



REVISTA BRASILEIRA DE REUMATOLOGIA

www.reumatologia.com.br



Artigo original

Polimorfismo do receptor Fc gama IIIa não está associado à susceptibilidade ao lúpus eritematoso sistêmico em pacientes brasileiros



Marcelle Grecco, Viviane Cardoso dos Santos, Kaline Medeiros Costa Pereira, Luís Eduardo Coelho Andrade e Neusa Pereira da Silva*

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Departamento de Medicina, Disciplina de Reumatologia, São Paulo, SP, Brasil

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 22 de setembro de 2014

Aceito em 15 de junho de 2016

On-line em 15 de julho de 2016

Palavras-chave:

Lúpus eritematoso sistêmico

Receptor Fc gama IIIa

Polimorfismo de nucleotídeo único

Polimorfismo genético

Imunogenética

Keywords:

Systemic lupus erythematosus

Fc gamma receptor IIIa

Single nucleotide polymorphism

Gene polymorphism

Immunogenetics

R E S U M O

Avaliou-se a possível associação entre o polimorfismo FCGR3A V/F (158) e a susceptibilidade e o fenótipo clínico do lúpus eritematoso sistêmico (LES) em 305 pacientes com LES admitidos sequencialmente e 300 controles saudáveis da Região Sudeste do Brasil por reação em cadeia da polimerase alelo-específica. Os resultados do presente estudo mostraram não haver associação entre os alelos FCGR3A 158 V/F e a susceptibilidade ao LES nessa série de pacientes, ainda que o genótipo heterozigoto tenha sido fortemente associado à doença.

© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fc gamma receptor IIIa polymorphism is not associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Brazilian patients

A B S T R A C T

We evaluated the possible association between FCGR3A V/F (158) polymorphism and SLE susceptibility and clinical phenotype in 305 sequentially retrieved SLE patients and 300 healthy controls from the southeastern part of Brazil by allele-specific polymerase chain reaction. Our results showed no association between FCGR3A 158 V/F alleles and susceptibility to SLE in this series of patients albeit the heterozygous genotype was strongly associated with the disease.

© 2016 Published by Elsevier Editora Ltda. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondência.

E-mail: npsilva@unifesp.br (N.P. Silva).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2016.06.004>

0482-5004/© 2016 Publicado por Elsevier Editora Ltda. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introdução

O lúpus eritematoso sistêmico (LES) é considerado o protótipo de doenças crônicas mediadas por complexos imunes. Em condições fisiológicas, os complexos imunes (CI) circulantes são eliminados do sangue periférico e outros líquidos biológicos pelo sistema fagocítico mononuclear.^{1,2} No LES, a eliminação inadequada dos CI pode levar a danos nos tecidos em decorrência da deposição e sobrecarga tecidual de CI, o que resulta em liberação de mediadores inflamatórios e influxo de células inflamatórias.^{2,3} Os receptores gama Fc (FcγR), presentes em células mononucleares fagocíticas, desempenham um papel importante na eliminação dos CI e das células apoptóticas.^{4,5} Além disso, a internalização de CI que contém ácido nucleico via FcγR pelas células dendríticas plasmocitoides possibilita a ligação de receptores toll-like (TLR) intracelulares e consequente ativação de cascatas a jusante que culminam na síntese de interferon tipo I.^{6,7} Descreveram-se vários polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) nos genes que codificam os FcγR e alguns deles têm consequências funcionais. Como esperado, alguns desses polimorfismos têm sido extensivamente estudados em doenças autoimunes.^{5,8}

O receptor humano FcγRIII (CD16) é uma proteína heterogênea extensivamente glicosilada com um peso molecular aparente de 50-80KDa. O gene FCGR3A codifica o receptor FcγRIIIa presente em macrófagos, células MN e linfócitos T γδ, com baixa afinidade para o CI que contém IgG.^{4,9,10} O gene FCGR3A apresenta um polimorfismo G559T que leva à substituição da valina por fenilalanina na posição 158 da cadeia polipeptídica (158V/F) e reduz ainda mais a afinidade do receptor para subclasses IgG.⁹⁻¹¹ A associação entre o polimorfismo do gene FCGR3A e o LES foi estudada por vários pesquisadores. No entanto, foram relatados resultados contraditórios a respeito dessa associação em diferentes populações.^{9,10,12-16} Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar o polimorfismo FcγRIIIa 158V/F em pacientes com LES brasileiros provenientes de uma população com origem étnica mista.

Material e métodos

Pacientes e controles

Coletou-se o sangue periférico de 305 pacientes com LES que sequencialmente passaram pelo Ambulatório de Reumatologia da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), Brasil. Todos os pacientes preencheram pelo menos quatro dos critérios revisados para a classificação do LES de acordo com o *American College of Rheumatology*.¹⁷ Não havia disponibilidade de características clínicas detalhadas de todos os pacientes e considerou-se somente os gráficos com dados consistentes na análise do fenótipo clínico da doença. Assim, dados do *Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology-Damage Index* (Slicc-DI) estavam disponíveis para 167 pacientes. O grupo controle era composto por 300 doadores de sangue saudáveis que não tinham antecedentes familiares de doenças autoimunes conforme avaliado por um questionário detalhado. O estudo foi aprovado pelo Comitê

de Ética da instituição (# 2074/07) e todos os participantes forneceram um consentimento informado por escrito.

Classificação étnica

Países latino-americanos em geral, e em particular o Brasil, apresentam uma intensa miscigenação étnica, principalmente à custa de elementos africanos e europeus. Adotou-se a classificação étnica usada pelo Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus (Gladel).¹⁸ De acordo com essa classificação, o indivíduo descreve a própria etnia, bem como a de seus pais e quatro avós. Os grupos étnicos estudados foram definidos do seguinte modo:

- Etnia negra: indivíduo estudado, pais e avós classificados como negros.
- Etnia branca: indivíduo estudado, pais e avós classificados como brancos.
- Etnia mista: existência de pelo menos um desacordo na classificação da linhagem do indivíduo em avós maternos ou paternos.

Isolamento de ácido nucleico e análise do polimorfismo FCGR3A

Extraíu-se o DNA genômico de amostras de sangue por *salting out*, com base na metodologia previamente descrita por Laitinen et al.¹⁹ Examinou-se o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) G559T (rs396991) do FCGR3A (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2214>) por PCR alelo-específica de acordo com Wu et al.⁹ com pequenas modificações, com um único *primer sense* (5' TCA CAT ATT TAC AGA ATG GCA ATG G 3') e dois *primers antisense* (5' TCT CTG AAG ACA CAT TTC TAC TCC CTA C 3' para o alelo G; e 5' TCT CTG AAG ACA CAT TTC TAC TCC CTA A 3') para o alelo T. A mistura de reação de 50 μL continha 100 ng de DNA, 1,2 mM de MgCl₂, 0,2 m de MdNTP, 2,5 U de Platinum Taq DNA polimerase e 10 pmol de cada um dos *primer sense* e *antisense* aleloespecíficos. A PCR iniciou com uma etapa inicial de cinco minutos a 95° C, seguida de 35 ciclos de 30 segundos a 94° C, 45 segundos a 54° C e 20 segundos a 72° C, com uma etapa de extensão final de oito minutos a 72° C. O fragmento amplificado de 138 pb foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 3% em TBE.

Pesquisa e procura de autoanticorpos

Identificaram-se todas as subsorologias (DNA de cadeia dupla, Sm, RNP, SSA, SSB). Usou-se a imunofluorescência indireta para o teste de ANA e ds-DNA e difusão dupla Ouchterlony para os autoanticorpos Sm, RNP, SSA-Ro e SSB-La.

Análise estatística

Usaram-se o teste de qui-quadrado e a correção de Bonferroni para comparações múltiplas para analisar as variáveis categóricas e o teste exato de Fisher foi usado quando apropriado. As variáveis contínuas foram testadas quanto ao padrão de distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnoff. As variáveis com distribuição normal foram analisadas pelo teste t de Student e aquelas com distribuição não paramétrica foram

Tabela 1 – Distribuição da etnia e gênero em pacientes e controles com LES

Etnia	LES		Controles		p ^a
	n	%	n	%	
Negra	12	3,9	16	5,4	0,113
Branca	111	36,4	130	43,3	
Mista	182	59,7	154	51,3	
Gênero	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	p ^a
	291	14	178	122	

^a Teste de qui-quadrado.

analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis (três ou mais grupos), seguido pelo teste U de Mann-Whitney. A significância foi estabelecida em $p < 0,05$. Os cálculos estatísticos foram feitos com o programa SPSS 17.0 e Minitab Statistical 15.0.

Resultados

Não houve diferença entre pacientes e controles em relação à distribuição étnica, mas o grupo LES teve uma menor frequência de homens em comparação com o grupo controle (tabela 1). No entanto, a análise estatística feita intragrupo confirmou que nem a distribuição dos alelos (pacientes com LES $p = 0,863$; controles $p = 1,000$) nem a distribuição genotípica (pacientes com LES $p = 0,449$; controles $p = 1,000$) estiveram relacionadas com o gênero (dados não mostrados).

O grupo de pacientes teve uma proporção significativamente maior de indivíduos heterozigotos (VF) do que o grupo controle (tabela 2). Assim, o grupo controle apresentou uma proporção significativamente maior de genótipos homozigotos VV ($p = 0,023$) e FF ($p = 0,027$) no FCGR3A. Como esperado, não houve diferença entre os grupos em relação à prevalência de alelos individuais ($p = 0,853$) (tabela 2). A distribuição dos genótipos FCGR3A mostrou desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg em ambos os grupos, LES e controle.

Não houve associação entre a maior parte das manifestações clínicas e genótipos (tabela 3), com exceção de uma maior frequência de manifestações do sistema nervoso central (SNC) observada em pacientes com genótipo FCGR3A

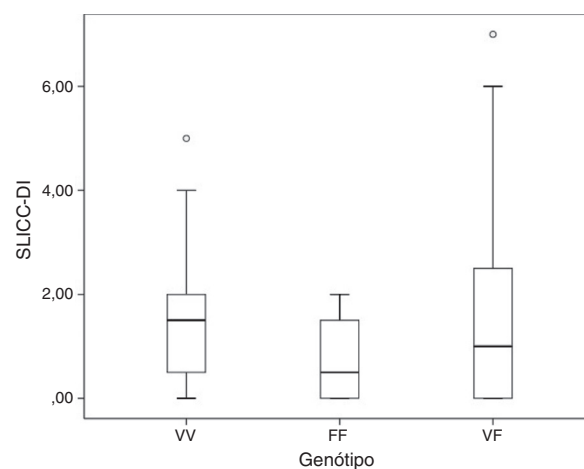


Figura 1 – Distribuição Boxplot do Slicc/ACR-DI de acordo com os genótipos FCGR3A. Não foi encontrada associação entre o escore de danos e qualquer genótipo FCGR3A específico ($p = 0,300$).

VV (cinco pacientes apresentaram diagnóstico de psicose, três tiveram convulsões e um teve outra manifestação). Entre os 167 pacientes com LES com registros Slicc/ACR-DI disponíveis, não foi encontrada associação entre esse escore de danos e qualquer genótipo FCGR3A ($p = 0,300$) (fig. 1). Não foi encontrada associação entre os genótipos FCGR3A e a

Tabela 2 – Genótipo FCGR3A e distribuição dos alelos em pacientes e controles com LES

Genótipo	LES		Controles		p ^a	p ^b
	n	%	n	%		
VV	35	11,5	54	18	0,002	0,023
FF	23	7,5	39	13		
VF	247	81	207	69		
Alelo	n	%	n	%	p ^c	
V	317	52	315	52,5	0,853	
F	293	48	285	47,5		

^a Teste de qui-quadrado.

^b Correção de Bonferroni para o método de comparações múltiplas.

^c Teste de qui-quadrado.

Tabela 3 – Manifestações clínicas de pacientes com LES de acordo com o genótipo FCGR3A

Manifestação (n)		VV		FF		VF		p ^a
		N	%	N	%	N	%	
Pele (178)	⊕	16	100	6	100	147	94	0,511
	∅	0	0	0	0	9	6	
Úlceras orais (145)	⊕	1	6,7	0	0	28	22,6	0,158
	∅	14	93,3	6	100	96	77,4	
Artrite (178)	⊕	16	100	6	100	138	88,5	0,244
	∅	0	0	0	0	18	11,5	
Hematológica (178)	⊕	10	62,5	5	83,3	116	74,3	0,509
	∅	6	37,5	1	16,7	40	25,7	
Renal (178)	⊕	10	62,5	2	33,3	88	56,4	0,463
	∅	6	37,5	4	66,7	68	43,6	
Serosite (178)	⊕	4	25	1	16,7	38	24,3	0,909
	∅	12	75	5	83,3	118	75,7	
SNC (177)	⊕	9	53,3	1	17,7	30	19,4	0,003
	∅	7	43,8	5	83,3	125	80,6	

∅, genótipo de ausência; ⊕, genótipo de presença; n, número de pacientes com registros consistentes para cada característica clínica; SNC, sistema nervoso central.

^a Teste de qui-quadrado.

Tabela 4 – Presença de autoanticorpos individuais em pacientes com LES de acordo com o genótipo FCGR3A

Autoanticorpo	Genótipo						p ^a
	VV (n = 35)		FF (n = 23)		VF (n = 247)		
	+	%	+	%	+	%	
anti-dsDNA	12	34,3	8	34,8	72	29,1	0,832
anti-Sm	8	22,9	6	26,1	37	15	0,231
anti-RNP	15	42,9	8	34,8	73	29,6	0,267
anti-SS-A/Ro	8	22,9	10	43,5	74	30	0,243
anti-SS-B/La	0	0	3	13	25	10,1	0,122

^a Teste de qui-quadrado.

presença de autoanticorpos individuais anti-dsDNA, anti-Sm, anti-RNP, anti-SS-A/Ro e anti-SS-B/La entre os 305 pacientes com LES (tabela 4).

Discussão

Este é o primeiro estudo que analisa o polimorfismo FCGR3A em pacientes brasileiros com LES. Apesar da quantidade considerável de pacientes e controles normais, não houve diferença na distribuição dos alelos FCGR3A 158 V/F entre pacientes com LES e controles saudáveis. Curiosamente, os pacientes com LES mostraram uma frequência significativamente maior do genótipo heterozigoto 158 V/F. Além disso, houve uma maior frequência do genótipo homozigoto VV em pacientes com história de envolvimento do SNC. Outras características clínicas e a gravidade da doença não estiveram associadas ao polimorfismo FCGR3A nesta série de casos. De acordo com os resultados do presente estudo, a distribuição dos genótipos FCGR3A não obedeceu ao equilíbrio de Hardy-Weinberg. Uma possível explicação para essa observação é a existência de variação na quantidade de cópias do gene, uma das principais causas do desvio no equilíbrio de Hardy-Weinberg.²⁰ Na realidade, estudos recentes mostraram que os genes dos receptores Fcy podem apresentar variação

na quantidade de cópias, incluindo os genes FCGR3A, FCGR3B e FCGR2C.^{21,22}

Willcocks et al. descobriram uma associação entre a baixa quantidade de cópias do gene FCGR3B e o LES em brancos; porém, essa associação não foi observada em pacientes com LES chineses em geral ou quando os pacientes com LES com nefrite lúpica foram analisados separadamente.²³ Em outro estudo feito na população chinesa, Zhou et al. descobriram uma associação entre o aumento na quantidade de cópias do gene FCGR3A (3 ou 4) e a presença de anticorpos antimembrana basal glomerular.²⁴

Sabe-se que o alelo FCGR3A 158 v codifica para um receptor de afinidade mais elevada do que o alelo 158F.^{9,10} Consistente com o papel desempenhado pelo FcγRIIIa na eliminação do complexo imune, é concebível que a diminuição na capacidade de ligação do alelo 158F estaria associada a doenças mediadas por complexos imunes. Na verdade, relata-se um aumento na suscetibilidade ao LES em indivíduos FCGR3A 158F/F em alguns grupos étnicos.³ No entanto, a literatura é controversa em relação a essa associação. Entre os japoneses, a homozigose para o alelo 158F contribuiu para a susceptibilidade ao LES,¹⁵ mas na população tailandesa encontrou-se apenas uma tendência a associação entre o genótipo FF e a suscetibilidade ao LES.²⁵ Não foi encontrada associação entre o polimorfismo 158 V/F e o LES em indivíduos espanhóis,¹⁴ negros americanos¹² e mexicanos.¹¹ Em coreanos, de acordo com Salmon et al.,²⁶ a homozigose para o alelo F constituía um fator de risco para a nefrite lúpica, em contraste com os resultados encontrados por Lee et al., que não encontraram associação entre esse polimorfismo e o LES nesse grupo étnico.²⁷ Na população alemã, embora o polimorfismo FcγRIIIa não confira suscetibilidade ao LES, a presença do alelo F esteve associada às manifestações clínicas, ao prognóstico e ao curso da doença (tabela 5).¹

No presente estudo, o genótipo heterozigoto (VF) foi mais prevalente em pacientes com LES; como esperado, isso não causou qualquer diferença na distribuição de alelos entre os grupos LES e controle. A razão para uma maior frequência

Tabela 5 – Polimorfismo FCGR3A-158 V/F e LES nos diferentes grupos étnicos

Etnia	Pacientes (n)	Suscetibilidade aumentada	Associação genotípica	Associação fenotípica		Ref	Ano de publicação
				Característica clínica	p ^a		
Coreana	148	Não	158 F/F	Nefrite	< 0,007	20	1999
Negra americana	77	Não	ND	Não	ND	12	1999
Japonesa	193	Sim	158 F/F	Nefrite	0,03	15	2002
Espanhola	276	Não	ND	Não	ND	14	2002
Coreana	145	Não	ND	Não	ND	21	2002
Alemã	140	Não	ND	Não	ND	1	2002
Tailandesa	87	Tendência	158 F/F	Rash malar	0,03	19	2003
		Tendência		Rash discoide	0,04		
Mexicana	94	Não	ND	Não	ND	11	2011

ND, não determinado.

^a Teste de qui-quadrado.

do genótipo heterozigoto 158 V/F em pacientes com LES não é claramente compreendida. Pode estar relacionada com a variação na quantidade de cópias e pode-se supor que um estado de afinidade intermediária no conjunto de receptores Fc γ RIIIa, conforme previsto pela coexistência de variantes de alta avides (158v) e baixa avides (158F) ao FCGR3A, definiu um cenário de eliminação de complexo imune favorável ao desenvolvimento de doenças mediadas por complexos imunes nessa configuração étnica. São necessários dados experimentais para testar essa hipótese.

Outro aspecto importante a ser considerado é que a análise isolada do polimorfismo FCGR3A pode ser uma simplificação do problema. Deve-se lembrar que o Fc γ RIIIa é um dos vários receptores envolvidos na eliminação do complexo imune. Por conseguinte, a capacidade final de eliminação do complexo imune deve corresponder à composição genética global dos vários receptores envolvidos nesse processo.

Com relação às manifestações clínicas no LES, Wu et al. descobriram que houve uma forte associação entre o genótipo FF e a nefrite lúpica em americanos de diferentes origens genéticas,⁹ de modo semelhante ao que foi observado na população coreana por Salmon et al., em 1.999.²⁶ Entretanto, mesmo em americanos com origem genética variada o papel do polimorfismo FCGR3A no fenótipo do LES não é claro, uma vez que Alarcon et al. descobriram que a homozigose para o alelo V (FCGR3A * GG) foi um preditor significativo de doença renal em estágio terminal entre os pacientes com LES com doença renal.²⁸ A associação do alelo F 158 com a nefrite lúpica^{9,26} e a associação do alelo V com a doença renal terminal²⁸ sugerem que outros fatores ainda desconhecidos podem influenciar no desenvolvimento e desfecho das manifestações renais no LES. A associação entre o genótipo VV e a história de envolvimento do SNC não foi relatada por outros autores. Esse achado original é intrigante, mas deve-se ter em mente que, em razão da pequena quantidade de pacientes homozigotos VV com LES nos casos do presente estudo, essa associação deve ser considerada como preliminar.

Em conclusão, esta análise original do polimorfismo FCGR3A 158 V/F em pacientes com LES brasileiros não mostrou associação entre quaisquer alelos e a susceptibilidade ao LES, mas revelou uma frequência consideravelmente maior do genótipo heterozigoto 158 V/F em pacientes com LES em comparação com controles saudáveis. Além disso,

não se confirmou a associação previamente relatada entre o alelo F 158 e a nefrite lúpica na presente série de casos, mas se conseguiu encontrar uma intrigante associação entre o alelo 158 V e o envolvimento do sistema nervoso central. Os presentes resultados apoiam o impacto da variabilidade genética dos receptores Fc γ em geral e do Fc γ RIIIa em particular sobre a susceptibilidade e o fenótipo do lúpus eritematoso sistêmico. Os resultados preliminares do presente estudo justificam outras pesquisas para confirmar e investigar o papel da família de receptores Fc γ na fisiopatologia do lúpus eritematoso sistêmico.

Financiamento

Este estudo foi apoiado pela bolsa 2008/50213-2 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp). Marcelle Grecco recebeu apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes). Luís Eduardo Coelho Andrade recebeu uma bolsa (# 476356/2008-3) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Manger K, Repp R, Jansen M, Geisselbrecht M, Wassmuth R, Westerdaal NA, et al. Fc γ receptor IIa, IIIa, and IIIb polymorphisms in German patients with systemic lupus erythematosus: association with clinical symptoms. *Ann Rheum Dis.* 2002;61:786–92.
- Salmon JE. Abnormalities in immune complex clearance and Fc receptor function. In: Wallace DJ, Hahn BH, editors. *Dubois' lupus erythematosus*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 191–213.
- Li X, Ptacek TS, Brown EE, Edberg JC. Fc γ receptors: structure, function and role as genetic risk factors in SLE. *Genes Immun.* 2009;10:380–9.
- Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE. The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol.* 1998;76:231–48.

5. Takai T. Roles of receptors in autoimmunity. *Nat Rev Immunol.* 2002;2:580-92.
6. Pascual V, Farkas L, Banchereau J. Systemic lupus erythematosus: all roads lead to type I interferons. *Curr Opin Immunol.* 2006;18:676-82.
7. Wiedeman AE, Santer DM, Yan W, Miescher S, Käsermann F, Elkon KB. Contrasting mechanisms of interferon- α inhibition by intravenous immunoglobulin after induction by immune complexes versus Toll-like receptor agonists. *Arthritis Rheum.* 2013;65:2713-23.
8. Bournazos S, Woof JM, Hart SP, Dransfield I. Functional and clinical consequences of Fc receptor polymorphic and copy number variants. *Clin Exp Immunol.* 2009;157:244-54.
9. Wu J, Edberg JC, Redecha PB, Bansal V, Guyre PM, Coleman K, et al. A novel polymorphism of Fc γ RIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest.* 1997;100:1059-70.
10. Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von dem Borne AE, de Haas M. Fc γ RIIIa-158 V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc γ RIIIa, independently of the Fc γ RIIIa-48L/R/H phenotype. *Blood.* 1997;90:1109-14.
11. Brambila-Tapia AJ, Gámez-Nava JI, González-López L, Sandoval-Ramírez L, Medina-Díaz J, Maldonado M, et al. FCGR3A V (176) polymorphism for systemic lupus erythematosus susceptibility in Mexican population. *Rheumatol Int.* 2011;31:1065-8.
12. Oh M, Petri MA, Kim NA, Sullivan KE. Frequency of the Fc(RIIIA)-158F allele in African American patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1999;26:1486-9.
13. Seligman VA, Suarez C, Lum R, Inda SE, Lin D, Li H, et al. The Fc γ receptor IIIA-158F allele is a major risk factor for the development of lupus nephritis among Caucasians but not non-Caucasians. *Arthritis Rheum.* 2001;44:618-25.
14. González-Escribano MF, Aguilar F, Sánchez-Román J, Núñez-Roldán A. Fc γ RIIA, Fc γ RIIIA and Fc γ RIIIB polymorphisms in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Eur J Immunogenet.* 2002;29:301-6.
15. Kyogoku C, Dijkstra HM, Tsuchiya N, Hatta Y, Kato H, Yamaguchi A, et al. Fc γ receptor gene polymorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus: contribution of FCGR2B to genetic susceptibility. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1242-54.
16. Chu ZT, Tsuchiya N, Kyogoku C, Ohashi J, Qian YP, Xu SB, et al. Association of Fc γ receptor IIb polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Chinese: a common susceptibility gene in the Asian populations. *Tissue Antigens.* 2004;63:21-7.
17. Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725.
18. Laitinen J, Samarut J, Hölttä E. A nontoxic and versatile protein salting-out method for isolation of DNA. *Biotechniques.* 1994;17:316, 318, 320-2.
19. Siriboonrit U, Tsuchiya N, Sirikong M, Kyogoku C, Bejrachandra S, Suthipinittharm P, et al. Association of Fc γ receptor IIb and IIb polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens.* 2003;61:374-83.
20. Salmon JE, Ng S, Yoo DH, Kim TH, Kim SY, Song GG. Altered distribution of Fc γ receptor IIIA alleles in a cohort of Korean patients with lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 1999;42:818-9.
21. Lee EB, Lee YJ, Baek HJ, Kang SW, Chung ES, Shin CH, et al. Fc γ receptor IIIA polymorphism in Korean patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int.* 2002;21:222-6.
22. Lee S, Kasif S, Weng Z, Cantor CR. Quantitative analysis of single nucleotide polymorphisms within copy number variation. *PLoS One.* 2008;3:e3906.
23. Schaschl H, Aitman TJ, Vyse TJ. Copy number variation in the human genome and its implication in autoimmunity. *Clin Exp Immunol.* 2009;156:12-6.
24. Breunis WB, van Mirre E, Bruin M, Geissler J, de Boer M, Peters M, et al. Copy number variation of the activating FCGR2C gene predisposes to idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2008;111:1029-38.
25. Willcocks LC, Lyons PA, Clatworthy MR, Robinson JI, Yang W, Newland SA, et al. Copy number of FCGR3B, which is associated with systemic lupus erythematosus, correlates with protein expression and immune complex uptake. *J Exp Med.* 2008;205:1573-82.
26. Zhou XJ, Lv JC, Bu DF, Yu L, Yang YR, Zhao J, et al. Copy number variation of FCGR3A rather than FCGR3B and FCGR2B is associated with susceptibility to anti-GBM disease. *Int Immunol.* 2010;22:45-51.
27. Alarcón GS, McGwin G Jr, Petri M, Ramsey-Goldman R, Fessler BJ, Vilá LM, et al. Time to renal disease and end-stage renal disease in PROFILE: a multiethnic lupus cohort. *PLoS Med.* 2006;3:e396.
28. Pons-Estel BA, Catoggio LJ, Cardiel MH, Soriano ER, Gentiletti S, Villa AR, et al., on behalf of the Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus (GLADEL). The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1,214 patients with systemic lupus erythematosus: ethnic and disease heterogeneity among Hispanics. *Medicine (Baltimore).* 2004;83:1-18.