

Aplicaciones de los avances en la genética e inmunología de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal.

Gabriela Fonseca Camarillo¹, Abril Tapia Paredes²

Clínica de Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Departamento de Gastroenterología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición. Vasco de Quiroga #15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, CP 14080, CDMX, México., México¹, Programa (PECEM), Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Ciudad Universitaria 3000, C.P. 04360, Coyoacán. México., México²

Autor de correspondencia: Gabriela Fonseca Camarillo. Clínica de Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Departamento de Gastroenterología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición. Vasco de Quiroga #15, Col. Belisario Domínguez Sección XVI, CP 14080, CDMX, México.

Resumen

El descubrimiento de nuevos factores genéticos y variantes asociadas con los fenotipos de patologías intestinales graves en ambas entidades de la EII ha dilucidado los posibles mecanismos involucrados que controlan la homeostasis intestinal y la tolerancia inmunológica. Recientemente, se han identificado alteraciones en la transcripción de genes que se asocian con diferentes vías fisiopatológicas relacionadas con la exacerbación de la respuesta inmunológica en la mucosa intestinal de pacientes con EII, dentro de estas vías se destacan alteraciones en la autofagia, remodelación tisular, y proteínas anti-proliferativas.

A continuación, se describirán algunos de los avances en la identificación de marcadores genéticos y nuevas vías fisiopatológicas como posibles blancos terapéuticos de la EII.

Palabras clave: EII, Marcadores genéticos, CUCI, Enfermedad de Crohn.

Abstract

The discovery of new genetic factors and variants associated with the phenotypes of severe intestinal pathologies in both IBD entities has elucidated the possible mechanisms involved that control intestinal homeostasis and immune tolerance. Recently, alterations in the transcription of genes have been identified that are associated with different pathophysiological pathways related to the exacerbation of the immune response in the intestinal mucosa of patients with IBD. Within these pathways there are alterations in autophagy, tissue remodeling, and anti-proliferative proteins.

Some of the advances in the identification of genetic markers and new pathophysiological pathways as potential therapeutic targets for IBD will be described below.

Keywords: IBD, Genetic markers, Ulcerative Colitis, Crohn's disease.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa crónica idiopática (CUCI) comprenden la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). La etiopatogenia de la EII es compleja, y se desconoce el mecanismo exacto que lleva a su desarrollo.

Sin embargo, los avances en el conocimiento de la misma han permitido la aparición de nuevos agentes terapéuticos dirigidos a una gran variedad de mediadores como son: moléculas de adhesión y reclutamiento celular (integrinas, selectinas e ICAM), factores citoprotectores (factor de crecimiento, transformante α y β), citocinas pro-inflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-23 e IL-36) y citocinas inmunorreguladoras (IL-10, IL-19, IL-35 e IL-37). [2-3]

Recientemente se han descrito alteraciones nuevos mediadores bioquímicos entre los que se encuentran: proteínas anti proliferativas, metaloproteinasas y autofagia [1-3].

El conocimiento de los mecanismos inmunológicos que intervienen en la EII ha abierto nuevas líneas de trabajos con fines terapéuticos como son la: neutralización de citocinas pro-inflamatorias mediante anticuerpos y la administración de citocinas anti-inflamatorias, que se encuentran en diferentes fases de investigación [4]

Se han encontrado nuevos genes asociados a la susceptibilidad para el desarrollo de EII, lo cual confirma que es un trastorno heterogéneo desde el punto de vista genético, fisiopatológico y clínico.

Desde el punto de vista clínico, estos marcadores genéticos permitirán establecer una clasificación de la EII que ayude a comprender mejor los diferentes mecanismos fisiopatológicos involucrados, predecir el curso, el pronóstico y las complicaciones de la enfermedad, así como diferenciar en algunos casos la presencia de EC y CUCI y conocer la respuesta a los tratamientos farmacológicos y biológicos.

Esto a través del desarrollo de nuevas terapias dirigidas a nuevos genes o proteínas. En la actualidad se están

desarrollando diversas terapias alternativas con miras a su uso en el futuro.

Existen estudios donde se reportan diferencias en la expresión génica de citocinas entre los pacientes con EII y controles [5]. Dentro de las investigaciones de expresión de citocinas en EII, en pocos estudios se analiza la relación entre la expresión génica y la actividad de la enfermedad (clínica e histológica). En particular, es menor la cantidad de estudios donde se mide la expresión génica de citocinas durante las diferentes condiciones de la enfermedad (remisión, actividad leve, moderada y grave).

La realización de estudios básicos permitirá identificar marcadores genéticos de inflamación, y así como establecer diferentes grupos de estudio, además de su aplicación en clínica y su potencial uso, en la administración de terapias biológicas.

El descubrimiento de nuevos factores genéticos y variantes asociadas con los fenotipos de patologías intestinales graves en ambas entidades de la EII ha dilucidado los posibles mecanismos involucrados que controlan la homeostasis intestinal y la tolerancia inmunológica. Uno de los primeros genes asociados con la EII de inicio muy temprano fue el receptor de IL-10 (IL10RA), en donde se demostró que los alelos hipomórficos severos redujeron la señalización de IL-10, resultando en una disminución de la tolerancia inmunológica. La señalización de IL-10R en macrófagos es esencial para controlar la inflamación intestinal. De manera similar, los estudios de GWAS (Genome-Wide Association Study, estudio de asociación del genoma) identificaron SNPs (Single Nucleotide Polymorphism, polimorfismos de nucleótido simple) no codificantes cerca del gen de IL10 y en el locus IL10RA asociados con la presentación de EII en la edad adulta [6].

A continuación, se describirán algunos de estos marcadores genéticos y su asociación con las características clínicas en pacientes mexicanos con EII. Tabla 1

Tabla 1.

Marcadores Genéticos en EII.		
Gen	Características clínicas características de la EII.	Referencia
IRGM	Respuesta adecuada al tratamiento médico a los aminosalicilatos	1
TLR5, TLR8 y TLR9	Actividad histológica	10
MMP10	Actividad histológica	2
MDR1	Respuesta adecuada al tratamiento farmacológico convencional y menos recaídas dentro del curso clínico.	14
MDR1	Dependencia a corticoesteroides o resistencia a inmunomoduladores, con actividad continua de la enfermedad.	14
RN6/2 GG (rs315951) IL-1β-511 CC (rs16944)	Dependencia a esteroides.	15
IL-19 (rs2243188 y rs2243193)	Protección	19
IL-20 (rs2981573 y rs2232360)	Protección	21
HLA-DRB1*0103	Procto-colectomía.	22
HLA-DRB1*15	Pancolitis.	23
HLA-DRB1*14 y HLA -DRB1 * 08	Curso clínico inicialmente activo y posterior inactivo.	24
HLA-DRB1*07	Dependencia de esteroides y la positividad a p-ANCA's.	24
TOB2	Remisión histológica	3

Autofagia

Los estudios GWAS han asociado la susceptibilidad a la EII principalmente con tres genes implicados en la autofagia: *autophagy related 16 like1* (ATG16L1), *immunity related GTPase M* (IRGM) y *protein tyrosine phosphatase non-receptor type 2* (PTPN2). Estos genes codifican para proteínas que participan en la formación y regulación del autofagosoma [7]

Los polimorfismos identificados en el gen ATG16L1 (Thr300A, rs2241880 y Ala300), se han asociado con la susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad de Crohn (EC) [8]. En células epiteliales de pacientes con EC, la variante ATG16L1 / Ala300 exhibe una eficiente autofagia y depuración intracelular del patógeno entérico *Salmonella Typhimurium* [8]. Sin embargo, se desconoce la posible conexión entre el genotipo y la presencia de estrés de retículo endoplásmico en las células de Paneth [9]

En un estudio reciente se reportó la expresión alterada de genes que participan en las vías de autofagia y estrés de retículo endoplásmico: IRGM, AGR2 y XBP1 en pacientes con CUCI. Los pacientes con CUCI en remisión tenían una expresión génica de IRGM significativamente mayor en la mucosa colónica en comparación con los pacientes activos y los controles. Se encontró asociación con una alta expresión génica de IRGM con una respuesta adecuada al tratamiento médico a los aminosalicilatos, sugiriendo que el gen IRGM pudiera ser considerado como un futuro blanco terapéutico y un marcador de respuesta al tratamiento convencional en pacientes con EII [1].

Receptores tipo toll (TLRs) y actividad histológica en CUCI.

Algunos genes involucrados en la respuesta inmunitaria innata son los receptores tipo Toll (TLRs) que son proteínas trans-membranales, conformados por 11 miembros. Participan en el reconocimiento de productos bacterianos, de hongos y virus. Inducen la activación de moléculas como el NF-KB que participa en el proceso inflamatorio.

La disregulación de la respuesta inmune innata por los TLRs en una característica clave en la CUCI. Los análisis por RT-PCR mostraron un incremento en la expresión del RNA mensajero de TLR5, TLR8 y TLR9 en biopsias intestinales de pacientes con CUCI, en comparación con los tejidos no inflamados de pacientes con CUCI o de sujetos sanos y su expresión correlaciona positivamente con la gravedad de la inflamación a nivel intestinal. [10]

Metaloproteinasas y actividad histológica en la EII.

En la mucosa intestinal de pacientes con EII existe una reducción en los mecanismos de reparación tisular de las células epiteliales colónicas, lo que favorece una inadecuada remodelación del epitelio por degradación de componentes de matriz extracelular, incremento de la síntesis de metaloproteinasas y citocinas inflamatorias [9]. Las metaloproteinasas de la matriz (MMP) pueden escindir y remodelar componentes de la matriz extracelular en respuesta a estímulos inflamatorios y por su capacidad inmunomoduladores [11]

EMMPRIN (Inductor De Metaloproteinasas De Matriz Extracelular) es una glicoproteína transmembranal que se expresa principalmente en fibroblastos y células endoteliales, participa en los procesos de remodelación y reparación tisular, así como en la inducción de la secreción de metaloproteinasas 10 y 23. [12,13]

En un estudio reciente se demostró la participación de EMMPRIN, MMP-10 y 23 en pacientes con CUCI y enfermedad de Crohn, donde se observó una expresión diferencial de EMMPRIN y MMP-10 en las capas de la mucosa, muscular y adventicia de pacientes con CUCI activa en comparación con los pacientes con EC activa y controles. Se encontró una correlación de la expresión de MMP1-0 con la actividad histológica en pacientes con CUCI activo, lo cual sugiere que estas moléculas participan en la fisiopatología de estos pacientes, favoreciendo el reclutamiento de células inmunes desde la periferia hacia los sitios de inflamación [2].

Gen de Múltiple Resistencia a Drogas 1 (MDR1) y su asociación con el tratamiento médico y remisión a largo plazo en pacientes con CUCI.

El gen MDR1 codifica la glicoproteína P (P-gp) perteneciente a la familia de las ABC, una familia de transportadores que se encargan de ingresar sustancias al interior de la célula. Entre estas sustancias se encuentran los corticosteroides. El gen MDR1 ha sido ampliamente estudiado por conferir resistencia a determinados fármacos. En específico en CUCI la disminución de las concentraciones citoplasmáticas de corticosteroides se deben a una disminución de la expresión del gen MDR1 en el tejido intestinal de pacientes con la enfermedad activa en comparación con los controles no inflamados. Los pacientes con CUCI que presentan mayores niveles de expresión del gen MDR1 presentan una adecuada respuesta al tratamiento farmacológico convencional y menos recaídas dentro del curso clínico, en comparación con aquellos con bajos niveles de expresión que presentan dependencia a corticosteroides o resistencia a inmunomoduladores, con actividad continúa de la enfermedad [14].

Interleucina 1 y el uso de esteroides y aminosalicilatos en pacientes con CUCI.

La IL-1 (IL-1 α e IL-1 β) es una importante citocina proinflamatoria producida por macrófagos, monocitos y células dendríticas en respuesta al factor de necrosis tumoral alfa (TNF α). Se conocen tres formas: IL-1 α , IL-1 β e IL-1RA. La IL-1 β promueve la síntesis de las prostaglandinas, leucotrienos e interleucina-8.

Un estudio realizado en 200 pacientes mexicanos con CUCI encontró una relación entre los polimorfismos de la IL-1 β y del IL-1 RA y la dependencia al uso de esteroides. En este estudio se observó que los pacientes con dependencia a esteroides tenían una frecuencia significativamente superior de los genotipos RN6/2 GG (rs315951) y IL-1 β -511 CC (rs16944) respecto al grupo control. Este hallazgo sugiere que estos genotipos en la población mexicana pueden ser empleados como marcadores de dependencia a esteroides [15].

Interleucina IL-19

La interleucina 19 se expresa en células epiteliales, macrófagos y células B [16]. Se ha observado en estudios *in vitro* que el lipopolisacárido (LPS) induce un incremento de la expresión de IL-19 en monocitos de humanos [17] y activa la secreción de TNF- α y la IL-6. Se determinó mediante la técnica de PCR en tiempo real un aumento en la expresión de los niveles de ARNm del gen de IL-19 en muestras de intestino de pacientes con CUCI activo en comparación con los pacientes sin inflamación. Esto puede explicarse como un mecanismo compensatorio de tipo antiinflamatorio para regular el proceso agudo inflamatorio a nivel intestinal [18]. Esta citocina parece estar involucrada en la fisiopatología del proceso inflamatorio de la CUCI y podría ser considerada como blanco terapéutico.

Se han reportado polimorfismos de la IL-19 en población mexicana. Se encontró que las variantes (rs2243188 y rs2243193) podrían tener un papel protector en el desarrollo de la CUCI en individuos mexicanos [19].

Interleucina IL-20

La IL-20 se encarga de la restauración epitelial y se expresa en bajos niveles en tejidos como la piel, la tráquea, y pulmones [20]. El descubrimiento de receptores para IL-20 (IL-20Ra e IL-20R β) en las células entéricas ha planteado la

posibilidad de utilizar esta interleucina por vía tópica. De esta forma se lograría aumentar sus concentraciones en la mucosa colónica, mejorar su eficacia y generar el desarrollo de terapias alternativas para el tratamiento de pacientes con CUCI. Recientemente se demostró que la expresión génica de IL-20 disminuye en pacientes con CUCI en remisión comparado con el grupo control. En el caso de los receptores se observó incremento en la expresión génica en los pacientes con CUCI en remisión, lo que puede explicarse por el hecho de que existe un aumento en la afinidad de la IL-20 a sus receptores, en específico por la subunidad IL-20Ra, que induce atenuación de la inflamación [21]. En población mexicana se encontró que existen genotipos GG de IL-20 polimorfismos (rs2981573 y rs2232360) podrían tener un papel protector en el desarrollo de la CUCI. [22]

HLA- DRB1 y CUCI.

El HLA es un conjunto de moléculas implicadas en el reconocimiento inmunológico y en la señalización entre células del sistema inmunitario. Se ha podido descubrir la conexión entre determinados perfiles HLA y una mayor frecuencia de enfermedades como la espondilitis anquilosante, la enfermedad celiaca y la CUCI. Los alelos HLA-DRB1 se encuentran asociados con el curso clínico de la CUCI y la dependencia a esteroides en pacientes mexicanos. Se encontraron asociaciones significativas entre el HLA-DRB1*0103 con la realización de procto-colectomía; el HLA-DRB1*15 con pancolitis, los alelos HLA-DRB1*14 y HLA-DRB1 * 08 con un curso clínico inicialmente activo y posterior inactivo. Por otro lado, el HLA-DRB1*07 se asoció significativamente con la dependencia de esteroides y la positividad a p-ANCA en los pacientes con CUCI [23-24]

Proteínas anti-proliferativas (TOBs) en EII.

Recientemente, se ha reportado el papel de las proteínas anti-proliferativas TOB en la inhibición de la activación y proliferación de los linfocitos T, así como en la supresión de la transcripción de citocinas pro-inflamatorias como son: IL-2, IL-4, IL-17 e IFN γ , y de las citocinas E y A [25]

La familia TOB/BTG son un grupo de proteínas con capacidad anti-proliferativa. A la fecha se han descrito seis miembros que incluyen BTG1, BTG2, BTG3, BTG4, TOB1 y TOB2 [26].

En un estudio reciente se demuestra la expresión génica y proteica diferencial de las proteínas anti-proliferativas TOB/BTGs en tejido intestinal de pacientes con EII en las diferentes condiciones (actividad y remisión) y en un grupo de controles sin datos de inflamación intestinal, en donde se observó que la expresión génica de TOB1 y BTG1 se encuentra disminuida en las biopsias de mucosa de recto de los pacientes con CUCI con respecto al grupo control. La co-localización de las proteínas TOB1+/CD16+ se encontró positiva a nivel intracelular de poblaciones celulares morfológicamente compatibles con neutrófilos, células NK y macrófagos infiltrantes de la zona de la submucosa de tejido intestinal de pacientes con CUCI activo en comparación con el grupo de pacientes con EC y controles [3].

En el caso particular de la expresión génica diferencial de TOB2 y BTG2, se encontró que ambos genes están sobre expresados en mucosa de recto de pacientes con CUCI en remisión en comparación con el grupo con CUCI activo y los controles. La alta expresión del gen TOB2 se encontró asociada con la remisión histológica en pacientes con CUCI, sugiriendo el posible papel protector de las proteínas TOB y su posible implicación en la regulación del proceso inflamatorio de la CUCI en remisión a través de la inhibición

de la activación y proliferación mediada por poblaciones de linfocitos efectores. Este nuevo papel de la familia TOB/BTGs en la regulación de la inflamación intestinal representa una nueva estrategia en la identificación de nuevos blancos terapéuticos.

CONCLUSIONES

Estudios básicos permiten identificar marcadores bioquímicos de inflamación, y así establecer diferentes grupos de estudio, además de su aplicación en clínica y su potencial uso en el diseño de futuros blancos terapéuticos.

Un mayor conocimiento de los mediadores implicados en la inflamación intestinal ha abierto nuevas líneas de investigación basadas en la manipulación de la respuesta inmunitaria con fines terapéuticos, como son la neutralización de citocinas pro-inflamatorias.

Los fenotipos de enfermedad individuales serán establecidos por una combinación de medios clínicos, radiológicos y endoscópicos, como se hace actualmente, pero también se obtendrán perfiles genéticos y serológicos detallados, con tecnologías futuras que quizás incluyan la evaluación de los perfiles de citocinas individuales para cada paciente, permitiendo una evaluación más exacta del pronóstico de la enfermedad y el uso de terapias específicas para antagonizar mediadores inflamatorios específicos en poblaciones latinoamericanas.

REFERENCIAS

1. G. Fonseca Camarillo, E. Iturriaga Goyon, J.K. Yamamoto Furusho P762 Gene expression profiling of immune adaptive response in the colonic mucosa from patients with ulcerative colitis. *Journal of Crohn's and Colitis*, Volume 11, Issue suppl_1, 1 February 2017, Pages S470–S471.
2. Fonseca-Camarillo, G., Furuzawa-Carballeda, J., Martínez-Benitez, B., Barreto-Zúñiga, R., & Yamamoto-Furusho, J. K. (2020). Increased expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) and MMP10, MMP23 in inflammatory bowel disease: Cross-sectional study. *Scandinavian journal of immunology*, e12962.
3. Fonseca-Camarillo, G., Furuzawa-Carballeda, J., Priego-Ranero, Á. A., Martínez-Benítez, B., Barreto-Zúñiga, R., & Yamamoto-Furusho, J. K. (2020). Expression of TOB/BTG family members in patients with inflammatory bowel disease. *Scandinavian journal of immunology*, e13004.
4. Yamamoto Furusho JK. Innovative therapeutics for inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterology* 2007; 13: 1893-1896.
5. Raddatz D, Bockemül M. Quantitative measurement of cytokine mRNA in inflammatory bowel disease: relation to clinical and endoscopic activity and outcome. *Eur Journal Gastroenterology Hepatology* 2005; 17: 547-557.
6. Graham DB, Xavier RJ. Pathway paradigms revealed from the genetics of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2020;578(7796):527-539.
7. Kim S, Eun HS, Jo EK. Roles of autophagy-related genes in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Cells*. 2019 [Acceso: 02/09/2020];8(1).
8. Nguyen, H. T., Lapaquette, P., Bringer, M. A., & Darfeuille-Michaud, A. (2013). Autophagy and Crohn's disease. *Journal of innate immunity*, 5(5), 434–443.
9. Uballa, P., Huett, A., Rioux, J. D., Daly, M. J., & Xavier, R. J. (2008). Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS one*, 3(10), e3391.
10. Sánchez Muñoz F, Fonseca-Camarillo G, Yamamoto Furusho y cols. Transcript levels of Toll-like receptors 5, 8 and 9 correlate with inflammatory activity in Ulcerative Colitis. *BMC Gastroenterol*. 2011 20; 11(1):138.
11. Subramanian, S., Geng, H., & Tan, X. D. (2020). Cell death of intestinal epithelial cells in intestinal diseases. *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*, 72(3), 308–324.
12. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J Pathol*. 2003;200(4):448-64.
13. Arora M, Mane DR. Immunohistochemical expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2018;22(2):279-280.
14. Yamamoto Furusho Jesús K, Villeda Ramírez M A, Fonseca Camarillo Gabriela, Sánchez Muñoz F, Domínguez López A, Barreto Zúñiga R, Uribe M. High gene expression of MDR1 (ABCB1) is associated with medical treatment response and long term remission in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 16 (4): 541-719.
15. Yamamoto-Furusho JK, Santiago-Hernández JJ, Pérez-Hernández N, Ramírez-Fuentes S, Fragoso JM, Vargas-Alarcón G. Interleukin 1 β (IL-1B) and IL-1 antagonist receptor (IL-1RN) gene polymorphisms are associated with the genetic susceptibility and steroid dependence in patients with ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterology*. 2011; 45(6):531-5.
16. Hsing Chung-Hsi, Hsing-Hui Li, Hsu Yu-Hsiang. The distribution of interleukin-19 in healthy and neoplastic tissue. *Cytokine*. 2008; 44: 221-228.
17. Liao YC, Liang WG, Chen FW, et al. IL-19 induces production of IL-6 and TNF-alpha and results in cell apoptosis through TNF-alpha. *J Immunol*. 2002; 169:4288-4297.
18. Fonseca-Camarillo G, Furuzawa-Carballeda J, Granados J, Yamamoto-Furusho JK. Expression of IL-19 and IL-24 in IBD patients: a cross-sectional study. *Clin Exp Immunol*. 2014 Feb 15. doi: 10.1111/cei.12285. [Epub ahead of print].
19. Yamamoto-Furusho JK, Álvarez-León E, Fragoso JM, Gozalishvilli A, Vallejo M, Vargas-Alarcón G. Protective role of interleukin-19 gene polymorphisms in patients with ulcerative colitis. *Hum Immunol*. 2011 Nov;72(11):1029-32.
20. Xu W. Interleukin-20. *Int Immunopharmacol* 2004; (5):627-33.
21. Yamamoto-Furusho JK, De-León-Rendón JL, de la Torre MG, Alvarez-León E, Vargas-Alarcón G. Genetic polymorphisms of interleukin 20 (IL-20) in patients with ulcerative colitis. *Immunol Lett*. 2013 Jan; 149(1-2):50-3.
22. Yamamoto-Furusho JK, Rodríguez-Bores L, Granados J. HLA-DRB1 alleles are associated with the clinical course of disease and steroid dependence in Mexican patients with ulcerative colitis. *Colorectal Dis*. 2010 (12):1231-5.
23. Yamamoto-Furusho JK, Uscanga LF, Vargas-Alarcón G, Ruiz-Morales JA, Higuera L, Cutido T, Rodríguez-Pérez JM, Villareal-Garza C, Granados J. Clinical and genetic heterogeneity in Mexican patients with ulcerative colitis. *Human Immunology* 2003; 64: 119-23.

24. Yamamoto-Furusho JK, Uscanga-Domínguez L, Lopez-Martínez A, Granados J. Association of the HLA-DRB1*0701 allele with perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) in Mexican patients with severe ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1617-20.
25. Baranzini S E. The role of antiproliferative gene Tob1 in the immune system. *Clin Exp Neuroimmunol.* 2014, 1; 5(2): 132-136.
26. Matsuda S, Kawamura-Tsuzuku J, Ohsugi M, Yoshida M, Emi M, Nakamura Y, Onda M, Yoshida Y, Nishiyama A, Yamamoto T. Tob, a novel protein that interacts with p185erbB2, is associated with anti-proliferative activity». *Oncogene* (1996). 12 (4): 705-13.