

# Associação do alelo HLA-DRB1 com suscetibilidade a artrite reumatoide e gravidade da doença na Síria

Jamil Mourad<sup>1</sup>, Fawza Monem<sup>2</sup>

## RESUMO

**Introdução:** A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica multifatorial complexa. A importância do sistema de antígenos leucocitários humanos (HLA) como fator significativo de risco genético para AR foi estudada no mundo. Embora amplamente distribuídos em diferentes áreas na Síria, faltam estudos sobre o papel dos HLA. **Objetivo:** O objetivo de nosso estudo foi determinar a associação dos alelos HLA-DRB1 com a suscetibilidade a AR e sua gravidade na Síria. **Pacientes e métodos:** Foram genotipados 86 pacientes com AR e 200 controles normais, usando-se reação em cadeia da polimerase com sequência de *primer* específico (PCR-SSP). Anticorpos anti-CCP foram determinados por ELISA. Fator reumatoide (FR), proteína C-reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS) e o índice de atividade da doença (DAS-28) foram obtidos nos registros médicos e utilizados para avaliar a gravidade clínica dos pacientes. **Resultados:** Os alelos HLA-DRB1 \*01, \*04 e \*10 mostraram forte associação com suscetibilidade à doença (OR = 2,29, IC 95% = 1,11–4,75, P = 0,022; OR = 3,16, IC 95% = 2,08–4,8, P < 0,0001; e OR = 2,43, IC 95% = 1,07–5,51, P = 0,029, respectivamente), enquanto a frequência dos alelos HLA-DRB1 \*11 e \*13 foi significativamente mais baixa nos pacientes com AR do que nos controles (OR = 0,49, IC 95% = 0,3–0,8, P = 0,004; OR = 0,32, IC 95% = 0,15–0,69, P = 0,002, respectivamente). Os outros alelos HLA-DRB1 mostraram diferença significativa. A frequência dos anticorpos anti-CCP foi maior em pacientes epítipo compartilhado (EC) positivos do que em pacientes EC-negativos (OR = 5,5, IC 95% = 2–15,1, P = 0,00054). O índice DAS-28 de pacientes com AR não mostrou diferença significativa entre os grupos EC-negativo e EC-positivo. **Conclusão:** Nossos resultados indicam que os alelos HLA-DRB1 \*01, \*04 e \*10 estão relacionados com AR, enquanto os alelos HLA-DRB1 \*11 e \*13 protegem a população síria contra a AR.

**Palavras-chave:** antígeno HLA-DR4, artrite reumatoide, suscetibilidade a doenças, Síria.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

## INTRODUÇÃO

Artrite reumatoide (AR) é uma complexa doença imunomediada, de etiologia desconhecida e prevalência estimada em 1%.<sup>1</sup> Caracteriza-se por inflamação crônica, sinovite, dor e destruição progressiva tanto da cartilagem articular quanto do osso, levando à incapacidade funcional.<sup>2</sup> Mulheres têm duas a três vezes mais chance de desenvolver a doença do que homens. A AR costuma aparecer a partir dos 50 anos, embora possa ocorrer em qualquer idade.<sup>3</sup> Fatores de risco genéticos e ambientais desempenham papel importante na patogênese da doença.<sup>1,4</sup> Estima-se a probabilidade de herança da AR em torno de 60%.<sup>4,5</sup>

O antígeno leucocitário humano (HLA) é o fator de risco genético mais importante para AR, responsável por 30%<sup>1,5</sup> a 50% da suscetibilidade genética global para a AR.<sup>6</sup> A hipótese do epítipo compartilhado (EC) descreve a relação entre o HLA-DRB1 e a AR.<sup>7,8</sup> Os alelos HLA-DRB1 que codificam o EC (DRB1\*01, \*04, \*10 e \*14) estão associados à gravidade da AR, tendo sido mais recentemente relacionados à produção dos autoanticorpos anti-peptídeo citrulinado cíclico (anti-CCP).<sup>5,6</sup> Por outro lado, os genótipos negativos para o EC (principalmente DRB1\*11 e \*13) conferem proteção contra suscetibilidade à AR.<sup>6,9</sup>

A principal relação de certos alelos HLA com AR não é constante em todas as populações humanas, nem em diferentes áreas geográficas, nem em diferentes grupos étnicos.<sup>1</sup> A despeito da ampla distribuição da AR na Síria, faltam estudos sobre o

Recebido em 08/12/2011. Aprovado, após revisão, em 13/12/2012. Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse.

Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade de Damasco.

1. Bioquímico, Mestre em Diagnóstico Clínico-laboratorial, University of Damascus

2. Professor, Faculdade de Farmácia, Universidade de Damasco

Correspondência para: Jamil Mourad. School of Pharmacy of Damascus University. Mazze Street. Damascus, Syria. E-mail: jamilmourad@live.com

HLA-DRB1. Assim, este estudo teve por objetivo determinar a associação dos alelos HLA-DRB1 com a suscetibilidade à doença e sua gravidade na Síria.

## PACIENTES E MÉTODOS

Este estudo foi desenhado como caso-controle. Amostras de sangue foram coletadas de 86 pacientes (idade média,  $41,41 \pm 10,57$  anos; 69 mulheres, 17 homens) admitidos no Departamento de Reumatologia, de Ibn Nafis Hospital, Almowasat e Al-Assad Hospitals, da Universidade de Damasco, entre janeiro de 2010 e setembro de 2011. Todos os pacientes preencheram os critérios do *American College of Rheumatology* (ACR) para diagnóstico de AR.<sup>10</sup> O grupo-controle foi composto por 200 voluntários saudáveis e não aparentados (idade média,  $40,21 \pm 10,11$  anos; 160 mulheres e 40 homens) pareados por idade, sexo e etnia. Todos os pacientes e controles assinaram o termo de consentimento livre e informado. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Damasco.

A detecção de anticorpos IgG anti-CCP foi realizada através de kit ELISA de segunda geração (Euroimmun, Lübeck, Alemanha). Valores  $> 5$  UR/mL foram considerados positivos para os anticorpos anti-CCP. Os valores de fator reumatoide (FR), proteína C-reativa (PCR), velocidade de hemossedimentação (VHS) e o escore 28 de atividade da doença (DAS-28) foram obtidos nos prontuários dos pacientes. O DAS-28 foi usado para avaliar a gravidade clínica dos pacientes.<sup>11</sup> O DNA genômico dos pacientes com AR ( $n = 86$ ) e dos controles ( $n = 200$ ) foi isolado de alíquotas de  $300 \mu\text{L}$  de sangue venoso periférico anticoagulado, usando-se o *High Pure PCR Template Preparation Kit* (Roche, Mannheim, Alemanha). A genotipagem do HLA-DRB1 foi realizada por reação em cadeia da polimerase com sequência de *primer* específico (PCR-SSP), usando-se Micro SSPT Generic HLA Class II (DRB) (One Lambda Inc., CA, EUA).

A razão de chance (OR) e o intervalo de confiança a 95% (IC 95%) foram calculados para estimar as forças das associações. Os testes do qui-quadrado e *t* de Student foram usados na análise estatística. O nível de significância adotado foi  $P < 0,05$ .

## RESULTADOS

Os dados demográficos e achados clínicos dos 86 pacientes diagnosticados com AR, de acordo com os critérios da ACR modificados, estão na Tabela 1. As frequências dos alelos HLA-DRB1 dos pacientes com AR e dos controles são apresentadas na Tabela 2. Nos pacientes com AR, as frequências

dos alelos HLA-DRB1 \*01, \*04 e \*10 foram mais altas do que nos controles (OR = 2,29, IC 95% = 1,11–4,75,  $P = 0,022$ ; OR = 3,16, IC 95% = 2,08–4,8,  $P < 0,0001$ ; e OR = 2,43, IC 95% = 1,07–5,51,  $P = 0,029$ , respectivamente). Por outro lado, os alelos DRB1 \*11 e \*13 foram mais frequentes nos controles (OR = 0,49, IC 95% = 0,3–0,8,  $P = 0,004$ ; OR = 0,32, IC 95% = 0,15–0,69,  $P = 0,002$ , respectivamente). As diferenças das frequências dos alelos DRB1\*03, \*07, \*08, \*09, \*12, \*14, \*15 e \*16 não foram estatisticamente significativas (IC 95% do \*16 sobreposto a 1). Em comparação aos controles, as frequências dos alelos EC-positivos (a soma de DRB1\*01, \*04, \*10, \*14) foram mais elevadas nos pacientes com AR (OR = 3,41, IC 95% = 2,35–4,95,  $P < 0,0001$ ).

O anticorpo anti-CCP esteve presente em 60,46%, e o FR, em 63,95% dos pacientes com AR. As frequências de anticorpos anti-CCP e FR foram mais elevadas em pacientes EC-positivos do que naqueles EC-negativos (OR = 5,5, IC 95% = 2–15,1,  $P < 0,001$ ; OR = 5,45, IC 95% = 2–14,87,  $P < 0,001$ , respectivamente) (Tabela 3).

Não houve diferença significativa quanto à gravidade da doença, representada pelos valores de DAS-28, entre pacientes com AR EC-negativos e EC-positivos (Figura 1).

## DISCUSSÃO

Diferentes estudos investigaram a distribuição biogeográfica dos alelos RA-DRB1 em várias etnias e raças por

**Tabela 1**

Características demográficas e clínicas dos pacientes com artrite reumatoide

Características	AR (n = 86)
Idade, média ( $\pm$ DP) anos	41,41 (10,57)
Duração da doença, média ( $\pm$ DP) anos	11,26 (6,25)
Mulheres	69 (80,23%)
Homens	17 (19,77%)
Relação mulher:homem	4:1
Pacientes FR-positivos	55 (63,95%)
Pacientes anti-CCP positivos	52 (60,46%)
Anti-CCP (UR/mL)	110,82 (105,12)
PCR (mg/L)	31,14 (38,4)
VHS (mm/hr)	56,71 (29,67)
DAS-28, média (DP)	6,12 (1,4)

Os valores são expressos como média (DP) ou número (%), a menos que especificado de outra forma. AR: artrite reumatoide; n: número de pacientes com AR; DP: desvio padrão; FR: fator reumatoide; anti-CCP: anticorpo antipeptídeo citrulinado cíclico; UR: unidades relativas; PCR: proteína C-reativa; VHS: velocidade de hemossedimentação; DAS-28: índice de atividade da doença (disease activity score 28).

**Tabela 2**

Distribuição das frequências dos alelos HLA-DRB1 em pacientes com artrite reumatoide e controles

Genótipo HLA-DRB 1	AR (2n = 172)		Controles (2n = 400)		Análise estatística	
	n	FA (%)	n	FA (%)	OR (IC 95%)	P
DRB1*01	15	9,0	16	4	2,29 (1,11–4,75)	0,022
DRB1*03	13	7,8	38	10	0,78 (0,40–1,50)	0,455
DRB1*04	60	36,1	58	15	3,16 (2,08–4,80)	< 0,0001
DRB1*07	12	7,2	44	10	0,61 (0,31–1,18)	0,137
DRB1*08	2	1,2	7	1,5	0,66 (0,14–3,21)	0,605
DRB1*09	1	0,6	2	0,5	1,16 (0,10–12,92)	0,901
DRB1*10	12	7,2	12	3	2,43 (1,07–5,51)	0,029
DRB1*11	24	14,5	99	25	0,49 (0,30–0,80)	0,004
DRB1*12	0	0,0	6	1,5	0,00	0,106
DRB1*13	8	4,8	53	13,5	0,32 (0,15–0,69)	0,002
DRB1*14	10	6,0	23	6	1,01 (0,47–2,17)	0,976
DRB1*15	10	6,0	37	9,5	0,61 (0,29–1,25)	0,170
DRB1*16+	5	3,0	3	0,5	3,96 (0,94–16,77)	0,044
EC positivo	97	56,4	110	30,5	3,41 (2,35–4,95)	< 0,0001

Os valores são expressos em números (%) a menos que especificado de outra forma.

AR: artrite reumatoide; FA: frequência alélica; EC positivo: soma dos alelos DRB1\*01, \*04, \*10, e \*14; OR: razão de chance; IC 95%: intervalo de confiança de 95%. Frequências HLA observadas em pacientes e controles foram comparadas utilizando-se o teste do qui-quadrado. Diferenças foram consideradas significativas para  $P < 0,05$ .

+Não significativo (IC 95% do \*16 sobreposto a 1).

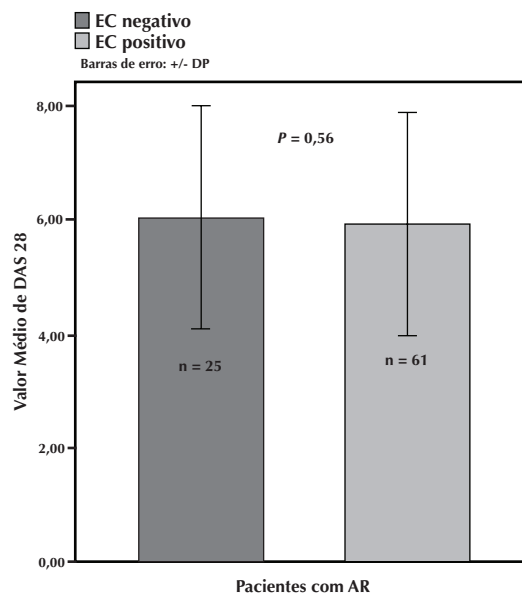
todo o mundo.<sup>1,5,12</sup> Há relatos da associação entre alelo HLA-DRB1\*04 e AR em muitas populações.<sup>13–25</sup> O alelo DRB1\*04 foi frequente em pacientes com AR no Marrocos<sup>26</sup> e em Zahedan, sudeste do Irã,<sup>27</sup> mas, surpreendentemente, sem significância. Por outro lado, populações peruanas<sup>28</sup> e México-americanas<sup>29</sup> não apresentaram correlação significativa entre HLA-DRB1\*04 e suscetibilidade à AR. Outros alelos foram associados com tendência à AR, como se

**Tabela 3**

Associação de epítomos compartilhados dos alelos HLA-DRB1 com os anticorpos anti-CCP e fator reumatoide em pacientes com artrite reumatoide (n = 86)

Status do EC	EC positivo (n = 61)	EC negativo (n = 25)	OR (IC 95%)	P
Anti-CCP positivo	44 (72,13%)	8 (32%)	5,5 (2–15,1)	0,00054
Anti-CCP negativo	17 (27,87%)	17 (68%)		
FR positivo	46 (73,77%)	9 (32%)	5,45 (2–14,87)	0,00055
FR negativo	15 (26,23%)	16 (68%)		

Os valores são expressos em números (%) a menos que especificado de outra forma. Presença de anticorpos anti-CCP e FR em pacientes EC-positivos ou EC-negativos foi comparada usando-se o teste do qui-quadrado. Diferenças foram consideradas significativas para  $P < 0,05$ . EC: epítomos compartilhados; OR: razão de chance; IC 95%: intervalo de confiança a 95%.



**Figura 1**  
Relação entre os epítomos compartilhados e DAS-28 em 86 pacientes com artrite reumatoide.

Os valores de DAS-28 foram comparados entre pacientes com AR EC-negativos e EC-positivos, usando-se o teste t de Student. Diferenças foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . n: número de pacientes com AR portadores do genótipo alternativo.

seguem: DRB1\*01 em brasileiros,<sup>30</sup> mexicanos,<sup>31</sup> espanhóis,<sup>14</sup> italianos,<sup>20</sup> franceses,<sup>24</sup> turcos,<sup>25,32</sup> finlandeses<sup>17</sup> e japoneses;<sup>33</sup> DRB1\*09 em turcos,<sup>25</sup> malaios<sup>34</sup> e coreanos;<sup>35</sup> DRB1\*10 em brasileiros,<sup>30</sup> iranianos,<sup>27</sup> sauditas,<sup>16</sup> taiwaneses,<sup>36</sup> asiáticos<sup>37</sup> e afro-americanos;<sup>22</sup> e DRB1\*14 em peruanos,<sup>28</sup> equatorianos<sup>38</sup> e México-americanos.<sup>29</sup> Houve raros relatos da associação de AR com HLA-DRB1\*08 em sauditas<sup>16</sup> e com HLA-DRB1\*15 em japoneses.<sup>33</sup> À semelhança das populações vizinhas (Oriente Médio e Mediterrâneo), nossos resultados mostraram que a suscetibilidade à AR está predominantemente associada aos alelos DRB1\*01, \*04 e \*10. Embora de maneira não significativa, os alelos DRB1\*09, \*14 e \*16 foram mais frequentes em pacientes com AR do que em controles.

O efeito protetor de certos alelos HLA-DRB1 contra AR foi relatado em várias revisões<sup>5,12,39,40</sup> e mostrado em diferentes populações. As seguintes relações de proteção contra AR foram relatadas: alelo HLA-DRB1\*03 em iranianos<sup>27</sup> e asiáticos;<sup>19</sup> DRB1\*06 em sauditas;<sup>16</sup> DRB1\*07 em eslovacos,<sup>23</sup> finlandeses<sup>17</sup> e tunisianos;<sup>13</sup> DRB1\*08 em México-americanos;<sup>29</sup> DRB1\*11 em peruanos<sup>28</sup> e afro-americanos;<sup>22</sup> e DRB1\*13 em turcos,<sup>25,32</sup> finlandeses,<sup>17</sup> asiáticos<sup>19</sup> e eslovacos.<sup>23</sup> Neste estudo, os alelos HLA-DRB1\*11 e \*13 associaram-se negativamente com AR, refletindo provável efeito protetor na população síria estudada.

A relação entre os ECs e a gravidade da AR ainda não foi esclarecida.<sup>41</sup> Há relatos de que o alelo DRB1\*0401 aumente a gravidade da AR no norte da Europa,<sup>42</sup> na Holanda,<sup>43</sup> no norte da Itália<sup>44</sup> e em caucasianos,<sup>45,46</sup> enquanto o alelo DRB1\*0405 é específico da Coreia do Sul.<sup>47</sup> Por outro lado, nosso estudo mostrou não haver correlação significativa da gravidade da doença, avaliada pelo DAS-28, com pacientes EC-positivos e EC-negativos. Tais resultados concordam com estudos conduzidos na Turquia<sup>32</sup> e na Grécia.<sup>48</sup> Nosso estudo confirmou o relato anterior de relação entre alelos EC-positivos e a produção de anti-CCP e soropositividade para FR.<sup>5,6,30,43</sup> No entanto, os resultados deste estudo podem não refletir a relação entre os alelos HLA-DRB1 e a gravidade da doença devido ao número limitado de pacientes.

Nosso estudo foi limitado pela impossibilidade de realizar subtipagem de 4 dígitos de todos os alelos DRB1. Entretanto, encontrou-se relação significativa entre os principais alelos contendo EC (a soma de DRB1\*01, \*04, \*10 e \*14) em pacientes com AR (OR = 3,41, IC 95% = 2,35–4,95, P < 0,0001).

Concluindo, identificou-se uma relação dos alelos HLA-DRB1\*01, \*04 e \*10 com AR, tendo os alelos HLA-DRB1\*11 e \*13 sido identificados como protetores na população síria estudada. Não se observou significância entre os alelos com ECs e gravidade da AR.

## REFERENCES

### REFERÊNCIAS

- Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. Genetics of rheumatoid arthritis: underlying evidence of ethnic differences. *J Autoimmun* 2009; 32(3-4):158–62.
- Neumann E, Lefèvre S, Zimmermann B, Gay S, Müller-Ladner U. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts. *Trends Mol Med* 2010; 16(10):458–68.
- Suchomel P, Buchvald P, Choutka O. Rheumatoid Arthritis. In: Suchomel P, Choutka O (eds.). *Reconstruction of Upper Cervical Spine and Craniovertebral Junction*. Berlin Heidelberg: Springer; 2011, p. 235–46.
- Hoovestol RA, Mikuls TR. Environmental Exposures and Rheumatoid Arthritis Risk. *Curr Rheumatol Rep* 2011;1–9.
- de Vries R. Genetics of rheumatoid arthritis: time for a change! *Curr Opin Rheumatol* 2011; 23(3):227–32.
- Bax M, van Heemst J, Huizinga TW, Toes RE. Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics* 2011; 63(8):459–66.
- Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 30(11):1205–13.
- Holoshitz J. The rheumatoid arthritis HLA-DRB1 shared epitope. *Curr Opin Rheumatol* 2010; 22(3):293–8.
- Gibert M, Balandraud N, Touinssi M, Mercier P, Roudier J, Reviron D. Functional categorization of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis: the protective effect. *Hum Immunol* 2003; 64(10):930–5.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988; 31(3):315–24.
- Prevo MLL, Van't Hof MA, Kuper HH, van Leeuwen MA, van De Putte LBA, van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts: development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38(1):44–8.
- Newton JL, Harney SM, Wordsworth BP, Brown MA. A review of the MHC genetics of rheumatoid arthritis. *Genes Immun* 2004; 5(3):151–7.
- Dhaouadi T, Sfar I, Abdelmoula L, Bardi R, Jendoubi-Ayed S, Makhlof M, et al. Association of specific amino acid sequence (QRRAA) of HLA-DRB1\*0405 with rheumatoid arthritis in a Tunisian population. *Arch Inst Pasteur Tunis* 2010; 87(1-2):53–9.
- Balsa A, Minaur NJ, Pascual-Salcedo D, McCabe C, Balas A, Fiddament B, et al. Class II MHC antigens in early rheumatoid arthritis in Bath (UK) and Madrid (Spain). *Rheumatology* 2000; 39(8):844–9.
- Hajeer AH, Dababneh A, Makki RF, Thomson W, Poulton K, González-Gay MA, et al. Different gene loci within the HLA-DR and TNF regions are independently associated with susceptibility and severity in Spanish rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens* 2000; 55(4):319–25.
- Al-Swailem R, Al-Rayes H, Sobki S, Arfin M, Tariq M. HLA-DRB1 association in Saudi rheumatoid arthritis patients. *Rheumatol Int* 2006; 26(11):1019–24.

17. Laivoranta-Nyman S, Möttönen T, Hermann R, Tuokko J, Luukkainen R, Hakala M, et al. HLA-DR-DQ haplotypes and genotypes in Finnish patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63:1406–12.
18. Delgado-veja AM, Anaya JM. Meta-analysis of HLA-DRB1 polymorphism in Latin American patients with rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 2007; 6(6):402–8.
19. Jun KR, Choi SE, Cha CH, Oh HB, Heo YS, Ahn HY, et al. Meta-analysis of the Association between HLA-DRB1 Allele and Rheumatoid Arthritis Susceptibility in Asian Populations *J Korean Med Sci* 2007; 22(6):973.
20. Bongi SM, Porfirio B, Rombola G, Palasciano A, Beneforti E, Bianucci G. Shared-epitope HLA-DRB1 alleles and sex ratio in Italian patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2004; 71(1):24–8.
21. Xue Y, Zhang J, Chen YM, Guan M, Zheng SG, Zou HJ. The HLA-DRB1 shared epitope is not associated with antibodies against cyclic citrullinated peptide in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2008; 37(3):183–7.
22. Hughes LB, Morrison D, Kelley JM, Padilla MA, Vaughan LK, Westfall AO, et al. The HLA-DRB1 shared epitope is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis in African Americans through European genetic admixture. *Arthritis Rheum* 2008; 58(2):349–58.
23. Stark K, Rovensky J, Blazickova S, Grosse-Wilde H, Ferencik S, Hengstenberg C, et al. Association of common polymorphisms in known susceptibility genes with rheumatoid arthritis in a Slovak population using osteoarthritis patients as controls. *Arthritis Res Ther* 2009; 11(3):R70.
24. Reviron D, Foutrier C, Guis S, Mercier P, Roudier J. DRB1 alleles in polymyalgia rheumatica and rheumatoid arthritis in southern France. *Eur J Immunogenet* 2001; 28(1):83–7.
25. Uçar F, Karkucak M, Alemdaroglu E, Capkin E, Yücel B, Sönmez M, et al. HLA-DRB1 allele distribution and its relation to rheumatoid arthritis in eastern Black Sea Turkish population. *Rheumatol Int* 2012; 32:1003-7..
26. Atouf O, Benbouazza K, Brick C, Bzami F, Bennani N, Amine B, et al. HLA polymorphism and early rheumatoid arthritis in the Moroccan population. *Joint Bone Spine* 2008; 75(5):554–8.
27. Sandoughi M, Fazaeli A, Bardestani G, Hashemi M. Frequency of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis patients in Zahedan, southeast Iran. *Ann Saudi Med* 2011; 31(2):171–3.
28. Castro F, Acevedo E, Ciusani E, Angulo JA, Wollheim FA, Sandberg-Wollheim M. Tumour necrosis factor microsatellites and HLA-DRB1\*, HLA-DQA1\*, and HLA-DQB1\* alleles in Peruvian patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60(8):791–5.
29. del Rincon I, Escalante A. HLA-DRB1 alleles associated with susceptibility or resistance to rheumatoid arthritis, articular deformities, and disability in Mexican Americans. *Arthritis Rheum* 1999; 42(7):1329–38.
30. Louzada-Junior P, Freitas MVC, Oliveira RDR, Deghaide NHS, Conde RA, Bertolo MB, et al. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anti-citrullinated peptide antibodies. *Braz J Med Biol Res* 2008; 41:493–9.
31. Ruiz-Morales JA, Vargas-Alarcón G, Flores-Villanueva PO, Villarreal-Garza C, Hernández-Pacheco G, Yamamoto-Furusho JK, et al. HLA-DRB1 alleles encoding the “shared epitope” are associated with susceptibility to developing rheumatoid arthritis whereas HLA-DRB1 alleles encoding an aspartic acid at position 70 of the beta-chain are protective in Mexican Mestizos. *Hum Immunol* 2004; 65(3):262–9.
32. Kinikli G, Ates A, Turgay M, Akay G, Kinikli S, Tokgoz G. HLA-DRB1 genes and disease severity in rheumatoid arthritis in Turkey. *Scand J Rheumatol* 2003; 32(5):277–80.
33. Yukioka M, Wakitani S, Murata N, Toda Y, Ogawa R, Kaneshige T, et al. Elderly-onset rheumatoid arthritis and its association with HLA-DRB1 alleles in Japanese. *Rheumatology* 1998; 37(1):98–101.
34. Kong KF, Yeap SS, Chow SK, Phipps ME. HLA-DRB1 genes and susceptibility to rheumatoid arthritis in three ethnic groups from Malaysia. *Autoimmunity* 2002; 35(4):235–9.
35. Lee HS, Lee KW, Song GG, Kim HA, Kim SY, Bae SC. Increased susceptibility to rheumatoid arthritis in Koreans heterozygous for HLA-DRB1\*0405 and \*0901. *Arthritis Rheum* 2004; 50(11):3468–75.
36. Liu SC, Chang TY, Lee YJ, Chu CC, Lin M, Chen ZX, et al. Influence of HLA-DRB1 genes and the shared epitope on genetic susceptibility to rheumatoid arthritis in Taiwanese. *J Rheumatol* 2007; 34(4):674–80.
37. Griffiths B, Situnayake RD, Clark B, Tennant A, Salmon M, Emery P. Racial origin and its effect on disease expression and HLA-DRB1 types in patients with rheumatoid arthritis: a matched cross-sectional study. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39(8):857–64.
38. Arias MVA, Domingues EV, Lozano RB, Flores CV, Peralta MM, Salinas CZ. Study of Class I and II HLA alleles in 30 Ecuadorian patients with rheumatoid arthritis compared with alleles from healthy and affected subjects with other rheumatic diseases. *Rev Bras Reumatol* 2010; 50(4):423–33.
39. Perricone C, Ceccarelli F, Valesini G. An overview on the genetic of rheumatoid arthritis: A never-ending story. *Autoimmun Rev* 2011; 10(10):599–608.
40. Feitsma AL, van der Helm-van Mil AHM, Huizinga TWJ, de Vries RRP, Toes REM. Protection against rheumatoid arthritis by HLA: nature and nurture. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(Suppl 3):iii61–3.
41. Gorman JD, Criswell LA. The shared epitope and severity of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2002; 28(1):59–78.
42. Gorman JD, Lum RF, Chen JJ, Suarez-Almazor ME, Thomson G, Criswell LA. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3,240 rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2004; 50(2):400–12.
43. van Gaalen FA, van Aken J, Huizinga TW, Schreuder GM, Breedveld FC, Zanelli E, et al. Association between HLA class II genes and autoantibodies to cyclic citrullinated peptides (CCPs) influences the severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50(7):2113–21.
44. Salvarani C, Macchioni PL, Mantovani W, Bragliani M, Collina E, Cremonesi T, et al. HLA-DRB1 alleles associated with rheumatoid arthritis in Northern Italy: correlation with disease severity. *Br J Rheumatol* 1998; 37(2):165–9.
45. Mewar D, Marinou I, Coote AL, Moore DJ, Akil M, Smillie D, et al. Association between radiographic severity of rheumatoid arthritis and shared epitope alleles: differing mechanisms of susceptibility and protection. *Ann Rheum Dis* 2008; 67(7):980–3.
46. Fries JF, Wolfe F, Apple R, Erlich H, Bugawan T, Holmes T, et al. HLA-DRB1 genotype associations in 793 white patients from a rheumatoid arthritis inception cohort: frequency, severity, and treatment bias. *Arthritis Rheum* 2002; 46(9):2320–9.

47. Kim HY, Min JK, Yang HI, Park SH, Hong YS, Jee WH, et al. The impact of HLA-DRB1\*0405 on disease severity in Korean patients with seropositive rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1997; 36(4):440-3.
48. Boki KA, Drosos AA, Tzioufas AG, Lanchbury JS, Panayi GS, Moutsopoulos HM. Examination of HLA-DR4 as a severity marker for rheumatoid arthritis in Greek patients. *Ann Rheum Dis* 1993; 52(7):517-9.