma del VHE.** El genoma del VHE, de 7.2 kb, contiene tres marcos de lectura abiertos principales. ORF1 codifica una poliproteína no estructural que incluye los dominios enzimáticos esenciales para la replicación viral (MeT = metiltransferasa, PCP = proteasa tipo papaína, Hel = helicasa, RdRp = ARN polimerasa dependiente de ARN). Imagen tomada y modificada de Ju et al., (2023)

## 1.5 Ciclo replicativo del VHE

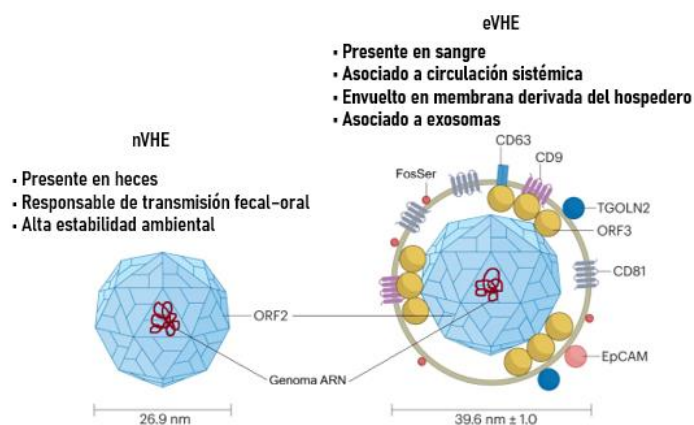
### 1.5.1 Conformaciones del VHE y su relevancia en el ciclo de vida viral

El ciclo replicativo del VHE es un proceso altamente coordinado que depende de la interacción entre las proteínas virales y los componentes de la célula. Si bien, las etapas generales del ciclo replicativo son compartidas, el VHE puede presentarse en dos conformaciones estructurales distintas: una

forma no envuelta o “desnuda” (nVHE) y una forma cuasienvuelta (eVHE) (Shahini et al., 2024) (Figura 2).

La forma nVHE representa la conformación clásica del virus y se ha aislado principalmente en heces de cerdos, así como en heces y bilis de humanos y de monos infectados experimentalmente (Longer et al., 1993; Marion et al., 2020). También se ha detectado en los sobrenadantes de cultivos celulares, aunque con menor frecuencia (Ju et al., 2023). La superficie del nVHE está compuesta exclusivamente por la proteína pORF2, altamente resistente a la inactivación por pH ácido, detergentes, alcoholes y temperaturas elevadas (<65 °C), así como a otras condiciones ambientales adversas (Behrendt et al., 2022). Estas propiedades favorecen su transmisión por vía fecal-oral, al garantizar la supervivencia del virus fuera del hospedador (Shahini et al., 2024).

Por otra parte, la forma eVHE se ha aislado en sangre, tejidos infectados y fluidos extracelulares, tanto en humanos como en modelos animales (Orozco-Córdoba et al., 2023; Shahini et al., 2024). En esta conformación el virión está recubierto por una membrana lipídica que no forma parte de sus componentes estructurales virales, sino que se adquiere durante la liberación de los nuevos viriones. A diferencia de las partículas de nVHE, las partículas de eVHE contiene tanto proteínas pORF2c como pORF3. Sin embargo, ambas están ocultas dentro de las membranas derivadas del hospedero (Ju et al., 2023). Esta envoltura le permite circular en el torrente sanguíneo sin ser reconocido por el sistema inmunitario (He et al., 2023). Debido a ello, la forma eVHE se asocia principalmente con la transmisión a través de derivados sanguíneos o trasplantes de órganos (Janahi et al., 2020). En conjunto, la coexistencia de ambas conformaciones representa una estrategia adaptativa que optimiza la capacidad del virus para replicarse, propagarse y evadir la respuesta inmune, además de determinar los distintos mecanismos de entrada a la célula hospedera.



**Figura 2. Estructuras básicas del VHE.** Comparación entre viriones no envueltos y cuasi-envueltos, se muestran los principales componentes estructurales de cada conformación; en la caracterización de la forma eVHE se han identificado en su superficie moléculas como: EpCAM (molécula de adhesión de células epiteliales), fosfatidilserina (FosSer) y TGOLN2 (proteína integral de membrana de la red trans-Golgi 2), así

como proteínas asociadas a vesículas, principalmente a exosomas, como CD63, CD9 y CD81. Imagen tomada y modificada de Das et al. (2023).

### 1.5.2 Entrada viral y primera etapa de infección del VHE

Se ha propuesto que tras el ingreso del VHE al hospedador por vía oral en su forma nVHE, el virión atraviesa la cavidad bucal y desciende por el tracto gastrointestinal, resistiendo las condiciones gástricas como el pH ácido y la acción de enzimas digestivas gracias a la alta estabilidad conferida por la proteína de la cápside (Zafrullah et al., 2004; Ju et al., 2023). Esta tolerancia a la acidez se ha evaluado experimentalmente por Wolff et al., (2020), quienes demostraron mediante ensayos *in vitro* que el VHE gt3 conserva prácticamente toda su infectividad tras 3 horas de incubación en un rango de pH de 2 a 9, mientras que a pH 1 la infectividad se vuelve indetectable. En conjunto, estos datos sugieren que el nVHE podría alcanzar el intestino delgado sin perder su integridad, lo cual es relevante dado que se ha planteado que la primera etapa de la infección ocurre en el intestino, antes de que los viriones alcancen el hígado u otros órganos para establecer la infección eficiente (Orozco-Córdoba et al., 2023; Ju et al., 2023).

En apoyo a esta hipótesis, en un modelo porcino infectado con VHE, se ha demostrado la presencia tanto de ARN de cadena positiva como de intermediarios de replicación (ARN de cadena negativa) en tejidos del intestino delgado y del colon mediante PCR, lo que sugiere que el virus puede infectar células intestinales e iniciar ahí su primera ronda replicativa (Williams et al., 2001). De manera complementaria, en una paciente sometida a gastroscopia y colonoscopia por diarrea persistente y pérdida de peso, se detectó pORF2 mediante inmunohistoquímica en las criptas intestinales profundas del duodeno e íleon (Marion et al., 2020). Mediante estudios *in vitro*, el VHE también ha mostrado capacidad de replicarse eficientemente en células de adenocarcinoma de colon humano polarizadas (línea Caco-2) (Falkenhagen et al., 2024) y en cultivos primarios de células intestinales humanas (Marion et al., 2020). Estos hallazgos refuerzan la posible participación del epitelio intestinal en las etapas iniciales del ciclo viral; sin embargo, la evidencia sigue siendo inconclusa respecto a si el intestino humano actúa como un sitio principal de replicación.

Independientemente de si el primer sitio replicativo corresponde a un hepatocito o a una célula intestinal aún no identificada, se considera que la forma no envuelta del virus es esencial para establecer la primera ronda de infección (Yin y Feng et al., 2019). Posteriormente, los viriones podrían liberarse en su forma eVHE hacia el torrente sanguíneo portal, desde donde alcanzarían su órgano diana para continuar su ciclo replicativo e iniciar la infección mediante la interacción con sus receptores celulares (Ju et al., 2023) (Figura 3). Una vez que el VHE alcanza un tejido susceptible, el siguiente paso crítico para establecer la infección es el reconocimiento de moléculas de superficie y su entrada a la célula huésped.

### 1.5.3 Reconocimiento de receptores y entrada del VHE a la célula hospedera.

#### 1.5.3.1 Mecanismos de entrada del nVHE

Los mecanismos moleculares mediante los cuales el nVHE reconoce e ingresa a las células no se comprenden completamente, esta limitación se debe principalmente a la falta de sistemas de cultivo eficientes y a la baja producción de partículas infecciosas *in vitro*, como consecuencia, la mayoría de los estudios han empleado partículas similares a virus (VLP) marcadas con fluorescencia para analizar las etapas tempranas de la entrada e identificar posibles receptores y/o correceptores involucrados (Yin y Meng et al., 2019).

En este sentido, se ha propuesto que la proteína de la cápside (pORF2) interactúa inicialmente con proteoglicanos de sulfato de heparán (HSPG) presentes en la superficie celular (Kalia et al., 2009). Esta unión inicial actúa como un mecanismo de anclaje que concentra los viriones en la membrana y favorece su encuentro con un receptor específico aún no caracterizado (Ju et al., 2024). Una vez establecida esta interacción, el virión es internalizado mediante endocitosis dependiente de clatrina y dinamina-2. En el estudio de Yin et al. (2016), el uso de inhibidores químicos de la clatrina (clorpromazina) y de la dinamina-2 (dynasore) se encontró que redujo drásticamente la infección por VHE (60 %), efecto que fue confirmado mediante silenciamiento génico de CLTC (clatrina) y DNM2 (dinamina 2) con siRNA, lo que disminuyó la infección hasta un 95 %. En contraste, la inhibición de rutas alternativas como la endocitosis mediada por caveolas o la macro pinocitosis no afectó la infección, lo que descarta su participación. Esta vía conduce a la internalización del virus dentro de una vesícula endosoma, desde donde procederá a la siguiente etapa de su ciclo infeccioso (Figura 3).

Además diversas moléculas se han propuesto como posibles receptores o factores de unión del nVHE, entre ellos se incluyen: GRP78, una chaperona involucrada en la entrada de otros virus como (SARS-CoV-2), cuyo análisis mostró interacción con un fragmento de la proteína de la cápside de VHE (p239) en VLP (Yu et al., 2011); también el receptor de asialoglicoproteína (ASGPR), una proteína de membrana en la superficie de los hepatocitos, ha mostrado capacidad de unión a VLP del VHE a través de su ectodominio y los anticuerpos dirigidos contra este receptor reducen parcialmente la unión viral. Sin embargo, su eliminación no impide la infección, por lo que se considera un factor de anclaje no esencial (Zhang et al., 2016); la integrina  $\alpha 3$  (ITGA3) ha sido identificada mediante análisis de microarreglos como un posible factor de entrada para el nVHE, en donde su sobreexpresión permitió la infección en células no permisivas y además mostró una interacción directa con la cápside por coprecipitación; no obstante, su escasa expresión en el hígado sugiere que ITGA3 no es el receptor principal (Shiota et al., 2019 y Shahini et al., 2024 ); la subunidad  $\beta$  de la ATP sintasa (ATP5 $\beta$ ), detectada en la superficie celular se asocia a VLP demostrado mediante espectrometría de masas (Ahmed et al., 2016); y la proteína 42 de control de la división celular (CDC42), una GTPasa cuya interacción directa con la pORF2 en VLP de VHE

tanto de origen aviar como de mamífero regula distintas vías de señalización durante la infección (Li et al., 2019 y Fan et al., 2021). A pesar de la evidencia experimental, ninguna de estas moléculas ha sido confirmada como receptor funcional del VHE en condiciones de infección natural. En la actualidad se considera que actúan como factores de anclaje que facilitan la aproximación del virión a la membrana celular, pero no como receptores esenciales para la entrada (Ju et al., 2023).

### **1.5.3.2 Mecanismos de entrada del eVHE.**

A diferencia del nVHE, cuya cápside puede interactuar directamente con moléculas de superficie, el eVHE carece de proteínas virales expuestas y como consecuencia de su cuasienvoltura lipídica adquirida durante la liberación del virus de la célula (Brüggemann et al., 2024). Sin embargo, esta misma característica reduce su capacidad de unirse de manera específica a posibles receptores, al impedir las interacciones directas entre la cápside y las moléculas de superficie propuestas para el nVHE (Brüggemann et al., 2025). Como consecuencia, el eVHE presenta una cinética de unión más lenta y una menor eficiencia infecciosa, requiriendo tiempos de exposición más prolongados para establecer la infección (Yin et al., 2019).

Esta reducción en la infectividad fue demostrada por Yin et al. (2016), quienes compararon la infectividad en ambas conformaciones virales en células HepG2; en este modelo, el nVHE generó aproximadamente 2,000 focos de infección, mientras que el eVHE produjo solo 750, lo que representa una infectividad 2.7 veces menor para la forma cuasienvuelta y para determinar si esta diferencia se debía a una menor adhesión, los autores realizaron ensayos de unión, observando que la unión del eVHE fue diez veces menor que la del nVHE. De manera consistente Behrendt et al., (2022) reportaron que la eliminación experimental de la cuasienvoltura incrementa significativamente la infectividad, confirmando que esta estructura reduce la eficiencia de la unión inicial.

Debido a la ausencia de proteínas virales expuestas en el eVHE, éste debe recurrir a mecanismos alternativos para interactuar con la célula huésped. En este sentido, se ha propuesto que la fosfatidilserina un componente abundante en la cuasienvoltura media el contacto inicial mediante su interacción con el receptor de inmunoglobulina de células T y dominio de mucina 1 (TIM-1) (Yin y Meng et al., 2019, Shahini et al., 2023 y Orozco-Córdoba et al., 2023) (Figura 3). Esta hipótesis cuenta con sustento experimental ya que la sobreexpresión de TIM-1 incrementa la infección por eVHE en células que normalmente no lo expresan, mientras que su silenciamiento lo reduce (Corneillie et al., 2023 y 2024). Por otra parte, una vez unido al receptor, Yin et al. (2016) demostraron que el eVHE utiliza principalmente endocitosis mediada por clatrina y dinamina-2, mostrando una mayor dependencia de estas vías que el nVHE, como lo evidencian su mayor sensibilidad a inhibidores farmacológicos y al silenciamiento génico. Finalmente, la menor especificidad en la unión celular de eVHE podría contribuir tanto a su presencia en tejidos

extrahepáticos (Orozco-Córdoba et al., 2023) así como al desarrollo de manifestaciones clínicas más allá del hígado.

#### **1.5.4. Internalización, tráfico endosomal y desnudamiento del genoma**

##### **1.5.4.1. Internalización y tráfico endosomal del nVHE**

La entrada y el tráfico endosomal del nVHE se han caracterizado mediante inhibidores farmacológicos, microscopía de fluorescencia, silenciamiento génico y el uso de VLP (Yin et al., 2016; Ju et al., 2023). Estos estudios han permitido establecer un modelo en el que el nVHE avanza por rutas endosomales flexibles dependientes de factores celulares específicos hasta liberar su genoma en el citoplasma. Cuando el nVHE es endocitado (vía dependiente de clatrina y dinamina-2) (Holla et al., 2015) da origen al endosoma temprano; para que el ciclo de infección progrese, este endosoma debe desplazarse hacia regiones perinucleares, un transporte que depende fundamentalmente de la maquinaria de la célula hospedera. Se ha propuesto que la chaperona HSP90 cumple un papel esencial en el avance del virión en la ruta endosomal, la evidencia que sustenta esta propuesta se observó en el estudio de Zheng et al. (2010), quienes demostraron la interacción directa de HSP90 con la VLP p239 del VHE por coimmunoprecipitación y observaron, mediante microscopía confocal, que ambas colocalizan durante el tránsito endosomal, adicionalmente observaron que cuando HSP90 se inhibe farmacológicamente, la VLP p239 queda retenida cerca de la membrana, sin avanzar a endosomas tardíos, lo que evidencia su función en el desplazamiento vesicular. Posteriormente en el estudio de Holla et al., (2015) se demostró que el desplazamiento también depende la integridad del citoesqueleto ya que la despolimerización farmacológica de actina o microtúbulos impide el movimiento dirigido y retiene al virus en compartimentos tempranos.

Además, se ha demostrado que durante el tránsito endosomal del virus participan otras proteínas de tráfico, como Rab11, se ha observado que una fracción de los endosomas que contienen al nVHE es desviada hacia la ruta de reciclaje regulada por Rab11, un proceso que depende de la interacción del endosoma viral con la integrina  $\beta 1$  (ITGB1), este desvío hacia reciclaje parece funcionar como un mecanismo que prolonga la vida útil del endosoma y evita su fusión prematura con compartimentos degradativos; cuando ITGB1 es bloqueada o silenciada, los endosomas virales quedan retenidos en compartimentos tempranos, disminuyendo su acceso a la vía de reciclaje, y aumentando su direccionamiento hacia destinos degradativos, reduciendo así la probabilidad de que el virus alcance el compartimento lisosomal adecuado para el desnudamiento (Fu et al., 2023).

El papel de otras GTPasas pequeñas en el tráfico del nVHE continúa siendo objeto de debate, proteínas como Rab5 y Rab7 han mostrado participar en la progresión y maduración endosomal en algunos estudios, mientras que en otros se han asociado principalmente a etapas posteriores (Yin et al., 2016; Holla et al., 2015; Fu et al., 2023). Aunque la ruta de reciclaje constituye un desvío

relevante, otra fracción del nVHE progresa hacia lisosomas positivos para LAMP1, donde finalmente ocurre el desnudamiento. De hecho, la colocalización del ARN viral con LAMP1 aumenta cuando Rab11 es inhibida, indicando que el desvío ocurre cuando el reciclaje falla (Fu et al., 2023).

Respecto al mecanismo de descapsidación, se ha evaluado el papel del entorno ácido lisosomal; sin embargo, este no es esencial para el desnudamiento del nVHE (Zheng et al., 2010; Yin et al., 2016). En cambio, se ha demostrado que este proceso depende de la actividad de catepsinas lisosomales, que degradan la cápside viral, particularmente de la catepsina L (CTSL), cuya inhibición bloquea la liberación del genoma al citoplasma e impide la replicación temprana; esta función ha sido demostrada mediante el uso de inhibidores específicos, ensayos de clivaje *in vitro* y análisis por qRT-PCR (Scarcella et al., 2022; Fu et al., 2023). En conjunto, estos hallazgos indican que el lisosoma LAMP1-positivo constituye el sitio principal donde ocurre el desnudamiento y la liberación del ARN del nVHE, y que el equilibrio entre la vía de reciclaje (Rab11) y la progresión hacia compartimentos degradativos determina el acceso del virus a este entorno crítico para iniciar su ciclo replicativo.

#### **1.5.4.2. Internalización y tráfico endosomal de eVHE**

Una vez formado el endosoma temprano (endocitosis vía clatrina/dinamina-2), el eVHE continúa su tránsito intracelular siguiendo la vía endosomal clásica, transitando desde endosomas tempranos positivos (Rab5+) hacia endosomas tardíos (Rab7+) y finalmente a los lisosomas (LAMP1+) (Fu et al., 2023 y Shahini et al., 2024). Este tránsito depende de la acidificación progresiva del lumen endosomal, un proceso llevado a cabo por la bomba de protones dependiente de ATP, prueba de ello es que al inhibir esta acidificación (con bafilomicina A1 o  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) se bloquea por completo la infección, subrayando su papel esencial, aunque no único, en la degradación de la membrana lipídica (Yin et al., 2016).

También se ha sugerido que la cuasienvoltura del eVHE contiene una señal de direccionamiento lisosomal, lo que justificaría un tráfico intracelular distinto al de las vesículas extracelulares no virales (Yin y Feng, 2019 y Rivera-Serrano et al., 2019). Sin embargo, la etapa clave ocurre en los lisosomas, donde enzimas como la lipasa ácida lisosomal (LAL) y el transportador Niemann-PickC1 (NPC1) cuya actividad es crucial para remodelar los lípidos y degradar la envoltura lipídica (Ying et al., 2016). La eliminación de la envoltura lipídica es una etapa distintiva del eHEV, de la cual el virión desnudo (nHEV) carece. Tras este paso, el eHEV se convierte en una partícula desnuda y, a partir de ese momento, sigue la misma vía de descapsidación que el nHEV para liberar el material genético al citoplasma y proceder a la replicación del VHE (Brüggemann et al., 2025).

#### **1.5.5. Replicación y síntesis de proteínas virales**

Tras la descapsidación, tanto de partículas nVHE como de aquellas derivadas del eVHE, el genoma viral queda expuesto en el citoplasma de la célula hospedera. Este ARN genómico de sentido

positivo posee una caperuza de 7-metilguanosa ( $m^7G$ ) en el extremo 5' y una cola poliadenilada en el extremo 3', características que le permiten comportarse funcionalmente como un ARNm celular y ser reconocido directamente por los ribosomas del hospedero (Zhang et al., 2001). Durante esta primera ronda de traducción se sintetiza una poliproteína no estructural codificada por el marco de lectura abierto ORF1, la cual contiene todos los dominios enzimáticos necesarios para el establecimiento del complejo replicativo viral, incluyendo la ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) (Shahini et al., 2024). Una vez activa, la RdRp utiliza el genoma viral de sentido positivo como molde para la síntesis de un intermediario replicativo de longitud completa y sentido negativo, aunque este ARN de sentido negativo se produce en cantidades limitadas, constituye el molde central para la generación de dos transcritos de sentido positivo: 1) un genoma viral de longitud completa, destinado a ser empaquetado en los viriones de nueva generación, y 2) un ARN subgenómico más corto, a partir del cual se traducen las proteínas estructurales pORF2 y la proteína accesoria pORF3 (LeDesma et al., 2024).

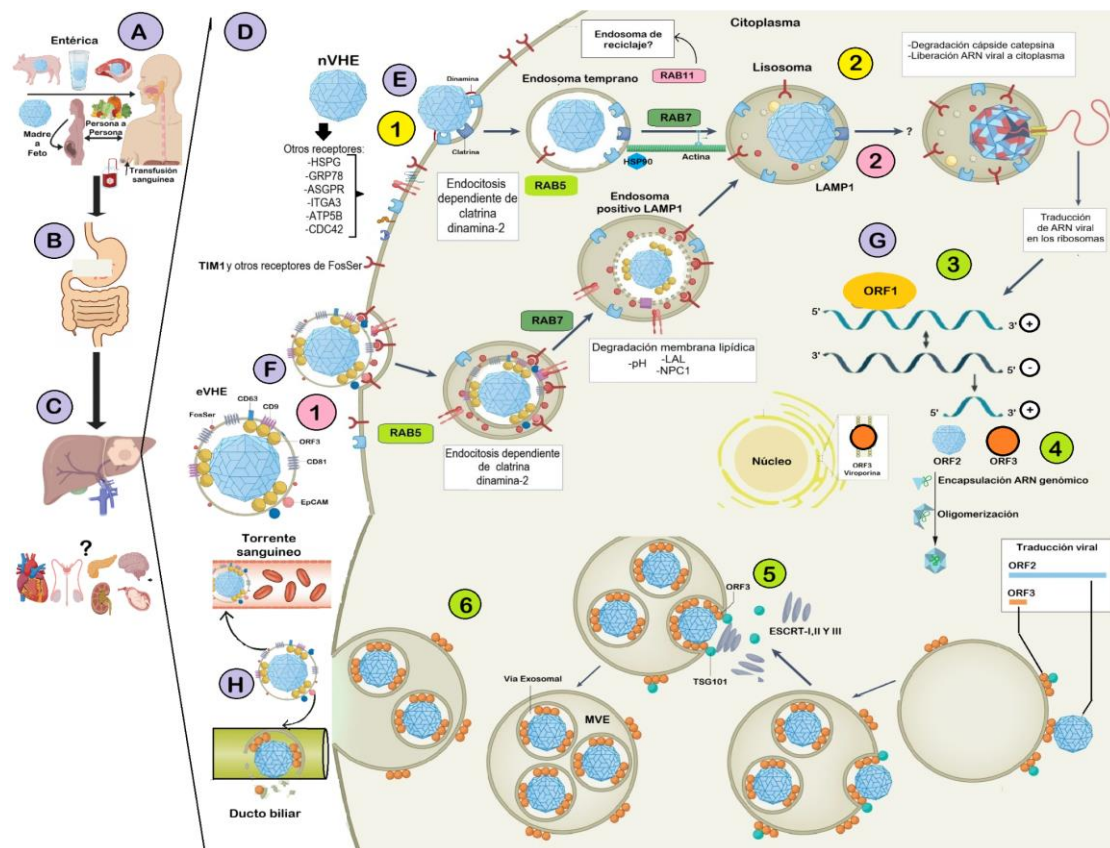
#### **1.5.6. Ensamblaje de las partículas progenie y liberación**

Una vez finalizada la replicación del genoma en el citoplasma, comienza el ensamblaje de las partículas virales progenitoras. En este proceso, las proteínas de la cápside codificadas por ORF2, derivadas del transcrito subgenómico, reconocen y encapsulan de forma selectiva el ARN genómico recién sintetizado. Durante el ensamblaje se generan varias isoformas de pORF2, siendo la pORF2c la que conforma la cápside infecciosa y da origen a los nuevos viriones (Brüggemann et al., 2025). Paralelamente, se activa el programa de liberación viral, un proceso que depende de la proteína pORF3. Estudios en la línea celular HepG2/C3A han demostrado que pORF3 es una proteína transmembranal localizada en el RE, con capacidad de formar complejos multi-méricos (Ding et al., 2017). En su forma multímero, pORF3 utiliza su motivo PSAP (prolina-serina-alanina-prolina) como señal de reclutamiento para interactuar con el gen de susceptibilidad tumoral 101 (TSG101), un componente central del complejo de clasificación endosómica I (ESCRT-I); esta interacción desencadena el reclutamiento secuencial de los complejos ESCRT-II y ESCRT-III (Yin y Feng, 2019; Lin et al., 2021), usurpando así la maquinaria celular de los cuerpos multivesiculares (MVB); como consecuencia, se dirige la gemación de la cápside hacia el lumen de los MVB, generando vesículas intraluminales que contienen tanto la cápside pORF2c como la propia pORF3 (Nagashima et al., 2011). Posteriormente, la fusión de los MVB con la membrana plasmática del hospedero libera las partículas individuales de VHE recubiertas por una membrana lipídica (Nagashima et al., 2014).

En los hepatocitos polarizados, esta liberación sigue dos rutas distintas: 1) La vía basolateral, dirigida hacia los sinusoides hepáticos, donde permite que el eVHE acceda al torrente sanguíneo, desde donde se plantea que podría llegar a otros tejidos y conllevar al desarrollo de manifestaciones extrahepáticas (Brüggemann et al., 2025) y 2) la vía apical, orientada hacia los canalículos biliares,

donde se expone al eVHE a la acción de los sales biliares removiendo la cuasienvoltura, generando el virus nVHE que es excretado finalmente por vía fecal (Ju et al., 2019).

De acuerdo con su origen endosómico y con la caracterización de eVHE en el estudio de Nagashima et al., (2017), estas partículas exhiben en su superficie tetraspaninas como CD63, CD81 y CD9, marcadores característicos de los exosomas. Si bien, se ha sugerido que proteínas del huésped pueden empaquetarse durante la biogénesis del VHE, su identidad y función permanecen poco caracterizadas (Yin y Feng et al., 2019). Estudios proteómicos realizados con el virus de hepatitis A cuasienvuelto (eVHA), que comparte un mecanismo de liberación similar al del VHE, revelan un enriquecimiento en proteínas endolisosomales (como CD9, DPP4, ALIX y EPCAM) y la ausencia de proteínas relacionadas con autofagia (como LC3), lo que refuerza el origen exosomal de estas partículas (McKnight et al., 2017; Yin y Feng, 2019). Por lo tanto, abordajes comparables podrían emplearse para caracterizar de manera efectiva la carga proteica del VHE. La dinámica de liberación y distribución del VHE, particularmente la circulación sistémica del eVHE y su capacidad de evadir el reconocimiento inmunológico, establece las condiciones que permiten la diseminación viral y la interacción con diversos tejidos. Estas características tienen consecuencias directas en la progresión de la infección, la variabilidad en la respuesta del hospedero y la aparición de cuadros clínicos heterogéneos. Por ello, a continuación, se examinan los principales determinantes de la patogénesis del VHE y los elementos que definen su historia natural.



**Figura 3. Ciclo de vida del VHE.** (A) El VHE puede transmitirse por diversas rutas, siendo la vía entérica la principal. (B) Tras ingresar al hospedero, el virus resiste el pH gástrico y alcanza el intestino, donde ocurre

una primera ronda de replicación. (C) Desde el intestino, partículas cuasi-envueltas (eVHE) acceden al torrente sanguíneo portal y se dirigen al hígado para infectar hepatocitos; adicionalmente, se ha propuesto que puedan alcanzar otros tejidos. (D) En la célula diana ocurre la entrada viral, la cual difiere según la conformación del virión. (E) Las partículas no envueltas (nVHE) se unen a receptores específicos o factores de anclaje celular y son internalizadas mediante endocitosis dependiente de clatrina, dinamina-2 y colesterol, siguiendo la vía endosomal clásica o, potencialmente, la ruta de reciclaje, hasta alcanzar compartimentos donde la descapsidación es facilitada por catepsinas. (F) Las partículas cuasi-envueltas (eVHE), carentes de proteínas virales expuestas, pero con fosfatidilserina en su superficie, interactúan presumiblemente con TIM-1 y son internalizadas mediante mecanismos dependientes de clatrina y dinamina-2. Su desmantelamiento ocurre a través de la vía endosomal clásica ( $Rab5^+ \rightarrow Rab7^+$ ), dependiente de la acidificación, lo que permite la eliminación de la envoltura cuasi-lipídica con la participación de NPC1 y da lugar a partículas funcionalmente equivalentes al nVHE. (G) Una vez liberado el genoma viral en el citoplasma, este es traducido directamente por los ribosomas de la célula hospedera y se sintetiza un intermediario de ARN de sentido negativo, que sirve como molde para la producción de transcritos subgenómicos y genomas virales de longitud completa. Posteriormente ocurre la encapsidación de las nuevas partículas virales, las cuales interactúan con ORF3, TSG101 y la maquinaria ESCRT para su empaquetamiento en cuerpos multivesiculares (MVB). (H) Finalmente, cuando el eVHE se libera por el dominio basolateral de los hepatocitos, ingresa a la circulación y puede alcanzar órganos extrahepáticos. En contraste, la liberación por el dominio apical conduce a su ingreso al conducto biliar, donde las sales biliares eliminan la cuasi-envoltura y generan partículas nVHE que son excretadas en las heces. Imágenes tomadas y modificadas de Orozco-Córdoba et al. (2023), Das et al. (2023) y Ju et al. (2023).

## **1.6 Patogénesis e Historia natural de la infección por VHE**

La patogenicidad se define como la capacidad de un agente, como un microorganismo o un virus, para causar enfermedad y la severidad de sus manifestaciones clínicas (UNC, 2023). En el caso del VHE, este concepto adquiere particular relevancia ya que se trata de un virus no citopático, por lo que su patogenicidad se explica por un mecanismo distinto (Kamar et al., 2012 y Dalton et al., 2018). En consecuencia, el daño tisular no se debe a la destrucción directa de las células por la replicación viral sino a la respuesta inmunitaria citotóxica dirigida contra las células infectadas, lo cual desencadena la inflamación característica de la hepatitis (Nimngaonkar et al., 2017 y Horvatits et al., 2019). Bajo este marco, el VHE es capaz de producir tanto infecciones agudas como crónicas, con un amplio espectro clínico que va desde infecciones agudas asintomáticas (que representan aproximadamente el 95 % de los casos), hasta hepatitis aguda sintomática y en poblaciones específicas, progresión hacia cronicidad (Thakur et al., 2020).

Es importante destacar que en toda persona infectada por este virus se desarrolla una fase aguda, cuyo desenlace depende en gran medida del estado inmunitario. En individuos inmunocompetentes, la hepatitis E suele resolverse sin necesidad de tratamiento, mientras que en personas inmunosuprimidas puede evolucionar hacia una infección crónica (Wu et al., 2020 y Brüggemann et

al., 2024). Entre aquellos individuos que desarrollan síntomas, estos pueden dividirse en dos categorías: 1) Síntomas inespecíficos que incluyen malestar general, anorexia, náuseas, dolor abdominal, fiebre, artralgias, prurito y exantema, los cuales son indistinguibles de los producidos por otras infecciones virales (Aslan y Balaban, 2020 y OMS, 2025) y 2) Síntomas de hepatitis icterica, cuadro que se desarrolla entre el 5–30 % de los pacientes (Brüggemann et al., 2025). La evolución de la infección se divide en fases, siendo la más característica la fase icterica; en esta etapa, el signo principal es la ictericia (coloración amarillenta de piel y esclerótica) causada por un aumento de bilirrubina sérica, generalmente por encima de 0.3-5 mg/dl (Bajaj, et al., 2022). A este signo se suman otros hallazgos como coluria (orina oscura), acolia (heces pálidas), hepatomegalia y dolor abdominal en el hipocondrio derecho (OMS, 2025).

En la química sanguínea, se observa una elevación marcada de las enzimas hepáticas, particularmente de alanina aminotransferasa (ALT), cuyos valores normales oscilan entre 7 y 55 UI/L (Mayo Clinic, 2025), pudiendo alcanzar niveles de 1000 a 3000 UI/L (Larrue et al., 2020), sin embargo, el rango puede variar, siendo en algunos casos la elevación más modesta o incluso normal durante la viremia (Horvatits et al., 2019). También se detecta incremento de aspartato aminotransferasa (AST) y en menor grado de fosfatasa alcalina (Kamar et al., 2012). Finalmente, tiene lugar la fase convaleciente, que conduce a la resolución del cuadro clínico (Figura 4a).

Pese a que la mayoría de las infecciones por VHE son autolimitadas, existen poblaciones con mayor riesgo de evolucionar hacia formas graves como insuficiencia hepática aguda (IHA) e insuficiencia hepática aguda sobre crónica (ACLF, por sus siglas en inglés *acute-on-chronic liver failure*). Estos cuadros severos se asocian fundamentalmente a los gt1 y gt2 del VHE, que causan hepatitis aguda (Kamar et al., 2012). En este sentido, los pacientes con enfermedad hepática crónica preexistente constituyen un grupo vulnerable; en ellos, la infección aguda por VHE actúa como un potente desencadenante que precipita un deterioro hepático acelerado, esto no es una IHA de novo, sino una progresión a ACLF, entidad distinta caracterizada por complicaciones agudas como ascitis, encefalopatía hepática y coagulopatía (Ramachandran et al., 2004; Kumar et al., 2007; Shalimar et al., 2017 y Dalton et al., 2018).

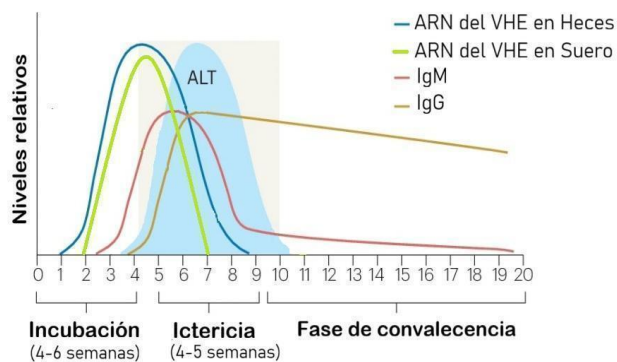
En el estudio de Kumar et al. (2013) reportaron que la infección por VHE conlleva al desarrollo ACLF e incrementa el riesgo de muerte hasta 70 %. Además, en un estudio en India con 368 pacientes con ACLF, Shalimar et al. (2017) encontraron una incidencia del 12 % de infección por VHE. Otro grupo de riesgo lo constituyen las mujeres embarazadas, especialmente durante el último trimestre del embarazo, donde la infección por gt1 se asocia con tasas de mortalidad materna de 25–30 % así como con complicaciones como preeclampsia, hemorragias obstétricas e IHA, además de muerte fetal, aborto y parto prematuro (Navaneethan et al., 2008; OMS, 2025). Aunque los mecanismos exactos no se comprenden por completo, se han implicado factores hormonales,

inmunológicos y genéticos; además, se ha demostrado que el VHE puede replicarse en células de la placenta humana, lo cual podría contribuir a los desenlaces fatales. Recientemente, se ha sugerido que la infección por gt4 puede asociarse también con aborto y parto prematuro (Li et al., 2018).

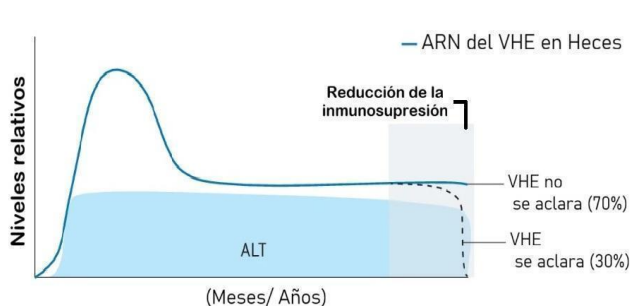
Finalmente, aunque la infección por VHE es predominantemente aguda, en personas inmunosuprimidas puede progresar a cronicidad (Figura 4b). La infección crónica se define por la persistencia del ARN viral durante al menos 3 meses, criterio ampliamente aceptado en receptores de trasplantes de órganos sólidos, quienes representan el grupo con mayor riesgo de cronificación (Kamar et al., 2008, Kamar et al., 2011 y Sánchez et al., 2022). Otros grupos vulnerables incluyen pacientes con infección por VIH (Dalton et al., 2007), personas con enfermedades reumatológicas o hematológicas bajo tratamiento inmunosupresor (Di et al., 2020), receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas (Aslan et al., 2020) y pacientes con cáncer que reciben quimioterapia y/o inmunoterapia (Von et al., 2019).

El desarrollo de cronicidad se ha descrito casi exclusivamente para los gt3 y gt4 (Brüggemann et al., 2024), con único caso de infección crónica por el gt7, una cepa de camello de VHE, en un paciente trasplantado de hígado procedente de los Emiratos Árabes Unidos (Lee et al., 2016). Desde el punto de vista histopatológico, la infección crónica por VHE se asocia con una progresión acelerada hacia fibrosis que puede conducir a cirrosis en un periodo aproximado de 2 a 5 años (Kamar et al., 2014; Dalton et al., 2018; Wu et al., 2020), un curso notablemente más rápido que el observado en las hepatitis B o C (~20 años), lo que subraya la importancia del diagnóstico y tratamiento oportunos en poblaciones inmunosuprimidas (Poynard et al., 1997; Fattovich et al., 2008; McMahon, 2009). Además, dado que las infecciones crónicas por hepatitis B o C son los principales virus asociados al desarrollo de carcinoma hepatocelular (CHC), es prudente cuestionar si la hepatitis E crónica también puede conducir al desarrollo de CHC. Existe un caso documentado de un paciente inmunodeprimido con desarrollo de CHC tras 8 años de infección crónica por VHE sin otras patologías importantes asociadas (Borentain et al., 2018). Debido al número limitado de casos notificados, debe vigilarse de cerca si el VHE se une a los virus de la hepatitis B y C como posible agente causante del CHC en pacientes con infección crónica.

a) Infección aguda VHE (Paciente inmunocompetente)



b) Infección crónica VHE (ARN ( $\pm$  anti-VHE)  $\geq$  3 meses)



**Figura 4. Historia natural de la infección por VHE.** Dinámica temporal de los marcadores virológicos, serológicos y bioquímicos durante el curso de la infección. **a)** Infección aguda, *Fase de incubación* (semanas 4-6): El ARN viral aparece primero en heces desde la semana 1 y en suero desde la semana 2; la eliminación fecal persiste ~2 semanas más tras su desaparición en suero. Durante esta fase suele observarse el ascenso inicial de ALT, aunque sin síntomas clínicos. *Fase ictericia* (semanas 4-5): Coincide con el inicio de los síntomas, dentro de un periodo de incubación de 4–6 semanas. Se observa un aumento de ALT, bilirrubina y la aparición de anticuerpos IgM anti-VHE, seguida de IgG anti-VHE, junto con una disminución progresiva de la carga viral, consistente con la naturaleza no citopática del VHE. *Fase de recuperación*: Los niveles de ALT y bilirrubina regresan a valores normales, mientras que IgG persiste como marcador de inmunidad. **b)** Infección crónica: Se presenta en pacientes inmunocomprometidos o receptores de trasplantes bajo inmunosupresión. El virus persiste por >3 meses, con ARN detectable en suero y heces. Cerca del 30% no desarrolla IgG por agotamiento de la respuesta humoral. Solo ~30% aclara la infección tras reducir la inmunosupresión; el ~70% restante requiere tratamiento antiviral adicional. Imagen tomada y modificada de Brüggemann et al., (2024).

## 1.7 Diagnóstico de hepatitis E

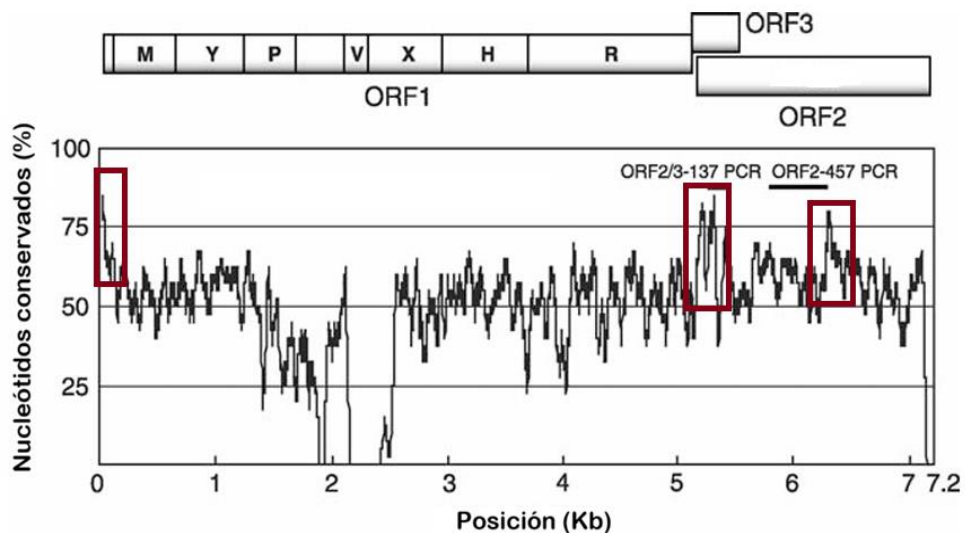
El diagnóstico de la infección por el VHE es fundamental tanto para el manejo clínico del paciente como para la vigilancia epidemiológica. Las estrategias diagnósticas disponibles incluyen: 1) métodos indirectos, basados en la detección de la respuesta inmunitaria del huésped (anticuerpos) y 2) métodos directos, orientados a la identificación del virus o de sus componentes mediante RT-PCR (antígenos) (Kamar et al., 2012).

Los métodos indirectos se basan en la detección de anticuerpos específicos contra el VHE mediante ensayos ELISA para la identificación de anticuerpos IgM e IgG anti-VHE, y constituyen la herramienta diagnóstica más utilizada en la práctica clínica debido a su rapidez, simplicidad y accesibilidad (Hollande et al., 2021). La presencia de anticuerpos IgM anti-VHE se asocia con una infección reciente y suele coincidir con la aparición de los síntomas, por lo que es indicativa de infección aguda; en contraste, los anticuerpos IgG anti-VHE aparecen de manera posterior y pueden persistir en el torrente sanguíneo durante varios años, sirviendo como marcador de una exposición previa al virus (Fierro et al., 2023; Hollande et al., 2021). No obstante, sus concentraciones séricas

tienden a disminuir progresivamente con el tiempo, lo que puede limitar la sensibilidad y fiabilidad de los ensayos serológicos basados en su detección, particularmente para la identificación de infecciones pasadas (Aslan et al., 2020).

Por su parte, en los métodos directos, el estándar de oro para el diagnóstico de la infección por VHE es la detección del ARN viral mediante PCR (EASL, 2018). Esta técnica puede aplicarse a muestras de suero, heces, tejido hepático, bilis u otras secreciones biliares, y permite confirmar tanto infecciones agudas como crónicas (Thakur et al., 2020). Definiendo a esta última como la persistencia del ARN viral detectable durante un periodo igual o superior a tres meses (Kamar et al., 2012, EASL, 2018 y Aslan et al., 2020). Además, es importante mencionar que el uso de PCR es especialmente relevante en pacientes inmunosuprimidos, quienes pueden no desarrollar una respuesta serológica detectable; en estos casos, la cuantificación de la carga viral resulta clave, ya que permite monitorizar la respuesta al manejo terapéutico, incluyendo la reducción de la inmunosupresión o el tratamiento antiviral, así como vigilar la aparición de posibles re-infecciones (EASL, 2018).

No obstante, la ventana de detección del ARN viral es limitada. En sangre, el ARN del VHE suele ser detectable durante el periodo de incubación y en las fases clínicas tempranas de la infección, volviéndose indetectable aproximadamente tres semanas después del inicio de los síntomas. Sin embargo, en muestras fecales el ARN viral puede persistir hasta dos semanas más (Wallace et al., 2019). Adicionalmente, la elevada variabilidad genética del VHE, junto con su alta tasa de mutación, representa un desafío para la estandarización de los ensayos de diagnóstico molecular. Inoue et al. (2006), mediante el análisis comparativo de genomas completos de diferentes genotipos del VHE, identificaron tres regiones altamente conservadas (con más del 75 % de conservación nucleotídica), localizadas en la región 5' de ORF1, en la región de solapamiento ORF2/ORF3 y dentro de ORF2 (Figura 5). La identificación de estas regiones ha permitido el diseño de oligonucleótidos específicos, haciendo viable y confiable la detección molecular del virus, siendo la región de solapamiento ORF2/ORF3 una de las más ampliamente aceptadas como diana diagnóstica en ensayos de RT-PCR (EASL, 2018 y Aslan et al., 2020).



**Figura 5. Regiones conservadas dentro del genoma del VHE.** Identificadas mediante el análisis comparativo de genomas completos de siete genotipos; las tres regiones conservadas, marcadas con recuadros rojos, son utilizadas como dianas para el diseño de oligonucleótidos empleados en el diagnóstico molecular y el análisis de secuencias del virus. Imagen tomada y modificada de Inoue et al., (2006).

De manera complementaria, la detección del antígeno del VHE en suero, mediante inmunoensayos enzimáticos ha emergido como una alternativa diagnóstica ya que aporta información sobre el estado de la infección, lo que la convierte en una herramienta diagnóstica emergente de interés que sigue en evaluación (Zhao et al., 2015 y Behrendt et al., 2016). Además, en casos seleccionados la inmunohistoquímica dirigida contra la proteína pORF2 del VHE puede emplearse para establecer un diagnóstico histopatológico de hepatitis E, particularmente cuando se dispone de biopsia hepática.

Un aspecto crítico en el diagnóstico de la hepatitis E es su diagnóstico diferencial, especialmente frente a la lesión hepática inducida por fármacos (DILI) y la hepatitis autoinmune (Davern et al., 2011). Estudios de cohorte han demostrado que una proporción significativa de casos inicialmente diagnosticados como DILI corresponden en realidad a hepatitis E aguda (Dalton et al., 2007). En concordancia con estas observaciones, la Asociación Europea para el Estudio del Hígado (EASL, 2018) recomienda el uso combinado de pruebas serológicas y técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de la infección por VHE, así como el empleo de detección de antígeno como método de elección para el diagnóstico de la hepatitis E. Asimismo, se establece que todos los pacientes con hepatitis, así como aquellos con sospecha de DILI, deben ser evaluados para VHE como parte del abordaje inicial. Finalmente, la falta de estandarización de los ensayos diagnósticos para el VHE sigue siendo un reto clínico importante. En este contexto, el estudio de componentes inmunitarios surge como una estrategia complementaria prometedora, con potencial como biomarcador tanto diagnóstico como pronóstico. La integración de sus perfiles con los métodos actuales podría mejorar no solo la precisión diagnóstica, sino también nuestra

---

## CAPÍTULO 2: RESPUESTA INMUNE FRENTE A LA INFECCIÓN CON EL VHE

El curso clínico de la infección por el VHE depende en gran medida de la respuesta inmunitaria del hospedero, la cual es determinante tanto para el control de la replicación viral como para el desarrollo de la patología asociada. En este contexto, la inmunidad innata y adaptativa desempeñan roles complementarios en la eliminación del virus y en la modulación del daño tisular.

### 2.1 Inmunidad innata frente a la infección con el VHE

La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa del hospedero frente a cualquier infección y se caracteriza por activarse de forma rápida mediante mecanismos de reconocimiento poco específicos. Tras la entrada del VHE a la célula, el ARN y los intermediarios generados durante su replicación son identificados como factores extraños, mediante sensores celulares capaces de reconocer patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) (Akira et al., 2006; Feng & Lemon, 2019). Este reconocimiento ocurre a través de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), cuya activación desencadena cascadas de señalización intracelular que inducen la producción de mediadores antivirales e inflamatorios y facilitan posteriormente la activación de la inmunidad adaptativa (Walker, 2019). En los hepatocitos, principales células blanco del VHE, se ha encontrado que expresan diversos PRR, entre ellos receptores tipo Toll (TLR) localizados tanto en la membrana plasmática como en compartimentos endosomales, también se ha descrito sensores citosólicos de ARN viral como el gen inducible por ácido retinoico (RIG-I) (Li et al., 2005; Todt et al., 2020). La activación de estos receptores promueve el reclutamiento de proteínas, lo que conduce a la activación de factores de transcripción como NF- $\kappa$ B, AP-1 e IRF, favoreciendo la expresión de citocinas proinflamatorias y mediadores antivirales (Lee & Kim, 2007; Choi et al., 2019) (Figura 6).

Estudios *in vitro* han demostrado la participación de TLR2, TLR3 y TLR4 en la detección de componentes del VHE, identificando a TLR3 como uno de los sensores más relevantes en la participación para reconocer intermediarios replicativos del VHE (Devhare et al., 2013; Devhare et al., 2016). En este sentido, se ha observado que en pacientes con infección aguda hay un incremento en la expresión de TLR3, en células mononucleares periféricas (Majumdar et al., 2015). Asimismo, alteraciones en la expresión de TLR3 y TLR7 en monocitos y macrófagos se han asociado con mayor gravedad clínica, particularmente en mujeres embarazadas con falla hepática aguda asociada a VHE (Sehgal et al., 2015). De forma similar, un polimorfismo TLR4 (T399I) se ha vinculado con una menor capacidad de activación inmune y mayor susceptibilidad a la infección por VHE (Arya et al., 2018). Además de los TLR, los sensores citosólicos como RIG-I, MDA5 y la proteína adaptadora MAVS desempeñan un papel central en la activación de respuesta mediada por interferones (Xu et al., 2017; Wang et al., 2018; Li et al., 2020). Esto se comprobó ya que su

inhibición experimental reducía la producción de interferones tipo III inducidos por VHE, mientras que su sobreexpresión limitaba la replicación viral (Xu et al., 2017; Yin et al., 2017; Li et al., 2020).

También se ha propuesto que las regiones ricas en uracilo del extremo 3' del genoma del VHE actúan como potentes activadores de RIG-I y que diferencias en las secuencia (genotípicas) del virus modulan la intensidad de la respuesta de tipo interferón (Sooryanarain et al., 2020; Uzri & Gehrke, 2009; Saito et al., 2008). En este sentido la activación de estos sensores converge en vías de señalización comunes que involucran quinasas como TBK1 y el complejo IKK, promoviendo la activación nuclear de IRF-3, IRF-7 y NF- $\kappa$ B y culminando en la producción de interferones y quimiocinas como CXCL9, CXCL10 y CXCL11 (Wang et al., 2018; Devhare et al., 2018). Estas moléculas favorecen el reclutamiento de células inmunitarias al sitio de infección, por lo que la medición de citocinas circulantes constituye una aproximación indirecta para estimar la magnitud y características de la respuesta inflamatoria local. Entonces es importante mencionar que el VHE induce predominantemente una respuesta mediada por interferones, la cual ha sido detectada tanto *in vivo* como *in vitro*; durante la infección se ha observado la activación de STAT1 e inducción de genes estimulados por interferón (ISG), especialmente en casos de infección crónica (Wang et al., 2018; Moal et al., 2013). En hepatocitos y enterocitos predominan interferones tipo III, cuyos niveles aumentan durante la infección aguda (Yin et al., 2017; Marion et al., 2020; Murata et al., 2020; Gouilly et al., 2018). Sin embargo, la magnitud y duración de esta respuesta varían según el genotipo viral y el tejido infectado, lo cual podría contribuir a los diferentes desenlaces clínicos observados entre gt, aunque los mecanismos implicados aún no se comprenden completamente (Choi et al., 2018; Sooryanarain et al., 2020; Devhare et al., 2013; Sayed et al., 2017; Yu et al., 2010; Gouilly et al., 2018; Purcell et al., 2013).

Paralelamente, la infección se acompaña de la producción de citocinas inflamatorias y reguladoras que contribuyen al control viral, pero que también pueden participar en el daño tisular cuando su regulación se altera (Hu et al., 2021). Niveles elevados de IFN $\gamma$ , TNF, IL-10 e IL-18 se han vinculado con insuficiencia hepática y desenlaces adversos durante el embarazo (Saravanabalaji et al., 2009; Kumar et al., 2014; Pal et al., 2005). De forma consistente, la inhibición farmacológica de TNF o de la vía JAK–STAT incrementa la susceptibilidad a la infección (Behrendt et al., 2017; Kinast et al., 2023), mientras que ciertos polimorfismos en regiones promotoras de TNF se han asociado con mayor severidad clínica (Mishra & Arankalle, 2011; Devi et al., 2014).

## **2.2 Mecanismos de evasión de la inmunidad innata por el VHE**

El VHE posee la capacidad de modular la respuesta de tipo interferón del hospedero. A diferencia de otros virus hepatotrópicos como VHA y VHC, el VHE no degrada directamente proteínas clave de la vía antiviral, lo que permite cierta inducción persistente de interferones tipo III, pero limita la eficacia de la respuesta mediada por interferones tipo I, particularmente IFN $\alpha$ . Este fenómeno ha sido observado en modelos experimentales donde la inducción global de ISG resulta relativamente

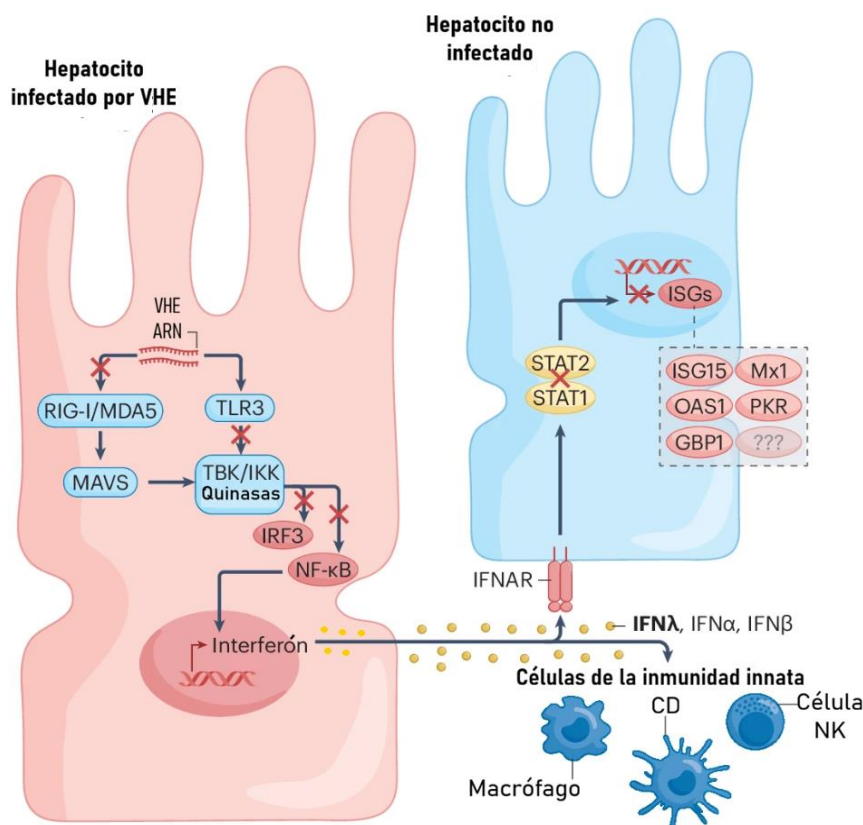
moderada (Yin et al., 2017; Choi et al., 2018; Marion et al., 2020). Es así que diversas proteínas virales contribuyen a esta modulación. Proteínas derivadas de ORF1, particularmente los dominios X y PCP, pueden inhibir la respuesta antiviral bloqueando la ubiquitinación de RIG-I, TBK1 y la fosforilación de IRF3 (Nan et al., 2014; Bagdassarian et al., 2018). Por su parte, la proteína pORF3 interfiere con la fosforilación de STAT1 inducida por IFN $\alpha$  y reduce la expresión de genes estimulados por interferón (Dong et al., 2012). También pORF3 inhibe la señalización inflamatoria mediada por NF- $\kappa$ B y afecta las vías JAK–STAT y JNK–MAPK, disminuyendo la producción de citocinas inflamatorias (Lei et al., 2016; Lei et al., 2018; Él et al., 2016). Por su parte, la proteína de la cápside pORF2 ha mostrado capacidad para antagonizar la señalización antiviral al interferir con la activación de NF- $\kappa$ B y bloquear la activación de IRF3 dependiente de TBK1 (Surjit et al., 2012; Tian et al., 2017; Lin et al., 2019). Sin embargo, gran parte de esta evidencia proviene de sistemas de sobreexpresión, por lo que su relevancia durante la infección natural aún requiere confirmación experimental (LeDesma et al., 2023).

### **2.3 Células inmunitarias innatas durante la infección por VHE**

La respuesta innata contra el VHE involucra la activación de diversas poblaciones celulares, incluyendo macrófagos, células dendríticas y células asesinas naturales (NK) (Bruggeman et al., 2024). Los macrófagos hepáticos reconocen al virus mediante PRR como RIG-I y TLR, lo que puede activar el inflammasoma NLRP3 y promover la producción de IL-1 $\beta$ , contribuyendo al ambiente inflamatorio hepático (Li et al., 2022; Ju & Tacke, 2016; Martinon et al., 2009). Las células NK, que representan una población abundante en el hígado, desempeña un papel importante en la fase temprana mediante citotoxicidad y secreción de citocinas antivirales (Björkström et al., 2022; Caligiuri, 2008; Rehermann, 2015).

Además, durante la infección aguda se observa una disminución de NK en sangre periférica, lo que sugiere su migración hacia el hígado (Srivastava et al., 2008 y Das & Tripathy, 2014). Esta redistribución se acompaña de un aumento de marcadores de activación y liberación de granzima B en tejido hepático, cambios que suelen revertirse durante la recuperación clínica (Prabhu et al., 2011; Srivastava et al., 2008).

En este contexto, la producción diferencial de citocinas proinflamatorias y reguladoras no solo refleja la activación antiviral, sino que podría contribuir también al daño en órganos extrahepáticos, particularmente en riñón, donde estas moléculas pueden modular el reclutamiento celular y la inflamación local.

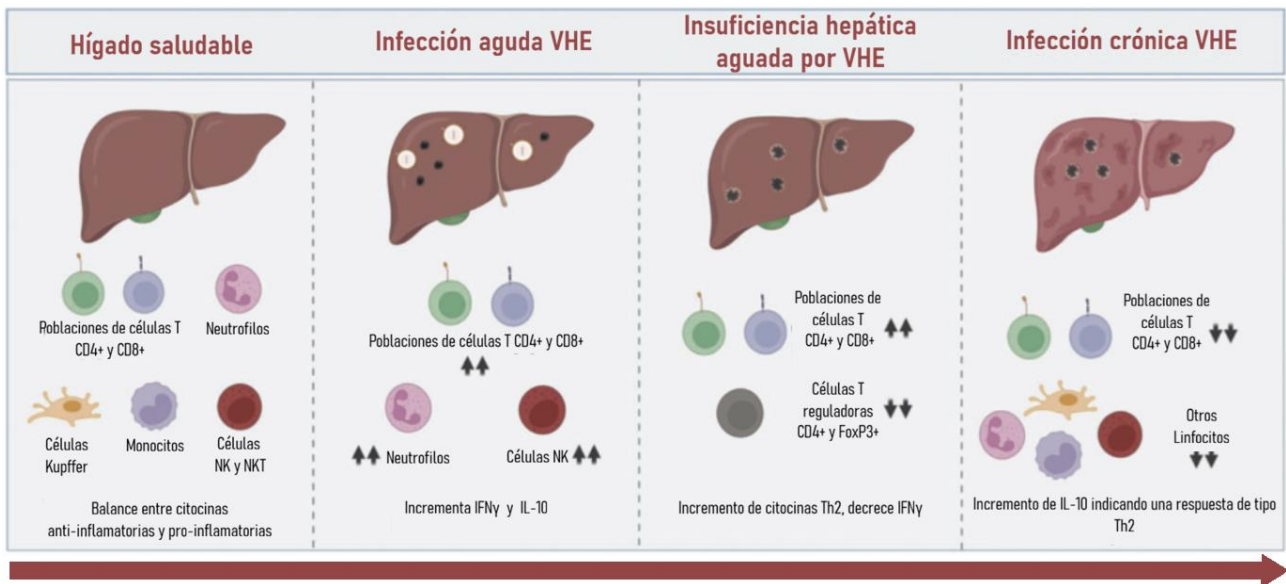


**Figura 6. Reconocimiento del VHE por la inmunidad innata y activación de la respuesta mediada por interferón.** El ARN genómico del VHE y sus intermediarios de replicación son reconocidos en el citoplasma celular por los sensores RIG-I y MDA5, así como en compartimentos endosomales por el receptor tipo Toll 3 (TLR3). La activación de estos receptores desencadena cascadas de señalización intracelular que involucran quinasas como el complejo IKK y TBK1, conduciendo a la activación de factores de transcripción clave, entre ellos NF- $\kappa$ B e IRF3. Como resultado, se induce la producción de interferones tipo I y tipo III, los cuales, tras su liberación, activan la señalización JAK-STAT de manera autocrina y paracrina, promoviendo la expresión de genes estimulados por interferón (ISG) con funciones antivirales y moduladoras de la respuesta inmune. El HEV es capaz de interferir en múltiples etapas de esta respuesta innata (indicadas como señales de inhibición), afectando el reconocimiento por PRR, la activación de NF- $\kappa$ B e IRF3, así como la fosforilación de STAT inducida por interferón y la expresión subsequente de ISG. Imagen tomada y modificada de Brüggemann et al., 2024.

## 2.4 Inmunidad adaptativa frente al VHE

Tras la entrada del VHE al hospedero, el ARN viral es reconocido por receptores de reconocimiento de patrones, lo que activa vías de señalización innatas que inducen la producción de interferones y citocinas proinflamatorias, además de promover la activación y maduración de células presentadoras de antígeno, como células dendríticas y macrófagos. Estas células procesan las proteínas virales y presentan péptidos antigénicos derivados principalmente de pORF2, y en menor medida de pORF1 y pORF3, en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase I y II permitiendo así la activación de la inmunidad adaptativa (Brüggemann et al., 2024). La inmunidad adaptativa frente al VHE está mediada predominantemente por células T, las cuales desempeñan un papel en la eliminación específica del VHE y en la determinación del curso clínico

de la infección (Figura 7) (Orozco-Córdoba et al., 2023). Tras el reconocimiento de los antígenos virales, las células T se activan, proliferan y se diferencian en linfocitos T citotóxicos ( $CD8^+$ ), responsables de la eliminación directa de células infectadas, y linfocitos T cooperadores ( $CD4^+$ ), que coordinan la activación de otras células inmunitarias, posteriormente, una fracción de estas células se diferencia en células T de memoria de larga duración, lo que permite una respuesta más rápida y eficaz ante una nueva exposición al virus, constituyendo la base de la memoria inmunológica (Kumar et al., 2018).



**Figura 7. Inmunidad frente al curso clínico de la infección del VHE.** Cambios en la proporción de células y citocinas dependiendo del curso de la infección. Imagen tomada y modificada de Orozco-Cordoba et al., (2023).

Diversos estudios han demostrado la participación de las células T tanto en la eliminación del VHE como en la patogénesis del daño hepático asociado a la infección (Figura 7) (Figura 8). En particular, estudios realizados por Suneetha et al. (2012), Brown et al. (2016) y Gisa et al. (2016) mostraron que células T  $CD4^+$  y  $CD8^+$  aisladas de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de pacientes con infección aguda por VHE proliferan y responden frente a las proteínas pORF1, pORF2 y pORF3, siendo la respuesta más robusta contra la proteína de la cápside viral pORF2. Debido a esta inmunodominancia pORF2 constituye la principal diana para el desarrollo de vacunas. No obstante, esta respuesta celular no se mantiene a largo plazo, ya que meses después de la resolución de la infección la reactividad disminuye de manera significativa. Además, el mapeo de epítopos ha permitido identificar regiones inmunodominantes dentro de pORF2 (aminoácidos 73–156, 289–372, 361–444 y 505–588) asociadas con proliferación linfocitaria (Aggarwal et al., 2007), así como regiones vinculadas con la producción de  $IFN-\gamma$  (aminoácidos 181–249 y 301–489) (Husain et al., 2011). Adicionalmente, Suneetha et al. (2012) reportaron que el VHE puede modular la respuesta inmune mediante la activación de linfocitos T reguladores  $CD4^+$   $CD25^+$   $Foxp3^+$  y

CD8<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> , los cuales se encuentran en mayor proporción en PBMC de individuos con infección aguda en comparación con sujetos recuperados y controles sanos.

Asimismo, ciertos subgrupos de células T de pacientes infectados con VHE expresan receptores de direccionamiento tisular (*homing*) que median la adhesión a tejidos, como CCR9, que favorecen su migración desde la periferia hacia el hígado. En este órgano se ha documentado infiltración de linfocitos T CD8<sup>+</sup> altamente activados (Prabhu et al., 2011 y Agrawal et al., 2012). Tras la eliminación viral, las células T CD8<sup>+</sup> específicas para VHE adquieren un fenotipo de memoria efectora y muestran una reducción progresiva de su polifuncionalidad; sin embargo, estas células persisten a largo plazo variando entre estudios (4–12 años), alcanzando un estado estable que puede mantenerse durante varios años, lo que sugiere el establecimiento de una memoria inmunológica duradera con potencial protector frente a la reinfección (Brown et al., 2016; Gisa et al., 2016; Lemming et al., 2022). Por otro lado, en poblaciones inmunocompetentes de edad mayor, la gravedad clínica de la infección por VHE se ha asociado con respuestas exageradas de células T CD8<sup>+</sup> de memoria efectora altamente activadas, acompañadas de un aumento de quimiocinas inflamatorias como CXCL9 y CXCL10; en estos pacientes se ha descrito un agotamiento temprano de las células T marcado por PD-1, junto con una disminución de la producción de citocinas del perfil TH1 y un sesgo hacia respuestas TH2 (El Costa et al., 2021) (Figura 8). Este patrón también se ha observado en mujeres embarazadas con hepatitis E aguda, en casos de insuficiencia hepática aguda asociada a VHE y en infección crónica, lo que sugiere una estrecha relación entre el desequilibrio TH1/TH2, la gravedad de la enfermedad y el desenlace clínico (Pal et al., 2005; Wu et al., 2020; Suneetha et al., 2012).

## **2.5 Inmunidad celular en la infección crónica por VHE y agotamiento de células T**

A diferencia de la infección aguda, los pacientes con hepatitis E crónica presentan respuestas deficientes de células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> específicas para VHE, caracterizadas por una baja producción de citocinas antivirales como IFN $\gamma$  (Figura 8) (Brown et al., 2016). Se ha observado que estas células expresan marcadores de activación como CD38 y Ki67, exhiben predominantemente un fenotipo de agotamiento terminal, con alta expresión de receptores inhibidores como PD-1 y baja expresión de CD127, similar al observado en infecciones crónicas por los virus de hepatitis B y C (Kimming et al., 2022). El agotamiento de las células T durante la infección crónica por VHE se ha atribuido, al menos en parte, a la exposición persistente a antígenos virales, incluidas proteínas pORF2s secretadas (Montpellier et al., 2018; Kimming et al., 2022). No obstante, tras la resolución de la infección crónica, ya sea mediante la reducción de la inmunosupresión o el tratamiento con ribavirina, se restablecen rápidamente respuestas robustas de células T específicas para VHE, con recuperación de la producción de IFN- $\gamma$  y la aparición de poblaciones con características de memoria (Suneetha et al., 2012; Abravanel et al., 2016). Estudios *in vitro* han demostrado que el bloqueo de receptores inhibidores como PD-1 o CTLA-4 puede restaurar parcialmente la función

proliferativa de las células T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>. Sin embargo, esta estrategia presenta importantes limitaciones clínicas, especialmente en receptores de trasplante, debido al riesgo de rechazo del injerto (Suneetha et al., 2012). Por ello, se han propuesto alternativas terapéuticas dirigidas a otros mecanismos intrínsecos del agotamiento de las células T, incluyendo factores de transcripción, vías de señalización reguladas por TGF- $\beta$ , moléculas de co-estimulación y condiciones micro ambientales como la hipoxia (Brüggemann et al., 2024).

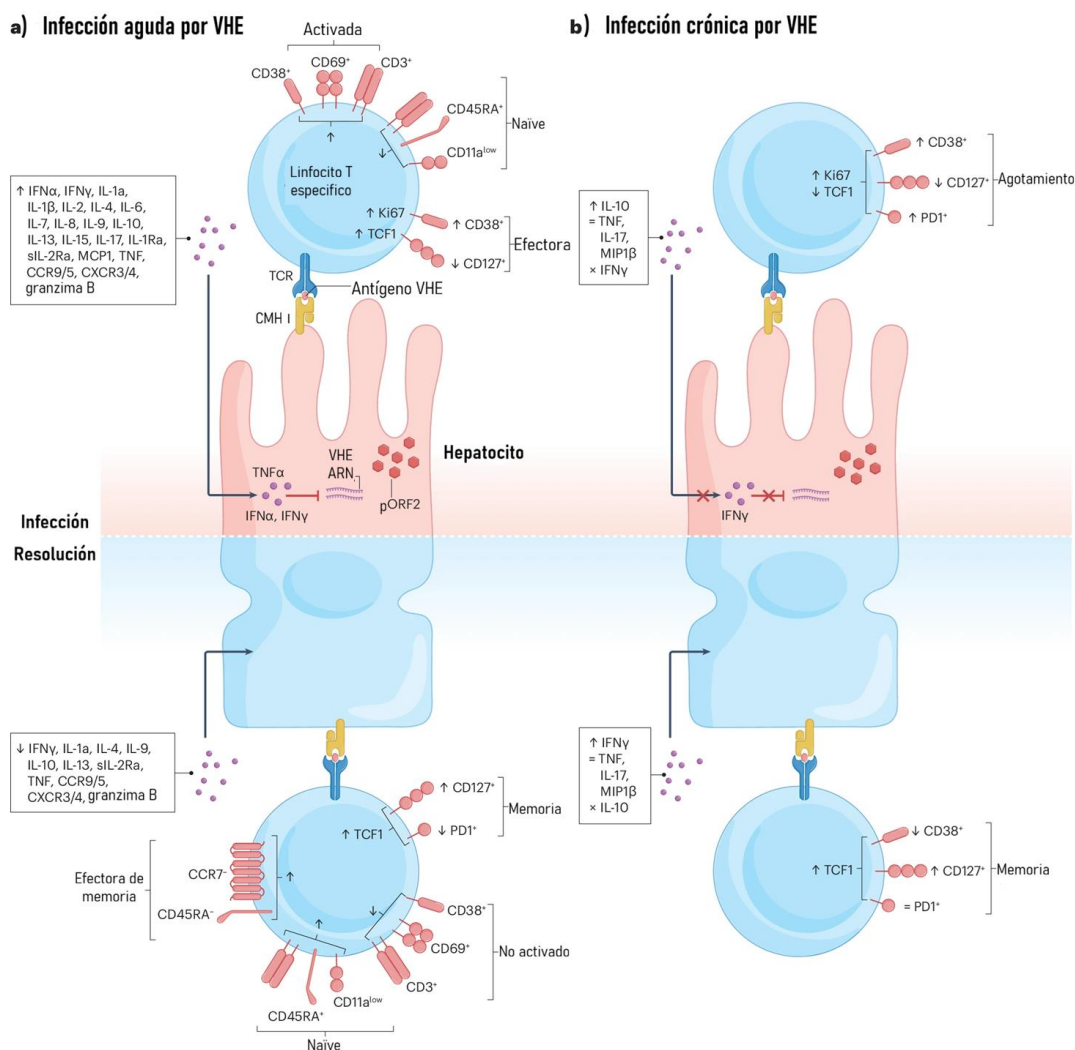
## 2.6 Respuesta humoral en la infección por VHE

Las células B contribuyen de manera relevante a la inmunidad adaptativa frente al VHE mediante la producción de anticuerpos específicos, los cuales constituyen una barrera importante frente a la reinfección (Brüggemann et al., 2024). En este sentido, Srivastava et al. (2011) observaron en PBMC de pacientes con hepatitis E aguda una expansión de células B CD19<sup>+</sup> específicas para los antígenos pORF2 y pORF3, con producción predominante de anticuerpos IgG. En casos de hepatitis E fulminante, la proporción de células B secretoras de IgG anti-VHE fue significativamente mayor en comparación con infecciones no complicadas. Por su parte, Sharma et al. (2022) reportaron que pacientes con hepatitis E aguda presentan frecuencias elevadas de células B reguladoras (Breg) inmaduras o transicionales, con un fenotipo CD19<sup>+</sup> CD24<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup>, capaces de modular la función de células T efectoras productoras de IFN- $\gamma$  mediante mecanismos dependientes de IL-10, al menos *in vitro* (Figura 8).

La respuesta humoral frente al VHE se caracteriza por la aparición temprana y transitoria de anticuerpos IgM e IgA anti-VHE, coincidente con la detección de ARN viral, lo que ha permitido su uso como marcadores diagnósticos de infección aguda (Chau et al., 1992; Clayson et al., 1995; Brüggemann et al., 2024). Posteriormente, estos anticuerpos disminuyen y se vuelven indetectables en la mayoría de los pacientes entre 3 y 8 meses después del inicio de la enfermedad, mientras que la respuesta evoluciona hacia la producción de anticuerpos IgG de alta afinidad. Estos alcanzan su pico aproximadamente cuatro semanas después del inicio de los síntomas y pueden persistir durante años, aunque con una disminución progresiva de los títulos. No obstante, la duración exacta de esta respuesta es variable, con reportes que oscilan entre 20 meses y hasta 14 años (Huang et al., 2010; Schemmerer et al., 2017; Kulkarni et al., 2019).

En pacientes con infección crónica, particularmente en receptores de trasplante bajo regímenes intensos de inmunosupresión, las respuestas humorales son altamente variables, pudiendo observarse desde respuestas persistentes hasta ausencia completa de seroconversión, lo que se asocia con la intensidad de la inmunosupresión y la disfunción de las células B (Legrand-Abravanel et al., 2010; Brüggemann et al., 2024). Aunque la infección previa o la vacunación confiere protección frente a formas graves de hepatitis E, la evidencia indica que esta inmunidad no siempre es esterilizante ni permanente (Schemmerer et al., 2017).

Estudios de seguimiento a largo plazo (1–22 años) han demostrado que los anticuerpos anti-VHE pueden disminuir significativamente e incluso desaparecer en una proporción considerable de individuos previamente infectados. Las tasas de seroreversión reportadas varían entre estudios, alcanzando aproximadamente 22.6 % a los 12 años (Faber et al., 2018), 21.7 % a los 22 años (Hogema et al., 2014) y hasta 50 % a los 7 años de seguimiento (Servant-Delmas et al., 2016). Este declive, que en algunas cohortes afecta a la mayoría de los individuos (Khuroo et al., 2010; Schemmerer et al., 2017), sugiere que la inmunidad humoral frente al VHE no es permanente en todos los casos y que la protección frente a la reinfección depende del título y la avidéz de los anticuerpos IgG anti-VHE, como se ha demostrado en estudios en monos rhesus (Arankalle et al., 1999; Choi et al., 2019). Finalmente, es importante considerar que gran parte de la evidencia disponible sobre la inmunidad humoral frente al VHE proviene de estudios realizados sin una estandarización internacional de los ensayos serológicos, lo que obliga a interpretar los resultados con cautela debido a la heterogeneidad metodológica entre estudios (Brüggemann et al., 2024).



**Figura 8. Respuesta inmunitaria celular en la infección aguda y crónica por el VHE.** a) Durante la infección aguda por VHE, el hospedero desarrolla una respuesta inmunitaria celular intensa y eficaz, mediada principalmente por linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> específicos contra el virus, los cuales presentan un fenotipo altamente activado evidenciado por la expresión de marcadores como CD38 y CD69. Estas células

T activadas producen elevadas cantidades de citocinas proinflamatorias, en particular IFN- $\gamma$ , característica de una respuesta tipo TH1 esencial para el control de infecciones virales, así como moléculas citotóxicas como la granzima B, contribuyendo a la eliminación de células infectadas. Esta respuesta inflamatoria sistémica, que incluye la producción de IL-2, TNF e IL-6, entre otras citocinas, coordina la eliminación viral, aunque también participa en el desarrollo de los síntomas clínicos y del daño hepático. Para ejercer su función, las células T activadas adquieren receptores de migración tisular (homing) y quimiocinas que favorecen su migración desde la sangre periférica hacia el hígado, principal sitio de replicación viral. Tras la eliminación del virus, la respuesta efectora se atenúa y las células T pierden marcadores de activación y proliferación, como CD38 y Ki67; una fracción se diferencia entonces en células T de memoria de larga duración, caracterizadas por la expresión de CD127 y TCF1, constituyendo la base de la inmunidad protectora frente a futuras exposiciones al VHE. **b)** La infección crónica ocurre principalmente en individuos inmunocomprometidos, en quienes la respuesta inmunitaria celular es insuficiente para controlar la replicación viral. Las células T específicas para VHE presentan respuestas débiles y predominantemente monofuncionales, con una marcada disminución en la producción de IFN- $\gamma$ , lo que limita su capacidad antiviral. Estas células adoptan un perfil de agotamiento funcional, particularmente evidente en los linfocitos T CD8<sup>+</sup>, caracterizado por la elevada expresión de receptores inhibidores como PD-1, la persistencia de marcadores de activación y una baja expresión de moléculas asociadas a memoria y autorrenovación, como CD127 y TCF1. En este contexto, las células T muestran una capacidad limitada para eliminar el virus. Además, el entorno inmunológico durante la infección crónica se encuentra desbalanceado, con un aumento en la producción de citocinas inmunorreguladoras como IL-10, favoreciendo perfiles de respuesta menos eficaces (TH2/TH17) en detrimento de la respuesta antiviral TH1. Este microambiente contribuye a la persistencia viral y al establecimiento de la cronicidad. No obstante, cuando la infección crónica se resuelve, ya sea por recuperación parcial de la competencia inmunitaria o mediante tratamiento antiviral, pueden reaparecer poblaciones de células T con características de memoria, aunque este reservorio suele ser menos robusto y funcional que el generado tras una infección aguda resuelta. Imagen tomada y modificada de Brüggemann et al. (2024).

---

## CAPÍTULO 3: MANIFESTACIONES RENALES Y HEPATITIS E

### 3.1 Manifestaciones extrahepáticas del VHE

Originalmente, la infección por el VHE se asoció principalmente con el desarrollo de enfermedad hepática debido al marcado carácter hepatotrópico del virus (Orozco-Cordoba et al., 2023). Esta concepción histórica condujo a que la mayoría de los estudios se concentran exclusivamente en el hígado como principal sitio de infección y replicación viral. Sin embargo, la evidencia científica más reciente ha demostrado que el VHE posee un tropismo celular más amplio, con la capacidad de infectar y replicarse en diversos tipos celulares y tejidos fuera del hígado. Esta capacidad se ha documentado *in vivo* mediante la detección de ARN viral de cadena negativa, un indicador de replicación activa, en enterocitos de modelos porcinos (Williams et al., 2001), así como en PBMC de pacientes infectados (Sayed et al., 2021). Asimismo, se ha detectado ARN de cadena positiva del VHE en muestras clínicas de semen (Horvatits et al., 2021; Schemmerer et al., 2024), orina (Wu et al., 2021) y de líquido cefalorraquídeo (Kamar et al., 2014; Abravanel et al., 2021), así como en tejidos provenientes de muestras clínicas que incluyen corazón y bazo, además del hallazgo de proteínas virales en riñón (Leblond et al., 2024). De forma concordante, estudios en un modelo porcino de infección han identificado la presencia del VHE en pulmón, ganglios linfáticos, colon, intestino delgado, estómago, bazo, riñón y amígdalas, lo que indica invasión en otros tejidos (Williams et al., 2002). Adicionalmente, la capacidad infectiva y replicativa del VHE en tejidos extrahepáticos ha sido confirmada *in vitro* en diversas líneas celulares establecidas, incluyendo células intestinales Caco-2 (Emerson et al., 2010; Marion et al., 2020), células neuronales M03.13 (Drave et al., 2016), células placentarias JEG-3 (Ratho et al., 2022), células de epitelio pulmonar A549 (Schemmerer et al., 2016), células HeLa (Montalvo et al., 2008) y células de epitelio renal HK-2 (Wahid et al., 2024). Finalmente, estudios *ex vivo* han demostrado replicación activa del virus en cultivos primarios de células de Sertoli (Liu et al., 2024), así como en monocitos y macrófagos humanos (Sayed et al., 2020).

En conjunto, estos hallazgos sustentan el potencial del VHE para inducir un amplio espectro de manifestaciones extrahepáticas. Entre las principales manifestaciones asociadas a la infección por VHE se incluyen alteraciones gastrointestinales (Bi et al., 2022; Wang et al., 2018), hematológicas (Fousekis et al., 2020), pancreáticas (Makharia et al., 2003; Jaroszewicz et al., 2005), cardíacas (Premkumar et al., 2015), autoinmunes (Mallet et al., 2017) y de particular relevancia, las manifestaciones neurológicas (Sood et al., 2000; Yazaki et al., 2015) y renales (Guinault et al., 2016; Pischke et al., 2017; Elkhawaga et al., 2023) que destacan por su frecuencia e impacto clínico. A pesar de que la fisiopatología de las manifestaciones extrahepáticas asociadas al VHE aún no ha sido completamente dilucidada, se ha propuesto que la diseminación sistémica del virus podría ocurrir tanto a través de su forma cuasienvuelta o mediante el transporte viral mediado por células del sistema inmunológico circulantes (Orozco-Córdoba et al., 2023).

### 3.2 Manifestaciones renales asociadas a la infección por VHE

Las manifestaciones renales asociadas a infecciones virales han sido ampliamente estudiadas en el contexto de las infecciones por VHB y VHC, en las cuales el compromiso renal constituye una complicación bien reconocida (Geng et al., 2020 y AKF, 2023). No obstante, en años recientes, la infección por el VHE ha emergido como una entidad de creciente interés en el ámbito nefrológico; este interés se ha visto reforzado, en particular, por el aislamiento de partículas virales eVHE y antígeno pORF2 en la orina de pacientes infectados, lo que sugiere una posible interacción directa entre el virus y el tejido renal (Marion et al., 2019). Adicionalmente, se ha documentado una diversidad de cuadros de enfermedad renal asociados a la infección por VHE (Tabla 2).

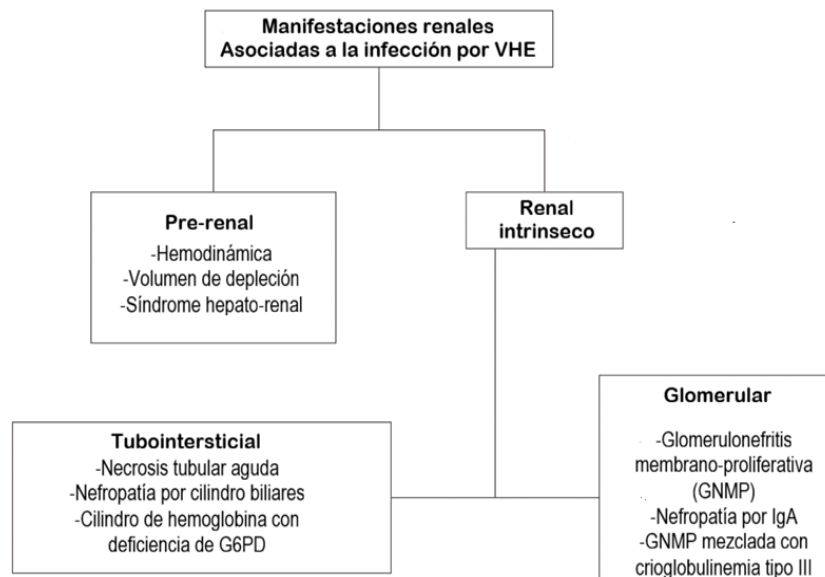
**Tabla 2. Manifestaciones renales de casos reportados de infección por el (VHE)**

Manifestación	Gt	País	Estado	Sexo	Edad	Tratamiento	Estudio de caso
<b>Tubulointersticial</b>							
NTA	3	India	I.C	M	48 años	Hemodiálisis	Karki et al., (2016)
NTA	3	P. Bajos	I.C	M	34 años	Hemodiálisis	Verschuuren et al., (1997)
NTA	3	Francia	T.R	M	28 años	S.T	Kamar et al., (2005)
LRA	NR	India	ICP	M	3 años	Ribavirina	Kumar et al., (2022)
LRA	NR	India	I.C	M	56 años	Hemodiálisis	Vikrant y Kumar (2013)
<b>Glomerular</b>							
GNMP-CGII	3	Francia	I.C	M	48 años	Esteroides	Guinault et al.,(2016)
GNMP	3	Francia	T.R	M	33 años	Esteroides	Kamar et al., (2012)
GNMP	3	Francia	T.R	M	24 años	Rituximab	Kamar et al., (2012)
GNMP	3	Francia	T.R	M	46 años	Ribavirina	Del Bello et al., (2015)
GNMP	3	Suiza	I.C	M	40 años	Esteroides	Leblond et al., (2024)
N-IgA	3	Francia	T.R	M	26 años	Ribavirina	Kamar et al., (2012)
N-IgA	3	Francia	T.R	F	40 años	Ajuste-inmunosupresión	Kamar et al., (2012)
N-IgA	NR	NR	ICP	F	25 años	Esteroides	Cheema et al., (2023)
N-IgA	NR	Pakista	I.C	M	37 años	Hemodiálisis y esteroides	Khan et al.,(2025)
SNE	3	Italia	I.C	M	57 años	Sofosbuvir + Ribavirina	Biliotti et al., (2018)
NMN	3c	Francia	I.C	M	60 años	Ribavirina	Taton et al. (2013)

**LRA:** Lesión renal aguda; **NMN:**Nefropatía membranosa de novo; **NTA:** Necrosis tubular Aguda; **GNMP:** Glomerulonefritis membranoproliferativa; **CGII:** Crioglobulinemia tipo II; **N-IgA:** Nefropatía por IgA; **SNE:** Síndrome nefrítico; **NR:** No reportado; **I.C:** Inmunocomprometido; **ICP:** Inmunocompetente; **F:** femenino; **M:** Masculino; **T.R:** Trasplante renal y **S.T:** Sin tratamiento

Las manifestaciones renales asociadas a la infección por el VHE pueden agruparse en dos grandes categorías: 1) alteraciones prerrenales, relacionadas principalmente con cambios hemodinámicos

secundarios a la enfermedad hepática inducida por el VHE, los cuales repercuten de manera indirecta sobre la función renal; y 2) daño renal intrínseco, que implica una afectación directa del parénquima renal, con compromiso tanto del compartimento glomerular como del túbulo-intersticial, y que podría estar asociado a la infección directa del tejido renal y/o a mecanismos inmunomediados (Kovvuru et al., 2022) (Figura 9). No obstante, los mecanismos específicos responsables del daño renal inducido por el VHE no han sido completamente esclarecidos.



**Figura 9. Clasificación fisiopatológica de las manifestaciones renales asociadas a la infección por VHE.** Imagen tomada y modificada de Kovvuru et al., (2022).

El-Mokhtar et al. (2020) demostraron en células epiteliales primarias del túbulo proximal renal cultivadas e infectadas *in vitro*, que la infección por VHE permite una replicación viral eficiente sin comprometer la viabilidad celular ni inducir marcadores de lesión tubular o inflamación. En contraste, el cocultivo de células epiteliales primarias de túbulo proximal renal infectadas y PBMC autólogas desencadenó una respuesta inmunoinflamatoria robusta, caracterizada por la sobreexpresión de citocinas (IFN- $\gamma$ , IL-18) y quimiocinas (Cxcl-9, Cxcl-10 y Cxcl-11) inducibles por IFN- $\gamma$ , acompañada de un aumento en marcadores de daño renal como lactato deshidrogenasa (LDH), molécula 1 de daño renal (KIM-1) y la lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL). En conjunto, estos hallazgos sugieren que el VHE no ejerce un efecto citopático directo sobre el epitelio tubular renal y que la lesión renal asociada a esta infección es predominantemente inmunomediada. De forma complementaria, Leblond et al. (2024) identificaron un mecanismo específico implicado en el desarrollo de GNMP en pacientes infectados por VHE, a través la formación de depósitos de inmunocomplejos formados por la proteína pORF2s y anticuerpos neutralizantes a nivel glomerular, lo que desencadena una respuesta inflamatoria local y la subsecuente infiltración de células inmunitarias. De forma relevante este mecanismo parece ser específico del riñón, ya que dichos inmunocomplejos no fueron detectados en otros tejidos analizados en los pacientes incluidos en este estudio. Pese a los avances recientes, persiste una brecha crítica en la comprensión de los mecanismos causales que vinculan el VHE con el daño renal. En este sentido es crucial considerar

la posibilidad de que la infección por VHE podría ser una causa directa en el desarrollo de la enfermedad renal (ER), planteando un paradigma donde el virus es capaz de iniciar la patología y dado que no se reconoce como un agente causante de ER, llevar a la complicación y desarrollo de enfermedad renal crónica (ERC).

### **3.3 Enfermedad renal crónica: definición, causas, epidemiología y tratamiento**

La ERC se define como un síndrome clínico caracterizado por alteraciones estructurales y/o funcionales del riñón que persisten por un periodo igual o superior a tres meses, con un curso progresivo e irreversible (Kamyar et al., 2021). De acuerdo con los criterios establecidos por la *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO), el diagnóstico de ERC se basa en: 1) una disminución persistente de la tasa de filtración glomerular (TFG) por debajo de 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, y/o 2) la evidencia de daño renal, manifestada por marcadores como albuminuria (>30 mg/g de creatinina), alteraciones histopatológicas en biopsia renal o anomalías detectadas mediante estudios de imagen (KDIGO, 2012; Webster et al., 2017).

La ERC presenta una etiología multifactorial. A nivel global, las principales causas incluyen la diabetes mellitus, la hipertensión arterial sistémica y diversas glomerulopatías (asociadas a infecciones) (KDIGO, 2012). Se estima que más del 60 % de los casos de ERC están asociados a diabetes e hipertensión, particularmente en regiones con alta prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (Vaidya y Aeddula, 2024). No obstante, en las últimas décadas se ha observado un incremento de casos de ERC de etiología desconocida, que afecta predominantemente a hombres jóvenes (30–50 años), previamente sanos y sin antecedentes de diabetes o hipertensión (Correa-Rotter et al., 2014). Este fenómeno se ha documentado principalmente en regiones agrícolas del sur de Asia y Mesoamérica, la evidencia sugiere que el desarrollo de ERC en estos casos podría deberse a la participación de factores ambientales y ocupacionales, como la exposición crónica a pesticidas y metales pesados, la deshidratación recurrente, el estrés térmico, el consumo frecuente de antiinflamatorios no esteroideos (AINE), el uso y consumo de agua contaminada y la posible participación de nuevos agentes infecciosos no asociados a ERC (Correa-Rotter, 2019).

En este contexto, el VHE podría emerger como un posible agente infeccioso implicado en la enfermedad renal. A diferencia de otros virus con un papel bien establecido en el desarrollo de ERC, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o el VHB o VHC (Ekrikpo et al., 2018; Geng et al., 2020 y Jasso-Baltazar et al., 2022), el VHE no suele incluirse en los agentes asociados y causales en el diagnóstico convencional de ERC asociada a infecciones. Sin embargo, diversos estudios han documentado la presencia de infección por VHE en pacientes con enfermedad renal, siendo las glomerulopatías las manifestaciones más frecuentemente asociadas, incluyendo glomerulonefritis membranoproliferativa, glomerulonefritis membranosa y nefropatía por IgA (Ali et al., 2001; Kamar et al., 2012; Taton et al., 2013; Del Bello et al., 2015; Guinault et al., 2016; Leblond

et al., 2024). Estos hallazgos subrayan la necesidad de explorar de manera más sistemática la posible contribución del VHE al desarrollo y progresión de la ERC.

Desde el punto de vista epidemiológico, la ERC constituye un grave problema de salud pública a nivel mundial debido a su alta prevalencia, elevada mortalidad y creciente demanda de tratamientos altamente costosos como las terapias de sustitución renal (diálisis y HD) y el trasplante renal. Por esta razón, ha sido incluida dentro del Global Burden of Disease (GBD) como una de las principales causas de carga global de enfermedad (Deng et al., 2025). Por otro lado, en 2016, la ERC ocupó el lugar 13 entre las principales causas de muerte a nivel mundial (Jager et al., 2019), y actualmente se estima que aproximadamente el 10 % de la población adulta presenta algún grado de ERC, lo que equivale a cerca de 850 millones de personas afectadas en todo el mundo (Kamyar et al., 2021; Argañiz et al., 2021; Deng et al., 2025). En México, la ERC representa un problema de salud pública en constante crecimiento, se estima que entre el 12 % y el 13 % de la población adulta padece algún grado de ERC (Argañiz et al., 2021; Gaceta UNAM, 2025). Esta situación se refleja en la elevada mortalidad asociada a la enfermedad; de acuerdo con datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en 2023 la ERC se posicionó como la décima causa de muerte a nivel nacional (INEGI, 2024). Asimismo, el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) reportó una tasa ajustada de mortalidad de 51.4 defunciones por cada 100,000 habitantes atribuibles a la ERC (INSP, 2020).

Un aspecto fundamental de la ERC es su tratamiento, el cual es complejo y de carácter multidisciplinario. Sus objetivos principales son retrasar la progresión de la enfermedad, controlar las comorbilidades asociadas y reducir las complicaciones cardiovasculares y metabólicas (Argañiz et al., 2021). En etapas avanzadas, cuando la función renal es insuficiente para mantener la homeostasis, las terapias de sustitución renal adquieren especial relevancia. Estas incluyen HD, diálisis peritoneal y trasplante renal, y representan una carga económica considerable tanto para el sistema de salud mexicano como para los pacientes y sus familias (INSP, 2020). En México, el acceso a estas terapias es limitado y desigual. El país presenta una de las tasas más altas de pacientes en tratamiento sustitutivo en América Latina, con una incidencia aproximada de 377 casos por millón de habitantes (Mendez-Duran et al., 2020). De acuerdo con el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS, 2024), alrededor de 79,689 personas se encuentran actualmente en terapia de sustitución renal; de ellas, 36,853 reciben diálisis peritoneal y 42,836 hemodiálisis, y cerca del 80 % son atendidas en el IMSS. Además, se estima que 18 millones de personas padecen algún grado de insuficiencia renal, lo que equivale al 14 % de la población. Esto refuerza el carácter de la ERC como problema prioritario de salud pública y subraya la necesidad de fortalecer las estrategias de prevención, diagnóstico oportuno, así como establecer sus causas.

### 3. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

La HD es una terapia de sustitución renal indicada en pacientes con insuficiencia renal avanzada, generalmente secundaria a la progresión de la ERC, la cual puede originarse por diversas patologías metabólicas, vasculares, inmunológicas o infecciosas (IMSS, 2024). Su objetivo principal es reemplazar de manera artificial las funciones esenciales del riñón, mediante la eliminación de productos de desecho metabólico (como amoníaco, urea, ácido úrico y creatinina) y del exceso de líquidos por filtración, conservando al mismo tiempo los componentes celulares y nutrientes de la sangre, así como el equilibrio hidroelectrolítico y ácido-base (NKF, 2025).

Los pacientes en HD constituyen una población de especial relevancia para el estudio de la infección por el VHE, la evidencia epidemiológica global respalda esta afirmación, un metaanálisis realizado por Haffar et al. (2017) estima una seroprevalencia global de anticuerpos anti-VHE del 9.31 % en pacientes en HD lo que sugiere una exposición significativa al virus en este grupo poblacional a nivel mundial. Adicionalmente, diversos estudios han reportado una mayor seroprevalencia de anticuerpos anti-VHE, tanto IgM como IgG, en pacientes en hemodiálisis en comparación con la población general, como se observa en investigaciones realizadas en distintos países (Tabla 3).

**Tabla 3. Seroprevalencia de la infección por el VHE (%) en población sana y pacientes en HD**

País	Población sana positivos a anticuerpos anti-VHE (%)	Pacientes en HD positivos a anticuerpos anti-VHE (%)	Factores de riesgo	Autores
Grecia	0.23	4.5	NR	Stefanidis et al. (2004)
Grecia	2.2	6.4	E.A	Psichogiou et al. (1996)
Japón	3	30	E.A	Ding et al, (2003)
Taiwán	8.9	31	T.S	Lee et al., (2002)
Arabia Saudita	0.3	4.8	NR	Ayoola et al., (2002)
España	2.8	6.3	NR	Mateos et al., (2010)
Suecia	5.2	6	E.A	Sylvan et al., (2009)
Brasil	2	0	NR	Paraná et al., (2009)
Italia	2.6	9.3	E.A	Gessoni et al.,(2008)
España	4	6	T.S	Buti et al., (2010)

**NR:** No reportado, **E.A:** Edad avanzada, **T.S:** Trasplante sanguíneo

Además de los estudios comparativos con población sana, existen investigaciones enfocadas exclusivamente en pacientes en HD en los que se ha evaluado la seroprevalencia de anticuerpos

anti-VHE y la detección de ARN viral (Tabla 1 complementaria). Aunque estos trabajos carecen de un grupo control, reportan tasas de seroprevalencia variables, que oscilan entre 6 % y 26 %, así como detección nula o baja de ARN y ausencia de seroconversión en algunos casos. Estos datos, obtenidos en diversas regiones de Europa, Medio Oriente y África refuerzan la noción de que los pacientes en HD presentan una exposición frecuente al VHE (Ismail et al., 2020; Mrzljak et al., 2020; Shemis et al., 2022; Kogias et al., 2023; Kevorkyan et al., 2023; Öztürk et al., 2025). No obstante, la información disponible sobre esta población en América, y particularmente en México, sigue siendo desconocida. Desde el punto de vista epidemiológico, los pacientes en HD presentan múltiples factores que incrementan su riesgo de infección por VHE; entre ellos destacan la exposición repetida a productos sanguíneos, dado que muchos pacientes requieren transfusiones de manera recurrente, así como el contacto frecuente con entornos hospitalarios, lo que incrementa la probabilidad de transmisión nosocomial (Jahani et al., 2020). Adicionalmente, el tiempo acumulado en HD ha sido propuesto como un factor de riesgo adicional, al aumentar de forma sostenida la probabilidad de exposición al virus; sin embargo, este aspecto ha sido poco explorado de manera sistemática (Mansouri et al., 2010 y Öztürk et al., 2025).

Más allá del riesgo de contraer la infección, a ello se suma que una proporción considerable de estos pacientes son candidatos potenciales a trasplante renal, lo que implica la futura administración de tratamientos inmunosupresores; esta condición incrementa de manera significativa la susceptibilidad al desarrollo de formas crónicas de la infección por VHE, las cuales se asocian con replicación viral persistente, agotamiento de la respuesta de células T específicas, desarrollo acelerado de fibrosis y cirrosis y un estado inflamatorio sostenido (Jahani et al., 2020). En conjunto, la elevada seroprevalencia reportada, la presencia de factores de riesgo específicos y la disfunción inmunitaria característica de los pacientes en HD justifican la necesidad de estrategias diagnósticas adecuadas para la detección de la infección por VHE. La identificación precisa de la infección activa o previa resulta esencial no solo para el manejo clínico individual, sino también para la prevención de complicaciones asociadas, lo que da paso al análisis de las herramientas diagnósticas disponibles para la infección por VHE. Como se describió previamente, el desarrollo de la infección por el VHE se encuentra estrechamente vinculado a la activación de la respuesta inmunitaria del hospedero, la cual es fundamental para el control de la replicación viral, pero también puede contribuir al daño tisular. En este contexto, el análisis del perfil de citocinas ha permitido identificar patrones inmunológicos asociados a diferentes fases y desenlaces de la infección.

En este sentido, a partir de estudios realizados por nuestro grupo de trabajo han demostrado que la infección por VHE se asocia a una modulación diferencial de citocinas. En pacientes con hepatitis E aguda por gt1, se reportó una disminución significativa de IL-4 e IL-10 en comparación con casos de hepatitis A, lo que sugiere una respuesta reguladora atenuada durante la infección por VHE (Realpe-Quintero et al., 2017). En contraste, en pacientes con infección crónica por gt3, se identificaron concentraciones elevadas de IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  e IL-12, consistentes con un estado

inflamatorio persistente asociado a la cronicidad (Viera-Segura et al., 2020). Adicionalmente, en donantes de sangre positivos a IgG anti-VHE, se observaron niveles aumentados de IL-18, en comparación con donantes seronegativos, lo que ha llevado a proponer esta citocina como un posible biomarcador de exposición al VHE (Copado-Villagrana et al., 2023).

De manera concordante, estudios realizados por otros grupos han sugerido que diversas citocinas podrían funcionar como biomarcadores de actividad inmunológica, severidad y evolución clínica en la infección por VHE. En hepatitis E aguda autolimitada, IFN- $\gamma$  se eleva tempranamente, previo a la eliminación del ARN viral, mientras que IL-1 $\beta$  muestra picos transitorios durante la fase inflamatoria inicial e IL-10 se incrementa en etapas posteriores, lo que sugiere un papel en la resolución de la respuesta inmunitaria (Bhatia et al., 2025). En contraste, en cuadros de hepatitis E grave, se ha descrito que citocinas proinflamatorias como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IFN- $\gamma$  se encuentran elevadas y se correlacionan con la carga viral y parámetros de disfunción hepática, respaldando su utilidad potencial como marcadores pronósticos (Kumar et al., 2014). Sin embargo, estos estudios se han centrado casi exclusivamente en el compromiso hepático. El perfil de citocinas en el contexto de las manifestaciones extrahepáticas del VHE, particularmente las manifestaciones renales, permanece escasamente caracterizado, y se desconoce si estas respuestas inmunitarias pueden estar moduladas por el genotipo viral infectante.

Además, el estudio de la infectividad del VHE se ha visto limitado por la dificultad de establecer líneas celulares que permitan una infección productiva y una replicación viral eficientes (Schemmerer et al., 2016). Con el propósito de enriquecer el contenido viral, se han empleado líneas celulares hepáticas humanas como HepG2/C3A y PLC/PRF/5; sin embargo, estos sistemas han mostrado una eficiencia limitada, caracterizada por bajas tasas de infección y replicación viral (Capelli et al., 2020). No obstante, más recientemente, la evaluación sistemática de diversas líneas celulares permitió seleccionar una subclona derivada de la línea celular A549, originada a partir de epitelio de carcinoma pulmonar humano, que presenta una alta permisividad a la infección por VHE y una replicación viral eficiente, denominada A549/D3 (Schemmerer et al., 2019). Asimismo, se estableció una línea celular a partir de células A549 persistentemente infectada con el aislado viral 47832c, correspondiente al gt3 del VHE y recuperado de un paciente con infección crónica (Schemmerer et al., 2016), la cual se denominó A549/N5. En conjunto, estas líneas celulares constituyen un modelo experimental robusto y de alto valor para el aislamiento y estudio de cepas autóctonas del VHE, lo que permitirá establecer relaciones más claras entre determinantes virales y la progresión diferencial de la infección, incluyendo el desarrollo de manifestaciones renales. Actualmente, ambas líneas celulares se encuentran disponibles y optimizadas en nuestro laboratorio.

#### 4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

---

A partir de los antecedentes descritos nuestras preguntas de investigación es:

¿Cuál es el efecto de la infección por el VHE en el perfil de citocinas detectado en el suero de pacientes con manifestaciones renales? ¿Cómo el genotipo del virus influye en el desarrollo de estas manifestaciones?

#### 5. HIPÓTESIS

---

El perfil de citocinas en suero de pacientes infectados con el VHE muestra variaciones en comparación con el suero de pacientes no infectados. Además, el genotipo del VHE está asociado con la aparición de manifestaciones renales en estos pacientes y cambios en el perfil de citocinas.

#### 6. OBJETIVOS

---

##### 6.1 Objetivo general

Caracterizar el perfil de citocinas séricas en pacientes infectados con VHE que presentan manifestaciones renales y estudiar los componentes genéticos virales relacionados con el desarrollo de dichas manifestaciones.

##### 6.2 Objetivos particulares

- ❖ Identificar los genotipos del VHE en una cohorte de pacientes con daño renal.
- ❖ Analizar la relación entre las variantes virales del VHE y el desarrollo de manifestaciones renales.
- ❖ Identificar el perfil de citocinas en suero y su vinculación con el desarrollo de manifestaciones renales en pacientes infectados con el VHE.
- ❖ Optimizar las condiciones para la infección *in vitro* con el VHE a partir de sueros de pacientes con daño renal infectados.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 Diseño del estudio

Para este proyecto realizamos un estudio experimental retrospectivo en el que se analizaron sueros de una población conformada por 67 pacientes con enfermedad renal crónica en tratamiento con terapia de sustitución renal por hemodiálisis, atendidos en la Unidad de Medicina Familiar No. 5 (UMF-5) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS, ubicada en Nogales, Sonora, México). Todos los participantes firmaron una carta de consentimiento informado en la que autorizaron el uso de sus muestras biológicas, así como la recopilación de datos personales y clínicos con fines de investigación (Anexo 1,2 y 6). Los 67 pacientes incluidos cumplieron con los criterios de inclusión establecidos en el protocolo F- CNIC- 2021- 098, entre los cuales se destacó la ausencia de antecedentes clínicos o diagnósticos asociados a enfermedad hepática (Tabla 4).

La recolección de muestras se realizó conforme a dicho protocolo, aprobado por los comités de ética, investigación y bioseguridad del IMSS y del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (IIBO-UNAM) (Anexo 3 y 4). A cada paciente se le tomó una muestra de sangre venosa, de la cual se obtuvo suero mediante centrifugación (2500 rpm por 25 minutos); posteriormente, las muestras fueron alicuotadas en condiciones estériles y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. De manera complementaria, se incluyeron muestras de suero de pacientes con infección aguda o crónicas por VHE y sin evidencia de daño renal provenientes de la seroteca del laboratorio de Inmunología 1 del IIBO-UNAM, con las cuales se conformaron distintos grupos experimentales y que fueron empleadas para el análisis del perfil de citocinas.

**Tabla 4. Criterios de selección de los participantes del estudio**

Categoría	Criterios
<b>Inclusión</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Pacientes de cualquier edad y sexo.</li><li>➤ En cualquier estadio de la enfermedad.</li><li>➤ Independientemente del tiempo en hemodiálisis.</li><li>➤ Residentes de la región noroeste de México.</li><li>➤ Atendidos en la UMF No. 5.</li><li>➤ Negativos a infección los virus de hepatitis A, B y C, SARS-CoV-2 y virus de inmunodeficiencia humana.</li><li>➤ Firma de carta de consentimiento informado (o consentimiento del tutor en menores).</li></ul>
<b>Exclusión</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Residentes de municipios fuera de la región noroeste de México que acudan a recibir sesiones de hemodiálisis en la UMF5.</li><li>➤ Pacientes que no acepten participar o se nieguen a firmar el consentimiento informado.</li></ul>
<b>Eliminación</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Muestras de suero hemolizadas, lipémicas o inadecuadas para análisis serológico.</li><li>➤ Muestras sin identificación, aunque se cuente con el consentimiento y cédula.</li><li>➤ Muestras sin carta de consentimiento o sin cédula de datos.</li></ul>

## **7.2 Diagnóstico de infección por VHE**

### **7.2.1 Serología**

Las muestras de suero obtenidas de pacientes en hemodiálisis fueron analizadas mediante pruebas serológicas utilizando la técnica de ELISA, conforme a las instrucciones y al protocolo establecidos por el fabricante. Para ello, se emplearon anticuerpos policlonales anti-IgG y anti-IgM dirigidos contra el VHE, mediante los kits comerciales “recomWell HEV IgG” y “recomWell HEV IgM” de la marca MIKROGEN DIAGNOSTIK. Este análisis permitió determinar la presencia de anticuerpos IgG, indicativos de una exposición previa al virus, así como anticuerpos IgM, que sugieren una infección reciente o en curso. Además de establecer el perfil serológico de los pacientes, los resultados obtenidos contribuyeron a estimar la prevalencia de contacto previo y/o activo con el VHE en esta población.

### **7.2.2 Detección molecular de VHE**

#### **7.2.2.1 Extracción de ARN viral**

La extracción del material genético de las muestras se realizó a partir de 150 µl de suero de los pacientes, empleando el kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN®, EE. UU.). El procedimiento se realizó conforme a las indicaciones del fabricante. El ARN purificado fue alícuotado en volúmenes de 5 µl y almacenado a -80 °C hasta su uso. Una de las alícuotas fue utilizada de manera inmediata para el procedimiento de transcripción reversa descrito en el apartado siguiente. Adicionalmente, también se empleó el reactivo TRIzol™ (Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific) para la extracción de ARN a partir de 35 µl de suero, los cuales se adicionaron a 400 µL de TRIzol™, volumen que podía escalarse hasta un máximo de 1 ml de reactivo según el volumen de muestra. Posteriormente, se añadieron 80 µl de cloroformo (Fermont®, grado biología molecular), se mezcló mediante vórtex durante 20 segundos, se incubó 2 minutos a temperatura ambiente, y se centrifugó a 10,000 rpm, lo que permitió la separación en tres fases. La fase acuosa (superior), que contiene el ARN, fue cuidadosamente recuperada, y se agregaron 200 µl de isopropanol (Fermont®, grado biología molecular), la mezcla se incubó toda la noche a -20 °C para facilitar la precipitación del ARN. Al día siguiente, las muestras fueron centrifugadas a 10,000 rpm, se descartó el sobrenadante, y se procedió al lavado del sedimento con 600 µl de etanol al 75 % previamente enfriado a -80 °C, se le dio un vórtex durante 40 segundos y se centrifugó a 8,000 rpm y se eliminó el etanol, este paso de lavado se repitió dos veces. Finalmente, el ARN fue resuspendido en 10 µl de agua libre de nucleasas, almacenado a -80 °C, y su concentración y pureza fueron determinadas mediante espectrofotometría utilizando un equipo NanoDrop™ 2000 (Thermo Fisher Scientific, EE. UU.).

### 7.2.2.2 Reacción de retro transcripción (RT-PCR)

La síntesis de ADNc se realizó a partir de ARN purificado, empleando la enzima M-MLV Reverse Transcriptase (Promega, WI, USA), dNTP mix (Promega, WI, USA) y RNasin® Ribonuclease Inhibitor (Promega, WI, USA), en un volumen final de 16 µl. Para la retrotranscripción se utilizaron *primers* dirigidos a una región conservada del virus, correspondiente al área de solapamiento entre los marcos de lectura ORF2 y ORF3, lo que permite una detección entre distintos genotipos del VHE (Figura 5) (Tabla 5). La reacción fue sometida a las siguientes condiciones: se incubó a 70 °C durante 5 minutos para desnaturalizar posibles estructuras secundarias del ARN, seguido por una incubación a 5 °C durante 5 minutos para facilitar la hibridación de los oligonucleótidos y se agregó la enzima ya que no es termoestable. Posteriormente, se llevó a cabo la síntesis de ADNc mediante incubación a 40 °C durante 60 minutos. Finalmente, la enzima fue inactivada con un paso a 80 °C durante 5 minutos, una vez obtenido el ADNc se llevó a cabo la PCR semi-anidada.

### 7.2.2.3 PCR semi-anidada

El ADNc se amplificó mediante PCR semianidada que consta en 2 amplificaciones del mismo producto cambiando un primer, utilizando la enzima GoTaq® G2 Colorless Master Mix (Promega, WI, USA) en un volumen final de 12 µl. Los primers empleados en ambas rondas de amplificación se describen en la Tabla 5. Para la verificación de la amplificación se corrió electroforesis en gel de agarosa 1.5% a 110 voltios constantes en una cámara de electroforesis Mini-Sub-Cell GT Cell.

**Tabla 5. Primers utilizados para realizar detección molecular de casos positivos al VHE**

Gen	Región	primer	Secuencia	Programa	Producto	Referencia
ORF 2/3	5302- 5452	HE361-F	5'-GCRGTGGTTTCTGGGGTGAC-3'	94°C- 5'	164	Inoue et al, 2006
		HE363-R	5'-GMYTGGTCDCGCCAAGHGGA-3'	94°C-30"		
		HE366-F	5'-GYTGATCTCAGCCCTTCGC-3'	60°C-30"		
				72°C-30"	137	
				72°C-5"		
				4°C∞		
				35 CICLOS		

Y = C o T; K = G o T; W = A o T.

### 7.3 Genotipificación del VHE

Con el propósito de identificar los genotipos asociados a la infección por el VHE, se amplificaron regiones menos conservadas del genoma viral, ubicadas en los marcos de lectura ORF1 y ORF2, mediante PCR semianidada. Para ello, se repitieron los procedimientos de extracción de ARN y síntesis de ADNc descritos previamente, las condiciones de la PCR semianidada y los oligonucleótidos específicos empleados para cada región se detallan en la Tabla 6. Las muestras que mostraron amplificación positiva fueron sometidas a purificación del producto amplificado

mediante el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, WI, USA), con el fin de obtener ADN de calidad para su secuenciación.

La secuenciación por el método de Sanger se llevó a cabo en la Unidad de Síntesis y Secuenciación del Instituto de Biotecnología (IBT-UNAM). Los productos de PCR purificados fueron enviados con una concentración de 100–120 ng, mezclados con 10 pmol del oligonucleótido correspondiente, en un volumen final de 16 µl, conforme a los lineamientos de la Unidad.

**Tabla 6. Primers utilizados para la genotipificación de los casos positivos al VHE**

Gen	Región	Primer	Secuencia	Programa	Producto (pb)	Referencia
ORF 1	54-461	HES1-F	5'-CTGGCATYACTACTGICYATTGAGC-3'	94°C- 5'	418	Wang et al.,1999
		HEA2-R	5'-GGCAGWRTACCARCGCTGAAC ATC-3'	94°C-30"		
		HES2-F	5'-CTGCCYTKGCGAATGCTGTGG-3'	24°C-30"	287	
				65°C-30"		
				65°C-5"		
				4°C ∞		
				40		
				CICLOS		
ORF 2	5687-6417	3156-F	5'-AATTATGCCTCAGTACTCGGAGTTG-3'	94°C- 5'	439	Meng et al., 1997
		3158-R	5'-GTTAATGCTTCTGCATATCATGGCT-3'	94°C-30"		
		3159-F	5'-AGG CGA CGA AAT CAA TTC GTC-3'	24°C-30"	344	
				65°C-30"		
				65°C-5"		
				4°C∞		
				40		
				CICLOS		

Y = C o T; K = G o T; W = A o T.

### 7.3.1 Análisis de secuencias y construcción del árbol filogenético

Las secuencias de nucleótidos obtenidas a partir de los amplicones de 287 pb (región ORF1) y 344 pb (región ORF2) fueron alineadas mediante el algoritmo ClustalW utilizando el software MEGA versión 12.0 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*). Para la asignación de genotipos y la inferencia filogenética, se compararon con secuencias de referencia disponibles en la base de datos GenBank del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), seleccionadas con base en las recomendaciones propuestas por Smith et al. (2020) (anexo 7). La construcción del árbol filogenético se realizó mediante el método de Máxima Verosimilitud (*Maximum Likelihood*), empleando el modelo de sustitución Tamura-Nei. La solidez estadística de las agrupaciones fue evaluada mediante un análisis de *bootstrap* con 10,000 repeticiones. Este análisis permitió establecer la relación filogenética de las muestras con los genotipos previamente reportados del VHE.

#### 7.4 Caracterización del perfil de citocinas

El análisis del perfil de citocinas en suero se realizó mediante un inmunoensayo tipo multiplex con base en la tecnología de microesferas magnéticas, empleando el kit comercial MILLIPLEX® MAP Human Th17 Magnetic Bead Panel (HTH17MAG-14K-04, Merck), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Este sistema permitió la detección simultánea y cuantificación del siguiente panel de citocinas: interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), interleucina 10 (IL-10), interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) e interleucina 12 subunidad p70 (IL-12p70). Para el ensayo se utilizaron 25  $\mu$ l de suero por muestra. La incubación se realizó en placas de 96 pozos, permitiendo la captura de las citocinas por las microesferas correspondientes. Posteriormente, se añadió un anticuerpo de detección biotinilado y un conjugado con estreptavidina-ficoeritrina como marcador fluorescente.

La lectura de las placas se llevó a cabo en el sistema Luminex MAGPIX® (Luminex Corporation), el cual identifica cada microesfera por su firma espectral y cuantifica la intensidad de fluorescencia emitida por el complejo inmunológico, la detección se realizó a una longitud de onda de 532 nm para excitación y 590 nm para emisión; las concentraciones de las citocinas analizadas fueron expresadas en picogramos por mililitro (pg/ml). Con el propósito de establecer la relación entre citocinas y la infección en el contexto de daño renal se incluyeron como comparativo sueros de pacientes con infección aguda o crónicas por VHE y sin evidencia de daño renal; estos sueros proceden de la seroteca de nuestro laboratorio. El estudio incluyó cuatro grupos experimentales (Tabla 7).

**Tabla 7. Grupos de estudio, número de muestras y tipo de análisis realizados**

Grupo	n	Siglas	Citocinas	Análisis de las características de la cohorte	Genotipos	Cultivo celular
Positivo a VHE, en tratamiento de hemodiálisis	25	+VHE+HD	✓	✓	✓	✓
Negativo a VHE, en tratamiento de hemodiálisis ( <i>control</i> )	25	-VHE +HD ( <i>control</i> )	✓	✓	--	--
Positivo a VHE agudo, sin tratamiento de hemodiálisis ( <i>control</i> )	10	+VHEa-HD ( <i>control</i> )	✓	--	--	--
Positivo a VHE crónico, sin tratamiento de hemodiálisis ( <i>control</i> )	6	+VHEc-HD ( <i>control</i> )	✓	--	--	--

✓ = Positivo a la realización de la prueba y -- = Negativo a la realización de la prueba

## 7.5 Cultivo celular e infección experimental

### 7.5.1 Mantenimiento de la línea celular A549 y A549/N5

Las líneas celulares epiteliales alveolares humanas A549, y A549/N5 almacenadas a -80 °C se descongelaron a baño maría a 37 °C y cultivaron bajo condiciones estériles en matraces T-25 (sc-200263) utilizando medio *Minimum Essential Medium* (MEM) (Gibco, núm. de catálogo: 61100103) como medio basal. Las células A549 se mantuvieron en MEM suplementado con 10 % de suero fetal bovino (SFB), 1 % de aminoácidos no esenciales MEM (100X) (Gibco, núm. de catálogo: 11140050), 1 % de piruvato de sodio 100 mM (Gibco, núm. de catálogo: 11360070) y 1 % de solución antibiótico-antimicótico (100X) (Gibco, núm. de catálogo: 15240062), que contiene penicilina, estreptomycin y anfotericina B, al que se denominó MEMs. Para el caso de la línea crónicamente infectada A549/N5, las células se cultivaron en el mismo medio basal MEM, con modificaciones en la suplementación, con 2.5% de SFB; 1 % de aminoácidos no esenciales, 1 % de piruvato de sodio 100 mM y 1 % de solución antibiótico-antimicótico al que se denominó MEMn5. Ambas líneas celulares se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO<sub>2</sub>. El medio de cultivo se renovó cada 2 a 3 días hasta alcanzar aproximadamente el 80 % de confluencia y la formación de una monocapa celular.

Para el subcultivo, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se trataron con una solución de tripsina-EDTA (2.5 % de tripsina, 0.02 % de EDTA) durante 3 minutos a 37 °C, hasta lograr su desprendimiento. Posteriormente, se añadió medio completo para neutralizar la acción enzimática y la suspensión celular se recolectó en tubos de 15 ml. Las células recolectadas fueron centrifugadas a 2000 rpm durante 5 minutos a 24 °C y posteriormente resuspendidas en 1 ml de medio correspondiente para su conteo. La viabilidad celular se determinó mediante tinción con azul de tripano y el conteo se realizó utilizando una cámara de Neubauer bajo microscopio óptico. La concentración celular se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración celular} = \frac{\text{Número de células contadas} \times 10^4 \times \text{Factor de dilución}}{\text{Número de cuadrantes}}$$

Finalmente, se sembraron 10,000 células por pozo en placas de 48 pozos para los ensayos de infección y 5,000 células por pozo en placas de 96 pozos para los ensayos de titulación, utilizando 300µl y 200µl medio de cultivo respectivamente. Las células se incubaron durante 7 días para permitir su maduración antes de ser utilizadas en los experimentos.

### 7.5.2 Propagación y titulación del VHE

Para la propagación viral, las células A549/N5 se sembraron en matraces T-75 y se mantuvieron en cultivo hasta alcanzar 100 % de confluencia. El sobrenadante de cultivo que se recolectó contiene partículas virales, la recolección se realizó a los días 3,8,12,16,18 y 22, se clarificó por filtración en membrana de (0.22  $\mu$ m) y se almacenó a  $-80$  °C hasta su uso para la identificación del día más óptimo mediante titulación, para la obtención de virus infeccioso, con el fin de utilizarlo como control positivo en la optimización de infección con suero de pacientes infectados por VHE.

La titulación del virus se realizó utilizando células A549/D3 sembradas en placas de 96 pozos. Una vez retirado el medio de cultivo, las células se infectaron con diluciones seriadas del sobrenadante proveniente de las células A549/N5, preparadas en MEM sin suplementar (1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12,800 y 1:25,600). Se añadieron 50  $\mu$ l de cada dilución y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente para permitir la adsorción viral. Todos los ensayos se realizaron por duplicado. Posteriormente, se añadió medio MEMn5, al cual se adiciono con cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) a una concentración final de 30 mM (E525, Amresco) al que se denominó MEMi. Las células se incubaron a 37 °C durante 72 horas, tras lo cual se realizó un cambio de medio con las mismas especificaciones. El cultivo se mantuvo durante un total de 6 días para la evaluación de la infección viral, ya que, de acuerdo con resultados previos obtenidos por nuestro grupo de trabajo, el sexto día post infección corresponde al tiempo óptimo para la detección del virus.

A los 6 días postinfección, las células se fijaron y tiñeron para la detección de la proteína de la cápside viral, conforme al procedimiento descrito en el apartado 7.5.5. Para el análisis del título viral, las placas se observaron al microscopio óptico, para cada dilución, se contabilizó el número de pozos con al menos una célula positiva. El título viral se expresó como la dosis infectiva tisular al 50 % ( $TCID_{50}$ /ml) y se calculó mediante el método de Kärber mejorado en la página <https://www.virosin.org/tcid50/TCID50.html>

La determinación del título viral tuvo como objetivo establecer la concentración de virus infeccioso presente en el sobrenadante de células A549/N5, con la finalidad de estandarizar la dosis de inóculo utilizada como control positivo en los ensayos de infección posteriores. El valor de  $TCID_{50}$  obtenido permitió definir de manera consistente la cantidad de virus empleada en todos los experimentos, asegurando que las diferencias observadas en los ensayos realizados con sueros de pacientes se atribuyeran a los efectos biológicos de los sueros y no a variaciones en la carga viral inicial.

### **7.5.3 Preparación de las muestras para infección**

Para los ensayos de infección celular, se utilizaron alícuotas de 100 µl de suero previamente almacenadas a -80 °C, correspondientes a pacientes en hemodiálisis positivos a la infección por el VHE. Las muestras se descongelaron lentamente en hielo con el fin de preservar la integridad del material biológico y minimizar posibles efectos térmicos sobre la infectividad viral. Posteriormente, los sueros se filtraron en condiciones estériles utilizando membranas de 0.22 µm de poro (Merck Millipore, núm. de catálogo: MPGP002A1), con el objetivo de eliminar contaminantes celulares y microbianos. Las muestras filtradas se mantuvieron en hielo hasta su uso inmediato en los ensayos de infección

### **7.5.4 Infección de células A549 con suero de pacientes positivos a VHE y en HD**

Para realizar la infección, se retiró el medio de cultivo de cada pozo de las placas de 48 pozos y las células se lavaron tres veces con PBS, manteniendo en todo momento condiciones de esterilidad. Posteriormente, se añadieron 100 µl de suero previamente filtrado (0.22 µm) directamente sobre las células y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente para permitir la adsorción viral, cada condición experimental se realizó por triplicado. Transcurrido el periodo de incubación con el suero, se añadieron 250 µl de medio de infección por pozo (descrito anteriormente); esta formulación tuvo como objetivo favorecer la entrada y replicación viral mediante una reducción controlada en la disponibilidad de nutrientes. Las placas se incubaron durante toda la noche a 37 °C en una atmósfera humidificada con 5 % de CO<sub>2</sub>.

A las 24 horas postinfección, se retiró el inóculo y las células se lavaron cuidadosamente tres veces con PBS para eliminar partículas virales no internalizadas. Posteriormente, se adicionaron 300 µl de medio de infección fresco por pozo. Las células se mantuvieron en cultivo durante un periodo total de siete días; durante este tiempo, se recolectaron diariamente 50 µl de sobrenadante de cada pozo para su posterior análisis por PCR para identificación de la infección, reponiendo el volumen retirado con medio nuevo para mantener condiciones estables de cultivo. Al séptimo día postinfección, se recolectó el sobrenadante completo y se almacenó a -80 °C hasta su procesamiento. Ese mismo día, las células fueron fijadas y procesadas para su análisis mediante inmunofluorescencia.

### **7.5.5 Análisis de la infección por tinción de la cápside por inmunofluorescencia indirecta**

Para evaluar la infección viral en células A549, se empleó la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Al séptimo día postinfección (p.i.), se retiró el medio de cultivo de cada pozo y las células fueron lavadas una vez con PBS, posteriormente, se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4 %

(Sigma-Aldrich, lote: 39H1116) durante 30 minutos a 37 °C, transcurrido este tiempo, se retiró el fijador y se realizó un lavado con PBS. La permeabilización celular se llevó a cabo mediante la adición de 200 µl de buffer de permeabilización 1X (Invitrogen, cat. 00-8222), incubando durante 25 minutos a temperatura ambiente, una vez transcurrido este periodo, el buffer fue retirado y se realizó un lavado con PBS. Para bloquear sitios inespecíficos, se añadió solución de albúmina sérica bovina (BSA) al 1 % (Sigma-Aldrich, cat. A7030), incubando las células durante 60 minutos a 37 °C, finalizada la incubación, se retiró la solución bloqueadora y se lavó nuevamente con PBS.

El anticuerpo primario utilizado fue Anti-VHE pORF2 hecho en ratón (Sigma-Aldrich, cat. MAB8003), el cual se preparó en una dilución 1:1000 en BSA al 1 % (1 µl en 1 ml), se añadieron 100 µl de esta solución por pozo y se incubó durante 60 minutos a 37 °C, posteriormente se retiró el anticuerpo primario y se realizó un lavado con PBS. Para la visualización en microscopía del anti-VHE pORF2 se procedió con la incubación del anticuerpo secundario anti-IgG de ratón hecho en cabra conjugado con Alexa Fluor® 594 (BioLegend, cat. 405326) que se observa en rojo, igualmente preparado en una dilución 1:1000 en BSA al 1% (1 µl en 1 ml), se añadieron 100 µl por pozo y se incubó durante 45 minutos a 37 °C. Luego, se retiró el anticuerpo secundario y se lavó una vez con PBS. Para la tinción nuclear, se utilizó DAPI preparado en PBS 1:1000 (1 µl en 1 ml), agregando 100 µl por pozo e incubando durante 3 minutos a 37 °C, finalmente, se realizaron dos lavados con PBS y se adicionaron 200 µl de PBS para su observación.

Las células teñidas fueron observadas mediante un microscopio de fluorescencia invertido Olympus IX71, equipado con filtros para la detección de los fluoróforos DAPI (emisión ~461 nm) y Alexa Fluor® 594 (emisión ~617 nm) de la Unidad de Microscopía del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Las imágenes fueron adquiridas utilizando una cámara digital acoplada al sistema óptico. La presencia de infección fue determinada por la localización citoplasmática o perinuclear del marcador fluorescente específico para ORF2.1. Se realizaron análisis cualitativos de la señal en todos los campos visualizados y se seleccionaron campos representativos para el registro fotográfico.

## **7.6 Análisis estadístico**

Se realizó un análisis estadístico descriptivo para caracterizar la cohorte de estudio, las variables cualitativas se resumieron en frecuencias absolutas y relativas (porcentajes), mientras que las variables cuantitativas se expresaron mediante medidas de tendencia central. Para evaluar las diferencias en los niveles séricos de citocinas entre los distintos grupos, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de los datos, dado que el tamaño muestral en cada grupo fue menor a 50 observaciones, al no cumplirse el supuesto de normalidad, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En los casos en que se identificaron diferencias estadísticamente significativas se aplicó un análisis post hoc mediante la prueba de Dunn, con el fin de precisar entre qué grupos se presentaban dichas diferencias. Todos los análisis estadísticos se realizaron

utilizando el software NCSS Statistical Software, versión 24.0.3 para Windows. Los gráficos correspondientes al análisis de citocinas se elaboraron en GraphPad Prism, versión 8.0. Como herramienta complementaria de visualización se construyó un diagrama de Sankey en el software RStudio versión 4.4.3, con el objetivo de representar gráficamente el flujo de pacientes entre distintas categorías clínicas y demográficas. Esta visualización facilitó la identificación de patrones de distribución dentro de la población analizada.

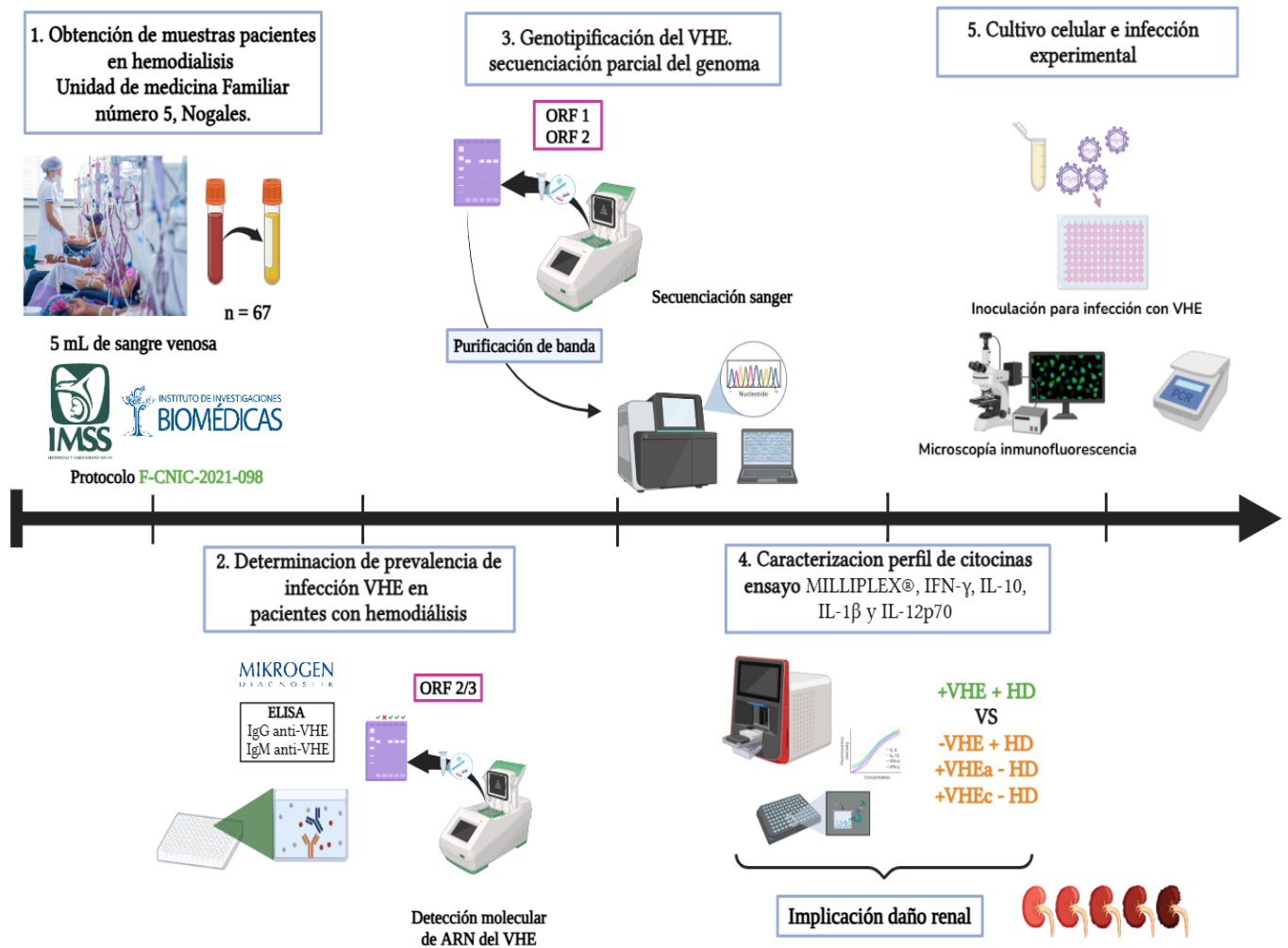


Figura 10. Esquema general de metodología experimental. Imagen creada con [BioRender.com](https://www.biorender.com).

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Características generales y sociodemográficas de la cohorte

De acuerdo con el cumplimiento de los criterios de inclusión, exclusión y eliminación, en el presente estudio se incluyeron 67 de 75 pacientes con enfermedad renal crónica en tratamiento de hemodiálisis atendidos en la Unidad de Medicina Familiar No. 5 en Nogales, Sonora, México. En términos generales la cohorte presentó una edad mediana de 52 años (IQR: 21), con predominio del sexo masculino (60 %). El resto de las características sociodemográficas, clínicas y de exposición se resumen en la Tabla 8.

### 8.2 El VHE circula en pacientes en hemodiálisis en México.

El análisis serológico en la cohorte (n = 67) mostró que todas las muestras fueron negativas para anticuerpos IgM anti-VHE. En cuanto a la detección de anticuerpos IgG anti-VHE, 10 pacientes (14.9 %) resultaron positivos, mientras que 57 (85.1 %) fueron negativos (Figura 11).

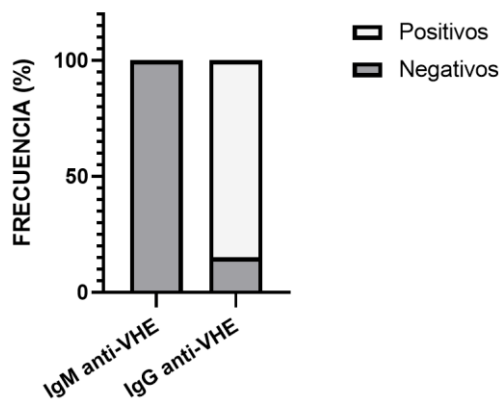


Figura 11. Frecuencia de anticuerpos IgG e IgM anti-VHE en pacientes en HD (n = 67).

En contraste, la detección molecular reveló la presencia de ARN del VHE en 25 pacientes (37.3 %), de los cuales únicamente cinco presentaron anticuerpos IgG anti-VHE detectables, mientras que 42 pacientes (62.7 %) fueron negativos para ARN viral (Figuras 12 y 13) (Anexo 8).

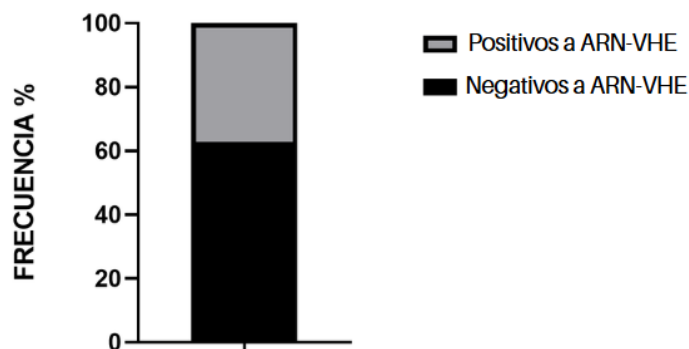
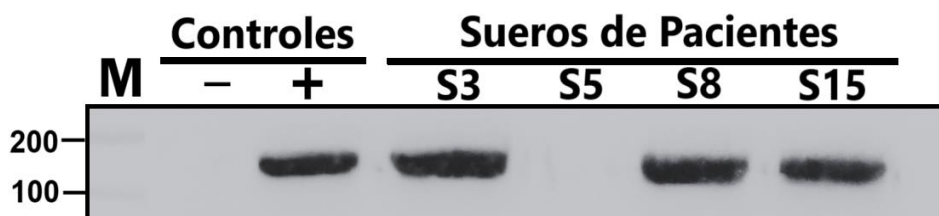


Figura 12. Detección de ARN del VHE por RT-PCR en pacientes en HD (n = 67).



**Figura 13. Detección de ARN del VHE en pacientes positivos.** Imagen representativa de amplicones (~137 pb) correspondientes a la región ORF2/3 del genoma del VHE, obtenidos mediante RT-PCR. Se observan bandas específicas en los carriles correspondientes a pacientes positivos. M: marcador de peso molecular; C-: control negativo; C+: control positivo.

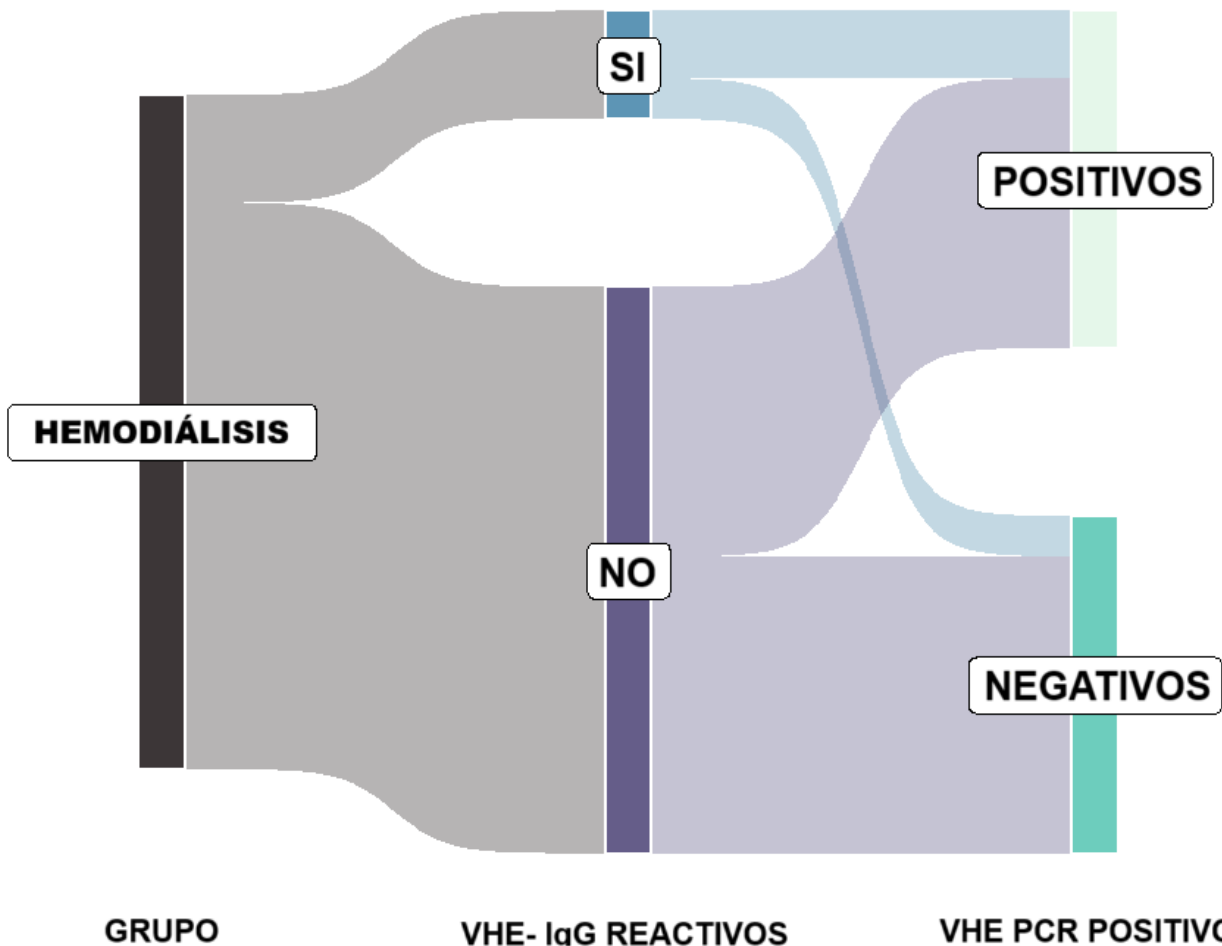
### **8.3 Discordancia serológica y seguimiento molecular del VHE revela infección predominantemente aguda y un caso crónico en pacientes en HD**

Con el fin de evaluar la relación entre la respuesta serológica y la detección molecular del VHE, se realizó un análisis cruzado entre los resultados de IgG anti-VHE y RT-PCR en la población total de pacientes en hemodiálisis (n = 67), representado mediante un diagrama tipo Sankey plot (Figura 14). Entre los pacientes con IgG anti-VHE positiva (n = 10), cinco (50 %) presentaron ARN viral detectable por RT-PCR también, mientras que los cinco restantes fueron negativos. En contraste, dentro del grupo de pacientes IgG negativos (n = 57), se identificaron 20 pacientes (35.1 %) con ARN viral detectable y 37 (64.9 %) negativos para ARN del VHE.

Estos resultados demuestran que la detección del ARN del VHE ocurre tanto en pacientes con serología IgG positiva como negativa, evidenciando una discordancia significativa entre los hallazgos serológicos y moleculares.

Esta discrepancia sugiere la presencia de infección activa en ausencia de una respuesta detectable de anticuerpos IgG. Dado que todas las muestras fueron negativas para IgM anti-VHE, se realizó un seguimiento molecular longitudinal durante un año en los 25 pacientes con RT-PCR positiva para ARN del VHE, con el propósito de caracterizar la evolución de la infección. Durante este periodo, 24 pacientes negativizaron el ARN viral en las determinaciones subsecuentes, mientras que un paciente mantuvo positividad persistente a lo largo del estudio, lo que sugiere una posible infección crónica.

Cabe destacar que este paciente no presentó seroconversión para IgM ni IgG en ningún momento del seguimiento. En conjunto, estos hallazgos indican que, en esta cohorte de pacientes en hemodiálisis, la mayoría de las infecciones por VHE corresponden a cuadros agudos y autolimitados.



**Figura 14. Distribución de pacientes en hemodiálisis según reactividad a IgG anti-VHE y resultado de RT-PCR para detección de ARN viral.** El diagrama de Sankey representa a **67 pacientes** clasificados según la presencia o ausencia de anticuerpos IgG anti-VHE y su resultado en la prueba molecular para detección de ARN viral. El análisis gráfico fue realizado en RStudio.

#### 8.4 Mortalidad incrementada en pacientes en HD con infección por VHE

Con base en los resultados de reactividad a ARN del VHE mediante RT-PCR, se conformaron dos grupos de estudio: pacientes en hemodiálisis con infección por VHE (+VHE+HD; n = 25) y un grupo de pacientes en HD sin detección de ARN viral (-VHE+HD; n = 25), seleccionados con características similares de edad y sexo para realizar comparaciones clínicas y sociodemográficas. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en cuanto a características sociodemográficas, clínicas y de factores de riesgo (Tabla 8). No obstante, la mortalidad fue significativamente mayor durante el seguimiento de los pacientes en el grupo +VHE+HD, registrándose 13 defunciones, mientras que en el grupo -VHE+HD no se documentaron

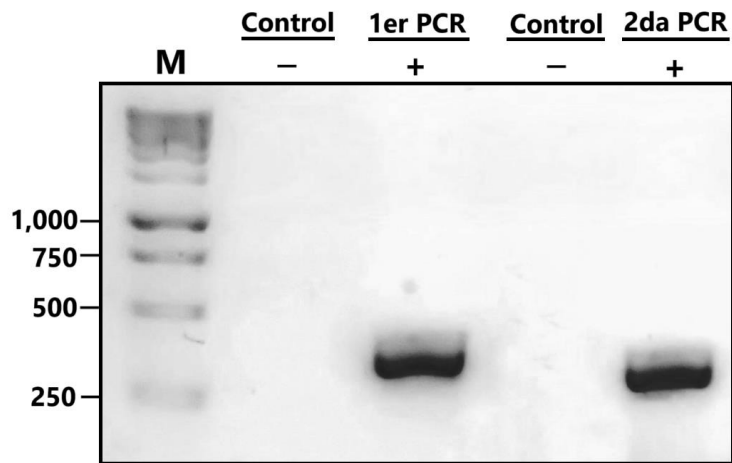
fallecimientos (52 % vs 0 %; prueba exacta de Fisher,  $p < 0.0001$ ). Por su parte, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se observó que el tiempo en hemodiálisis tiene una tendencia mayor en el grupo +VHE+HD en comparación con el grupo -VHE+HD; (mediana: 3 vs 2 años; prueba de Mann-Whitney,  $p = 0.1487$ ).

**Tabla 8. Características clínicas y sociodemográficas de la cohorte de pacientes en hemodiálisis, según estatus de infección por VHE**

Características	Total, población (n = 67)	+VHE+HD (n = 25)	-VHE+HD (n = 25)
<b>Datos generales</b>			
Edad promedio en años $\pm$ DE)	51.7 $\pm$ 14.3	51 $\pm$ 13.54	53 $\pm$ 13.96
Tiempo en hemodiálisis (mediana, años)	3.2 $\pm$ 3.4	3	2
Mujeres	27 (40%)	10 (40%)	11 (44%)
Hombres	40 (60%)	15 (60%)	14 (56%)
Trabajadores	15 (22.3%)	5 (20%)	6 (24%)
<b>Factores de riesgo y exposición</b>			
Transfusiones sanguíneas	35 (52.2%)	13 (52%)	16 (64%)
Fístula arteriovenosa	27(40%)	16 (64)	14(56%)
Contacto con pacientes con hepatitis	1 (1.5%)	1 (4%)	0 (0%)
Consumo de carne de cerdo y derivados	47 (70.1%)	17 (68%)	19 (76%)
Convivencia con mascotas	30 (44.8%)	13 (52%)	10 (40%)
Vivienda rural	4 (5.9%)	2 (8%)	1 (4%)
Alimentos fuera del hogar (días/ promedio)	1	1	1
<b>Datos clínicos</b>			
Trasplante renal	1 (1.5%)	1 (4%)	0 (0%)
Mortalidad	13 (19.4%)	13 (52%)	0 (0%)

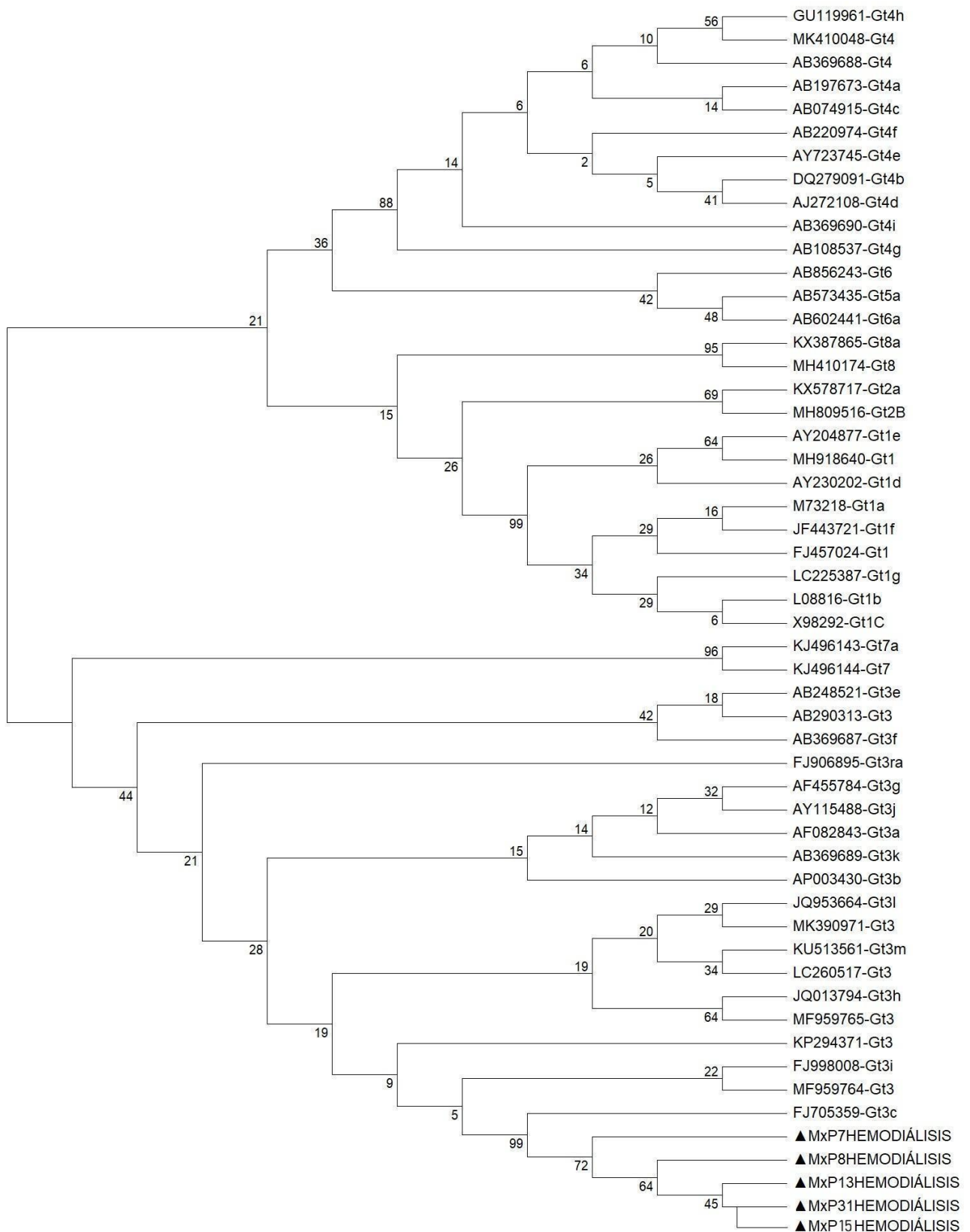
### 8.5 Genotipo 3 del VHE circula en pacientes en HD en México

El análisis molecular de las muestras positivas para ARN del VHE incluyó una RT-PCR seguida de una PCR semianidada dirigida a una región parcial del gen ORF1. Tras la primera ronda de amplificación se obtuvo un producto de aproximadamente 287 pb, y en la segunda ronda un producto de 257 pb, lo que confirmó la presencia de ARN viral amplificable y permitió su secuenciación (Figura 15).



**Figura 15. Imagen representativa de la detección de productos amplificados correspondientes a una región parcial del gen ORF1 del VHE en muestras de pacientes positivos.** En el gel de agarosa al 1.5 % se observan amplicones de 287 y el semianidado 257 pb en los carriles correspondientes a pacientes positivos, M: marcador de peso molecular; C-: control negativo.

El análisis filogenético demostró que todas las secuencias virales detectadas en los pacientes en HD 7, 8, 13, 15 y 31 corresponden al genotipo 3 del virus de la hepatitis E, confirmando su circulación en esta población (Figura 16).



**Figura 16. Árbol filogenético construido con secuencias parciales del gen ORF 1 del VHE.** Las secuencias obtenidas en este estudio están marcadas en un triángulo. Se empleó el método de máxima verosimilitud con 10,000 réplicas de *bootstrap*. Las secuencias de referencia fueron tomadas de la base de datos GenBank y representan los distintos genotipos del VHE. Los pacientes están numerados conforme al código interno del estudio.

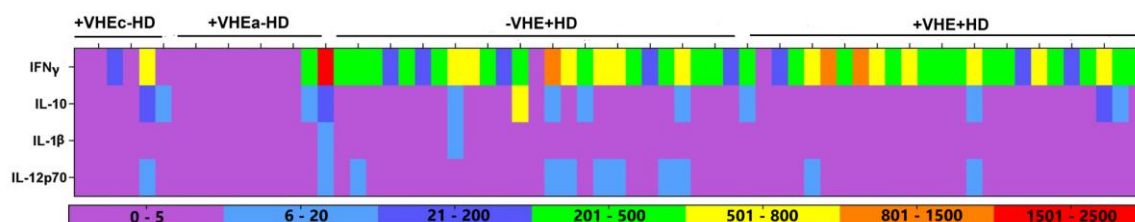
## 8.6 Reducción de IL-10 en suero de pacientes en HD con infección aguda por VHE

Con el objetivo de evaluar el impacto de la infección por VHE sobre el perfil inflamatorio sistémico, se analizaron las concentraciones séricas de IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$  e IL-12p70 en los distintos grupos definidos según el estatus de infección por VHE y el tratamiento con hemodiálisis (Figura 17). En particular, se observó una reducción significativa de los niveles de IL-10 en los pacientes con infección por VHE en tratamiento de HD (+VHE+HD), quienes presentaron concentraciones notablemente menores ( $4.40 \pm 5.88$  pg/ml) en comparación con los pacientes en hemodiálisis sin infección por VHE (-VHE+HD:  $30.21 \pm 130.62$  pg/ml;  $p < 0.05$ ). De manera consistente, el grupo con infección crónica por VHE en ausencia de HD (+VHEc-HD) también mostró niveles bajos de IL-10 ( $5.52 \pm 8.97$  pg/ml). En contraste, los pacientes en hemodiálisis sin infección por VHE presentaron los niveles más elevados de IL-10. En cuanto a las citocinas de perfil proinflamatorio, los niveles de IFN- $\gamma$  fueron significativamente mayores en los grupos +VHE+HD y -VHE+HD en comparación con el grupo +VHEc-HD. Para IL-1 $\beta$  e IL-12p70, los pacientes en tratamiento de hemodiálisis mostraron concentraciones relativamente más elevadas en comparación con los grupos sin hemodiálisis, observándose los valores más altos de IL-12p70 en el grupo -VHE+HD (Figura 17). En conjunto, estos resultados indican que la elevación de citocinas proinflamatorias se asocia principalmente al proceso de hemodiálisis, mientras que la infección por VHE se relaciona de forma específica con una disminución de IL-10, lo que sugiere un desequilibrio entre los mecanismos proinflamatorios y reguladores de la respuesta inmune en esta población

a)

Citocinas pg/ml	+VHE+HD (n=25)	-VHE+HD (n=25)	+VHEa-HD (n=10)	+VHEc-HD (n=6)
IFN- $\gamma$ (Media $\pm$ DE)	404.43 $\pm$ 248.24 **	396.63 $\pm$ 281.64**	261.79 $\pm$ 689.66	120.11 $\pm$ 229.38
IL-10(Media $\pm$ DE)	4.40 $\pm$ 5.88**	30.21 $\pm$ 130.62**	10.70 $\pm$ 10.00	5.52 $\pm$ 8.97
IL-1 $\beta$ (Media $\pm$ DE)	2.45 $\pm$ 0.97**	2.84 $\pm$ 2.48**	1.86 $\pm$ 3.42	2.15 $\pm$ 1.31
IL-12p70(Media $\pm$ DE)	4.34 $\pm$ 2.38	5.01 $\pm$ 1.79**	3.55 $\pm$ 3.65	2.65 $\pm$ 2.67

b)



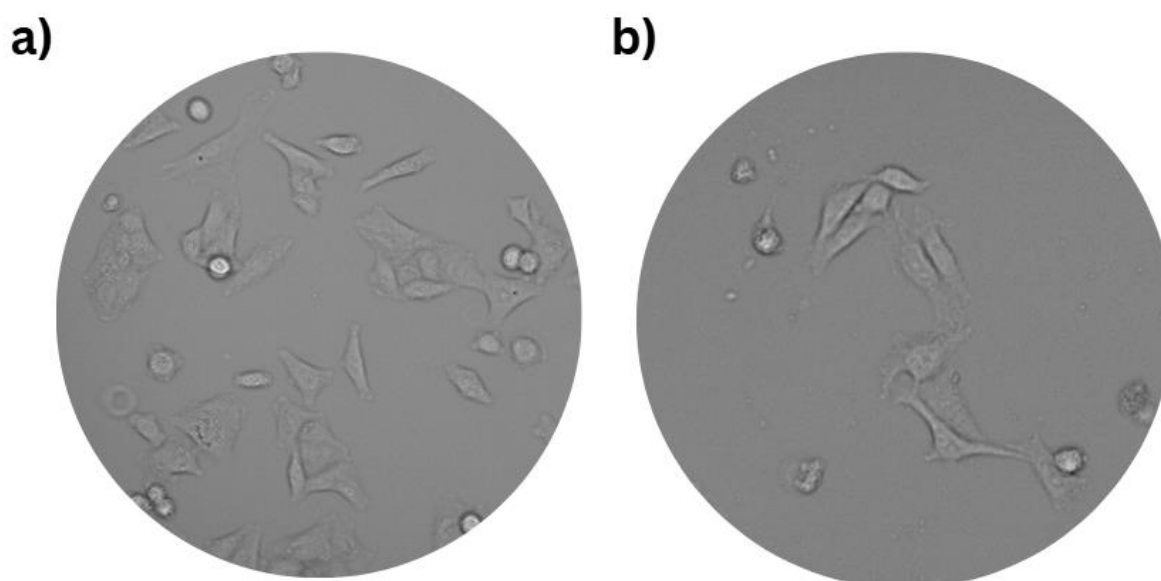
**Figura 17. Diferencias en los perfiles de citocinas séricas entre los grupos de estudio.** a) Tabla comparativa de los niveles de IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$  e IL-12p70 en suero. Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante la prueba de Dunn con corrección de Bonferroni. (\* $p < 0.04$ , \*\* $p < 0.01$ ). b) Mapa de calor que muestra el patrón de expresión de las citocinas en los distintos grupos cada cuadro representa un paciente.

## 8.7 Diferencias morfológicas entre células A549 no infectadas y constitutivamente infectadas

Con el objetivo de disponer de un modelo *in vitro* que permitiera estudiar la infección por VHE, se establecieron las condiciones de cultivo de líneas celulares permisivas a la infección. Las células A549 y A549/N5 fueron descongeladas a partir de crioviales y sembradas inicialmente en frascos de cultivo T25, mostrando una viabilidad del 92 % y 89 % respectivamente, y posteriormente subcultivadas en placas de 48 pozos para los ensayos de infección y titulación, donde alcanzaron una viabilidad del 98 % y 93 % respectivamente.

Sin embargo, el cambio de medio de cultivo de las células A549/N5 a MEM suplementado estándar (MEMs) a MEMn5, que implica una reducción del 75 % en la concentración de suero fetal bovino, se observó una disminución en la velocidad de crecimiento celular. Al sembrar 200,000 células, las células A549 alcanzaron aproximadamente un 80 % de confluencia en un promedio de 4 a 5 días, mientras que las células A549/N5 requirieron entre 6 y 7 días para alcanzar el mismo porcentaje de confluencia.

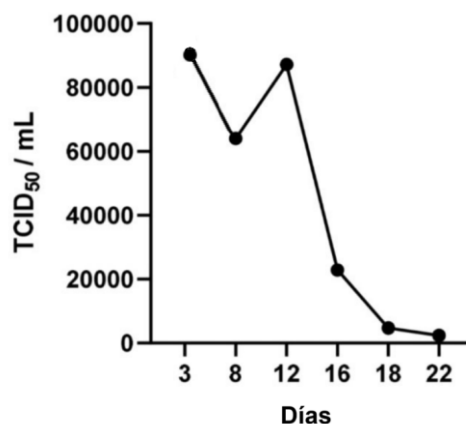
El análisis morfológico mediante microscopía de campo claro evidenció diferencias fenotípicas entre ambas líneas celulares. Las células A549 no infectadas presentaron la morfología epitelial característica de la línea, con forma poligonal, bordes celulares definidos y crecimiento homogéneo formando monocapas compactas (Figura 18a). En contraste, la línea A549/N5 mostró células más alargadas y delgadas, con menor compactación y mayor heterogeneidad morfológica, (Figura 18b).



**Figura 18. Producción viral y morfología de células A549 no infectadas y A549/N5 constitutivamente infectadas.** a) Células A549 no infectadas, morfología epitelial poligonal característica. b) Células A549/N5 constitutivamente infectadas, con un fenotipo alterado caracterizado por células más alargadas. Las imágenes son representativas y fueron obtenidas mediante microscopía de campo claro a un objetivo 20x.

### 8.8 Determinación del título viral por TCID<sub>50</sub> día 3 como el mejor para obtener virus de manera *in vitro*

El título viral de los sobrenadantes recolectados en los días 3, 8, 12, 16, 18 y 22 a partir de células A549/N5 constitutivamente infectadas se determinó mediante la infección de células A549 empleando diluciones seriadas del sobrenadante viral. La evaluación de la infección se realizó al sexto día postinfección, tiempo previamente establecido como óptimo para la detección viral. La presencia de células infectadas se confirmó mediante tinción por inmunofluorescencia dirigida contra la proteína de la cápside del VHE y posterior análisis por microscopía de fluorescencia, considerándose positiva aquella dilución en la que se observó al menos una célula infectada por pozo. Durante la evaluación de la producción viral se observó que el sobrenadante recolectado al día 3 de cultivo presentó la mayor infectividad relativa (Figura 19), por lo que fue seleccionado para su posterior titulación. Con base en estos resultados, el título viral se calculó mediante el método de Kärber modificado, para el día 3 tuvo un valor de  $9.05 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub> /ml. Este valor permitió definir con precisión la cantidad de virus infectivo presente en el sobrenadante, el cual se utilizó como inóculo estandarizado en experimentos posteriores, garantizando la reproducibilidad y comparabilidad entre los ensayos.



**Figura 19. Producción viral.** Cinética del título viral determinado en el sobrenadante de células A549/N5, expresado como TCID<sub>50</sub>/mL, a diferentes días postcultivo.

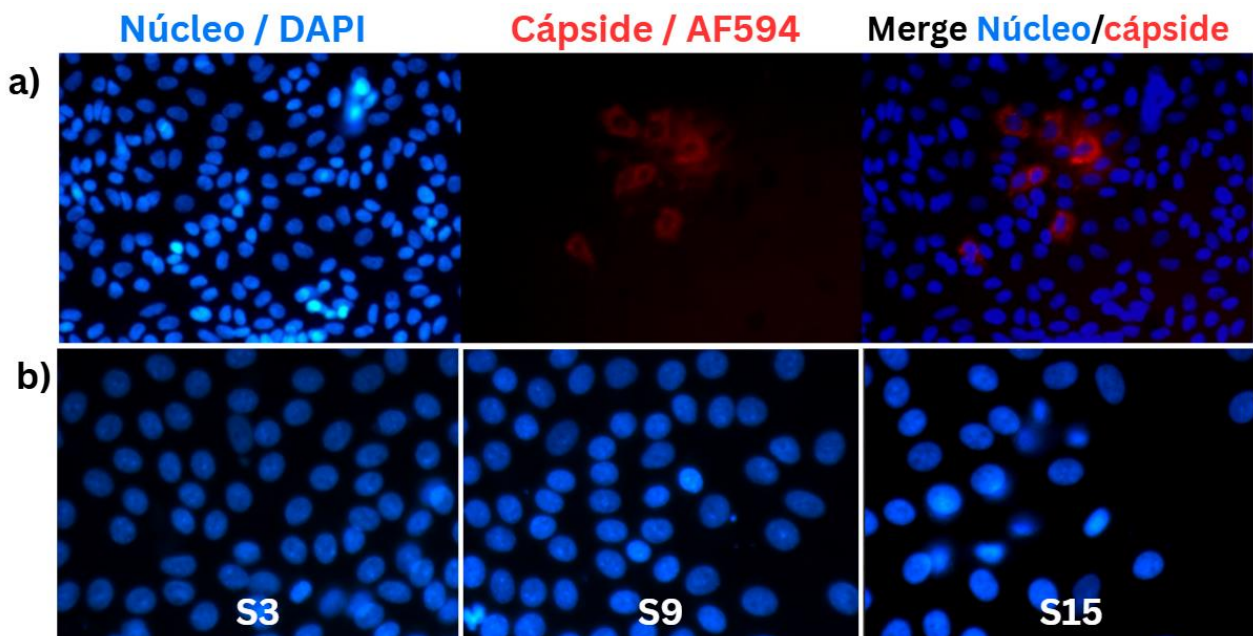
### 8.9 Detección de ARN del VHE en sobrenadantes de cultivos infectados con sueros de pacientes.

Las infecciones de células A549 se realizaron utilizando sueros correspondientes a pacientes en HD positivos a ARN del VHE y se mantuvieron durante un periodo de seis días. Durante este tiempo, se recolectaron alícuotas diarias de sobrenadante para la detección de ARN viral mediante PCR. El análisis de las muestras correspondientes al día 4 post infección mostró que sobrenadante celular correspondiente a la muestra 15 de los sobrenadantes resultó positivo para ARN del VHE, lo que indica la presencia de genoma viral en el sistema de cultivo tras la exposición al suero del paciente (Figura 20).



**Figura 20. Detección de ARN del VHE en sobrenadantes de células A549 infectadas con sueros de pacientes PCR.** Se muestra el análisis de muestras recolectadas al día 4 post infección. **M**: marcador de peso molecular; **-**: control negativo; **+**: control positivo. Los carriles correspondientes a los sueros de pacientes (S3, S4, S9, S15 y S31) se muestran a la derecha. La amplificación de un fragmento de **137 pb**, correspondiente a la región de **ORF2/3** del genoma del VHE, se observa en el control positivo y en la infección con el suero 15, confirmando la presencia de ARN viral en el sobrenadante.

Para evaluar la infección a nivel celular, se realizó tinción por inmunofluorescencia dirigida contra la proteína de la cápside viral. No se detectó señal positiva en las células infectadas con sueros de pacientes. Esta ausencia de señal no se atribuye a una falla técnica, ya que la tinción nuclear con DAPI fue positiva, evidenciando núcleos intactos y confirmando la correcta fijación y permeabilización celular (Figura 21a). Asimismo, los controles positivos células A549/N5 procesados en paralelo mostraron una señal clara para la cápside viral bajo las mismas condiciones experimentales, confirmando la funcionalidad del anticuerpo y del protocolo de inmunofluorescencia (Figura 21b).



**Figura 21. Análisis por inmunofluorescencia de células A549 infectadas con sueros de pacientes y controles.** **a)** Se muestran imágenes representativas de la tinción nuclear con DAPI (azul) y de la detección de la proteína de la cápside del virus de la hepatitis E (rojo) en células A549/N5 del control positivo. **b)** Imágenes correspondientes a las muestras infectadas con sueros de pacientes (3,9 y 15), muestran núcleos intensamente teñidos con DAPI, sin señal detectable para la cápside viral. Imágenes adquiridas mediante microscopía de fluorescencia utilizando un objetivo a) 20x y b) 10x

## 9. DISCUSIÓN

---

La HD ha sido reconocida históricamente como un factor de riesgo relevante para la adquisición de infecciones bacterianas y virales transmitidas por vía parenteral (Arenas et al., 2018; CDC, 2021). En particular, los virus VHB y VHC, así como el VIH, han sido ampliamente documentados como agentes infecciosos prevalentes en pacientes sometidos a HD (CDC, 2021). Este riesgo ha motivado que la investigación y la vigilancia clínica se hayan centrado tradicionalmente en estos virus, debido a su elevada prevalencia y a su impacto clínico bien establecido en la población bajo terapia de reemplazo renal (Ekrikpo et al., 2018; Geng et al., 2020).

En el contexto mexicano, este enfoque se refleja en normativas como la NOM-045-SSA2-2005, que establece la detección obligatoria del antígeno de superficie del VHB (HBsAg), de anticuerpos anti-VHC y anti-VIH, tanto en pacientes en HD así como la detección de estas etiologías en las máquinas utilizadas para este procedimiento (DOF, 2009). Asimismo, la NOM-253-SSA1-2012 contempla el tamizaje obligatorio de estos virus en sangre y hemoderivados destinados a transfusión (DOF, 2009). No obstante, aunque este esquema ha demostrado ser eficaz para los virus de hepatitis clásicos y VIH, no contempla de manera sistemática otros patógenos emergentes, lo que puede limitar la identificación oportuna de agentes con relevancia clínica.

Entre los patógenos emergentes no contemplados de forma rutinaria, el VHE ha cobrado creciente interés debido a su impacto en poblaciones inmunológica y clínicamente vulnerables, como pacientes en HD, trasplantados y personas inmunocomprometidas. Además, existe evidencia acumulada que respalda el potencial de transmisión del VHE por vía parenteral, incluyendo la exposición a hemoderivados y procedimientos invasivos frecuentes (Guinault et al., 2016; Jahani et al., 2020), aunque la mayoría de estos estudios se han concentrado en Asia y Europa.

En pacientes en tratamiento de HD, la exposición repetida a accesos vasculares, dispositivos extracorpóreos y transfusiones sanguíneas podría favorecer la transmisión del VHE (Haffar et al., 2017). La relevancia clínica del VHE en este grupo es particularmente importante si se considera que estos pacientes constituyen una proporción significativa de los candidatos a trasplante renal, quienes posteriormente recibirán terapia inmunosupresora, escenario en el que la infección por VHE se asocia con el desarrollo de cronicidad (Kamar et al., 2014; Dalton et al., 2018; Wu et al., 2020). En México de acuerdo con datos del IMSS, 79,689 personas reciben terapia de sustitución renal en esta institución, de las cuales 42,836 se encuentran en tratamiento de HD (IMSS, 2024). En este contexto, la identificación del VHE en esta población resulta particularmente relevante para estimar el riesgo de infección y evaluar la pertinencia de su inclusión dentro de la evaluación clínica rutinaria.

Bajo esta perspectiva, el presente estudio identificó una seroprevalencia de anticuerpos IgG anti-VHE del 14.9 % en una cohorte de pacientes en HD en México, lo que equivale aproximadamente

a uno de cada siete pacientes evaluados. Este hallazgo es relevante al situarse por encima de la seroprevalencia global estimada para pacientes en HD en metaanálisis internacionales. Haffar et al. (2018) reportaron una seroprevalencia global de 9.31 % para el periodo 1994–2016, mientras que Tavakoli et al. (2020) documentan un incremento progresivo hasta 11.13 % entre 2016 y 2020. La seroprevalencia observada en nuestro estudio no solo supera el promedio global más reciente, sino que sugiere una carga de exposición al VHE particularmente elevada en la población mexicana sometida a HD. Diversos estudios han reportado prevalencias que oscilan entre 4 % y 68 % en pacientes en HD (Tabla 1 complementaria, Anexo 10) y en algunos casos se ha observado una mayor seroprevalencia en comparación con la población general (Tabla 3).

Nuestra prevalencia es comparable a la reportada en países como Grecia (10.4 %), Argentina (9.7 %) y Líbano (21.6 %), lo que podría sugerir un perfil epidemiológico regional similar. No obstante, es inferior a la reportada en países asiáticos como Irán (68 %), Taiwán (31.0 %) y Japón (30.0 %), donde las prevalencias alcanzan valores excepcionalmente altos, posiblemente asociados a diferencias en patrones de exposición poblacional. Por el contrario, es superior a la observada en varios países europeos como Grecia (4.5 % y 6.4 %), España (6.3 %) e Italia (4.3 %) lo cual podría explicarse por diferencias en condiciones socio-sanitarias y esquemas de vigilancia más estrictos frente al VHE en esas regiones (Tabla complementaria 1).

La ausencia de anticuerpos IgM anti-VHE observada en nuestro estudio (0 %) es consistente con reportes previos en pacientes en HD, donde la detección de IgM ha sido baja o nula. Este patrón sugiere que la identificación de infecciones agudas mediante IgM en estudios transversales es poco frecuente, debido a la naturaleza transitoria de la respuesta IgM y al muestreo en un único punto temporal. La presencia exclusiva de IgG podría reflejar infecciones pasadas, subclínicas o una respuesta humoral limitada. Adicionalmente, la variabilidad observada en la seroepidemiología del VHE puede estar influida por el uso de distintos ensayos serológicos, como se resume en la Tabla 1 complementaria (Anexo 10). La ausencia de un estándar internacional de referencia, junto con la heterogeneidad en los antígenos evaluados (pORF2, pORF3), los puntos de corte y el desempeño analítico de los kits comerciales, contribuye a una amplia dispersión en las seroprevalencias reportadas entre estudios (Muñoz-Chimeno et al., 2024). En este contexto, la seroprevalencia de IgG anti-VHE del 14.9 % observada en el presente estudio debe interpretarse considerando el uso del ensayo ELISA de MIKROGEN DIAGNOSTIK.

A diferencia de los valores obtenidos por serología, en el presente estudio, el análisis molecular reveló una prevalencia de ARN del VHE del 37.3 %, significativamente superior a la detectada por serología. De los 25 pacientes con viremia, solo cinco presentaron simultáneamente anticuerpos IgG, mientras que los 20 restantes fueron seronegativos, lo que sugiere infecciones activas no detectadas por métodos serológicos convencionales. Esta discordancia es particularmente relevante en la población en HD, ya que resalta una limitación importante de la mayoría de los

estudios de seroprevalencia disponibles (Tabla 1 complementaria anexo 10), en los cuales solo una minoría incluye la detección de ARN viral y subestima, por lo tanto, la verdadera carga de infección por VHE en pacientes en HD.

La ausencia de seroconversión durante la infección activa por VHE ha sido documentada principalmente en poblaciones gravemente inmunocomprometidas, en quienes la disfunción de linfocitos B y T conduce a una respuesta humoral nula o retardada a pesar de la presencia de viremia (Kamar et al., 2008; Wen et al., 2018; Damiris et al., 2022). Si bien los pacientes en HD no se clasifican formalmente como inmunocomprometidos, existe evidencia consistente de un estado de inmunodeficiencia adquirida asociado a la insuficiencia renal crónica, derivado de la acumulación de toxinas urémicas que alteran la función del sistema inmune (Campo et al., 2022). Se ha descrito que toxinas urémicas como la  $\beta$ 2-microglobulina, los productos finales de glicación avanzada y la homocisteína interfieren tanto con la inmunidad innata como adaptativa, afectando la función de linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, linfocitos B, células presentadoras de antígeno, así como neutrófilos y macrófagos (Descamps-Latscha et al., 1995; Lisowska et al., 2012; Kim et al., 2012; Mansouri et al., 2017; Sun et al., 2018; Díaz-Ricar et al., 2020; Campo et al., 2022). A ello se suma un estado de inflamación crónica de bajo grado que favorece la inmunosenescencia (*inflammaging*), caracterizado por envejecimiento prematuro del sistema inmune y disminución de la diversidad y funcionalidad de las células T (Meijers et al., 2012; Crépin et al., 2020). La disfunción inmunológica en pacientes en HD ha sido confirmada por estudios de respuesta a la vacunación. Piotrowska et al. (2022) demuestran que, tras la vacunación contra COVID-19, los pacientes en HD presentan una tasa de seroconversión significativamente menor ( $\approx$ 60 %) y títulos de anticuerpos inferiores en comparación con individuos sanos, quienes alcanzan una seroconversión del 100 %, mientras que los receptores de trasplante renal muestran la respuesta más deficiente. De manera consistente, Fabrizi et al. (2020) reportan que la respuesta a la vacunación contra el VHB en pacientes con enfermedad renal crónica en diálisis es marcadamente inferior, con tasas de protección de 50–60 % frente a  $>$ 90 % en la población general, además de una disminución más acelerada de los títulos de anticuerpos a largo plazo. En conjunto, esta evidencia respalda que la ausencia de anticuerpos IgM/IgG anti-VHE observada en nuestra cohorte, a pesar de la presencia de viremia, podría explicarse por una respuesta humoral atenuada o retrasada asociada al estado de inmunodeficiencia adquirida característico de los pacientes en HD.

La combinación de viremia persistente y ausencia de anticuerpos planteó la posibilidad de infecciones crónicas. Sin embargo, tras un seguimiento de un año, solo un paciente cumplió con los criterios de infección crónica que se define por la detección persistente de ARN viral en al menos dos muestras separadas por un intervalo mínimo de tres meses (Kamar et al., 2008, Kamar et al., 2011 y Sanchez et al., 2022), mientras que el resto no presentó persistencia viral. Estos resultados sugieren que, en la mayoría de los casos, la infección por VHE en pacientes en HD correspondió a infecciones agudas subclínicas, con una respuesta humoral atenuada o retrasada.

Adicionalmente, al evaluar la evolución clínica durante el periodo de seguimiento, se identificó un aumento significativo en la mortalidad probablemente asociado a la infección por VHE en pacientes en HD. Aunque la naturaleza de nuestro estudio no permite establecer una relación causal directa entre la infección por el virus y la mortalidad, lo observado sugiere que la presencia de infección activa podría vincularse con un peor pronóstico clínico en pacientes sometidos a HD. En concordancia con esta observación, la mortalidad asociada al VHE ha sido documentada principalmente en poblaciones altamente vulnerables. Por ejemplo, durante brotes en Sudán se han reportado tasas de mortalidad de hasta 31.1 % en mujeres embarazadas (Boccia et al., 2006), así como tasas que oscilan entre 9.5 % y 35.7 % en pacientes con enfermedad hepática preexistente (Lee et al., 2021; Choi et al., 2022). De manera consistente, revisiones clínicas y guías internacionales reconocen que el VHE presenta una mayor letalidad que otros virus hepatotropos transmitidos por vía parenteral, particularmente en las poblaciones mencionadas. Finalmente, es importante considerar que la elevada prevalencia de VHE en pacientes en HD podría no deberse exclusivamente a la exposición asociada al tratamiento dialítico. Diversos estudios han descrito manifestaciones renales asociadas a infecciones por VHE (Tabla 2), por lo que no puede descartarse que, en algunos casos, una infección previa haya contribuido al deterioro progresivo de la función renal. Esto resalta la necesidad de considerar al VHE no solo como una infección oportunista en pacientes en HD, sino también como un potencial agente etiológico o agravante de la patología renal.

Por otro lado, la caracterización molecular permitió identificar al gt3 del VHE en la cohorte analizada en el presente estudio. Este hallazgo es epidemiológicamente coherente con el contexto geográfico y socioeconómico de la población estudiada, ya que los pacientes en HD proceden del norte de México, específicamente de Nogales, Sonora, una región fronteriza con Estados Unidos de América (EUA), país donde el gt3 presenta una alta circulación (Cossaboom et al., 2017). De manera consistente, el gt3 es el genotipo predominante en países industrializados y de ingresos medios (Wang et al., 2023). En este sentido, Sonora se ubica entre los estados más industrializados de México, ocupando el sexto lugar a nivel nacional (SE, 2025), perfil socioeconómico previamente asociado con la circulación predominante de los gt3 y gt4. En contraste, los gt1 y gt2 predominan en regiones con menor nivel de industrialización y con deficiencias en saneamiento básico, donde se asocian principalmente con brotes de transmisión hídrica (Wang et al., 2023). Aunque estos genotipos también han sido documentados en México, su circulación se ha reportado principalmente en el centro del país, particularmente en Jalisco y Morelos (Huang et al., 1992; Realpe-Quintero et al., 2018).

La identificación del gt3 en nuestra cohorte también concuerda con estudios previos que han documentado su circulación en reservorios animales en distintas regiones de México. Cooper et al. (2005) y Sotomayor-González et al. (2018) reportan gt3 en muestras de suero y heces de cerdos provenientes de granjas en Puebla, Estado de México, Sinaloa y Sonora, confirmando la presencia

de este genotipo en el norte del país. De manera complementaria, Medrano et al. (2012) reportan la circulación de VHE en ciervos cola blanca en el norte de México; aunque el genotipo no fue determinado, podemos hipotetizar con base en la literatura que corresponda al gt3, dado que los gt1 y gt2 son exclusivos de humanos y carecen de carácter zoonótico, mientras que el gt3 ha sido ampliamente documentado en especies silvestres como el ciervo rojo (Boadella et al., 2010). Considerando además que tanto la carne de cerdo como la de ciervo forman parte del consumo alimentario en diversas regiones del país, estos hallazgos respaldan la circulación regional de este genotipo. Aunque en el presente estudio no se identificó el consumo de carne como un factor de riesgo significativo para la infección por VHE en pacientes en HD, la evidencia disponible indica que el gt3 circula activamente en el entorno geográfico de la población estudiada. Adicionalmente, la dinámica transfronteriza entre México y EUA podría contribuir a la circulación regional del VHE y del gt3. En este sentido, se ha descrito un caso de hepatitis E en una mujer estadounidense tras una estancia breve en México, a menos de 50 millas de la frontera, sugiriendo el consumo de hielo triturado como posible vía de transmisión (Bader et al., 1992). Aunque este reporte sugiere transmisión desde México hacia EUA, no puede descartarse un flujo bidireccional del virus en zonas con alta movilidad poblacional. De acuerdo con datos oficiales, una proporción importante de migrantes que ingresan a Sonora proviene de EUA, así como de países como Venezuela y Cuba (SE, 2025), donde también se ha documentado la circulación del gt3 (Montalvo-Villalba et al., 2013; Gutiérrez-García et al., 2012). Esto sugiere que la movilidad humana podría contribuir adicionalmente a la dispersión regional del genotipo.

Más allá de su relevancia epidemiológica, la identificación del gt3 en nuestra cohorte tiene implicaciones clínicas importantes, ya que este genotipo se asocia preferentemente con infección persistente y crónica en humanos, a diferencia de los gt1 y gt2, que suelen causar infecciones agudas autolimitadas (Nimgaonkar et al., 2018). Aunque como se mencionó anteriormente, los pacientes en HD no se consideran formalmente inmunocomprometidos, la insuficiencia renal crónica se acompaña de una disfunción inmunológica adquirida que puede comprometer la eliminación viral y favorecer la persistencia del VHE, particularmente en infecciones por gt3 (Lisowska et al., 2012; Mansouri et al., 2017; Campo et al., 2022). Si bien, la mayoría de los pacientes de nuestra cohorte eliminaron el virus, la presencia de viremia prolongada sin seroconversión observada en un caso sugiere que este grupo podría situarse en un espectro de riesgo para el desarrollo de infección crónica. Por otra parte, una proporción considerable de pacientes en HD podrían ser candidatos a trasplante renal y, por ende, recibir terapia inmunosupresora. En este contexto, la identificación del VHE gt3 adquiere especial relevancia, ya que la inmunosupresión constituye uno de los principales factores de riesgo para la progresión a hepatitis E crónica y para la aparición de complicaciones asociadas al injerto (Kamar et al., 2008, 2011; Sánchez et al., 2022).

Dado que el VHE no es citopático, la infección y su evolución clínica dependen en gran medida de la respuesta inmune del hospedero. En este contexto, el análisis del perfil de citocinas permite

comprender los mecanismos implicados tanto en la eliminación viral como en la persistencia de la infección. Al momento de la inclusión, todos los pacientes fueron negativos para otros virus hepatotropos relevantes (VHA, VHB y VHC) permitiendo atribuir los hallazgos inmunológicos principalmente al contexto renal y a la infección por VHE.

Los resultados mostraron un incremento significativo de citocinas proinflamatorias y asociadas a respuesta Th1, particularmente IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  e IL-12p70 en pacientes sometidos a HD, mientras que la reducción de IL-10 se relacionó con la infección por VHE en estos pacientes (Figura 17). Estos hallazgos pueden interpretarse a la luz de estudios previos que han caracterizado la dinámica inmunológica durante la infección por este virus en otros contextos clínicos. Bhatia et al. (2025) al analizar longitudinalmente la evolución sérica de citocinas en pacientes con infección aguda autolimitada por VHE mediante muestreos seriados cada 2–4 días hasta la negativización del ARN viral reportan que la infección por VHE sigue una secuencia inmunológica regulada. En fases tempranas se observa un incremento de IFN- $\gamma$  previo a la eliminación viral, sugiriendo un papel antiviral inicial. Posteriormente, durante la fase de aclaramiento viral, aumentan citocinas efectoras y reguladoras como IL-2, TNF- $\alpha$  e IL-10, coincidiendo con la resolución clínica y virológica de la infección. En particular, el incremento tardío de IL-10 se interpreta como un mecanismo clave para la resolución inmunológica, al limitar la inflamación y favorecer el restablecimiento de la homeostasis inmune tras la eliminación viral. En contraste, en nuestra cohorte el grupo (+VHE+HD) presentó concentraciones marcadamente bajas de IL-10 (4.40 pg/ml), inferiores a las observadas en pacientes en HD sin infección (30.21 pg/ml), en pacientes con hepatitis E aguda sin HD (10.70 pg/ml) y comparables a las detectadas en pacientes con infección crónica (5.52 pg/ml). Este patrón sugiere que, aun cuando clínicamente los pacientes fueron clasificados como infecciones agudas debido a la negativización del ARN viral durante el seguimiento, podría no existir una resolución inmunológica completamente eficiente.

La baja concentración de IL-10 en pacientes (+VHE+HD) plantea dos escenarios no excluyentes: en primer lugar, podría existir una respuesta antiviral activa pero pobremente regulada, que prolongue o dificulte el aclaramiento viral; en segundo lugar, algunos pacientes podrían presentar mayor susceptibilidad a evolucionar hacia la cronicidad, a pesar de una clasificación inicial como infección aguda. Esta interpretación se ve reforzada por el hallazgo de que uno de los 25 pacientes con viremia persiste positivo para ARN del VHE durante al menos un año, cumpliendo criterios de infección crónica (Kamar et al., 2008; 2011; Sánchez et al., 2022). Aunque se trata de un caso aislado, propone que la cronicidad puede desarrollarse en pacientes en HD aun en ausencia de inmunosupresión clásica, para demostrar deberíamos tener más casos demostrados. La ausencia del pico compensatorio de IL-10 descrito en infecciones autolimitadas sugiere que, en pacientes en HD, la respuesta inmune frente al VHE puede permanecer activa de forma prolongada y desregulada. Este desequilibrio, sumado al estado proinflamatorio basal inducido por la terapia dialítica, podría comprometer tanto la eliminación viral eficiente como la contención del daño

inmunomediado, creando un entorno propicio para una evolución clínica desfavorable. En concordancia con este reporte, en nuestro estudio el grupo sin infección por VHE sometido a HD (-VHE+HD) presentó los niveles más elevados de IL-10 (30.21 pg/ml), dentro del rango asociado a mejor pronóstico. Por el contrario, los pacientes con infección por VHE y en HD mostraron concentraciones considerablemente menores, lo que sugiere que la infección viral podría exacerbar la desregulación inmunológica preexistente, contribuyendo a una evolución clínica desfavorable y posiblemente explicando la mayor mortalidad observada en este grupo.

Finalmente, resulta relevante destacar la ausencia de alteraciones hepáticas en los pacientes con infección por VHE incluidos en este estudio, pese a tratarse de un virus predominantemente hepatotrópico. Este hallazgo es particularmente importante en el contexto de enfermedad renal, ya que la mayoría de los reportes de manifestaciones renales asociadas a VHE también documentan alteraciones hepáticas concomitantes (Tabla 2). Nuestros resultados sugieren que la infección por VHE puede presentarse con manifestaciones extrahepáticas predominantes incluso en ausencia de compromiso hepático detectable. Aunque este fenómeno también ha sido descrito en manifestaciones neurológicas asociadas a VHE, como síndrome de Guillain-Barré, amiotrofia neurálgica, encefalitis y neuropatías periféricas, incluso sin alteraciones hepáticas evidentes (Fousekis et al., 2020), nuestro estudio aporta evidencia en el contexto específico de enfermedad renal, ampliando el espectro clínico reconocido de la infección y resaltando el carácter sistémico del VHE más allá de su tropismo hepático.

Con el propósito de continuar el estudio de hepatitis E en escenarios distintos a alteración hepática, en el presente estudio nos propusimos optimizar condiciones de cultivo de virus recuperados de pacientes con daño renal asociado a la infección en ausencia de daño hepático. La optimización de modelos de infección in vitro con este virus empleando sueros de pacientes representa un reto metodológico, ya que la eficiencia de infección depende en gran medida de la carga viral y de la integridad de las partículas virales presentes en las muestras clínicas. En la mayoría de los estudios experimentales, la carga viral se cuantifica previamente para estandarizar el inóculo y asegurar niveles adecuados de infección celular (Shiota et al., 2015; Schemmerer et al., 2016; Zhang et al., 2022). En nuestro estudio, la carga viral de los sueros utilizados era desconocida y posiblemente baja, lo que pudo limitar la infección celular y la acumulación detectable de proteínas virales. Además, la detección de ARN viral no implica necesariamente la presencia de virus infecciosos, ya que la integridad de las partículas puede verse comprometida durante el manejo y almacenamiento de las muestras, reduciendo su capacidad infectiva (Takahashi et al., 2010). En consecuencia, aunque el ARN viral fue detectable tras la infección experimental, la expresión de la proteína de la cápside permaneció por debajo del umbral de detección por inmunofluorescencia durante el periodo evaluado. Por ello, como continuación de este trabajo, será necesario optimizar una metodología de RT-qPCR que permita cuantificar la carga viral y estandarizar el inóculo para mejorar la eficiencia del modelo de infección.

## 10. CONCLUSIONES

---

El gt3 del VHE circula entre pacientes en HD en México. La detección de anticuerpos por sí sola no es suficiente para identificar la infección en esta población. Por lo tanto, la detección del genoma viral es esencial. La infección puede ocurrir en ausencia de disfunción hepática y niveles disminuidos de IL-10 se asocian con la presencia del VHE en estos pacientes. Dado que el VHE actualmente no está incluido en el diagnóstico diferencial de la enfermedad renal en México, nuestros resultados subrayan la necesidad de profundizar en el estudio del efecto del virus en este contexto. La continuidad en la optimización del modelo de infección con el VHE in vitro abre la puerta para comprender los mecanismos involucrados en el desarrollo de manifestaciones extrahepáticas asociadas a la infección, evaluar candidatos antivirales y aislar cepas virales locales.

La principal relevancia de este estudio radica en la identificación de afectación renal asociada a infección por VHE en ausencia de alteración hepática detectable. Aunque la mayoría de los reportes de compromiso renal descritos en la literatura, incluidos los resumidos en la Tabla 2, se documentan en el contexto de alteraciones bioquímicas o estructurales hepáticas, en nuestra cohorte se evidenció manifestación renal sin datos clínicos ni analíticos de daño hepático.

Este fenómeno no es completamente inédito dentro del espectro de manifestaciones extrahepáticas del VHE. Por ejemplo, complicaciones neurológicas como el síndrome de Guillain–Barré y la neuralgia amiotrófica han sido descritas en pacientes sin correlación directa con la magnitud del compromiso hepático (Sood et al., 2000), lo que respalda la hipótesis de un tropismo y de efectos extrahepáticos independientes de la lesión hepática.

Así mismo, estudios recientes han comenzado a documentar infecciones crónicas por VHE con escasa o nula evidencia de daño hepático clínico o analítico, lo que subraya la necesidad de considerar este virus en el diagnóstico diferencial de manifestaciones extrahepáticas fuera del contexto clásico de hepatitis. En conjunto, nuestros hallazgos refuerzan la importancia de explorar la posible relación entre VHE y enfermedad renal crónica, incluso en presencia de pruebas de función hepática

## 11. REFERENCIAS

---

1. Abravanel, F., Lhomme, S., Chapuy-Regaud, S., Mansuy, J. M., Muscari, F., Sallusto, F., Rostaing, L., Kamar, N., & Izopet, J. (2014). Hepatitis E virus reinfections in solid-organ-transplant recipients can evolve into chronic infections. *The Journal of Infectious Diseases*, 209\*(12), 1900–1906. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu032>
2. Abravanel, F., Nicot, F., Lhomme, S., Cazabat, M., Drumel, T., Velay, A., Latour, J., Belliere, J., Cintas, P., Kamar, N., & Izopet, J. (2021). Hepatitis E virus quasispecies in cerebrospinal fluid with neurological manifestations. *Vaccines*, 9\*(10), 1205. <https://doi.org/10.3390/vaccines9101205>
3. Ahmed, Z., Holla, P., Ahmad, I., & Jameel, S. (2016). The ATP synthase subunit  $\beta$  (ATP5B) is an entry factor for the hepatitis E virus. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/059428>
4. Akira, S., Uematsu, S., & Takeuchi, O. (2006). Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124\*(4), 783–801. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.015>
5. American Kidney Fund. (n.d.). *La hepatitis C y la enfermedad renal*. <https://www.kidneyfund.org/es/todo-sobre-los-rinones/complicaciones-de-la-enfermedad-renal/la-hepatitis-c-y-la-enfermedad-renal>
6. Arankalle, V. A., Chadha, M. S., Tsarev, S. A., Emerson, S. U., Risbud, A. R., Banerjee, K., & Purcell, R. H. (1994). Seroepidemiology of water-borne hepatitis in India and evidence for a third enterically transmitted hepatitis agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91\*(8), 3428–3432. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.8.3428>
7. Aslan, A. T., & Balaban, H. Y. (2020). Hepatitis E virus: Epidemiology, diagnosis, clinical manifestations, and treatment. *World Journal of Gastroenterology*, 26\*(37), 5543–5560. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i37.5543>
8. Bader, T. F., Krawczynski, K., Polish, L. B., & Favorov, M. O. (1991). Hepatitis E is a U.S. traveler to Mexico. *New England Journal of Medicine*, 325\*(23), 1659. <https://doi.org/10.1056/NEJM199112053252317>
9. Bajaj, J. S., O’Leary, J. G., Lai, J. C., Wong, F., Long, M. D., Wong, R. J., & Kamath, P. S. (2022). Guías clínicas para insuficiencia hepática aguda a crónica. *The American Journal of Gastroenterology*, 117\*(2), 225–252. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001595>
10. Balayan, M. S., Andjaparidze, A. G., Savinskaya, S. S., Ketiladze, E. S., Braginsky, D. M., Savinov, A. P., & Poleschuk, V. F. (1983). Evidence of a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted by the fecal-oral route. *Intervirology*, 20\*(1), 23–31. <https://doi.org/10.1159/000149370>
11. Behrendt, P., Bremer, B., Todt, D., Brown, R. J., Heim, A., Manns, M. P., ... & Wedemeyer, H. (2016). Hepatitis E virus (HEV) ORF2 antigen levels differentiate between acute and chronic HEV infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 214\*(3), 361–368. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw151>
12. Behrendt, P., Friesland, M., Wißmann, J. E., Kinast, V., Stahl, Y., Pratitya, D., ... & Steinmann, E. (2022). Hepatitis E virus is highly resistant to alcohol-based disinfectants. *Journal of Hepatology*, 76\*(5), 1062–1069. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.01.006>
13. Bi, H., Yang, R., Wu, C., & Xia, J. (2020). Hepatitis E virus and blood transfusion safety. *Epidemiology and Infection*, 148\*, e158. <https://doi.org/10.1017/S0950268820001429>
14. Björkstöm, N., N. K., Strunz, B., & Ljunggren, H.-G. (2022). Natural killer cells in antiviral immunity. *Nature Reviews Immunology*, 22\*(2), 112–123. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00628-7>
15. Boadella, M., Casas, M., Martín, M., Vicente, J., Segalés, J., & de la Fuente, J. (2010). Increased contact with hepatitis E virus in red deer, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 16\*(12), 1994–1996. <https://doi.org/10.3201/eid1612.100847>
16. Brüggemann, Y., Klöhn, M., Wedemeyer, H., Steinmann, E., & Todt, D. (2024). Hepatitis E virus: From innate sensing to adaptive immune responses. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 21\*, 710–725. <https://doi.org/10.1038/s41575-024-00950-z>
17. Brüggemann, Y., Frericks, N., Richter, E., Kinast, V., & Steinmann, E. (2025). How hepatitis E virus invades hepatocytes: The mystery of viral entry. *Trends in Microbiology*, 33(8), 866–874. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.03.015>
18. Caligiuri, M. A. (2008). Human natural killer cells. *Blood*, 112\*(3), 461–469. <https://doi.org/10.1182/blood-2007-09-077438>

19. Cancela, F., Noceti, O., Arbiza, J., & Mirazo, S. (2022). Structural aspects of hepatitis E virus. *\*Archives of Virology*, 167\*(12), 2457–2481. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05575-8>
20. Cantú-Martínez, M. A., Roig-Sagués, A. X., Cedillo-Rosales, S., Zamora-Ávila, D. E., Avalos-Ramírez, R. (2013). Detección molecular del virus de la hepatitis E en hígados de cerdo destinados al consumo humano en el estado de Nuevo León, México. *\*Salud Pública de México*, 55\*(2), 155–160. <https://doi.org/10.1590/s0036-36342013000200011>
21. Centers for Disease Control and Prevention. (2021). *\*Infection Prevention Guidelines for Dialysis Facilities\**. <https://www.cdc.gov/dialysis/index.html>
22. Chandra, V., Kar-Roy, A., Kumari, S., Mayor, S., & Jameel, S. (2008). The hepatitis E virus ORF3 protein modulates epidermal growth factor receptor trafficking, STAT3 translocation, and the acute-phase response. *\*Journal of Virology*, 82\*(14), 7100–7110. <https://doi.org/10.1128/JVI.00403-08>
23. Chen, Z., Guo, S., Li, G., Ying, D., Wen, G., Fang, M., ... & Xia, N. (2022). A secreted form of the hepatitis E virus ORF2 protein: Design strategy, antigenicity, and immunogenicity. *\*Viruses*, 14\*(10), 21.22. <https://doi.org/10.3390/v14102122>
24. Choi, J. W., Son, H. J., Lee, S. S., Jeon, H., Cho, J. K., Kim, H. J., Cha, R. R., Lee, J. M., Kim, H. J., Jung, W. T., & Lee, O. J. (2022). Acute hepatitis E virus superinfection increases mortality in patients with cirrhosis. *\*BMC Infectious Diseases*, 22\*(1), 62. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07050-w>
25. Choi, Y., Zhang, X., & Skinner, B. (2019). Análisis de los niveles protectores de anticuerpos anti-HEV IgG durante la reinfección por el virus de la hepatitis E en macacos rhesus infectados experimentalmente. *\*Journal of Infectious Diseases*, 219\*(6), 916–924. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy603>
26. Choi, Y. H., Zhang, X., Tran, C., & Skinner, B. (2018). Expression profiles of host immune response-related genes against HEV genotype 3 and genotype 1 infections in rhesus macaques. *\*Journal of Viral Hepatitis*, 25\*(8), 986–995. <https://doi.org/10.1111/jvh.12891>
27. Cooper, K., Huang, F. F., Batista, L., Rayo, C. D., Bezanilla, J. C., Toth, T. E., & Meng, X. J. (2005). Identification of genotype 3 hepatitis E virus in serum and fecal samples from pigs in Thailand and Mexico, where genotype 1 and 2 hepatitis E virus strains are prevalent in the respective human populations. *\*Journal of Clinical Microbiology*, 43\*(4), 1684–1688. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1684-1688.2005>
28. Copado-Villagrana, E. D., Pizuorno, A., García-Suárez, A., Abarca, J. C., DuPont, G., Jaramillo-Bueno, S., & Fierro, N. A. (2023). IL-18 discriminates highly frequent hepatitis E virus-positive blood donors from negatives in Mexico. *\*Annals of Hepatology*, 28\*(5), 101117. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2023.101117>
29. Corneillie, L., Lemmens, I., Montpellier, C., Ferrié, M., Weening, K., Van Houtte, F., ... & Meuleman, P. (2023). Phosphatidylserine receptor TIM1 promotes enveloped hepatitis E virus infection. *\*Cellular and Molecular Life Sciences*, 80\*(11), 326. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04977-4>
30. Cossaboom, C. M., Heffron, C. L., Cao, D., Yugo, D. M., Houk-Miles, A. E., Lindsay, D. S., Zajac, A. M., Bertke, A. S., Elvinger, F., & Meng, X. J. (2016). Factores de riesgo y fuentes de infección alimentaria por el virus de la hepatitis E en Estados Unidos. *\*Journal of Medical Virology*, 88\*(9), 1641–1645. <https://doi.org/10.1002/jmv.24497>
31. Dalton, H. R., Fellows, H. J., Stableforth, W., Joseph, M., Thuraiajah, P. H., Warshow, U., ... & Bendall, R. P. (2007). The role of hepatitis E virus testing in drug-induced liver injury. *\*Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 26\*(10), 1429–1435. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03500.x>
32. Dalton, H., H. R., Kamar, N., van Eijk, J. J. J., McLean, B. N., Cintas, P., Bendall, R. P., & Izopet, J. (2018). Hepatitis E virus and neurological injury. *\*Nature Reviews Neurology*, 14\*(2), 77–85. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2017.187>
33. Damaris, K., Aghaie, Meybodi, M., Niazi, M., & Pysopoulos, N. (2022). Hepatitis E in immunosuppressed individuals. *\*World Journal of Hepatology*, 14\*(3), 482–494. <https://doi.org/10.4254/wjh.v14.i3.482>
34. Das, A., Rivera-Serrano, E., E. E., Yin, X., & Lemon, S. M. (2023). Cellular entry and release of quasi-enveloped human hepatitis viruses. *\*Nature Reviews Microbiology*, 21\*(9), 573–589. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00889-z>
35. Davern, T. J., Chalasani, N., Fontana, R. J., Hayashi, P. H., Protiva, P., Kleiner, D. E., ... & Drug-Induced Liver Injury Network. (2011). Acute hepatitis E infection accounts for some cases of suspected

- drug-induced liver injury. *\*Gastroenterology*, 141\*(5), 1665–1672. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.07.051>
36. Del Bello, A., Guilbeau-Frugier, C., Josse, A., A. G., Rostaing, L., Izopet, J., & Kamar, N. (2015). Successful treatment of hepatitis E virus-associated cryoglobulinemic membranoproliferative glomerulonephritis with ribavirin. *\*Transplant Infectious Disease*, 17\*(2), 279–283. <https://doi.org/10.1111/tid.12351>
  37. Desenvaux, Y., Moradpour, D., Neyts, J., & Gouttenoire, J. (2016). Actualización sobre la virología de la hepatitis E: Implicaciones para la práctica clínica. *\*Review*, 65\*(1), 200–212.
  38. Devhare, P. B., Chatterjee, S. N., Arankalle, V. A., & Lole, K. S. (2013). Analysis of antiviral response in human epithelial cells infected with hepatitis E virus. *\*PLoS ONE*, 8\*(5), e 63793. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.006379>
  39. Di Bartolomeo, S., Carubbi, F., & Cipriani, P. (2020). Hepatitis E virus and rheumatic diseases: what should rheumatologists know? *\*BMC Rheumatology*, 4\*, 51. <https://doi.org/10.1186/s41927-020-00150-x>
  40. Ding, Q., Heller, B., Capuccino, J. M., Song, B., Nimgaonkar, I., Hrebikova, G., ... & Ploss, A. (2017). Hepatitis E virus ORF3 is a functional ion channel required for release of infectious particles. *\*Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114\*(5), 1147–1152. <https://doi.org/10.1073/pnas.161495511>
  41. Dong, C., Zafrullah, M., Mixson-Hayden, T., Dai, X., Liang, J., Meng, J., & Kamili, S. (2012). Suppression of interferon- $\alpha$  signaling by hepatitis E virus. *\*Hepatology*, 55\*(5), 1324–1332. <https://doi.org/10.1002/hep.24775>
  42. Duan, B., & Feng, Y. (2024). Current knowledge of the epidemiology and detection methods of hepatitis E virus in China. *\*Virology Journal*, 21\*, 307. <https://doi.org/10.1186/s12985-024-02576-8>
  43. EFSA. (2017). Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *\*EFSA Journal*, 15\*(7), e04886. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4886>
  44. El-Mokhtar, M. A., Seddik, M. I., Osman, A., Adel, S., Abdel Aziz, E. M., Mandour, S. A., Mohammed, N., Zarzour, M. A., Abdel-Wahid, L., Radwan, E., & Sayed, I. M. (2020). El virus de la hepatitis E media la lesión renal mediante la interacción entre las células inmunitarias y el epitelio renal. *\*Vaccines*, 8\*(3), 425. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030454>
  45. European Association for the Study of the Liver. (2018). EASL clinical practice guidelines on hepatitis E virus infection. *\*Journal of Hepatology*, 68\*(6), 1256–1271. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.005>
  46. Fabrizi, F., Cerutti, R., Dixit, V., & Ridruejo, E. (2021). Hepatitis B virus vaccine and chronic kidney disease. The advances. *\*Nefrología*, 41\*(2), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2020.08.005>
  47. Fan, M., He, S., Li, X., Wu, Q., Zhao, Y., & Zhou, Y. (2021). Cell division control protein 42 interacts with hepatitis E virus capsid protein and participates in hepatitis E virus infection. *\*Frontiers in Microbiology*, 12\*, 775083. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.775083>
  48. Fattovich, G., Bortolotti, F., & Donato, F. (2008). Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *\*Journal of Hepatology*, 48\*(2), 335–352. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2007.11.011>
  49. Feng, Z., & Lemon, S. M. (2019). Innate immunity to enteric hepatitis viruses. *\*Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9\*(3), a033464. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033464>
  50. Fierro, N. A. (2023). Advances in hepatitis E virus. *\*Pathogens*, 12\*(8), 987. <https://doi.org/10.3390/pathogens12080987>
  51. Fousekis, F. S., Mitselos, I. V., & Christodoulou, D. K. (2020). Extrahepatic manifestations of hepatitis E virus: An overview. *\*Clinical and Molecular Hepatology*, 26\*(1), 16–23. <https://doi.org/10.3350/cmh.2019.0082>
  - 52.
  53. Francesco, R., & Carfi, A. (2007). Advances in the development of new therapeutic agents targeting the NS3-4A serine protease or the NS5b RNA-dependent RNA polymerase of the hepatitis C virus. *\*Advanced Drug Delivery Reviews*, 59\*(12), 1242–1262. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.018>
  54. Fu, R., Engels, Z., Weihs, J. A., Mürle, J., Klöhn, M., Todt, D., ... & Dao Thi, V. L. (2023). A high-content RNA-based imaging assay reveals integrin beta 1 as a cofactor for non-enveloped hepatitis E virus cell entry. *\*bioRxiv\**. <https://doi.org/10.1101/2023.10.27.564362>

55. Gallian, P., Piquet, Y., Assal, A., Djoudi, R., Chiaroni, J., Izopet, J., & Tiberghien, P. (2014). Virus de l'hépatite E, implications en transfusion sanguine. *\*Transfusion Clinique et Biologique*, 21\*(4-5), 173–177. <https://doi.org/10.1016/j.tracli.2014.07.007>
56. Geng, Y., & Wang, Y. (2016). Epidemiología de la hepatitis E. *\*Advances in Experimental Medicine and Biology*, 948\*, 39–59. [https://doi.org/10.1007/978-94-024-0942-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-024-0942-0_3)
57. Geng, Y., Shi, T., & Wang, Y. (2023). Hepatitis E virus transmission. In Y. Wang (Ed.), *\*Hepatitis E Virus\** (pp. 81–99). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6_6)
58. Geng, X. X., Tian, Z., Liu, Z., Chen, X. M., & Xu, K. J. (2020). Relaciones entre la infección por hepatitis B y la enfermedad renal crónica: resultados de 10 años de la muestra nacional de pacientes hospitalizados de EE. UU. *\*Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 39\*(4), 172–177. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2020.02.029>
59. Girish, V., Grant, L. M., & Sharma, B. (2025, April 6). *\*Hepatitis E\**. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532278/>
60. Glitscher, M., Himmelsbach, K., Woytinek, K., Schollmeier, A., Johne, R., Reuter, A., ... & Hildt, E. (2021). Identification of the interferon-inducible GTPase GBP1 as major restriction factor for hepatitis E virus. *\*Journal of Virology*, 95\*(6), e01564-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.01564-20>
61. Gouilly, J., Chen, Q., Siewiera, J., Cartron, G., Levy, C., Dubois, M., ... & Blanchard, N. (2018). Genotype-specific pathogenicity of hepatitis E virus at the human maternal–fetal interface. *\*Nature Communications*, 9\*, 4748. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07060-0>
62. Guinault, D., Ribes, D., Delas, A., Milongo, D., Abravanel, F., Puissant-Lubrano, B., ... & Kamar, N. (2016). Hepatitis E virus–induced cryoglobulinemic glomerulonephritis in a nonimmunocompromised person. *\*American Journal of Kidney Diseases*, 67\*(4), 660–663. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.11.011>
63. Haase, J. A., Schlienkamp, S., Ring, J. J., & Steinmann, E. (2025). Patrones de transmisión del virus de la hepatitis E. *\*Current Opinion in Virology*, 70\*, 101451. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2025.101451>
64. Hansrivijit, P., Trongtorsak, A., Puthenpura, M. M., Boonpheng, B., Thongprayoon, C., Wijarnpreecha, K., ... & Cheungpasitporn, W. (2021). Hepatitis E in solid organ transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. *\*World Journal of Gastroenterology*, 27\*(12), 1240–1254. <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i12.1240>
65. He, Q., Zhang, Y., Gong, W., Zeng, H., & Wang, L. (2023). Genetic evolution of hepatitis E virus. In Y. Wang (Ed.), *\*Hepatitis E Virus\** (pp. 63–79). Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6_5)
66. Hermann, M., & Bogunovic, D. (2017). ISG15: In sickness and in health. *\*Trends in Immunology*, 38\*(2), 79–93. <https://doi.org/10.1016/j.it.2016.11.001>
67. Hingane, S., Joshi, N., Surjit, M., & Ranjith-Kumar, C. T. (2020). Hepatitis E virus ORF2 inhibits RIG-I-mediated interferon response. *\*Frontiers in Microbiology*, 11\*, 656. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00656>
68. Holla, P., Ahmad, I., Ahmed, Z., & Jameel, S. (2015). Hepatitis E virus enters liver cells through a receptor-mediated clathrin-dependent endocytic pathway. *\*Traffic*, 16\*(4), 362–373. <https://doi.org/10.1111/tra.12260>
69. Hollande, C., Parlati, L., & Pol, S. (2021). Hepatitis virales A y E. *\*EMC - Tratado de Medicina*, 25\*(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(21\)44688-X](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(21)44688-X)
70. Horvatits, T., Schulze zur Wiesch, J., Lütgehetmann, M., Lohse, A. W., & Pischke, S. (2019). The clinical perspective on hepatitis E virus. *\*Viruses*, 11\*(7), 617. <https://doi.org/10.3390/v11070617>
71. Horvatits, T., Wißmann, J. E., Johne, R., Groschup, M. H., Gadicherla, A. K., ... & Pischke, S. (2021). Hepatitis E virus persists in the semen of chronically infected men. *\*Journal of Hepatology*, 74\*(5), 1056–1065. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2020.12.030>
72. Huang, C. C., Nguyen, D., Fernández, J., Yun, K. Y., Fry, K. E., Bradley, D. W., ... & Reyes, G. R. (1992). Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). *\*Virology*, 191\*(2), 550–558. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(92\)90230-T](https://doi.org/10.1016/0042-6822(92)90230-T)
73. Institute for Health Metrics and Evaluation. (2024). *\*Acute hepatitis E—Level 4 cause (Factsheet)\**. <https://www.healthdata.org/research-analysis/diseases-injuries-risks/factsheets/2021-acute-hepatitis-e-level-4-disease>

74. International Committee on Taxonomy of Viruses. (2023). \*Virus Taxonomy: 2023 Release – Family Hepeviridae, Genus Paslahepevirus, Species Paslahepevirus balayani\*. <https://ictv.global/report/chapter/hepeviridae/hepeviridae/orthohepevirinae/paslahepevirus>
75. Janahi, E. M., Parkar, S. F. D., Mustafa, S., & Eisa, Z. M. (2020). Implications of hepatitis E virus in blood transfusions, hemodialysis and solid organ transplantation. \*Medicina, 56\*(5), 206. <https://doi.org/10.3390/medicina56050206>
76. Jaroszewicz, J., Flisiak, R., Kalinowska, A., Wierzbicka, I., & Prokopowicz, D. (2005). Acute hepatitis E complicated by acute pancreatitis: Case report and review of the literature. \*Pancreas, 30\*(4), 382–384. <https://doi.org/10.1097/01.mpa.0000159846.12640.40>
77. Ju, C., & Tacke, F. (2016). Hepatic macrophages in homeostasis and liver diseases. \*Cellular & Molecular Immunology, 13\*(3), 316–327. <https://doi.org/10.1038/cmi.2015.74>
78. Ju, X., Dong, L., & Ding, Q. (2023). Life cycle of hepatitis E virus. \*Advances in Experimental Medicine and Biology, 1417\*, 141–157. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6\\_10](https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6_10)
79. Kamar, N., Dalton, H. R., Abravanel, F., & Izopet, J. (2014). Hepatitis E virus infection. \*Clinical Microbiology Reviews, 27\*(1), 116–138. <https://doi.org/10.1128/CMR.00057-13>
80. Kamar, N., Garrouste, C., Haagsma, E. B., Garrigue, V., Pischke, S., Chauvet, C., ... & Izopet, J. (2011). Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. \*Gastroenterology, 140\*(5), 1481–1489. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.02.050>
81. Kamar, N., Mansuy, J. M., Esposito, L., Legrand-Abravanel, F., Peron, J. M., Durand, D., ... & Izopet, J. (2005). Acute hepatitis and renal function impairment related to infection by hepatitis E virus in a renal allograft recipient. \*American Journal of Kidney Diseases, 45\*(1), 193–196. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2004.09.027>
82. Kamar, N., Selves, J., Mansuy, J. M., Ouezzani, L., Peron, J. M., Guitard, J., ... & Izopet, J. (2008). Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. \*The New England Journal of Medicine, 358\*(8), 811–817. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0706992>
83. Kamar, N., Weclawiak, H., Guilbeau-Frugier, C., Legrand-Abravanel, F., Cointault, O., Ribes, D., ... & Rostaing, L. (2012). Hepatitis E virus and the kidney in solid-organ transplant patients. \*Transplantation, 93\*(6), 617–623. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e318245f108>
84. Karki, P., Malik, S., Mallick, B., Sharma, V., & Rana, S. S. (2016). Massive hemolysis causing renal failure in acute hepatitis E infection. \*Journal of Clinical and Translational Hepatology, 4\*(4), 345–347. <https://doi.org/10.14218/JCTH.2016.00041>
85. Kevorkyan, A., Golkocheva-Markova, E., Raycheva, R., Rangelova, V., Komitova, R., Atanasova, M., Tzekov, V., Kostadinova, T., & Chardakova, T. (2023). Infección por el virus de la hepatitis E (HEV) entre pacientes de hemodiálisis del sur de Bulgaria. \*Pathogens, 12\*(10), 1208. <https://doi.org/10.3390/pathogens12101208>
86. Kogias, D., Skeva, A., Smyrlis, A., Mourvati, E., Kantartzi, K., Romanidou, G., Kalientzidou, M., Rekari, V., Konstantinidou, E., Kiorteve, P., Paroglou, I., Papadopoulos, V., Konstantinidis, T., Panopoulou, M., & Mimidis, K. (2023). Infección por el virus de la hepatitis E (HEV) en pacientes de hemodiálisis: un estudio de cohorte epidemiológico multicéntrico en el noreste de Grecia. \*Pathogens, 12\*(5), 667. <https://doi.org/10.3390/pathogens12050667>
87. Koonin, E. V., Krupovic, M., & Agol, V. I. (2021). The Baltimore classification of viruses 50 years later: How it stands in the light of virus evolution. \*Microbiology and Molecular Biology Reviews, 85\*(3), e00053-21. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00053-21>
88. Kumar, A., & Saraswat, V. A. (2013). Hepatitis E and acute-on-chronic liver failure. \*Journal of Clinical and Experimental Hepatology, 3\*(3), 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2013.08.010>
89. Kumar, M., Hooda, P., Khanna, M., Patel, U., & Sehgal, D. (2020). Development of BacMam-induced hepatitis E virus replication model in hepatoma cells to study polyprotein processing. \*Frontiers in Microbiology, 11\*, 1347. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01347>
90. Kumar Acharya, S., Kumar Sharma, P., Singh, R., Kumar Mohanty, S., Madan, K., Kumar Jha, J., ... & Panda, S. K. (2007). Hepatitis E virus (HEV) infection in patients with cirrhosis is associated with rapid decompensation and death. \*Journal of Hepatology, 46\*(3), 387–394. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2006.09.016>

91. LeDesma, R., Heller, B., Biswas, A., Maya, S., Gili, S., Higgins, J., & Ploss, A. (2023). Structural features stabilized by divalent cation coordination within hepatitis E virus ORF1 are critical for viral replication. *eLife*, 12\*, e80529. <https://doi.org/10.7554/eLife.80529>
92. Lee, G. H., Tan, B. H., Teo, E. C., Lim, S. G., Dan, Y. Y., Wee, A., ... & Teo, C.-G. (2016). Chronic infection with camelid hepatitis E virus in a liver transplant recipient who regularly consumes camel meat and milk. *Gastroenterology*, 150\*(2), 355-357.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.048>
93. Lee, M. S., & Kim, Y.-J. (2007). Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk. *Annual Review of Biochemistry*, 76\*, 447–480. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.76.060605.122847>
94. Li, H., Yang, H., Zhao, Q., Cao, H., Han, S., & Zhao, J. (2019). Chicken organic anion-transporting polypeptide 1A2, a novel avian hepatitis E virus (HEV) ORF2-interacting protein, is involved in avian HEV infection. *Journal of Virology*, 93\*(9), e02205-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.02205-18>
95. Li, P., Liu, J., Li, Y., Su, J., Ma, Z., Bramer, W. M., ... & Pan, Q. (2020). The global epidemiology of hepatitis E virus infection: A systematic review and meta-analysis. *Liver International*, 40\*(7), 1516–1528. <https://doi.org/10.1111/liv.14468>
96. Lin, Z., Zhang, Z., Deng, X., Li, X., Wu, C., Li, S., ... & Luo, T. (2022). Evaluation of potential anti-hepatitis A virus 3C protease inhibitors using molecular docking. *Molecules*, 27\*(11), 3505. <https://doi.org/10.3390/molecules27113505>
97. Liu, T., Cao, Y., Weng, J., Gao, S., Jin, Z., Zhang, Y., ... & Zhang, Z. (2024). Hepatitis E virus infects human testicular tissue and Sertoli cells. *Emerging Microbes & Infections*, 13\*(1), 2332657. <https://doi.org/10.1080/22221751.2024.2332657>
98. Longer, C. F., Denny, S. L., Caudill, J. D., Miele, T. A., Asher, L. V., Myint, K. S., ... & Reyes, G. R. (1993). Experimental hepatitis E: Pathogenesis in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *The Journal of Infectious Diseases*, 168\*(3), 602–609. <https://doi.org/10.1093/infdis/168.3.602>
99. López-Santaella, T., Álvarez y Muñoz, T., Medeiros-Domingo, M., Moreno-Espinosa, S., Consuelo-Sánchez, A., Muñoz-Hernández, O., Sarmiento-Silva, R. E., Sotomayor-González, A., Trujillo-Ortega, M. E., García-Hernández, M. E., Taboada-Ramírez, B. I., & Arenas-Huertero, F. (2020). Serological and molecular study of hepatitis E virus in pediatric patients in Mexico. *Annals of Hepatology*, 19\*(2), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.12.004>
100. Lunemann, S., Schlaphoff, V., Cornberg, M., Wedemeyer, H., & Rehermann, B. (2014). Compromised function of natural killer cells in acute and chronic viral hepatitis. *Journal of Infectious Diseases*, 209\*(9), 1362–1373. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit561>
101. Ma, Z., de Man, R. A., Kamar, N., & Pan, Q. (2022). Chronic hepatitis E: Advancing research and patient care. *Journal of Hepatology*, 77\*(4), 1109–1123. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2022.05.006>
102. Makharia, G. K., Garg, P. K., & Tandon, R. K. (2003). Acute pancreatitis associated with acute hepatitis E infection. *Tropical Gastroenterology*, 24\*(4), 200–201.
103. Mallet, V., Bruneau, J., Zuber, J., Pol, S., & Izopet, J. (2017). Primary cutaneous CD30(+) lymphoproliferative disorder induced by hepatitis E virus. *Journal of Hepatology*, 67\*(6), 1334–1339. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.08.013>
104. Mansouri, M., Alavian, S., Zarei, A., & Hosseini-Moghaddam, S. (2010). Infección por el virus de la hepatitis E: Una revisión general con un enfoque en pacientes con hemodiálisis y trasplante renal. *American Journal of Nephrology*, 31\*(5), 398–407. <https://doi.org/10.1159/000294505>
105. Marion, O., Lhomme, S., Nayrac, M., Dubois, M., Pucelle, M., Requena, M., ... & Izopet, J. (2020). Hepatitis E virus replication in human intestinal cells. *Gut*, 69\*(5), 901–910. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318535>
106. Martinon, F., Mayor, A., & Tschopp, J. (2009). The inflammasomes. *Annual Review of Immunology*, 27\*, 229–265. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132715>
107. Mayo Clinic. (2025). *Enfermedad hepática: síntomas y causas*\*. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/liver-problems/symptoms-causes/syc-20374502?p=1>
108. McKnight, K. L., Xie, L., Gonzalez-Lopez, O., Rivera-Serrano, E. E., Chen, X., & Lemon, S. M. (2017). Protein composition of the hepatitis A virus quasi-envelope. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114\*(25), 6587–6592. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704953114>

109. McMahon, B. J. (2009). The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 49\*(5 Suppl), S45–S55. <https://doi.org/10.1002/hep.22898>
110. Medrano, C., Boadella, M., Barrios, H., Cantú, A., García, Z., de la Fuente, J., ... & Gortazar, C. (2012). Patógenos zoonóticos entre ciervos de cola blanca, norte de México, 2004–2009. *Emerging Infectious Diseases*, 18\*(8), 1372–1374. <https://doi.org/10.3201/eid1808.111902>
111. Moal, V., Textoris, J., Ben Amara, A., Mehraj, V., Berland, Y., Colson, P., & Mege, J. L. (2013). Chronic hepatitis E virus infection is specifically associated with an interferon-related transcriptional program. *Journal of Infectious Diseases*, 207\*(1), 125–132. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis629>
112. Moin, S. M., Chandra, V., Arya, R., & Jameel, S. (2009). The hepatitis E virus ORF3 protein stabilizes HIF-1alpha and enhances HIF-1-mediated transcriptional activity through p300/CBP. *Cellular Microbiology*, 11\*(10), 1409–1421. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2009.01340.x>
113. Moin, S. M., Panteva, M., & Jameel, S. (2007). The hepatitis E virus Orf3 protein protects cells from mitochondrial depolarization and death. *The Journal of Biological Chemistry*, 282\*(29), 21124–21133. <https://doi.org/10.1074/jbc.M701696200>
114. Montalvo Villalba, M. C., Rodríguez Lay, L., Bello Corredor, M., Sario Frómata, S., & Marrero Sánchez, A. (2008). Aislamiento y propagación del virus de la hepatitis E en diferentes líneas celulares. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60\*(3), 0-0. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602008000300007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602008000300007)
115. Montpellier, C., Wychowski, C., Sayed, I. M., Meunier, J. C., Saliou, J. M., Desmond, P., ... & Cocquerel, L. (2018). Hepatitis E virus lifecycle and identification of 3 forms of the ORF2 capsid protein. *Gastroenterology*, 154\*(1), 211–223.e8. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.09.020>
116. Mrzljak, A., Dinjar-Kujundzic, P., Knotek, M., Kudumija, B., Ilic, M., Gulin, M., Zibar, L., Hrstic, I., Jurekovic, Z., Kolaric, B., Jemersic, L., Prpic, J., Tomljenovic, M., & Vilbic-Cavlek, T. (2020). Seroepidemiology of hepatitis E in hemodialysis patients in Croatia. *International Urology and Nephrology*, 52\*(2), 371–378. <https://doi.org/10.1007/s11255-019-02363-3>
117. Murata, K., Kang, J. H., Nagashima, S., Takahashi, M., Kimura, H., & Okamoto, H. (2020). IFN-λ3 as a host immune response in acute hepatitis E virus infection. *Cytokine*, 125\*, 154816. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154816>
118. Nagashima, S., Jirintai, S., Takahashi, M., Kobayashi, T., Tanggis, Nishizawa, T., ... & Okamoto, H. (2014). Hepatitis E virus egress depends on the exosomal pathway, with secretory exosomes derived from multivesicular bodies. *The Journal of General Virology*, 95\*(Pt 10), 2166–2175. <https://doi.org/10.1099/vir.0.066910-0>
119. Nagashima, S., Primadharsini, P. P., Takahashi, M., Nishiyama, T., Murata, K., & Okamoto, H. (2024). Role of Rab13, protein kinase A, and zonula occludens-1 in hepatitis E virus entry and cell-to-cell spread: Comparative analysis of quasi-enveloped and non-enveloped forms. *Pathogens*, 13\*(12), 1130. <https://doi.org/10.3390/pathogens13121130>
120. Nan, Y., & Zhang, Y. J. (2016). Molecular biology and infection of hepatitis E virus. *Frontiers in Microbiology*, 7\*, 1419. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01419>
121. Navaneethan, U., Al Mohajer, M., & Shata, M. T. (2008). Hepatitis E and pregnancy: Understanding the pathogenesis. *Liver International*, 28\*(9), 1190–1199. <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2008.01840.x>
122. Nimgaonkar, I., Ding, Q., Schwartz, R., & Vira, N. (2018). Hepatitis E virus: Advances and challenges. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 15\*, 96–110. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.150>
123. Odenwald, M. A., & Paul, S. (2022). Viral hepatitis: Past, present, and future. *World Journal of Gastroenterology*, 28\*(14), 1405-1429. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i14.1405>
124. Organización Mundial de la Salud. (2023). *Hepatitis E*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>
125. Orosz, L., Sárvári, K. P., Dernovics, Á., Rosztóczy, A., & Megyeri, K. (2024). Pathogenesis and clinical features of severe hepatitis E virus infection. *World Journal of Virology*, 13\*(2), 91580. <https://doi.org/10.5501/wjv.v13.i2.91580>
126. Orozco-Cordoba, J., Mazas, C., Du Pont, G., Lamoyi, E., Cárdenas, G., & Fierro, N. A. (2023). Viral biology and immune privilege in the development of extrahepatic manifestations during hepatitis E virus infection. *Viral Immunology*, 36\*(10), 627–641. <https://doi.org/10.1089/vim.2023.0096>

127. Öztürk, H., Özsoy, M., Tuna, A., Varlıbaş, A., Cesur, S., Aksoy, A., Çifci, A., & Demir, M. E. (2025). Investigación de la seroprevalencia del virus de la hepatitis E y factores de riesgo en pacientes con hemodiálisis. *Frontiers in Public Health*, 13\*, 1574361. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2025.1574361>
128. Pal, R., Aggarwal, R., Naik, S. R., Das, V., Das, S., & Naik, S. (2005). Immunological alterations in pregnant women with acute hepatitis E. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 20\*(7), 1094–1101. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2005.03870.x>
129. Pallerla, S. R., Harms, D., Johne, R., Todt, D., Steinmann, E., Schemmerer, M., ... & Velavan, T. P. (2020). Hepatitis E virus infection: Circulation, molecular epidemiology, and impact on global health. *Pathogens*, 9\*(10), 856. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100856>
130. Paliwal, D., Panda, S. K., Kapur, N., Varma, S. P., & Durgapal, H. (2014). Hepatitis E virus (HEV) protease: A chymotrypsin-like enzyme that processes both non-structural (pORF1) and capsid (pORF2) protein. *The Journal of General Virology*, 95\*(Pt 8), 1689–1700. <https://doi.org/10.1099/vir.0.066142-0>
131. Perttala, J., Spuul, P., & Ahola, T. (2013). Early secretory pathway localization and lack of processing for hepatitis E virus replication protein pORF1. *The Journal of General Virology*, 94\*(Pt 4), 807–816. <https://doi.org/10.1099/vir.0.049577-0>
132. Pischke, S., Hartl, J., Pas, S. D., Lohse, A. W., Jacobs, B. C., & Van der Eijk, A. A. (2017). Hepatitis E virus: Infection beyond the liver? *Journal of Hepatology*, 66\*(5), 1082–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.11.016>
133. Poynard, T., Bedossa, P., & Opolon, P. (1997). Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *The Lancet*, 349\*(9055), 825–832. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)07642-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)07642-8)
134. Premkumar, M., Rangegowda, D., Vashishtha, C., Bhatia, V., Khumuckham, J. S., & Kumar, B. (2015). Acute viral hepatitis E is associated with the development of myocarditis. *Case Reports in Hepatology*, 2015\*, 458056. <https://doi.org/10.1155/2015/458056>
135. Qi, Y., Zhang, F., Zhang, L., Harrison, T. J., Huang, W., Zhao, C., ... & Wang, Y. (2015). Hepatitis E virus produced from cell culture has a lipid envelope. *PLOS ONE*, 10\*(7), e0132503. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132503>
136. Ramachandran, J., Eapen, C. E., Kang, G., Abraham, P., Hubert, D. D., Kurian, G., & Chandy, G. (2004). Hepatitis E superinfection produces severe decompensation in patients with chronic liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19\*(2), 134–138. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2004.03228>
137. Rayis, D. A., Jumaa, A. M., Gasim, G. I., Karsany, M. S., & Adam, I. (2013). An outbreak of hepatitis E and high maternal mortality in Port Sudan, eastern Sudan. *Pathogens and Global Health*, 107\*(2), 66–68. <https://doi.org/10.1179/2047773213Y.0000000075>
138. Realpe-Quintero, M., Mirazo, S., Viera-Segura, O., Copado-Villagrana, E. D., Panduro, A., Roman, S., Arbiza, J., & Fierro, N. A. (2018). Dual infection with hepatitis E virus and hepatitis A virus in pediatric patients from Mexico with low socioeconomic status. *Intervirology*, 61\*(3), 105–110. <https://doi.org/10.1159/000492425>
139. Rivera-Serrano, E. E., Gonzalez-Lopez, O., Das, A., & Lemon, S. M. (2019). Cellular entry and uncoating of naked and quasi-enveloped human hepatoviruses. *eLife*, 8\*, e43983. <https://doi.org/10.7554/eLife.43983>
140. Rodríguez-Frias, F., Jardi, R., & Buti, M. (2012). Hepatitis E: virología molecular, epidemiología y patogénesis. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 30\*(10), 624–634. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.01.014>
141. Ropp, S. L., Tam, A. W., Beames, B., Purdy, M., & Frey, T. K. (2000). Expression of hepatitis E virus ORF1. *Archives of Virology*, 145\*(7), 1321–1337. <https://doi.org/10.1007/s007050070093>
142. Scarcella, M., d'Angelo, D., Ciampa, M., Tafuri, S., Avallone, L., Pavone, L. M., & de Pasquale, V. (2022). The key role of lysosomal protease cathepsins in viral infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 23\*(16), 9089. <https://doi.org/10.3390/ijms23169089>
143. Schemmerer, M., Bock, H. H., Schattenberg, J. M., Huber, S., Polywka, S., Mader, M., ... & Pischke, S. (2024). Proof of infectivity of hepatitis E virus particles from the ejaculate of chronically infected patients. *Journal of Medical Virology*, 96\*(6), e29735. <https://doi.org/10.1002/jmv.29735>

144. Schemmerer, M., Apelt, S., Trojnar, E., Ulrich, R. G., Wenzel, J. J., & Johne, R. (2016). Replicación mejorada de la cepa 47832c del virus de la hepatitis E en una línea celular subclonal derivada de A549. *Virus*, 8(10), 267. <https://doi.org/10.3390/v8100267>
145. Schlosser, J., Eiden, M., Vina-Rodriguez, A., Fast, C., Dremsek, P., Lange, E., ... & Groschup, M. H. (2014). Natural and experimental hepatitis E virus genotype 3 infection in European wild boars is transmissible to domestic pigs. *\*Veterinary Research*, 45\*(1), 121. <https://doi.org/10.1186/s13567-014-0121-7>
146. Schoggins, J. W., & Rice, C. M. (2011). Interferon-stimulated genes and their antiviral effector functions. *\*Current Opinion in Virology*, 1\*(6), 519–525. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2011.10.008>
147. Secretaría de Economía. (n.d.). *\*Sonora: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública\**. Data México. Retrieved January 21, 2026, from <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/geo/sonora>
148. Secretaría de Salud. (2005, August 15). *\*Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales\**. Diario Oficial de la Federación.
149. Sehgal, D., Thomas, S., Chakraborty, M., & Jameel, S. (2006). Expression and processing of the hepatitis E virus ORF1 nonstructural polyprotein. *\*Virology Journal*, 3\*, 38. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-3-38>
150. Shahini, E., Argentiero, A., Andriano, A., Losito, F., Maida, M., Facciorusso, A., ... & Villa, E. (2024). Hepatitis E virus: What else do we need to know? *\*Medicina*, 60\*(6), 998. <https://doi.org/10.3390/medicina60060998>
151. Shalimar, Kedia, S., Gunjan, D., Sonika, U., Mahapatra, S. J., Nayak, B., & Acharya, S. K. (2017). Acute liver failure due to hepatitis E virus infection is associated with better survival than other etiologies in Indian patients. *\*Digestive Diseases and Sciences*, 62\*(4), 1058–1066. <https://doi.org/10.1007/s10620-017-4475-4>
152. Sharma, S., Kumar, A., Kar, P., Agarwal, S., Ramji, S., Husain, S. A., ... & Sharma, S. (2017). Risk factors for vertical transmission of hepatitis E virus infection. *\*Journal of Viral Hepatitis*, 24\*(11), 1067–1075. <https://doi.org/10.1111/jvh.12730>
153. Shiota, T., Li, T. C., Yoshizumi, S., Yoshimatsu, K., Arikawa, J., & Wakita, T. (2019). Integrin alpha3 is involved in non-enveloped hepatitis E virus infection. *\*Virology*, 536\*, 119–124. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.07.025>
154. Shiota, T., Li, T. C., Yoshizaki, S., Kato, T., Wakita, T. e Ishii, K. (2015). Establishment of hepatitis E virus-permissive and non-permissive human hepatoma PLC/PRF/5 subclones [Establecimiento de subclones de hepatoma humano PLC/PRF/5 permisivos y no permisivos para el virus de la hepatitis E]. *Microbiology and Immunology*, 59(2), 89–94. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12219>
155. Sood, A., Midha, V., & Sood, N. (2000). Guillain-Barré syndrome with acute hepatitis E. *\*The American Journal of Gastroenterology*, 95\*(12), 3667–3668. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2000.03409.x>
156. Sooryanarain, H., Heffron, C. L., Hill, D. E., Fredericks, J., Rosenthal, B. M., Werre, S. R., Opriessnig, T., & Meng, X.-J. (2020). Hepatitis E Virus in Slaughter-Age Pigs, United States, 2017–2019. *\*Emerging Infectious Diseases*, 26\*(2), 360-363. <https://doi.org/10.3201/eid2602.191312>
157. Sooryanarain, H., Heffron, C. L., & Meng, X. J. (2020). The U-rich untranslated region of the hepatitis E virus induces differential type I and type III interferon responses. *\*mBio*, 11\*(1), e03103-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03103-19>
158. Sooryanarain, H., Rogers, A. J., Cao, D., & Meng, X. J. (2017). ISG15 modulates type I interferon signaling during hepatitis E virus replication. *\*Journal of Virology*, 91\*(17), e00621-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00621-17>
159. Songtanin, B., Molehin, A. J., Brittan, K., Manatsathit, W., & Nugent, K. (2023). Hepatitis E virus infections: Epidemiology, genetic diversity, and clinical considerations. *\*Viruses*, 15\*(6), 1389. <https://doi.org/10.3390/v15061389>
160. Sotomayor-González, A., Trujillo-Ortega, M. E., Taboada-Ramírez, B. I., Sandoval-Jaime, C., & Sarmiento-Silva, R. E. (2018). Phylogenetic analysis and full-genome characterization of hepatitis E virus (zoonotic genotype 3) in swine samples from Mexico. *\*Viruses*, 10\*(8), 391. <https://doi.org/10.3390/v10080391>

161. Suppiah, S., Zhou, Y., & Frey, T. K. (2011). Lack of processing of the expressed ORF1 gene product of hepatitis E virus. *Virology Journal*, 8\*, 245. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-245>
162. Takahashi, M., Nishizono, A., Kawakami, M., Fukui, E., Isogai, E., Matsuoka, H., Yamamoto, S., Mizuo, H., Nagashima, S., Murata, K., & Okamoto, H. (2022). Identification of hepatitis E virus in wild sika deer in Japan. *Virus Research*, 308\*, 198645. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198645>
163. Takahashi, M., Tanaka, T., Takahashi, H., Hoshino, Y., Nagashima, S., Jirintai, Mizuo, H., Yazaki, Y., Takagi, T., Azuma, M., Kusano, E., Isoda, N., Sugano, K. y Okamoto, H. (2010). Hepatitis E virus (HEV) strains in serum samples can replicate efficiently in cultured cells despite the coexistence of HEV antibodies: Characterization of HEV virions in blood circulation [Las cepas del virus de la hepatitis E (HEV) en muestras de suero pueden replicarse eficazmente en células cultivadas a pesar de la coexistencia de anticuerpos HEV: caracterización de viriones HEV en la circulación sanguínea]. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4), 1112–1125. <https://doi.org/10.1128/JCM.02002-09>
164. Thakur, V., Ratho, R. K., Kumar, S., Saxena, S. K., Bora, I., & Thakur, P. (2020). Hepatitis E virus chronic infection: A growing public health concern. *Frontiers in Microbiology*, 11\*, 577339. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.577339>
165. Thompson, M. R., Kaminski, J. J., Kurt-Jones, E. A., & Fitzgerald, K. A. (2011). Pattern recognition receptors and the innate immune response to viral infection. *Viruses*, 3\*(6), 920–940. <https://doi.org/10.3390/v3060920>
166. Ticehurst, J., Rhodes, L. L., Jr., Krawczynski, K., Asher, L. V., Engler, W. F., Mensing, T. L., ... & Reyes, G. R. (1992). Infection of owl monkeys (*Aotus trivirgatus*) and cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with the Mexico isolate of hepatitis E virus. *The Journal of Infectious Diseases*, 165\*(5), 835–845. <https://doi.org/10.1093/infdis/165.5.835>
167. Toblli, J. E., García-García, Á., Aristizábal, A., Quintero, E., Arango, J., Buitrago, C., Gómez, R., Leguizamón, H., Martínez, J., Nieto, I., Osorio, M., Pertuz, A., Restrepo, C., Robayo, A., Rodríguez, K., Rodríguez, R., Romero, J. D., Roselli, C., Torres, R., Villar, J. C., Abensur, H., Plata, R., Franco, S., Wagner, P., & Amaira, P. (2009). Diagnóstico y tratamiento de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica en todos sus estadios. Consenso del Anemia Working Group Latin America (AWGLA). *Nefrología*, 30\*(3), 104-108. [https://doi.org/10.1016/S1886-2845\(09\)71938-1](https://doi.org/10.1016/S1886-2845(09)71938-1)
168. Todt, D., François, C., Anggakusuma, Behrendt, P., Engelmann, M., Knegeendorf, L., Vieyres, G., Wedemeyer, H., Hartmann, R., Pietschmann, T., Duverlie, G., & Steinmann, E. (2016). Antiviral activities of different interferon types and subtypes against hepatitis E virus replication. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60\*(4), 2132–2139. <https://doi.org/10.1128/AAC.02427-15>
169. Velázquez, O., Stetler, H. C., Avila, C., Ornelas, G., Alvarez, C., Hadler, S. C., ... & Sepúlveda, J. (1990). Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986-1987. *JAMA*, 263\*(24), 3281–3285. <https://doi.org/10.1001/jama.1990.03440240057032>
170. Verschuuren, E. A., Haagsma, E. B., Zijlstra, J. G., & Stegeman, C. A. (1997). Non-oliguric acute renal failure associated with hepatitis E. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 12\*(4), 799–801. <https://doi.org/10.1093/ndt/12.4.799>
171. Viera-Segura, O., Calderón-Flores, A., Batún-Alfaro, J. A., & Fierro, N. A. (2023). Tracing the history of hepatitis E virus infection in Mexico: From the enigmatic genotype 2 to the current disease situation. *Viruses*, 15\*(9), 1911. <https://doi.org/10.3390/v15091911>
172. Viera-Segura, O., Realpe-Quintero, M., Panduro, A., Roman, S., Jose-Abrego, A., González-Aldaco, K., Trujillo-Ochoa, J. L., & Fierro, N. A. (2019). First detection of hepatitis E virus genotype 3 as a common infectious agent in patients with chronic liver damage in Mexico. *Annals of Hepatology*, 18\*(4), 558–565. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.03.005>
173. Von Felden, J., Alric, L., Pischke, S., Sarrazin, C., Lhomme, S., Marion, O., ... & Kamar, N. (2019). The burden of hepatitis E among patients with haematological malignancies: A retrospective European cohort study. *Journal of Hepatology*, 71\*(3), 465–472. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.04.010>
174. Wahid, A., Meyer, N., Wundes, C., Hüffner, L., Janshoff, S., Frericks, N., ... & colaboradores. (2025). Extrahepatic replication and genomic signatures of hepatitis E virus in the kidney. *Liver International*\*. <https://doi.org/10.1111/liv.70183>

175. Walker, C. M. (2019). Adaptive immune responses in hepatitis A and E virus infections. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9\*(8), a033472. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a033472>
176. Wallace, S. J., Crossan, C., Hussaini, S. H., & Dalton, H. R. (2019). Hepatitis E: An emerging and largely underestimated threat. *British Journal of Hospital Medicine*, 80\*(7), 399–404. <https://doi.org/10.12968/hmed.2019.80.7.399>
177. Wang, B., & Meng, X. J. (2021). Structural and molecular biology of hepatitis E virus. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19\*, 1907–1916. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.038>
178. Wang, Y., Zhao, C., Qi, Y., & Geng, Y. (2023). Hepatitis E virus. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1417\*, 1–13. [https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-99-1304-6_1)
179. Webb, G. W., & Dalton, H. R. (2019). Hepatitis E: an underestimated emerging threat. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 6\*, 2049936119837162. <https://doi.org/10.1177/2049936119837162>
180. Wen, G. P., Chen, C. R., Song, X. Y., Tang, Z. M., Ji, W. F., Wang, S. L., Zhang, K., Zhang, J., Ou, S. H., Zheng, Z. Z., & Xia, N. S. (2018). Portadores de HEV a largo plazo sin seroconversión por anticuerpos entre donantes de sangre inmunocompetentes elegibles. *Emerging Microbes & Infections*, 7\*(1), 125. <https://doi.org/10.1038/s41426-018-0125-y>
181. Westbrook, R. H., & Dusheiko, G. (2014). Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology*, 61\*(1 Suppl), S58–S68. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.012>
182. Williams, T. P., Kasorndorkbua, C., Halbur, P. G., Haqshenas, G., Guenette, D. K., Toth, T. E., & Meng, X. J. (2001). Evidence of extrahepatic sites of replication of the hepatitis E virus in a porcine model. *Journal of Clinical Microbiology*, 39\*(9), 3040–3046. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3040-3046.2001>
183. Wißing, M. H., Brüggemann, Y., Steinmann, E., & Todt, D. (2021). Virus-host cell interplay during hepatitis E virus infection. *Trends in Microbiology*, 29\*(4), 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.06.008>
184. Wolff, A., Günther, T., Albert, T., Schilling-Loeffler, K., Gadicherla, A. K., & Johne, R. (2020). Stability of hepatitis E virus at different pH values. *International Journal of Food Microbiology*, 325\*, 108625. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108625>
185. World Health Organization. (2014). *Waterborne outbreaks of hepatitis E: Recognition, investigation and control: Technical report\**. World Health Organization.
186. Wu, J., Wang, S., Liu, J., Tan, S., Jiang, Q., Liao, S., ... & Zhang, X. (2020). Th1/Th2 cells and associated cytokines in acute hepatitis E and related acute liver failure. *Journal of Immunology Research*, 2020\*, 6027361. <https://doi.org/10.1155/2020/6027361>
187. Xu, L., Wang, W., Li, Y., Zhou, X., Yin, Y., Wang, Y., ... & Pan, Q. (2017). RIG-I is a key antiviral interferon-stimulated gene against hepatitis E virus regardless of interferon production. *Hepatology*, 65\*(6), 1823–1839. <https://doi.org/10.1002/hep.29061>
188. Xu, L., Wang, W., Peppelenbosch, M. P., & Pan, Q. (2016). IFN regulatory factor 1 restricts hepatitis E virus replication by activating STAT1. *FASEB Journal*, 30\*(10), 3352–3367. <https://doi.org/10.1096/fj.201600253R>
189. Xu, M., Behloul, N., Wen, J., Zhang, J., & Meng, J. (2016). Role of asparagine at position 562 in dimerization and immunogenicity of hepatitis E virus capsid protein. *Infection, Genetics and Evolution*, 37\*, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.11.006>
190. Yadav, K. K., & Kenney, S. P. (2023). Modelos animales para el estudio de la transmisión congénita del virus de la hepatitis E. *Microorganisms*, 11\*(3), 618. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030618>
191. Yazaki, Y., Sugawara, K., Honda, M., Ohnishi, H., Nagashima, S., Takahashi, M., & Okamoto, H. (2015). Characteristics of 20 patients with autochthonous acute hepatitis E in Hokkaido, Japan: First report of bilateral facial palsy following infection with genotype 4 hepatitis E virus. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 236\*(4), 263–271. <https://doi.org/10.1620/tjem.236.263>
192. Yin, X., Ambardekar, C., Lu, Y., & Feng, Z. (2016). Distinct entry mechanisms for nonenveloped and quasi-enveloped hepatitis E viruses. *Journal of Virology*, 90\*(8), 4232–4240. <https://doi.org/10.1128/JVI.02804-15>

193. Yin, X., Li, X., Ambardekar, C., Hu, Z., Lhomme, S., Feng, Z., & Meng, X. J. (2017). Hepatitis E virus persists in the presence of a type III interferon response. *\*PLoS Pathogens*, 13\*(5), e1006417. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.100641>
194. Yin, X., & Feng, Z. (2019). Hepatitis E virus entry. *\*Viruses*, 11\*(10), 883. <https://doi.org/10.3390/v11100883>
195. Yu, H., Li, S., Yang, C., Wei, M., Song, C., Zheng, Z., ... & Zhang, J. (2011). Homology model and potential virus-capsid binding site of a putative HEV receptor Grp78. *\*Journal of Molecular Modeling*, 17\*(5), 987–995. <https://doi.org/10.1007/s00894-010-0794-5>
196. Zafrullah, M., Khursheed, Z., Yadav, S., Sahgal, D., Jameel, S., & Ahmad, F. (2004). Acidic pH enhances the structure and structural stability of the hepatitis E virus capsid protein. *\*Biochemical and Biophysical Research Communications*, 313\*(1), 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.11.088>
197. Zhang, L., He, S., Zhao, Y., Wu, Q., Zhao, Y., & Zhou, Y. (2016). Asialoglycoprotein receptor facilitates infection of PLC/PRF/5 cells by HEV through interaction with ORF2. *\*Journal of Medical Virology*, 88\*(12), 2186–2195. <https://doi.org/10.1002/jmv.24570>
198. Zhang, M., Purcell, R. H., & Emerson, S. U. (2001). Identification of the 5' terminal sequence of SAR-55 and MEX-14 strains of hepatitis E virus and confirmation that the genome is capped. *\*Journal of Medical Virology*, 65\*(2), 293–295. <https://doi.org/10.1002/jmv.2037>
199. Zhang, W., Ami, Y., Suzuki, Y., Doan, Y. H., Muramatsu, M. y Li, T. C. (2022). Mongolian gerbils are broadly susceptible to hepatitis E virus [Los jerbos de Mongolia son ampliamente susceptibles al virus de la hepatitis E]. *Viruses*, 14(6), Artículo 1125. <https://doi.org/10.3390/v14061125>
200. Zheng, Z. Z., Miao, J., Zhao, M., Tang, M., Yeo, A. E. T., Yu, H., ... & Xia, N. S. (2010). Role of heat-shock protein 90 in hepatitis E virus capsid trafficking. *\*The Journal of General Virology*, 91\*(Pt 7), 1709–1717. <https://doi.org/10.1099/vir.0.019323-0>

## 12. ANEXOS

### Anexo 1.- Carta de consentimiento informado para participación en protocolos de investigación adultos



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
**Carta de consentimiento informado para participación en**  
**protocolos de investigación (adultos)**

Nombre del estudio:	Seroprevalencia del Virus de Hepatitis E en pacientes en terapia de sustitución renal con hemodiálisis de la Unidad de Medicina Familiar número 5, Nogales
Lugar y fecha:	Nogales, Sonora a _____ de _____ del _____
Número de registro institucional:	_____
Justificación y objetivo del estudio:	El Virus de Hepatitis E (VHE) es considerado el principal causante de hepatitis aguda a nivel mundial, la mayoría de los pacientes se recuperan, sin embargo, se sabe que puede causar cirrosis hepática en pacientes con un sistema inmunológico débil, además de que, en nuestro país, el estudio del virus es muy limitado. Por lo anterior, esta investigación busca determinar si existe la presencia de este virus y en pacientes de hemodiálisis de la UMF 5, por lo que solicitamos su autorización para formar parte de la población estudiada.
Procedimientos:	Si usted acepta participar, se le realizará una toma de muestra de sangre para determinar anticuerpos anti VHE que es una prueba que podría indicar que alguna vez estuvo o actualmente está el virus en su sangre. Esta muestra será conservada durante 3 años para realizar otras pruebas que serán útiles para el estudio de este virus en nuestra población.
Posibles riesgos y molestias:	La toma de la muestra de sangre se realizará antes de conectarse a la máquina de hemodiálisis y este procedimiento se llevará a cabo como se realiza usualmente, por lo que no tendrá ninguna molestia adicional.
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	El participante conocerá si actualmente está el virus en su sangre o si alguna vez estuvo expuesto sin ningún costo. Si se detecta que está infectado, se le dará la atención médica necesaria de inmediato, además, si esta infección se detecta a tiempo, se puede evitar que presente cirrosis si usted recibe medicamentos inmunosupresores para evitar el rechazo del trasplante cuando este se realice.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:	En caso de positividad a la prueba, se le informará acerca de esta condición, si cursa con una infección activa, se le indicarán los signos de alarma medidas para prevenir la transmisión del virus a otras personas, en presencia de síntomas, recibirá atención médica de inmediato. Si se encuentra en protocolo de trasplante, se informará a su médico tratante para que el inicio de medicamento inmunosupresor se inicie hasta que el virus ya no se encuentre en su sangre.
Participación o retiro:	La participación es voluntaria y puede solicitar salir del estudio en el momento que lo desee, sin sanciones, represalias o malas atenciones por parte del personal a cargo
Privacidad y confidencialidad:	Los datos se manejarán con objetivos de investigación y docencia. Los datos que proporcione serán utilizados de manera estrictamente confidencial y si es su voluntad, deberán ser considerados anónimamente.

**Declaración de consentimiento:**

Después de haber leído y habiéndome explicado todas mis dudas acerca de este estudio:

No acepto participar en el estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra solo para este estudio.

Si acepto participar y que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros, conservando su sangre hasta por 3 años tras lo cual se destruirá la misma.



## Carta de asentimiento en menores de edad



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN  
Y POLITICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD  
Carta de consentimiento informado para padres o  
representantes legales  
de niños o personas con discapacidad**

Nombre del estudio:	Seroprevalencia del Virus de Hepatitis E en pacientes en terapia de sustitución renal con hemodiálisis de la Unidad de Medicina Familiar número 5, Nogales
Lugar y fecha:	Nogales, Sonora a _____ de _____ del _____
Número de registro institucional:	_____
Justificación y objetivo del estudio:	El Virus de Hepatitis E (VHE) es considerado el principal causante de hepatitis aguda a nivel mundial, la mayoría de los pacientes se recuperan, sin embargo, se sabe que puede causar cirrosis hepática en pacientes con un sistema inmunológico débil, además de que, en nuestro país, el estudio del virus es muy limitado. Por lo anterior, esta investigación busca determinar si existe la presencia de este virus y en pacientes de hemodiálisis de la UMF 5, por lo que solicitamos su autorización para formar parte de la población estudiada.

Hola, mi nombre es y trabajo en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Actualmente estamos realizando un estudio para conocer acerca del Virus de Hepatitis E y para ello queremos pedirte que nos apoyes.

Tu participación en el estudio consistiría en responder una serie de preguntas y darnos una muestra de sangre para saber si alguna vez el virus estuvo o está en tu cuerpo, si lo llegáramos a detectar, te daremos toda la atención médica que necesites hasta que te recuperes.

Tu participación en el estudio es voluntaria, es decir, aun cuando tus papá o mamá hayan dicho que puedes participar, si tú no quieres hacerlo puedes decir que no. Es tu decisión si participas o no en el estudio. También es importante que sepas que si en un momento dado ya no quieres continuar en el estudio, no habrá ningún problema, o si no quieres responder a alguna pregunta en particular, tampoco habrá problema. Esta información será confidencial. Esto quiere decir que no diremos a nadie tus respuestas o resultados sin que tú lo autorices, solo lo sabrán las personas que forman parte del equipo de este estudio. (Si se proporcionará información a los padres, favor de mencionarlo en la carta)

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una (x) en la frase de abajo que dice "Sí quiero participar" y escribe tu nombre. Si no quieres participar, déjalo sin tachar.

Si quiero participar

\_\_\_\_\_  
Nombre completo del participante

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del investigador que obtiene el consentimiento

## Anexo 3.- Aprobación de protocolo por los Comités de Ética en Investigación en Salud y de Investigación del IMSS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Dirección de Prestaciones Médicas  
Unidad de Educación e Investigación  
Coordinación de Investigación en Salud



### Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **2603**.  
U MED FAMILIAR NUM 1

Registro COFEPRIS **18 CI 26 018 015**  
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 26 CEI 001 20170331**

FECHA **Lunes, 23 de diciembre de 2024**

**Doctor (a) EDGAR DANIEL COPADO VILLAGRANA**

**P R E S E N T E**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Construcción, validación y estimación de la confiabilidad de un instrumento para conocer el nivel de conocimiento sobre Hepatitis E entre los médicos de la Unidad de Medicina Familiar N° 5 del IMSS en Nogales, Sonora** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional

R-2024-2603-086

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

**Doctor (a) ORLANDO MASCAREÑO IBARRA**  
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 2603

**Anexo 4. - Aprobación de protocolo por los Comités de Ética en Investigación en Salud y de Investigación del IMSS.**



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



**Dictamen de Aprobación**

Miércoles, 06 de octubre de 2021

Ref. 09-B5-61-2800/202100/

Dr. EDGAR DANIEL COPADO VILLAGRANA  
JEFATURA DE MEDICINA FAMILIAR, UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR 05  
Sonora

Presente:

Informo a usted que el protocolo titulado: **Seroprevalencia del Virus de Hepatitis E en pacientes en terapia de sustitución renal con hemodiálisis de la Unidad de Medicina Familiar número 5, Nogales**, fue sometido a la consideración de este Comité Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas vigentes, con base en las opiniones de los vocales del Comité de Ética en Investigación y del Comité de Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica del IMSS, se ha emitido el dictamen de **APROBADO**, con número de registro: R-2021-785-086.

De acuerdo a la normatividad vigente, deberá informar a esta Comité en los meses de enero y julio de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo. Este dictamen sólo tiene vigencia de un año. Por lo que en caso de ser necesario requerirá solicitar una reaprobación al Comité de Ética en Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica, al término de la vigencia del mismo.

Atentamente,

Dr. José Ramón Paniagua Sierra  
Presidente del  
Comité Nacional de Investigación Científica

Anexo comentarios:  
Se anexa dictamen  
SNN/ iah. F-CNIC-2021-098

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos Av. Cuauhtémoc 330 Col. Doctores México 06720 56276900 ext. 21210 [conisa@cis.gob.mx](mailto:conisa@cis.gob.mx)

## Anexo 5.- Carta de no inconveniente por parte de la Unidad Médica



GOBIERNO DE  
MÉXICO



ÓRGANO DE OPERACIÓN ADMINISTRATIVA  
DESCONCENTRADA SONORA  
UNIDAD DE MEDICINA FAMILIAR NO. 5, NOGALES



### Carta de no inconveniente del Director de la Unidad donde se efectuará el protocolo de investigación

Comité Nacional de Investigación Científica

PRESENTE

Nogales, Sonora, 23 de julio de 2021

En mi carácter de Directora de la Unidad de Medicina Familiar Número 5 declaro que no tengo inconveniente en que se efectúe en esta institución el protocolo de investigación salud con el título "Seroprevalencia del Virus de Hepatitis E en pacientes en terapia de sustitución renal con hemodiálisis de la Unidad de Medicina Familiar número 5, Nogales" con número de protocolo pendiente. El protocolo será realizado bajo la dirección del Dr. Edgar Daniel Copado Villagrana, como Investigador Responsable, en caso de que sea aprobado por el Comité de Ética en Investigación en Salud y el Comité de Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica). A su vez, hago mención de que esta Unidad cuenta con la infraestructura necesaria, así como los recursos humanos capacitados para atender cualquier evento adverso que se presente durante la realización del estudio citado. Sin otro particular, reciba un cordial saludo..

Atentamente

Dra. Alinee Patricia Alejandra Rodríguez López  
Directora de la Unidad de Medicina Familiar Número 5, Nogales



Anexo 6.- Cédula de recolección de datos

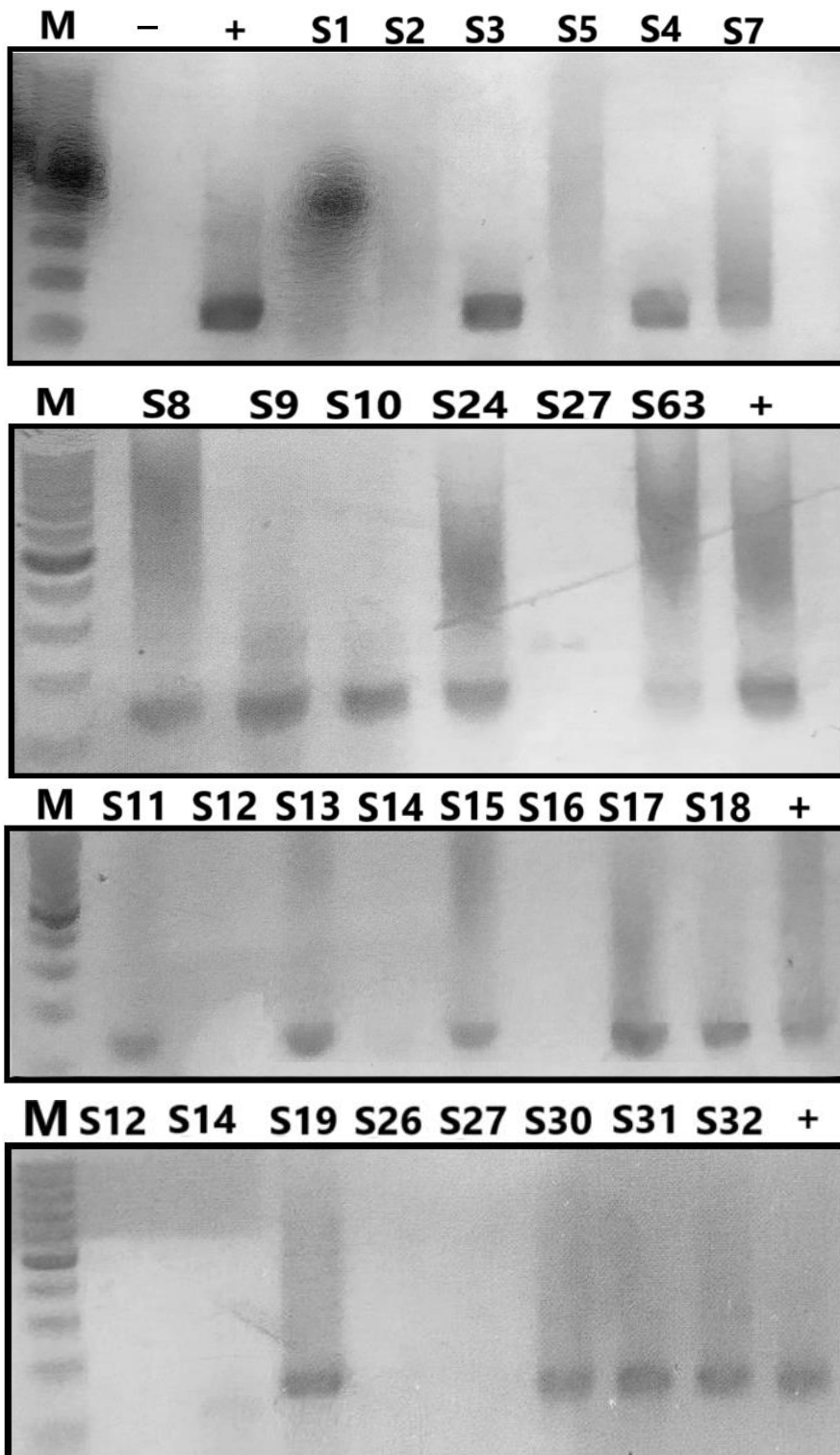
DATOS DE IDENTIFICACIÓN			
NOMBRE COMPLETO			
EDAD	SEXO	MUNICIPIO DE RESIDENCIA	
INFORMACIÓN CLÍNICA, SOCIODEMOGRÁFICA Y EPIDEMIOLOGICA			
OCUPACION		SI	NO
TRABAJO CON ANIMALES			
TEMPORAL	FÍSTULA AV		
TIPO DE CATÉTER DE HEMODIÁLISIS		TIEMPO EN HEMODIÁLISIS (AÑOS)	
SI	NO	SI	NO
TRANSFUSIONES		VACUNA ANTI HEPATITIS A	
SI	NO	RURAL	URBANA
CONTACTO CON PACIENTES CON ENFERMEDAD DEL HÍGADO		TIPO DE VIVIENDA	
DRENAJE	FOSA SÉPTICA	SI	NO
MANEJO DE EXCRETAS		MASCOTAS	
SI	NO		
CONSUMO DE CARNE DE CERDO O DERIVADOS		NÚMERO DE DÍAS A LA SEMANA EN LOS QUE CONSUME ALIMENTOS FUERA DEL HOGAR	

## Anexo 7.- Genomas de Referencia para Genotipificación del Virus de la Hepatitis E VHE

No. Acceso	Genotipo/ variante	Tamaño(pb)	Fuente	Referencia
M73218	Genotipo 1a	7207	GenBank, NCBI	Tam et al., 1991
L08816	Genotipo 1b	7176	GenBank, NCBI	Bi et al., 1993
X98292	Genotipo 1c	7202	GenBank, NCBI	Donati et al., 1997
AY230202	Marruecos Genotipo 1d	7212	GenBank, NCBI	Meng & Chen, 2003
AY204877	Genotipo, 1e	7170	GenBank, NCBI	Van Cuyck-Gandre et al.,1997
JF443721	India Genotipo 1f	7217	GenBank, NCBI	Mishra et al., 2013
LC225387	Mongolia Genotipo 1g	7212	GenBank, NCBI	Tsatsralt-Od et al., 2018
FJ457024	India Genotipo 1h	7217	GenBank, NCBI	Varma et al., 2011
MH918640	Nigeria Genotipo 1e	7202	GenBank, NCBI	Akanbi et al., 2018
KX578717	México Genotipo 2a	7159	GenBank, NCBI	Kaiser et al., 2016
MH809516	Nigeria Genotipo 2b	7214	GenBank, NCBI	Wang et al., 2018
AF082843	EUA Genotipo 3a	7207	GenBank, NCBI	Meng et al., 1997
AP003430	Japón Genotipo 3b	7230	GenBank, NCBI	Takahashi et al., 2001
FJ705359	Alemania Genotipo 3c	7237	GenBank, NCBI	Schielke et al., 2009
AB248521	Japón Genotipo 3d	7241	GenBank, NCBI	Inoue et al., 2006
AB369687	Japón Genotipo 3e	7217	GenBank, NCBI	Yano et al., 2007
AF455784	Kirguistán Genotipo 3f	7239	GenBank, NCBI	Lu et al., 2004
JQ013794	Francia Genotipo 3g	7182	GenBank, NCBI	Izopet et al., 2012
FJ998008	Alemania Genotipo 3h	7206	GenBank, NCBI	Adlhoch et al., 2009
AY115488	Canadá Genotipo 3i	7255	GenBank, NCBI	Pei & Yoo, 2002
AB369689	Japón Genotipo 3j	7215	GenBank, NCBI	Yano et al., 2007
JQ953664	Francia Genotipo 3k	7238	GenBank, NCBI	Bouquet et al., 2012
KU513561	Mongolia Genotipo 3l	7239	GenBank, NCBI	Lorenzo et al., 2007
MF959765	Italia Genotipo 3m	7229	GenBank, NCBI	Di Bartolo et al., 2018
KP294371	Alemania Genotipo	7267	GenBank, NCBI	Direct Submission
FJ906895	China Genotipos 3	7318	GenBank, NCBI	Wang et al., 2002
AB197673	China Genotipo 4	7257	GenBank, NCBI	Mishiro et al., 2005.

DQ279091	China Genotipo 4	7234	GenBank, NCBI	Yu et al., Unpublished.
AB074915	Japón Genotipo 4	7236	GenBank, NCBI	Takahashi et al., 2002.
AJ272108	China Genotipo 4	7232	GenBank, NCBI	Wang et al., 2000
AY723745	India Genotipo 4	7262	GenBank, NCBI	Chobe et al., 2006
AB220974	Japón Genotipo 4	7269	GenBank, NCBI	Inoue et al., 2006.
GU119961	China Genotipo 4	7264	GenBank, NCBI	Fu et al., 2011.
AB369690	Japón Genotipo 4	7236	GenBank, NCBI	Yano et al.,(no publicado)
AB369688	Japón Genotipo 4	7227	GenBank, NCBI	Yano et al.,(no publicado)
MK410048	China Genotipo 4	7205	GenBank, NCBI	Zhou et al.,(no publicado)
AB573435	Japón Genotipo 5	7267	GenBank, NCBI	Takahashi et al., 2010
AB602441	Japón Genotipo 6	7261	GenBank, NCBI	Takahashi et al., 2011
AB856243	Genotipo 6	7263	GenBank, NCBI	Takahashi et al., 2014
KJ496143	Medio Oriente Genotipo 7	7224	GenBank, NCBI	Woo et al., 2014
KJ496144	Japón Genotipo 7	7223	GenBank, NCBI	Woo et al., 2014
KX387865	China Genotipo 8	7223	GenBank, NCBI	Woo et al., 2016
MH410174	China Genotipo 8	7239	GenBank, NCBI	Wang et al., 2019

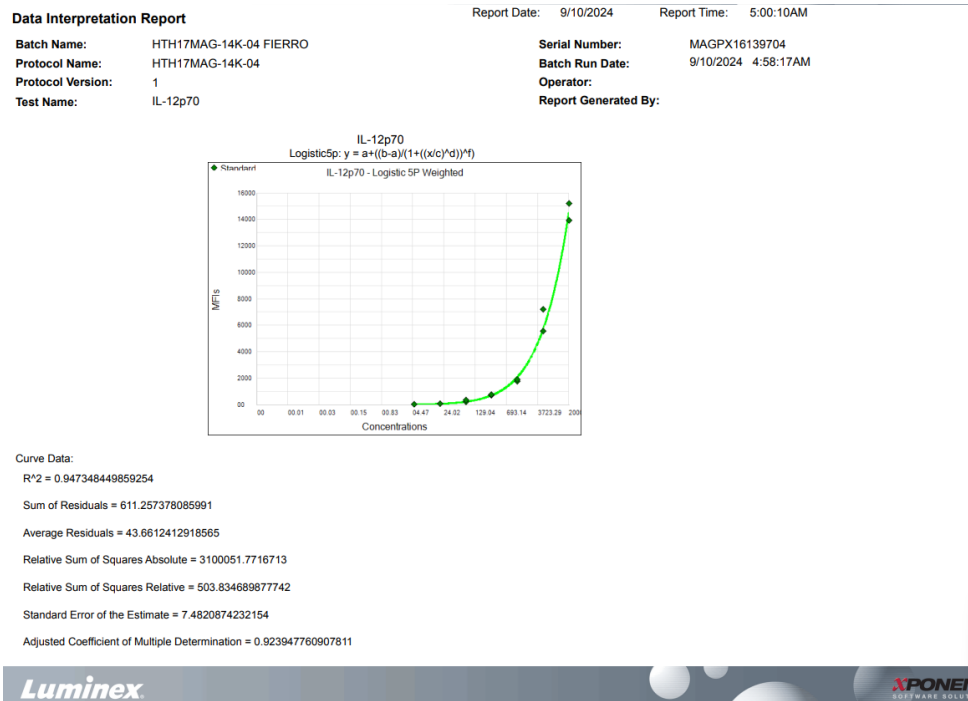
Anexo 8.- Pacientes positivos a ARN viral del VHE



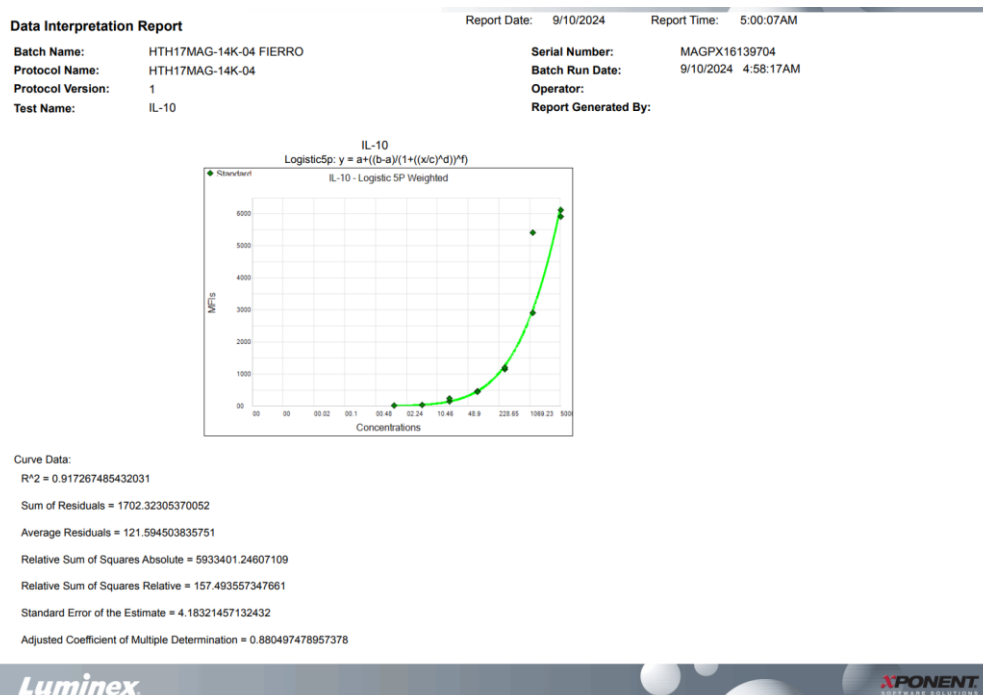
**Detección de ARN del VHE en suero de pacientes en hemodiálisis.** a) Amplificación de ORF2/3 (137 pb) a partir de suero sanguíneo. M: marcador de peso molecular; S: folio de suero +: control positivo; - : control negativo Folios positivos a infección: 4, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 18, 19, 24, 30, 31, 32, 37, 42, 44, 45, 56, 57, 58,

**Anexo 9.- Coeficiente de Determinación (R<sup>2</sup>): Los valores estuvieron entre 0.70 y 0.95. Un R<sup>2</sup> cercano a 1 indica que la curva se ajusta muy bien a los puntos de calibración. Un rango de 0.70-0.95 se considera aceptable a bueno para ensayos biológicos complejos, confirmando que las mediciones son fiables. a) IL-12p70; b) IL-10; c) IL-1β y d) IFN-γ**

a)



b)



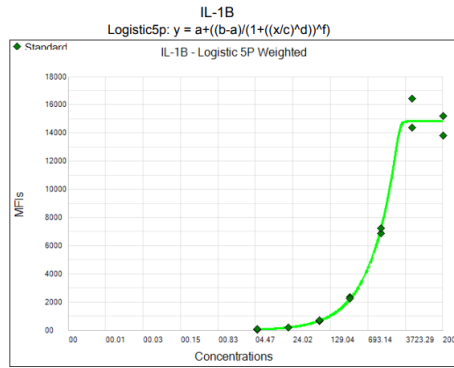
c)

**Data Interpretation Report**

Report Date: 9/10/2024      Report Time: 5:00:14AM

**Batch Name:** HTH17MAG-14K-04 FIERRO  
**Protocol Name:** HTH17MAG-14K-04  
**Protocol Version:** 1  
**Test Name:** IL-1B

**Serial Number:** MAGPX16139704  
**Batch Run Date:** 9/10/2024 4:58:17AM  
**Operator:**  
**Report Generated By:**



Curve Data:

R<sup>2</sup> = 0.983764923000597

Sum of Residuals = 334.448451151876

Average Residuals = 23.8891750822769

Relative Sum of Squares Absolute = 4167433.56552541

Relative Sum of Squares Relative = 1989.47396640137

Standard Error of the Estimate = 14.8678398879422

Adjusted Coefficient of Multiple Determination = 0.976549333223085

**Luminex**

**XPONENT**  
SOFTWARE SOLUTIONS

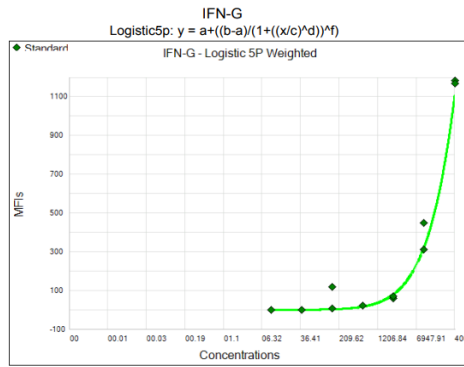
d)

**Data Interpretation Report**

Report Date: 9/10/2024 Report Time: 5:00:03AM

**Batch Name:** HTH17MAG-14K-04 FIERRO  
**Protocol Name:** HTH17MAG-14K-04  
**Protocol Version:** 1  
**Test Name:** IFN-G

**Serial Number:** MAGPX16139704  
**Batch Run Date:** 9/10/2024 4:58:17AM  
**Operator:**  
**Report Generated By:**



**Curve Data:**

R<sup>2</sup> = 0.705339897660452

Sum of Residuals = 337.250655082895

Average Residuals = 24.0893325059211

Relative Sum of Squares Absolute = 38988.3924536091

Relative Sum of Squares Relative = 19.3324527423629

Standard Error of the Estimate = 1.4656228384912

Adjusted Coefficient of Multiple Determination = 0.574379852176209

**Luminex**

**XPONENT**  
SOFTWARE SOLUTIONS

## Anexo 10.- Tabla 1 complementaria.

**Tabla 1. Seroprevalencia de VHE en pacientes en tratamiento con HD.**

Autor / Año	País	HD (n)	Marcador evaluado	(%)	Kit diagnóstico	Factores asociados
Stefanidis et al., 2004	Grecia	155	IgG	4.5	ELISA (Genelabs, Singapur)	Edad avanzada, sexo masculino
Psichogiou et al., 2006	Grecia	101	IgG	6.4	ELISA (Adaltis, Italia)	Edad avanzada
Ding et al., 2003	Japón	90	IgG	30.0	ELISA (Institute of Immunology, Tokyo)	Edad avanzada
Lee et al., 2012	Taiwán	232	IgG	31.0	ELISA (Genelabs, Singapur)	Transfusión sanguínea y tiempo en HD
Mateos et al., 2002	España	135	IgG	6.3	ELISA (Genelabs, Singapur)	No identificados
Sylvan et al., 1998	Suecia	83	IgG	6.0	ELISA (Abbott Laboratories, USA)	Edad avanzada, residencia rural
Gessoni y Manoni, 1996	Italia	75	IgG	9.3	ELISA (Sorin Biomedica, Italia)	Edad avanzada
Buti et al., 2004	España	108	IgG	6.0	ELISA(Genelabs, Singapur)	Edad avanzada
Scotto et al., 2015	Italia	231	IgG/IgM	6.0 (IgG) 0 (IgM)	ELISA (DIA.PRO, Italia)	Tiempo en HD, transfusión sanguínea
Pisano et al., 2017	Argentina	82	IgG	9.7(IgG)	ELISA (DIA.PRO, Italia)	Consumo alimentos (mariscos)
Zekavat et al., 2003	Irán	80	IgG	6.3	ELISA (DIA.PRO, Italia)	Edad avanzada
Ouji et al., 2021	Irán	226	IgM/IgG y ARN	14.6(IgM) 68.6(IgG) No ARN	ELISA (DIA.PRO, Italia)	Edad avanzada
Ismail et al., 2020	Líbano	171	IgG	21.6	ELISA (Euroimmun, Lübeck, Alemania)	Edad avanzada
Kogias et al., 2023	Grecia	405	IgG/ARN	10.4 No ARN	ELISA(Wantai, BioPharm)	Edad avanzada, transfusión sanguínea
Shemis et al., 2022	Egipto	84	IgG	6.0	ELISA (DIA.PRO, Italia)	No identificados
Kevorkyan et al., 2023	Bulgaria	225	IgM/IgG/ARN	2.7(IgM) 6.2(IgG) No ARN	ELISA (Euroimmun, Lübeck, Alemania)	Edad avanzada
Mrzljak et al., 2020	Croacia	394	IgM/IgG/ARN	0.4(IgM) 27.9(IgG) No ARN	ELISA (Euroimmun, Lübeck, Alemania)	Edad y transfusión de sangre
Öztürk et al., 2025	Turquía	160	IgG	26.3(IgG)	ELISA (DIA.PRO)	Edad avanzada, tiempo en HD

## Anexo 11.- Artículos publicados durante el desarrollo del proyecto

Annals of Hepatology 30 (2025) 101946



Contents lists available at ScienceDirect

Annals of Hepatology

journal homepage: [www.elsevier.es/annalsofhepatology](http://www.elsevier.es/annalsofhepatology)



### Opinions

## The story of hepatitis E virus infection and chronic kidney disease without liver damage



Addi P. Figueroa-Miranda<sup>a</sup>, Edgar D. Copado-Villagrana<sup>b</sup>, Nora A. Fierro<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico

<sup>b</sup> Unidad de Medicina Familiar Numero 5, Instituto Mexicano del Seguro Social, Nogales 84000, Mexico

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Hepatitis E virus  
Renal insufficiency  
Chronic  
Mexico

In the late 1980s, viral stool particles recovered from an outbreak of hepatitis in Mexico served as a basis for the molecular characterization of a new virus, hepatitis E virus (HEV) [1]. This event placed the country as an epicenter in the study of viral hepatitis and explains our fascination with this intriguing pathogen.

HEV is an RNA virus belonging to the *Hepeviridae* family and the *Paslahepevirus* genus. It exists in two conformations: as a naked particle present in the stool or as a quasi-enveloped virus present in the blood [1]. Both forms are infectious and allow virus dissemination. Importantly, the quasi-envelope allows evasion of the host immune response, and this conformation might be related to the distribution of the virus in different tissues [2]. Indeed, although HEV exhibits hepatocyte tropism and infection impairs liver function with the potential to cause fibrosis and cirrhosis [3], accumulating reports suggest that HEV leads to systemic disease, as evidenced by numerous extrahepatic manifestations (neurological, renal, hematological, and gastrointestinal) associated with the infection, with kidney disease being commonly reported [4]. The variability in hepatitis E pathogenesis is related to specific genotypes (gt), as well as to the host immune response. Progression to the chronic state defined in the setting of liver disease is related to gt3, gt4, and gt7, with gt3 being the best studied. Similarly, gt3 is the genotype most strongly associated with the development of extrahepatic manifestations [2].

Initially, considered a poverty predictor responsible for waterborne endemic outbreaks due to gt1 and gt2 in low-income countries in Africa, Asia, and America, the study of HEV underscored its wide circulation in high-income regions, where zoonotic gt3 and gt4 are present. In addition, the virus can be transmitted vertically during

pregnancy, via blood derivatives, via transplants and through direct person-person contact [5,6]. The WHO indicates that one-third of the world's population is at risk for HEV infection, which is recognized as the main etiology causing viral hepatitis worldwide. However, there is still no specific treatment for the virus, and the only licensed vaccine is exclusively available in China and has been recently employed in outbreaks in Africa. Estimates indicate that approximately 939 million individuals have experienced HEV infection at one time and that between 15 and 110 million have experienced a recent or ongoing infection [7]. Considering that this information essentially comes from virus studies in the context of liver disease, we are still far from aware of the real picture of the infection.

Chronic kidney disease (CKD) is a multifactorial condition that results in alterations in the structure and proper functioning of the organ. It is estimated that approximately 10% of the total adult population suffers from CKD at some stage; this condition is responsible for 1–2 million deaths annually worldwide and carries a significant economic global burden [8,9]. The development of CKD is closely associated with some of the most prevalent pathologies worldwide, such as diabetes, glomerulonephritis, and hypertension. In most cases, end-stage renal disease can lead to the total loss of kidney function, requiring dialysis [8]. Recently, we reported that 14.5% of patients who underwent renal replacement therapy with hemodialysis in a Mexican cohort were seropositive for HEV. Notably, acute infections denoted by viral RNA corresponding to gt3 were identified in the absence of seroconversion [10]. Moreover, the follow-up of cases allowed us to identify the progression to chronic hepatitis E in a case of CKD in the absence of liver damage, the first case with these characteristics reported in the world [11], which coincides with increasing evidence of neurological manifestations without direct involvement of the liver [2] and emphasizes the necessity of studying, in detail, the direct effect of infection on the kidney.

Abbreviations: CKD, Chronic kidney disease; gt, Genotypes; HEV, Hepatitis E virus

\* Corresponding author at: Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City 04510, Mexico.

E-mail address: [noraalma@iibimedicas.unam.mx](mailto:noraalma@iibimedicas.unam.mx) (N.A. Fierro).

<https://doi.org/10.1016/j.aohp.2025.101946>

1665-2681/© 2025 Fundación Clínica Médica Sur, A.C. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

HEV chronicity may result in liver fibrosis and cirrhosis in immunosuppressed individuals. Since immunosuppression is required to avoid transplant rejection, hepatitis E has been studied in this cohort, specifically in kidney transplant recipients. In this group, the minimum concentration of tacrolimus needed to prevent graft rejection is a determining factor in the development of chronic HEV infection. Therefore, reducing the doses of immunosuppressive drugs is the first-line treatment for chronic HEV infection in posttransplant patients; however, in situations where this management is not feasible, the use of low doses of ribavirin represents an alternative to achieve viral elimination and avoid the consequences of the disease [12]. Unfortunately, the implementation of these strategies is limited, and the infection is still neglected in endemic regions, where the implementation of specific guidelines constitutes a priority.

Notably, although HEV-associated renal injury has been reported mainly in immunocompromised patients, a large proportion of non-immunocompromised acute hepatitis E patients (25 %) with proteinuria have recently been reported [13]. In that sense, the absence of seroconversion in hemodialyzed patients we found [10,11] is in line with the fact that detection of HEV RNA in plasma and stool remains the gold standard irreplaceable for diagnosis in immunosuppressed individuals and, according to our data, in specific conditions even in apparent immunocompetence.

The pivotal role of the kidney in the pathogenesis of hepatitis E is supported by evidence that patients with chronic HEV infection are at risk of developing glomerulonephritis. The mechanisms responsible for renal disease during hepatitis E are still not clear. However, a recent report pointed toward the deposition of immune complexes of the HEV ORF 2 protein in the kidney as the cause rather than the viral replication in this tissue [14]. In addition, in line with the relationship between hepatitis E and the kidney, the presence of a cleaved form of approximately 20 kDa corresponding to the virus capsid (ORF2) has been identified as a reliable marker of HEV infection, as the antigen is eliminated in the urine [15].

Undoubtedly, hepatitis E oversimplifies the pathogenesis associated with HEV, which demands fluid and continuous communication between specialties, including hepatology and nephrology. This communication is crucial given that HEV is not included in the differential diagnosis of kidney diseases and is particularly relevant in scenarios where infection is endemic but still neglected.

#### Declaration of competing interest

None.

#### CRediT authorship contribution statement

**Addi P. Figueroa-Miranda:** Writing – original draft. **Edgar D. Copado-Villagrana:** Writing – original draft. **Nora A. Fierro:** Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Writing – original draft.

#### Funding

This work was funded by Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México and Secretaría de Ciencia, Humanidades Tecnología e Innovación Grants A200324 and CBF2023-2024-109 respectively to Nora A. Fierro.

#### References

- [1] Fierro NA. Advances in Hepatitis E Virus. *Pathogens* 2023;12:987. <https://doi.org/10.3390/pathogens12080987>.
- [2] Orozco-Córdoba J, Mazas C, Du Pont G, Lamoyi E, Cárdenas G, Fierro NA. Viral biology and immune privilege in the development of extrahepatic manifestations during hepatitis E virus infection. *Viral Immunol* 2023;36:627–41. <https://doi.org/10.1089/vim.2023.0096>.
- [3] Realpe-Quintero M, Viera-Segura O, Fierro NA. Hepatitis E virus: still an enigma in Mexico. *Ann Hepatol* 2018;17:544–6. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0012.0915>.
- [4] Webb GW, Dalton HR. Hepatitis E: an expanding epidemic with a range of complications. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:828–32. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.03.039>.
- [5] Kamar N, Izopet J, Pavio N, Aggarwal R, Labrique A, Wedemeyer H, et al. Hepatitis E virus infection. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17086. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.86>.
- [6] Copado-Villagrana ED, Pizuorno A, García-Suárez A, Abarca JC, DuPont G, Jaramillo-Bueno S, et al. IL-18 discriminates highly frequent hepatitis E virus positive from negative blood donors in Mexico. *Ann Hepatol* 2023;28:101117. <https://doi.org/10.1016/j.aohp.2023.101117>.
- [7] Li P, Liu J, Li Y, Su J, Ma Z, Brammer WM, et al. The global epidemiology of hepatitis E virus infection: a systematic review and meta-analysis. *Liver Int* 2020;40:1516–28. <https://doi.org/10.1111/liv.14468>.
- [8] Kalantar-Zadeh K, Jafar TH, Nitsch D, Neuen BL, disease Perkovic VChronic kidney. *Lancet* 2021;398:786–802. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00519-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00519-5).
- [9] Jha V, Al-Ghamdi SMG, Li G, Wu MS, Stafylas P, Retat L, et al. Global economic burden associated with chronic kidney disease: a pragmatic review of medical costs for the Inside CKD Research Programme. *Adv Ther* 2023;40:4405–20. <https://doi.org/10.1007/s12325-023-02608-9>.
- [10] Copado-Villagrana ED, Duarte-López IX, Calderón-Flores A, Loera-Robles I, Viera-Segura O, Fierro NA. Hepatitis E virus genotype 3 among hemodialysis patients in Mexico: first identification of chronic infection. *Pathogens* 2024;13:578. <https://doi.org/10.3390/pathogens13070578>.
- [11] Viera-Segura O, Duarte-López IX, Loera-Robles I, Singh-Ríos N, Calderón-Flores A, Copado-Villagrana ED, et al. Chronic hepatitis E virus infection without liver injury in a patient with chronic kidney disease. *Pathogens* 2025;14:420. <https://doi.org/10.3390/pathogens14050420>.
- [12] León-Janampa N, Boennec N, Le Tilly O, Ereh S, Herbet G, Moreau A, et al. Relevance of tacrolimus trough concentration and hepatitis E virus genetic changes in kidney transplant recipients with chronic hepatitis E. *Kidney Int Rep* 2024;9:1333–42. <https://doi.org/10.1016/j.ekir.2024.01.054>.
- [13] Zhang W, He Q, Wang H, Gong W, Qin L, Lu Y, et al. Hepatitis E virus infection and renal injury in non-immunocompromised host: clinical investigation and rabbit model study. *Front Cell Infect Microbiol* 2025;15:1583006. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2025.1583006>.
- [14] Leblond AL, Helmchen B, Ankavay M, Lenggenhager D, Jetzer J, Helmchen F, et al. HEV ORF2 protein–antibody complex deposits are associated with glomerulonephritis in hepatitis E with reduced immune status. *Nat Commun* 2024;15:8849. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53072-0>.
- [15] Ying D, He Q, Tian W, Chen Y, Zhang X, Wang S, et al. Urine is a viral antigen reservoir in hepatitis E virus infection. *Hepatology* 2023;77:1722–34. <https://doi.org/10.1002/hep.32745>.

**Anexo 12.- Premio 2do. Lugar categoría cartel maestría en la 2da Feria de Investigación Biomédica y participación en proyecto investigación a nivel licenciatura.**



**EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

otorga la presente

# CONSTANCIA

a

**Addi Pamela Figueroa Miranda**

por haber obtenido el SEGUNDO lugar presentando el trabajo  
**Hepatitis E aguda y crónica en pacientes con daño renal en ausencia de  
disfunción hepática: modulación de anticuerpos y citocinas**  
realizado por

Figueroa-Miranda AP; Copado-Villagrana ED; Du Pont G y Fierro NA

en la modalidad de Cartel dentro de la categoría de Maestría durante  
la 2a Feria de Investigación Biomédica, llevada a cabo el 8 de agosto de 2025.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad de México, 8 de agosto de 2025.



Dra. María Imelda López Villaseñor  
Directora



**EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

otorga la presente

# CONSTANCIA

a

**Rodolfo Morales Guzmán**

por haber obtenido el TERCER lugar presentando el trabajo  
**Desarrollo de una estrategia de detección de la cinética de replicación del  
virus de hepatitis E en modelos de infección in vitro**  
realizado por

Rodolfo Morales-Guzmán, Minerva Donají Santiago-Ponce, Angeles  
Torres-Valdetano, Addi Figueroa-Miranda, Gisela Du Pont y Nora A. Fierro  
en la modalidad de Cartel dentro de la categoría de Licenciatura durante  
la 2a Feria de Investigación Biomédica, llevada a cabo el 8 de agosto de 2025.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad de México, 8 de agosto de 2025.



Dra. María Imelda López Villaseñor  
Directora



Anexo 13.-Participación modalidad ponente de cartel nivel maestría y asistencia al XXVI Congreso Nacional de Inmunología de la Sociedad Mexicana de Inmunología (SMI).

 **SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA**  
En la lucha contra las enfermedades infecciosas, autoinmunes, alergias y el cáncer

 Valida esta constancia

**La Sociedad Mexicana de Inmunología A.C.**  
**Otorga la presente**  
**CONSTANCIA**  
a

**ADDI PAMELA FIGUEROA MIRANDA**  
por participar como **PONENTE** del cartel titulado:  
**Genotypic Variability of HEV Influences Renal Manifestations and Cytokine Profile**

**XXVI CONGRESO NACIONAL DE INMUNOLOGÍA**  
Chihuahua, Chihuahua, del 28 de septiembre al 2 de octubre del 2025.

  
DRA. YVONNE ROSENSTEIN AZOULAY  
Presidenta SMI 2023-2025

  
DRA. DIANA PATRICIA PORTALES PÉREZ  
Secretaria SMI 2023-2025

 **SOCIEDAD MEXICANA DE INMUNOLOGÍA**  
En la lucha contra las enfermedades infecciosas, autoinmunes, alergias y el cáncer

 Valida esta constancia

**La Sociedad Mexicana de Inmunología A.C.**  
**Otorga la presente**  
**CONSTANCIA**  
a

**ADDI PAMELA FIGUEROA MIRANDA**  
Por su participación como **Asistente al:**  
**XXVI CONGRESO NACIONAL DE INMUNOLOGÍA**  
Chihuahua, Chihuahua del 28 de septiembre al 2 de octubre del 2025.

  
DRA. YVONNE ROSENSTEIN AZOULAY  
Presidenta SMI 2023-2025

  
DRA. DIANA PATRICIA PORTALES PÉREZ  
Secretaria SMI 2023-2025

## Anexo 14.- Participación 2do. Congreso de Investigación de la Facultad de Medicina

LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Y LA FACULTAD DE MEDICINA A TRAVÉS  
DE LA DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

Otorgan la presente

# CONSTANCIA

a: **Addi Pamela Figueroa Miranda**

Por su asistencia al  
"2do Congreso de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM 2025"  
27 al 29 de agosto de 2025.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 29 de agosto de 2025.

**DR. ANDRÉS ELIÚ CASTELL RODRÍGUEZ**  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

**DRA. ANA CAROLINA SEPÚLVEDA VILDÓSOLA**  
DIRECTORA  
DE LA FACULTAD DE MEDICINA, UNAM





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00272

Matrícula: 2233803982

Efecto del virus de Hepatitis E sobre el perfil sérico de citocinas en pacientes con manifestaciones renales asociadas a la infección y de la variabilidad genética del virus sobre su desarrollo.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 27 del mes de marzo del año 2026 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. IVAN URIEL BAHENA OCAMPO  
DR. PAVEL PETROSYAN  
DR. CESAR DIAZ GODINEZ  
DRA. ROXANA URI MIRANDA LABRA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaría la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL  
DE: ADDI PAMELA FIGUEROA MIRANDA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



*Addi Pamela*

ADDI PAMELA FIGUEROA MIRANDA  
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. EDITH ARENAS RIOS

PRESIDENTE

DR. IVAN URIEL BAHENA OCAMPO

VOCAL

DR. PAVEL PETROSYAN

VOCAL

DR. CESAR DIAZ GODINEZ

SECRETARIA

DRA. ROXANA URI MIRANDA LABRA