

# Asociación del polimorfismo del gen ICOS (c.1564 t/c) con hepatitis autoinmune tipo 1 en población mestiza venezolana

**Autores** María del Pilar Fortes, Paolo Tassinari, Isaac Blanca, Irma Machado

**Afiliaciones** Instituto de Inmunología "Dr. Nicolás E. Bianco C.", FOCIS Center of Excellence, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2013;67(4):194-198. Sociedad Venezolana de Gastroenterología, Caracas, Venezuela. ISSN 0016-3503.

Autor correspondiente: Dra. Irma Machado. Gastroenterólogo. Dirección Médica Laboratorio Clínico Especializado In Intediag-HV C.A, Caracas, Venezuela.

Correo-e: medica@intediag.com

Fecha de recepción: 23 de septiembre de 2013. Fecha de revisión: 2 de octubre de 2013. Fecha de aprobación: 6 de octubre de 2013.

## Resumen

**Introducción:** Un evento inmunopatológico característico en la hepatitis autoinmune (HAI) es la activación prolongada de la respuesta Th1. Diferentes promotores genéticos pueden predisponer a esta activación provocando ruptura de la inmunotolerancia. Uno de estos promotores es ICOS perteneciente a la familia de CD28, moléculas involucradas en funciones que regulan las respuestas Th1 y Th2 previniendo la activación prolongada de la respuesta Th1. **Objetivo:** Determinar el polimorfismo del gen ICOS (c.1564 T/C) en pacientes mestizos venezolanos con HAI tipo 1 y su posible asociación con la expresión clínica. **Materiales y Métodos:** Se investigaron 70 pacientes con HAI tipo 1 y 121 individuos sanos, ambos grupos venezolanos de tercera generación. La determinación del polimorfismo se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida por polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). **Resultados:** El alelo silvestre T fue el más frecuente tanto en pacientes como en controles siendo mayor en el segundo grupo (60,7% vs 70,4%; p=0,05; pc=ns OR 1,45 p<0,05). El alelo mutado C se observó más en los pacientes con respecto al grupo control (39,3% vs 29,6%; p=0,05; pc=ns OR 1,45 (p<0,05). En las frecuencias genotípicas, se demostraron los genotipos heterocigotos (T/C) y homocigotos para el alelo mutado (C/C) más prevalentes en el grupo de pacientes que en controles y el genotipo silvestre T/T más frecuente en controles que en pacientes siendo estas diferencias significativas al 10% ( $\chi^2=5,31; 2GL; p=0,07$ ); OR 2,08 (p<0,05). Los pacientes con el genotipo heterocigoto demostraron niveles más elevados de globulinas, de IgG y mayor presencia de anticuerpos anti-mitocondriales que los observados en el genotipo T/T con diferencia estadística significativa al 10%. Además, se observa menor presencia de anticuerpos antinucleares en el genotipo T/C vs. T/T (p<0,10; pc=ns). **Conclusiones:** En el estudio del polimorfismo del gen ICOS (c.1564 T/C) los genotipos heterocigoto T/C y homocigoto mutado C/C son más frecuentes en pacientes mestizos venezolanos con HAI tipo 1 que en controles con riesgo significativo. Este polimorfismo se asocia a ciertas variables inmunodiagnósticas.

**Palabras clave:** Hepatitis Autoinmune, polimorfismos, gen ICOS, mestizos.

## ASSOCIATION OF ICOS (c.1564 T/C) GENE POYMORPHISM WITH AUTOIMMUNE HEPATITIS TYPE 1 IN VENEZUELAN MESTIZO POPULATION

### Summary

**Introduction:** A characteristic immunopathological event in autoimmune hepatitis (AIH) type 1 is the prolonged activation of Th1 response. Different promoters might predispose to this activation inducing immunotolerance breaking. ICOS is one of these promoters which belong to CD28 family, molecules involved in Th1 and Th2 regulating functions to prevent Th1 longer activation. **Objective:** To determine gen ICOS (c.1564 T/C) polymorphism in Venezuelan mestizo patients with AIH type 1 and its possible association with clinical expression. **Materials and Methods:** Seventy patients with AIH type 1 and 121 healthy individuals, both third generation Venezuelan groups, were investigated. Polymorphism determination was performed by polymerase chain reaction (PCR) following by restriction fragments longitudinal polymorphisms (RFLP). **Results:** The most frequent allele was wild T either in patients and controls, being higher in the second group (60,7% vs. 70,4%; p=0,05; pc=ns OR 1,45 p<0,05). The mutant C allele was observed more in patients than controls (39,3% vs. 29,6%; p=0,05; pc=ns OR 1,45 (p<0,05). In the genotypes frequencies, heterozygote genotypes (T/C) and homozygote mutant allele (C/C) were prevalent in the patient's group while in the control's group the wild genotype T/T was the most frequent being these differences significantly to 10% ( $\chi^2=5,31; 2GL; p=0,07$ ); OR 2,08 (p<0,05). Compared to the T/T genotype group, patients with heterozygote genotype shown higher levels of globulins, IgG and presence of anti-mitochondrial antibodies with a significant difference to 10%. Moreover, presence of antinuclear antibodies was less frequent in the T/C genotype vs. T/T (p<0,10; pc=ns). **Conclusion:** Heterozygote genotype T/C and homozygote mutant genotype C/C of gen ICOS (c.1564 T/C) with a significantly risk are more frequent in Venezuelan mestizo patients with AIH type 1 than in controls with a significantly risk. This polymorphism is associated with certain immunodiagnostic variables.

**Key words:** Autoimmune hepatitis, polymorphisms, gene ICOS, mestizos.

## Introducción

La hepatitis autoinmune (HAI) tipo 1 es una enfermedad inflamatoria del hígado, que afecta principalmente a mujeres y que se caracteriza por elevación de aminotransferasas, presencia de autoanticuerpos e hipergammaglobulinemia.<sup>1</sup> El hallazgo histológico característico es la hepatitis de interfase periportal o periseptal con infiltración de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, poniendo en evidencia como la inmunología celular contribuye a la patogenia de la enfermedad. Los estudios inmunohistoquímicos identifican en forma predominante los linfocitos T, principalmente los linfocitos T CD4+ y en menor cuantía los linfocitos T CD8+.<sup>2</sup> No están claras las razones que provocan la ruptura de la inmunotolerancia y los mecanismos que causan la enfermedad. La hipótesis más comúnmente aceptada es que esta patología es desencadenada por un factor ambiental en un individuo genéticamente susceptible.<sup>3</sup> Múltiples genes pueden interactuar produciendo el llamado "pool de genes permisivos" que determinan tanto el riesgo como las características clínicas de la enfermedad.<sup>3</sup> La mayoría de los estudios realizados han asociado la HAI tipo 1 con el Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH) o Antígeno Leucocitario Humano (HLA) clase II.

Las evidencias demuestran que, además de los determinantes compartidos de moléculas CPH clase II, que juegan un papel prevalente en la susceptibilidad hacia la enfermedad, múltiples promotores genéticos de autoinmunidad están presentes en HAI y pueden incluir tanto genes dependientes como independientes del CPH,<sup>1</sup> reportándose al menos un 30 a 50% de los pacientes con HAI sin asociación con alelos HLA de susceptibilidad.<sup>1</sup> En el estudio realizado por nosotros,<sup>4</sup> se apreció que un 38% de los pacientes no presentaban alelos HLA de susceptibilidad.

En cuanto a los genes que se encuentran fuera del CPH es importante estudiar aquellos que regulan la función del linfocito T, linfocito ampliamente involucrado en la inmunopatogenia de la HAI.<sup>5</sup>

ICOS pertenece a la familia de CD28, moléculas de superficie de membrana tipo inmunoglobulinas asociadas a funciones co-estimuladoras. ICOS se encuentra expresado con CD28 en células T activadas, sin embargo, a diferencia de CD28, ICOS no se expresa constitutivamente sino que su expresión debe ser inducida de novo.<sup>6,7</sup> Esta molécula está involucrada en la liberación de citocinas como interleucina-4 (IL-4), IL-5, IL-6, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferón- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) y factor estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) pero, en particular, en la sobreproducción de IL-10 la cual induce a las células B a células de memoria y plasmáticas.<sup>8,9</sup> El ligando de esta molécula (ICOS-L) se expresa constitutivamente como monómero en las células presentadoras de antígenos, incluyendo las células B vírgenes. Estudios experimentales concluyen que ICOS es crítico para una eficiente activación de los linfocitos T y para la producción de citocinas Th2.<sup>10</sup>

Existen evidencias experimentales en la participación de ICOS en la patogénesis de HAI. Así, Aoki et al., en ratones PD-1(-/-) bloqueó ICOS mediante el uso de anticuerpos monoclonales suprimiendo de esta manera la generación de HAI.<sup>11</sup> En cuanto al estudio genético de este gen en enfermedades hepáticas autoinmunes solo se ha hecho en pacientes con cirrosis biliar primaria donde se estudió el polimorfismo ICOS p.1323 C/G no encontrándose asociación.<sup>12</sup>

Dado el papel crucial de esta molécula en la activación de linfocitos T, nos propusimos determinar el polimorfismo del gen

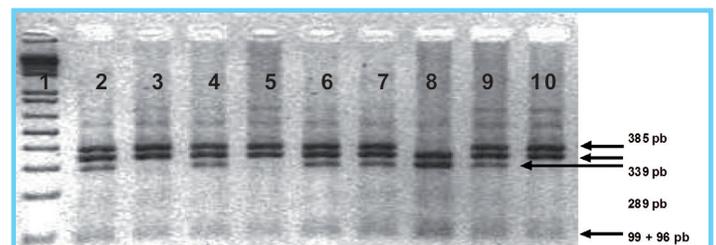
ICOS c.1564 T/C en los pacientes mestizos venezolanos con HAI tipo 1 y su posible asociación con la expresión clínica e inmunodiagnóstica del paciente.

## Materiales y Métodos

**Pacientes.** Se investigaron 70 pacientes conocidos con diagnóstico definitivo de HAI tipo 14 y 121 individuos sanos, ambos grupos venezolanos de tercera generación.

**Métodos.** La determinación del polimorfismo ICOS (c.1564 T/C) se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) empleando el protocolo de Haimila et al.<sup>13</sup> seguido por la técnica de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), que se refiere a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que varían entre individuos y que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción (endonucleasas de restricción), obteniéndose diferentes patrones de bandas. Para el estudio de este polimorfismo se utilizó la enzima AluI. Seguidamente se realizó la electroforesis en un gel de agarosa al 2% que contiene bromuro de etidio. Finalizada la corrida, el gel se coloca en un transiluminador de luz ultravioleta y se documenta por fotografía.

La digestión del producto de PCR genera 5 fragmentos en el caso de los heterocigotos T/C (385, 339, 289, 99 y 96 pb), tres en el caso de los homocigotos T/T (385, 339 y 99 pb) y cuatro fragmentos para el homocigoto C/C (339, 289, 99 y 96 pb). (Figura 1).



**Figura 1** Visualización de los fragmentos de PCR-RFLP de ICOS c.1564 T/C. Productos amplificados para este sitio polimórfico, digeridos con la enzima de restricción de AluI en un gel de agarosa al 2%. Los pozos 3, 5 y 10 corresponden al patrón de bandas del homocigoto T/T, en el pozo 8 al homocigoto C/C y en el resto de los pozos al genotipo heterocigoto T/C. En el pozo 1 se colocó un marcador de peso molecular de 100 pb.

Las frecuencias fenotípicas (FF) y alélicas (FA) se calcularon mediante conteo directo.

**Análisis estadístico:** El nivel de significancia (p) de la asociación con hepatitis autoinmune y el polimorfismo del gen ICOS c.1564 T/C presente en pacientes y controles se determinó con el estadístico Ji cuadrado ( $\chi^2$ ).<sup>14</sup> Para aquellas asociaciones significativas, el valor de p fue corregido multiplicándolo por el número de comparaciones (corrección de Bonferroni).<sup>15</sup> considerándose significativo cuando p es menor de 0,05, la prueba  $\chi^2$  también se utilizó para determinar si hubo dependencia entre las características clínicas de los pacientes y las frecuencias de genotipos. El riesgo relativo se calculó como "odds ratio" (OR) a partir de la

tabla de contingencia 2 x 2 mediante la fórmula de Woolf y modificada por el método descrito por Haldane<sup>15</sup> cuando un elemento de la ecuación es igual a cero. En este trabajo se consideran relevantes los OR con intervalos de confianza significativos por lo menos al 95% ( $p < 0,05$ ).

Para investigar la asociación entre los distintos alelos HLA de susceptibilidad para HAI y el polimorfismo en estudio, se calculó el coeficiente de correlación no paramétrico  $r$  de Spearman ( $r_s$ ).<sup>14</sup> Este coeficiente es igual a 1 en el caso que exista una perfecta asociación positiva entre cualquiera de los alelos HLA y el polimorfismo, demuestra un valor de -1 si existe una asociación negativa entre ellos y, un valor de 0 si no hay ningún tipo de relación lineal. La significancia de estos valores también se determina con un valor de probabilidad tal que es significativo si  $p < 0,05$ . Este análisis fue realizado con el programa PAST.<sup>16</sup>

## Resultados

### Frecuencias alélicas, fenotípicas y genotípicas del gen ICOS c.1564 T/C

El alelo silvestre T fue el más frecuente tanto en los pacientes como en los controles siendo mayor en el segundo grupo (60,7% vs 70,4%) y el alelo mutado C se observó más en los pacientes con respecto al grupo control (39,3% vs 29,6%), estas diferencias fueron significativas ( $p = 0,05$ ;  $pc = ns$ ) con un OR de 1,45 ( $p < 0,05$ ) (**Cuadros 1 y 2**).

En cuanto a las frecuencias genotípicas, se apreciaron los genotipos heterocigotos (T/C) y homocigotos para el alelo mutado (C/C) más frecuentes en el grupo de pacientes que en controles y el genotipo silvestre T/T más frecuente en controles en pacientes siendo estas diferencias significativas al 10% ( $\chi^2 = 5,31$ ;  $2GL$ ;  $p = 0,07$ ) que se pierde al ser corregida y, un OR de 2,08 ( $p < 0,05$ ) que nos dice que la relación entre las frecuencias genotípicas TT/TC es significativamente distinta al comparar el grupo de pacientes con el grupo control (**Cuadro 3**).

**Cuadro 1** Frecuencias alélicas, fenotípicas y genotípicas del gen ICOS c.1564 T/C en pacientes venezolanos con hepatitis autoinmune tipo 1

ICOS C. 1564 n= 70				
<b>Alelo</b>	<b>T</b>	<b>60,7 (85)</b>	<b>Genotipo</b>	
	<b>C</b>	<b>39,3 (55)</b>	<b>T/T</b>	<b>32,9 (23)</b>
<b>Fenotipo</b>	<b>T</b>	<b>88,6 (62)</b>	<b>T/C</b>	<b>55,7 (39)</b>
	<b>C</b>	<b>67,1 (47)</b>	<b>C/C</b>	<b>11,4 (8)</b>

Nota: Los valores mostrados en paréntesis representan el número de veces que se repite el alelo o el número de individuos portadores de un genotipo y/o fenotipo para cada sitio polimórfico estudiado. La frecuencia está expresada en porcentaje.

**Cuadro 2** F Frecuencias alélicas, fenotípicas y genotípicas del gen ICOS c.1564 T/C en individuos sanos venezolanos

ICOS C. 1564 n= 120				
<b>Alelo</b>	<b>T</b>	<b>70,4 (169)</b>	<b>Genotipo</b>	
	<b>C</b>	<b>29,6 (71)</b>	<b>T/T</b>	<b>50 (60)</b>
<b>Fenotipo</b>	<b>T</b>	<b>70,4(109)</b>	<b>T/C</b>	<b>40,8 (49)</b>

**Cont. Cuadro 2** F Frecuencias alélicas, fenotípicas y genotípicas del gen ICOS c.1564 T/C en individuos sanos venezolanos

ICOS C. 1564 n= 120			
<b>C</b>	<b>29,6(60)</b>	<b>C/C</b>	<b>9,2 (11)</b>

Nota: Los valores mostrados en paréntesis representan el número de veces que se repite el alelo o el número de individuos portadores de un genotipo y/o fenotipo para cada sitio polimórfico estudiado. La frecuencia está expresada en porcentaje.

**Cuadro 3** Distribución de los genotipos ICOS c.1564 en pacientes e individuos sanos

Genotipos	Grupo Pacientes	Grupo Control
<b>T/T</b>	<b>23 (32,9%)</b>	<b>60 (50%)</b>
<b>T/C</b>	<b>39 (55,7%)</b>	<b>49 (40,8%)</b>
<b>C/C</b>	<b>8 (11,4%)</b>	<b>11 (9,2%)</b>

$\chi^2 = 5,31$ ;  $2GL$ ;  $p = 0,07$   $pc = ns$ ;  $OR = 2,08$  ( $p < 0,05$ )

### Correlación del polimorfismo del gen ICOS c.1564 T/C con los alelos HLA

Al calcular la correlación del polimorfismo del gen ICOS c.1564 T/C con los alelos HLA que confieren susceptibilidad para el desarrollo de HAI tipo 1 (DRB1\*13, DRB1\*03 y DRB1\*04), se obtuvo un valor de  $r_s = 0,42$  ( $p < 0,000$  que es igual a altamente significativo) para la asociación entre el genotipo homocigoto silvestre (T/T) y el HLA DRB1\*03. Esto indica que, aunque la relación es de mediana intensidad, es significativa marcando la tendencia de aparición simultánea del polimorfismo c.1564 T/T del gen ICOS y del alelo HLA DRB1\*03.

### Asociación del polimorfismo del gen ICOS c.1564 con las características demográficas, clínicas e inmunodiagnósticas de los pacientes con HAI tipo 1

Al asociar las características clínicas con el polimorfismo en estudio se aprecia que los pacientes con el genotipo heterocigoto poseen niveles más elevados de globulinas y de inmunoglobulina G (IgG) y mayor presencia de anticuerpos anti-mitocondriales (AMA) que los observados en el genotipo T/T con diferencia estadística significativa al 10% que se pierde al ser corregida. De igual manera, se observa menor presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) en el genotipo T/C que en el T/T ( $p < 0,10$ ;  $pc = ns$ ).

## Discusión

Al analizar nuestros resultados observamos que el alelo mutado C se aprecia más frecuentemente en los pacientes que en el grupo de mestizos sanos lo que implica que aquellos individuos que poseen el alelo mutado C del polimorfismo ICOS c.1564 T/C, tienen un riesgo 1,5 veces mayor de sufrir HAI tipo 1. Al estudiar la distribución de los genotipos de este polimorfismo, la relación de las frecuencias genotípicas TT/TC resultó significativamente distinta al comparar el grupo de pacientes con respecto al grupo

control, siendo los genotipos heterocigoto (T/C) y homocigoto mutado (C/C) prevalentes en pacientes. Al contrario, el genotipo que determina la protección es el genotipo T/T ya que es el que se encuentra de manera significativa más frecuente en el grupo control.

Si se considera que los polimorfismos homocigotos silvestres están relacionados con una mayor expresión de la molécula ICOS,<sup>17</sup> podría plantearse que una respuesta tipo Th2 conferiría protección al desarrollo de HAI en la población mestiza venezolana. Este posible mecanismo inmunológico se puede sustentar con los múltiples reportes donde se evidencia mejoría de la HAI durante el embarazo,<sup>18,19</sup> condición en la cual predomina una respuesta tipo Th2 necesaria para mantener la tolerancia inmunológica requerida en esta condición.<sup>20</sup> Es decir, pareciera que la presencia del genotipo silvestre (T/T) observada en la población sana se relaciona con mayor expresión de ICOS, lo cual favorecería la polarización de la respuesta hacia Th2 y protección hacia una respuesta Th1 prolongada que es la que caracteriza a los pacientes y la cual podría estar dada por la presencia del genotipo heterocigoto (T/C).

Sin embargo, el análisis de cómo el polimorfismo de ICOS podría intervenir en la inmunopatogénesis de esta enfermedad es muy complejo ya que, cuando se correlaciona con los alelos HLA que confieren susceptibilidad, se observa una asociación positiva con la presencia del alelo HLA DRB1\*03, es decir, hay una tendencia en la cual cuando el polimorfismo c.1564 T/T del gen ICOS es detectado, también se demuestra el alelo HLA DRB1\*03. Lo anterior refleja la multiplicidad de factores inmunogenéticos que influyen en la eventual aparición de esta patología específicamente en esta etnia.

Así, por ejemplo, encontramos que en la asociación del polimorfismo del gen ICOS c.1564 con las características clínicas los pacientes con el genotipo heterocigoto T/C poseen niveles más elevados de globulinas e IgG y mayor presencia de AMA positivo al compararlo con el grupo de pacientes que poseen el genotipo T/T, en quienes sólo se observó mayor presencia de ANA. A pesar de que estas asociaciones fueron de baja significancia estadística predominan las alteraciones clínicas en el genotipo T/C, lo que sugiere una correlación de este genotipo con parámetros de actividad de la enfermedad, incluyendo además la producción de autoanticuerpos no característicos de la HAI tipo 1.

Para nuestro conocimiento, es la primera vez que se describen estos hallazgos tanto en HAI tipo 1 como en la población mestiza venezolana por lo que se hace necesaria la extensión de las investigaciones que puedan reproducir estos resultados para lograr establecer el papel definitivo de ICOS en esta enfermedad y en pacientes con diferente origen étnico.

## Clasificación

Área: inmunología

Tipo: básico

Tema: hígado

Patrocinio: consejo de desarrollo científico y humanístico (cdch) de la facultad de medicina de la universidad central de venezuela. proyecto cdch pg-09-00-6711-2007.

## Referencias Bibliográficas

1. Czaja AJ, Donaldson PT. Genetic susceptibilities for immune expression and liver cell injury in autoimmune hepatitis. *Immunol Rev* 2000;174:250-259
2. Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Immunohistochemical features of the portal tract mononuclear cell infiltrate in chronic aggressive hepatitis. *Arch Dis Child* 1992;67:1447-1453
3. Donaldson PT. Genetics in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002;22:353-363
4. Fortes MP, Machado IV, Gil GC, Fernández-Mestre M., Dagher L., León R., Bianco N.E, et al. Genetic contribution of major histocompatibility complex class II region to type 1 autoimmune hepatitis susceptibility in Venezuela. *Liver Internat* 2007;27:1409-1411
5. Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmune Hepatitis. *Autoimmunity Reviews* 2003;2:241-247.
6. Hulfoff A, Dittrich AM, Beier KC, Eljaschewitsch B, Kraft R, Anagnostopoulos I et al. ICOS is an inducible T-cell co-stimulator structurally and functionally related to CD28. *Nature* 1999;397:263-266
7. Salomon B, Bluestone JA. Complexities of CD28/27:CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Ann Rev Immunol* 2001;19:225-252.
8. Sperling AI, Bluestone JA. ICOS costimulation: It's not just for TH2 cells anymore. *Nat Immunol* 2000;2:573-574.
9. Rulifson IC, Sperling AI, Fields PE, Fitch FW, Bluestone JA. CD28 costimulation promotes the production of Th2 cytokines. *J Immunol* 1997;158:658-665.
10. Dong C, Juedes AE, Temann UA, Shresta S, Allison JP, Ruddle NH, Flavell RA. ICOS co-stimulatory receptor is essential for T-cell activation and function. *Nature* 2001;409:97-101.
11. Aoki N, Kido M, Iwamoto S, Nishiura H. Dysregulated Generation of Follicular Helper T Cells in the Spleen Triggers Fatal Autoimmune Hepatitis in Mice. *Gastroenterology* 2011;140:1322-1333.
12. Oertelt S, Kenny T, Selmy C, Invernizzi P, Podda M et al. SNP analysis of genes implicated in T cell proliferation in primary biliary cirrhosis. *Clin Dev Immunol* 2005;12:259-263.
13. Haimila KE, Partanen JA, Holopainen PM. Genetic polymorphism of the human ICOS gene. *Immunogenetics* 2002;53:1028-1032.
14. Daniel, W. Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Editorial Limusa-Wiley. 4ta edición. México, 2002;228-255.
15. Svejgaard A, Ryder LP. HLA and disease associations: detecting the strongest association. *Tissue Ant* 1994;43:18-27.
16. Hammer O, Harper DAT, Ryan P. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electrónica* 2001;4:9. [http://palaeo-electronica.org/2001\\_1/past/issue1\\_01.htm](http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm).
17. Kaartinen T, Lappalainen J, Haimila K, Autero M, Partanen J. Genetic variation in ICOS regulates mRNA levels of ICOS and splicing isoforms of CTLA-4. *Mol Immunol* 2007;44:1644-1651.
18. Buchel E, Van Steenberg W, Nevens F, Fevery J. Improvement of autoimmune hepatitis during pregnancy followed by flare-up after delivery pregnancy in autoimmune hepatitis. *Am J Gastroenterology* 2002;97:3160-3165.
19. Malhotra B, Malhotra N, Deka D, Takkar D. Immunosu-

ppressive effect of pregnancy on autoimmune hepatitis: a case report and review of literature. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2002;101:91-92.

20. Sykes L, MacIntyre D, Yap X, Teoh T, Bennett P. The Th1:Th2 Dichotomy of Pregnancy and Preterm Labour. Mediators Inflamm 2012;:9:67-69.

**Agradecimiento:** Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela. Proyecto CDCH PG-09-00-6711-2007.



SÍGUENOS!



@sovegastro



Sociedad Venezolana de  
Gastroenterología

o visítanos en nuestro portal Web  
[www.sovegastro.org](http://www.sovegastro.org)

**Envíanos tus sugerencias y entérate  
de nuestras más recientes actividades!**

Inscríbete en la Sociedad Venezolana de  
Gastroenterología y goza de  
innumerables beneficios:

- \* Recibe nuestros ejemplares educativos e informativos: GEN, Notigen y Notigen Digital
- \* Participa en las actividades de las secciones y los capítulos
- \* Inscríbete en el Fondo de Previsión Social
- \* Participa gratis o con descuento en nuestros congresos anuales.

Entre otros, que te mantendrán  
al día con las últimas tendencias.