

ARTIGO REVISÃO

Acta Méd Port 2005; 18: 283-294

POLIMORFISMO DO ALELO HLA-B27 NO DESENVOLVIMENTO DAS ESPONDILARTROPATIAS*

M. J. PEIXOTO, T. GONZALES, H. SPINOLA, A. R. COUTO, M. GANTES MORA, A. BREHM, M. R. SANTOS,
F. GARRETT, J. BRUGES ARMAS

Serviço de Epidemiologia e Biologia Molecular (SEEBMO). Hospital de Santo Espírito. Angra do Heroísmo. Açores. Portugal.
Servicio de Reumatología. Hospital Central de Canárias. Tenerife. España. Centro de Estudos da Macaronésia. Universidade da
Madeira. Funchal. Portugal

RESUMO

A associação da molécula HLA-B27 com a espondilite anquilosante (AS) e outras espondilartropatias (SpA), permanece como uma das mais fortes verificada entre moléculas HLA e doenças humanas. Desde que foi descrita, em 1973, tem sido alvo de intensa investigação na tentativa de compreender o mecanismo patogénico que lhe está subjacente.

Este artigo tem como objectivo fazer uma revisão dos conhecimentos actuais relativos à estrutura e polimorfismo da molécula HLA-B27, bem como descrever os modelos propostos para explicar o seu papel no desenvolvimento das espondilartropatias.

Palavras-Chave: Espondilite Anquilosante, Espondilartropatias, MHC, HLA-B27

SUMMARY**HLA-B27 POLYMORPHISM AND SPONDYLOARTHROPATHIES**

The association of HLA-B27 with ankylosing spondylitis (AS), and other spondyloarthropathies (SpA), remains as one of the strongest between HLA molecules and human disease. Since it was reported, in 1973, it has been extensively studied in order to understand the underlying pathogenic mechanism.

The objective of this article is to review the current knowledge on the structure and polymorphism of HLA-B27 molecule, as well as describe the main pathogenic hypotheses trying to explain its association with AS.

Key Words: Ankylosing Spondylitis, Spondyloarthritis, MHC, HLA-B27

* Projecto subsidiado pela Iniciativa Comunitária INTERREG III B 2000 - 2006

O COMPLEXO MAJOR DE HISTOCOMPATIBILIDADE (MHC)

O sistema imunitário é constituído por células e moléculas especializadas no reconhecimento e destruição de elementos estranhos ao organismo, endógenos ou exógenos, protegendo-o através da activação de respostas imunitárias, que podem ser inatas ou específicas. A resposta inata ocorre rapidamente, sendo desencadeada por agentes externos de um modo não específico. Para tal, são recrutadas células fagocitárias (neutrófilos, monócitos e macrófagos), células que produzem e libertam mediadores inflamatórios (basófilos, eosinófilos, mastócitos) e células NK (*Natural Killer Cells*). Por outro lado, a resposta adaptativa é altamente específica, sendo desencadeada por linfócitos B e T. Ambos os linfócitos possuem receptores na membrana celular com elevada afinidade para determinados antígenios¹. Os linfócitos B têm a capacidade de produzir imunoglobulinas que poderão ser expressas na membrana celular ou sob a forma solúvel². Os receptores dos linfócitos T denominam-se TCR (*T-Cell Receptor*) e, ao contrário das imunoglobulinas, não existem na forma solúvel. É de salientar que os receptores dos linfócitos T, ao contrário dos B, só reconhecem fragmentos do antígeno quando estes se encontram ligados a moléculas pertencentes ao Complexo *Major* de Histocompatibilidade (MHC)³.

O MHC localiza-se no braço curto do cromossoma 6, no segmento 6p21.3, sendo nos humanos denominado por HLA (*Human Leucocyte Antigen*) (figura 1). Ocupa aproximadamente 4 milhões de pares de bases (pb) e contém pelo menos 200 genes, pseudogenes e fragmentos génicos⁴. O conjunto de genes desta região está dividido em três grupos (Classe I, Classe II e Classe III), de acordo com a origem genética e/ou funcionalidade biológica dos

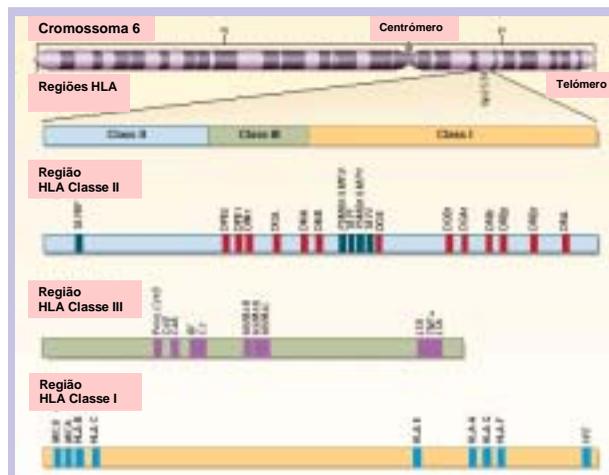


Fig. 1 - Localização e organização do complexo HLA no cromossoma 6 (adaptada de 4).

seus produtos, se bem que a identificação e a caracterização constante de novos genes não exclua futuras revisões desta classificação⁵.

As sequências oficiais de todas as moléculas do sistema HLA, denominadas pelo Comité de Nomenclatura WHO, podem ser encontradas na base de dados IMGT/HLA (www.ebi.ac.uk/imgt/hla). Esta é parte integrante do projecto internacional ImMunoGeneTics – IMGT (http://imgt.cines.fr).

FUNÇÃO E ESTRUTURA DAS MOLÉCULAS HLA

As moléculas HLA Classe I e Classe II têm como função a apresentação de péptidos de pequenas dimensões às células T, dando início a uma resposta adaptativa do sistema imunitário⁴.

A região HLA classe I situa-se telomericamente em relação às classes II e III e ocupa um segmento de 1600 kilobases (Kb). Os genes HLA classe I codificam para as moléculas clássicas HLA-A, -B e -C e para as moléculas não clássicas HLA-E, -F, G e outras⁶. Estruturalmente, as moléculas HLA Classe I consistem em complexos trimoleculares constituídos por uma cadeia pesada, uma cadeia leve e o péptido que é apresentado⁷. A cadeia pesada denomina-se α e possui cinco domínios (α_1 , α_2 , α_3 , domínio transmembranar e cauda citoplasmática). A cadeia leve, β_2 -microglobulina, é codificada por um gene localizado no cromossoma 15 (figura 2). Em conjunto, os domínios α_1 e α_2 formam uma plataforma composta por

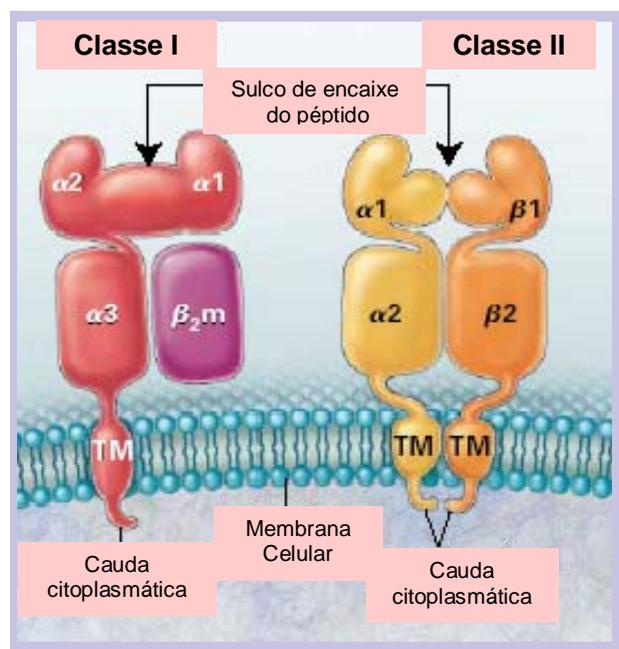


Fig. 2 - Estrutura das moléculas HLA Classe I e II (adaptada de 4).

oito fitas antiparalelas, flanqueadas por duas hélices alfa, que constituem o sulco onde se vai encaixar o péptido. A superfície formada pelo péptido e pelas hélices alfa que o flanqueiam constitui a zona reconhecida pelo receptor das células T (TCR) (5) (figura 3). As moléculas HLA Classe I podem ser encontradas na maioria das células nucleadas, com diferentes níveis de expressão, dependendo do tecido observado⁴.

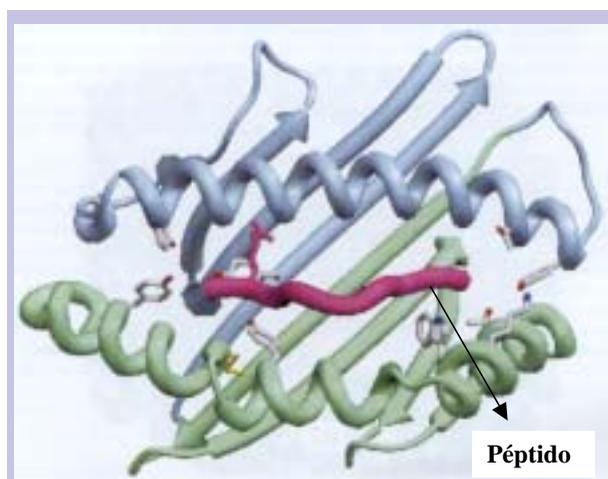


Fig. 3 - Estrutura terciária de uma molécula HLA-B27 apresentando um péptido (adaptada de 5).

A região HLA classe II é a mais centromérica e compreende cerca de 900 Kb de material genético⁵. Divide-se em três grandes subregiões: HLA-DP, -DQ e -DR, sendo os respectivos alelos constituídos por cadeias α ($\alpha 1$ e $\alpha 2$), cadeias β ($\beta 1$ e $\beta 2$), região transmembranar e cauda citoplasmática. Os domínios $\alpha 1$ e $\beta 1$ formam o sulco onde se encaixa o péptido, correspondendo à superfície molecular reconhecida pelo receptor das células T. Nas moléculas de Classe II, o sulco é um pouco maior do que o das moléculas de Classe I, o que permite a ligação de péptidos de maior dimensão⁸. As moléculas de Classe II exprimem-se essencialmente nos linfócitos B, macrófagos e células dendríticas⁴.

Nas moléculas HLA, o sulco onde se encaixa o péptido está estruturado em várias subcavidades denominadas *pockets*; estes variam na sua constituição aminoacídica, o que lhes confere especificidade na ligação a diferentes péptidos⁸.

ESTRUTURA DA MOLÉCULA HLA-B27

Tal como as restantes moléculas de classe I, o alelo HLA-B27 apresenta um sulco entre os domínios $\alpha 1$ e $\alpha 2$ onde se encaixam péptidos de pequenas dimensões. Este sulco apresenta um elevado polimorfismo e é formado por

6 *pockets*, de A a F (figura 4), cada um dos quais com capacidade de interacção com os diferentes aminoácidos dos péptidos. Os péptidos que se unem ao HLA-B27 são constituídos entre 7 a 15 aminoácidos numa configuração linear, que lhes permite interagir directamente com os resíduos desta molécula. Os aminoácidos individuais que se ligam aos *pockets* são denominados P1, P2,..., P9 (figura 4). No sulco, a orientação dos péptidos é fixa encontrando-se sempre o grupo amina na mesma extremidade e o grupo carboxilo na extremidade oposta. Algumas cadeias laterais, constituintes de aminoácidos localizados no meio do péptido, orientam-se para fora das subcavidades e os restantes resíduos encaixam nos *pockets*. Os *pockets* A e F são particularmente importantes, uma vez que são as subcavidades de ligação dos aminoácidos dos terminais, amina e carboxilo, do péptido, sendo muito conservados nas moléculas HLA⁴. Para além disso, as cadeias laterais dos resíduos P2 e P9, que interagem com os *pockets* B e F respectivamente, funcionam como âncoras, determinando o tipo de péptido que se liga à molécula⁹.

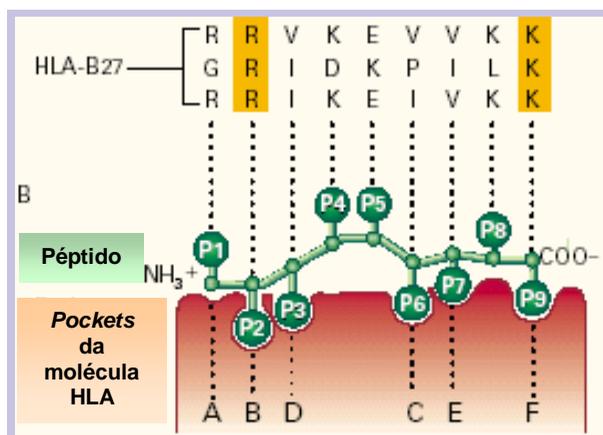


Fig. 4 - Interacção entre os *pockets* da molécula HLA-B27 e os resíduos peptídicos. Os resíduos âncora estão assinalados a amarelo. Estão representados os seguintes aminoácidos: ácido aspártico (D), ácido glutâmico (E), glicina (G), isoleucina (I), lisina (K), leucina (L), arginina (R) e valina (V) (adaptada de 4).

No *pocket* B estão presentes os aminoácidos: histidina na posição 9 (His9), treonina da posição 24 (Thr24), ácido glutâmico na posição 45 (Glu45) e cisteína na posição 67 (Cys67), que determinam a especificidade para a ligação de aminoácidos. Destaca-se a importância do Glu45 e Cys67 por determinarem a preferência do *pocket* B pela arginina (Arg) na P2. De facto, verifica-se que a maioria dos péptidos que se une à molécula HLA-B27 possui uma arginina (Arg) na posição P2. Sabe-se, actualmente, que dois dos alelos HLA-B27 (B*2718 e B*2723) não possuem a cisteína na posição 67. A ausência deste aminoácido

modifica a conformação do *pocket* B, alterando deste modo, as preferências peptídicas¹⁰.

O *pocket* F do HLA-B27 interage com o resíduo do terminal carboxilo, P9, do péptido. Neste *pocket*, os resíduos críticos envolvidos na ligação encontram-se nas posições 77, 80, 81, 97 e 116. Estas posições apresentam um maior grau de polimorfismo, relativamente às do *pocket* B, que se traduz na diferente apetência para péptidos, dos vários subtipos HLA-B27¹¹.

POLIMORFISMO DA MOLÉCULA HLA-B27

Na base de dados IMGT/HLA são apresentados 35 alelos HLA-B27 (B*2701-B*2728; o alelo B*2722 foi retirado por ser idêntico ao alelo B*2806) correspondendo-lhes apenas 27 proteínas diferentes. Esta discrepância deve-se à existência de alelos resultantes de mutações silenciosas ou mutações em zonas inexistentes na proteína madura (B*270502, B*270503 B*270504, B*270505, B*270506, B*270507, B*270508, B*2713). Pensa-se que todos estes alelos evoluíram do subtipo considerado como ancestral (B*2705), por conversões génicas e, menos frequentemente, por mutações pontuais (Quadro I). Desta forma, e actualizando a classificação proposta por Ramos e López de Castro¹², é possível dividir os alelos em três grupos principais (Quadro II):

Quadro II – Classificação dos diferentes subtipos HLA-B27 (adaptada de 5, com actualizações).

Grupo	Subgrupo	Subtipo
1	1A	B2713
	1B	B2703, B2717
	1C	B2709, B2710
2	2A	B2701, B2702, B2708, B2712, B2716, B2723, B2726
	2B	B2707, B2714, B2719, B2727, B2728
3	3A	B2704, B2718
	3B	B2711
	3C	B2706, B2715, B2720, B2721, B2724, B2725

1) O grupo 1 inclui subtipos que diferem do B*2705 numa única modificação aminoacídica herdada de eventos genéticos na sequência líder (subgrupo 1A: B*2713), no domínio a1 (subgrupo 1B: B*2703, B*2717) e no domínio a2 (subgrupo 1C: B*2709, B*2710).

2) O grupo 2 consiste em subtipos que diferem do B*2705 em mais do que um aminoácido no mesmo domínio; o subgrupo 2A com alterações em a1 (B*2701, B*2702, B*2708, B*2712, B*2716, B*2723 e B*2726) e o subgrupo 2B com alterações em a2 (B*2707, B*2714, B*2719, B*2727 e B*2728).

3) O grupo 3 consiste em subtipos que diferem dos alelos B*2710, B*2707 e B*2704, em um ou mais aminoácidos, num único domínio. O subgrupo 3A consiste em subtipos relacionados com o B*2710 (B*2704 e B*2718); o subgrupo 3B consiste em subtipos relacionados com o alelo B*2707 incluindo apenas o alelo B*2711; e o subgrupo 3C que inclui os alelos relacionados com o B*2704 (B*2706, B*2715, B*2720, B*2721, B*2724 e B*2725).

ESPONDILITE ANQUILOSANTE E ASSOCIAÇÃO AOS SUBTIPOS HLA-B27

A Espondilite Anquilosante (AS) é uma doença do grupo das Espondilartropatias (SpA) das quais fazem também parte a Artrite Reactiva (ReA), certos subgrupos da Artrite Psoriásica (PsA), as Artropatias Enteropáticas, a Espondilartropatia Indiferenciada (uSpA), e outras entidades menos frequentes. A AS é uma doença inflamatória, que agride predominantemente o esqueleto axial – coluna vertebral e articulações sacroilíacas – e as inserções tendinosas (enteses), no esqueleto apendicular, sendo responsável por processos inflamatórios designados por entesites. Calcula-se que ambos os sexos sejam afectados com uma relação sexo masculino/sexo feminino de ~3:1¹³. Os primeiros sintomas da AS surgem habitualmente na adolescência ou no adulto jovem, e consistem em lombalgia e rigidez da coluna vertebral de carácter inflamatório, melhorando com a actividade física moderada. A prevalência das SpA foi estudada em diferentes grupos populacionais e admite-se que possa atingir 1% em determinadas regiões⁶. Em 1973, foi estabelecida uma associação entre a AS e a molécula HLA-B27, sendo esta uma das associações mais fortes entre uma doença e uma molécula do sistema HLA¹⁴. A associação com o HLA-B27 varia nas diferentes SpA, sendo de aproximadamente 50% na PsA e na Artrite Enteropática, de 80% na ReA e superior a 95% na AS idiopática¹³. Embora os alelos HLA-B27 estejam representados em quase todo o mundo, a sua distribuição varia muito entre as diversas populações.

O estudo do polimorfismo da molécula HLA-B27 é de grande interesse na medida em que poderá influenciar a especificidade das ligações peptídicas e atribuir diferentes características bioquímicas e funcionais à molécula. Sabe-se actualmente que a associação do HLA-B27 com a AS e outras SpA varia consoante o subtipo alélico, estando identificada a associação dos subtipos B*2702, B*2704, B*2705 e B*2707 com a AS (15). O estudo da distribuição geográfica dos subtipos HLA-B27, em indivíduos doentes e saudáveis, tem contribuído para a determinação de zonas da molécula HLA-B*27 relacionadas com a patogénese da doença¹⁶.

Quadro 1 - Diferenças aminoacídicas verificadas entre os diferentes subtipos HLA-B27 (Adaptado de 12 com actualizações)

Número dos Resíduos																											
L	α1														α2						α3						
Subtipo	-20	59	63	67	69	70	71	74	77	80	81	82	83	94	95	97	103	113	114	116	131	143	152	156	163	171	211
2705	A	Y	E	C	A	K	A	D	D	T	L	L	R	T	L	N	V	Y	H	D	S	T	V	L	E	Y	A
2701	nd	-	-	-	-	-	-	Y	N	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2702	-	-	-	-	-	-	-	-	N	I	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2703	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2704	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	G
2706	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	D	Y	-	-	E	-	-	-	-	G
2707	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	H	N	Y	R	-	-	-	-	-	-
2708	-	-	-	-	-	-	-	-	S	N	-	R	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2709	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	-	-	-	-	-	-	-	-
2710	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	nd
2711	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	S	-	H	N	Y	R	-	-	-	-	-	-
2712	-	-	-	-	T	N	T	-	S	N	-	R	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2713	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2714	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	W	T	L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2715	nd	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	T	-	-	nd
2716	nd	-	-	-	T	N	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2717	nd	F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2718	-	-	-	S	T	N	T	Y	S	N	-	R	G	-	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-	nd
2719	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	I	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2720	nd	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	H	N	Y	R	-	E	-	-	-	nd
2721	nd	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	R	-	-	D	Y	-	-	E	-	-	-	nd
2723	nd	-	N	F	T	N	T	Y	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2724	nd	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	S	-	H	N	Y	R	S	E	-	-	-	nd
2725	nd	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	W	L	-	-	nd
2726	nd	-	-	-	-	Q	-	-	S	N	-	R	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	nd
2727	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	H	N	Y	-	-	-	-	-	-	nd
2728	nd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	T	H	nd

(-) indica a igualdade a B*2705

nd= não determinado

O subtipo HLA-B*2705 é encontrado em quase todas as populações, embora a sua prevalência varie de região para região; é o subtipo mais frequente na Europa, no Norte da Índia, na África Ocidental e na Polinésia². Na população Euro Caucásioide, o alelo B*2705 está presente em 90% a 96% dos indivíduos HLA-B27+¹⁷. A sua distribuição diminui de Norte para Sul, o que poderá ser explicado pela migração dos povos do Norte da Europa e Ásia, para o Sul.

O subtipo HLA-B*2701 é raro, tendo sido observado em populações caucásioides, asiáticas, mestiças e afro-americanas. Até à data, foi encontrado em apenas um indivíduo caucásioide com AS¹⁸.

O HLA-B*2702 encontra-se predominantemente no Médio Oriente (Judeus) e em algumas populações Caucásioides do Norte de África (Argelinos e Tunisinos). Contribui para 5 a 10% dos alelos HLA-B27 nos Euro Caucásioides e mestiços da América Central e do Sul e, curiosamente, é o único subtipo encontrado nos ciganos espanhóis. Ao contrário da distribuição do B*2705, a frequência do alelo B*2702 diminui de Este para Oeste e de Sul para Norte; sugere-se que tenha tido origem nas populações do Médio Oriente, por conversão do alelo B*2705, tendo sido introduzido no Norte de África e noutras populações Caucásioides pela emigração².

O subtipo B*2704 está fortemente associado à AS e é encontrado essencialmente nas populações orientais e da Polinésia, apresentando uma frequência elevada entre os chineses, japoneses, tailandeses e malaios^{6,19}. Este subtipo é bastante semelhante ao subtipo B*2706 que por sua vez predomina em algumas populações do Sudeste Asiático.

O alelo B*2706 não se encontra associado à AS na população tailandesa¹⁶, na Indonésia²⁰, entre os chineses de Singapura e na Malásia^{19,21}. No entanto, em 1997, foram encontrados dois indivíduos B*2706 com AS na população chinesa¹⁶. A confirmação da associação deste subtipo com a AS carece de estudos aprofundados noutras populações.

O subtipo B*2707 está presente em frequência elevada nos judeus (12.5%) e, menos frequentemente, em alguns povos asiáticos tais como os indianos (5.7%) e os chineses (<2%) (21-23).

O subtipo B*2709 está presente de uma forma significativa na ilha da Sardenha e, em menor frequência, na Itália continental. Estudos efectuados indicam que este subtipo é encontrado em 25% dos indivíduos saudáveis HLA-B27+ da ilha da Sardenha. Não sendo encontrado em qualquer indivíduo HLA-B27+ com AS, sugeriu-se uma associação negativa deste subtipo com a AS, nesta popu-

lação²⁴. No entanto, na população da Itália continental, onde este subtipo perfaz 3% dos indivíduos HLA-B27+, foram já relatados três casos de indivíduos HLA-B*2709 com espondiloartropatia indiferenciada sem envolvimento axial^{25,26} e um caso com sacroileíte e oligoartrite²⁷. O facto deste alelo ter sido encontrado em indivíduos com SpA, mas não com AS, aponta para uma fraca associação deste com a doença sugerindo, no entanto, algum envolvimento em outras formas de artrite²⁴.

O alelo B*2703 é encontrado sobretudo nas populações negras da África Ocidental, permanecendo por esclarecer a sua associação com a doença. Num estudo realizado na Gâmbia, onde o aparecimento da AS é extremamente raro, concluiu-se que tanto o subtipo B*2703, como o B*2705 não estavam associados à AS, o que provavelmente implicaria a existência de um factor genético protector desconhecido, nessa população²⁸. Entretanto, foram identificados três indivíduos HLA-B*2703 com diagnóstico de AS¹⁶.

O subtipo B*2708 foi inicialmente identificado por Hieldebrand et al. em 1994²⁹ sendo, posteriormente, detectado em dois indivíduos saudáveis do Reino Unido³⁰ e na Indonésia²⁰. A associação deste alelo com a AS foi identificada, pela primeira vez, numa família açoriana³¹. Mais tarde foi encontrado em Espanha em doentes com PsA³² e num grupo de indivíduos Turcos com SpA³³. Foi recentemente detectado, com uma frequência elevada (12%), no Estado de Maharashtra, na Índia Ocidental²³, tendo sido posteriormente associado com artrite periférica crónica, em doentes com hemofilia severa na mesma população³⁴. Assim, é provável que se venha a demonstrar que a Ásia é a zona geográfica onde o HLA-B*2708 se encontra com maior frequência.

Os restantes subtipos são menos frequentes e a sua identificação tem ocorrido esporadicamente em algumas populações, por vezes com associação à doença. Estes, em conjunto com os outros subtipos mais comuns, já mencionados, são apresentados no Quadro III.

OUTRAS MOLÉCULAS HLA POSSIVELMENTE ASSOCIADAS À DOENÇA

Aproximadamente 95% dos indivíduos caucásioides com AS são HLA-B27+, no entanto, apenas uma pequena parte dos indivíduos HLA-B27+ desenvolve a doença³⁵, o que pressupõe o envolvimento de outros factores genéticos. De facto, estudos genéticos e epidemiológicos confirmaram a existência de outros genes implicados na patogénese da AS³⁶.

Robinson et al (1989) identificaram a associação dos alelos HLA-Bw60 e HLA-B27 como responsável pelo au-

Quadro III - Subtipos HLA-B27: números de acesso à base de dados IMGT/HLA (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla>), origem étnica e referências bibliográficas.

Alelo	Nº IMGT/HLA	Origem Étnica	Referências Bibliográficas
2701	HLA00220	Hispânica	Rojo S <i>et al.</i> , J Immunology (1988) 139:831-836 Seemann GH <i>et al.</i> , EMBO J (1986) 5:547-552
2702	HLA00221	Caucasóide	Petersdorf EW <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1995) 46:77-85 Moses JH <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1995) 46:50-53
2703	HLA00222	Raça Negra	Choo SY <i>et al.</i> , Human Immunology (1988) 21:209-219 Rojo S <i>et al.</i> , J Immunology (1988) 139:3396-3401
2704	HLA00223	Caucasóide, Mistura, Ilhas do Pacífico	Vega MA <i>et al.</i> , J Immunology (1988) 135:3323-3332 Rudwaleit M <i>et al.</i> , Immunogenetics (1996) 43:160-162 Weiss EH <i>et al.</i> , Immunobiology (1985) 170:367-380 Watkins DI <i>et al.</i> , Nature (1992) 357:329-333
270502	HLA00225	Índios americanos, Caucasóide	Seemann GH <i>et al.</i> , EMBO J (1986) 5:547-552 Coppin HL <i>et al.</i> , J Immunology (1986) 137:2168-2172 Szots H <i>et al.</i> , PNAS USA (1986) 83:1428-1432
270503	HLA00226	Caucasóide	Blasczyk R <i>et al.</i> , Human Immunology (1996) 45:117-123
270504	HLA01179	Desconhecida	Voorter CE <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 60:25-35
270505	HLA01642	Caucasóide	Não publicado
270506	HLA01635	Caucasóide	Não publicado
270507	HLA01985	Caucasóide	Não publicado
270508	HLA02100	Desconhecida	Não publicado
27051	HLA00224	Desconhecida	Não publicado
2706	HLA00227	Oriental	Vega MA <i>et al.</i> , J Immunology (1988) 137:3557-3565 Vilches C <i>et al.</i> , Immunogenetics (1994) 39:219-219 Rudwaleit M <i>et al.</i> , Immunogenetics (1996) 43:160-162 Witter K <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2001) 58:263-268
2707	HLA00228	Caucasóide	Choo SY <i>et al.</i> , J Immunology (1991) 147:174-180
2708	HLA00229	Caucasóide	Hildebrand WH <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1994) 44:47-51
2709	HLA00230	Caucasóide	Del Porto P <i>et al.</i> , J Immunology (1994) 153:3093-3100
2710	HLA00231	Caucasóide Americana	Não publicado
2711	HLA00232	Oriental (Japonesa)	Hasegawa T <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1997) 49:649-652 Hurley CK <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1998) 52:84-87
2712	HLA00233	Caucasóide (UK), Hispânica (Espanha)	Balas A <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1998) 51:394-397 Hemmatpour SK <i>et al.</i> , Eur J Immunogenetics (1998) 25:395-402
2713	HLA00234	Desconhecida	Seuryneck K <i>et al.</i> , Tissue Antigens (1998) 52:187-189
2714	HLA00235	Índios Norte Americanos, Siberianos, Índia	Steiner NK <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2001) 57:486-488 Feldman D <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 59:426-429
2715	HLA00236	Oriental	Voorter CE <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 60:25-35
2716	HLA01056	Caucasóide	Steiner NK <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2001) 57:486-488
2717	HLA01130	Desconhecida	Voorter CE <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 60:25-35
2718	HLA01143	Desconhecida	Feldman D <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 59:426-429
2719	HLA01147	Caucasóide (Libanês)	Tamouza R <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2001) 58:30-30
2720	HLA01173	Oriental	Kim MA <i>et al.</i> , Human Immunology (2000) 61S:50-50
2721	HLA01277	Desconhecida	Gans CP <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 59:229-231
2723	HLA01348	Caucasóide	Darke C <i>et al.</i> , Tissue Antigens (2002) 60:400-403
2724	HLA01504	Desconhecida	Não publicado
2725	HLA01529	Desconhecida	Não publicado
2726	HLA01952	Raça Negra	Não publicado
2727	HLA02023	Caucasóide, Hispânica	Não publicado
2728	HLA02118	Caucasóide	Não publicado

mento da susceptibilidade à AS³⁷. Num outro estudo realizado por Feltkamp, o risco de desenvolvimento da doença triplica nos heterozigóticos HLA-B27 / HLA-B60 comparativamente com outros heterozigóticos HLA-B27³⁸. Estes dados foram confirmados no Reino Unido³⁹, embora não tenham sido observados em todos os grupos étnicos^{40,41}. Este facto sugere a presença de um alelo que confere susceptibilidade e que está em desequilíbrio de ligação com o HLA-B60 nas diferentes populações. Foi encontrada recentemente uma forte associação entre os alelos HLA-B*60 e HLA-B*61 e a AS, em indivíduos HLA-B*27 negativos, na população chinesa de Taiwan⁴².

Yamaguchi et al (1995) identificaram uma forte associação entre o alelo HLA-B39 e a AS em indivíduos japoneses HLA-B27 negativos⁴¹.

A associação do HLA-B*1403 com a AS foi recentemente identificada no Togo. Nessa população, em que a presença do alelo HLA-B27 e da AS é rara, foram estudados e tipados oito indivíduos com AS. Destes, quatro eram B*1403, estando este alelo ausente na população saudável³⁵.

Mais recentemente, foram estudados indivíduos HIV positivos, com e sem SpA, originários da Zâmbia. A presença do alelo HLA-B*5703 parece retardar a progressão do HIV, influenciando, por outro lado, o aumento da incidência de SpA observada nessa população⁴³.

Diversos estudos efectuados em diferentes populações apontam para a associação de alelos HLA Classe II com a AS e outras formas de SpA. Assim sendo, vários grupos encontraram associação entre os alelos DR1^{36,44}, DR4⁴⁵, e uma associação contraditória com o DR8⁴⁶. Foi encontrada recentemente uma forte associação do alelo DRB1*0103, um subtipo raro do DRB1*01, com uma das formas de artrite associadas à Doença Inflamatória do Intestino (Tipo 1)⁴⁷.

MODELOS DE ASSOCIAÇÃO À ESPONDILOARTRITES

O papel da molécula HLA-B27 no desenvolvimento das SpA tem sido amplamente estudado; na tentativa de o compreender foram propostos vários modelos.

Mimetismo Molecular e Péptido Artrítico

O modelo do péptido artrítico foi proposto por Benjamin e Parham em 1990 e baseia-se na existência de “mimetismo molecular” entre um péptido de origem bacteriana ou viral, e um fragmento de uma proteína própria – péptido artrítico (figura 5). De acordo com o mimetismo molecular, o desencadear da resposta imunitária ocorre quando há partilha de epítomos entre o péptido bacteriano e o péptido do próprio organismo. Assim, a

apresentação de um péptido bacteriano, pela molécula HLA-B27, iria activar os linfócitos T citotóxicos ocorrendo uma reacção cruzada com as moléculas do próprio organismo, resultando num processo inflamatório dos tecidos atingidos. Segundo esta teoria, os diferentes subtipos HLA-B27 seriam capazes de se unir a um grupo comum de péptidos apesar das suas diferenças aminoácidas. Nos subtipos em que a associação à doença é fraca, a afinidade com os péptidos artríticos seria inferior⁴⁸.

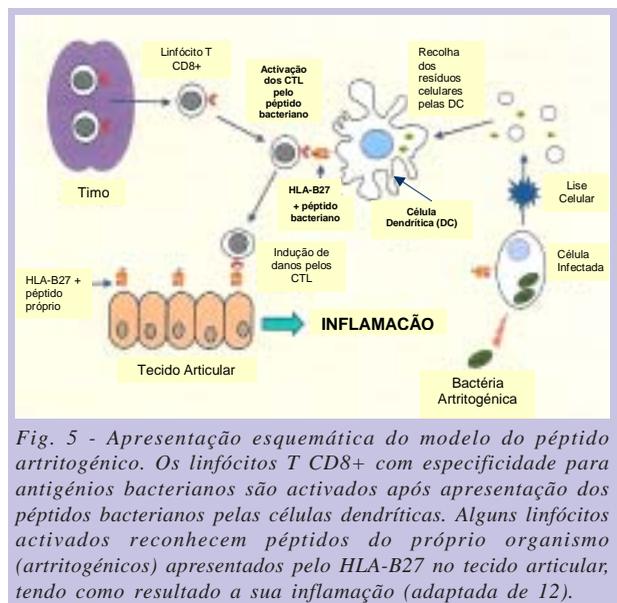


Fig. 5 - Apresentação esquemática do modelo do péptido artrítico. Os linfócitos T CD8+ com especificidade para antígenos bacterianos são activados após apresentação dos péptidos bacterianos pelas células dendríticas. Alguns linfócitos activados reconhecem péptidos do próprio organismo (artríticos) apresentados pelo HLA-B27 no tecido articular, tendo como resultado a sua inflamação (adaptada de 12).

Péptidos derivados do HLA-B27 são apresentados às células T pelas moléculas HLA classe II

Esta teoria sugere que os péptidos derivados da degradação da própria molécula HLA-B27 são apresentados como um antígeno às células T CD4+ pelas moléculas de classe II²⁶. De facto, os péptidos resultantes das moléculas classe I podem ligar-se de uma forma promíscua a muitos alelos HLA-DR. Verificou-se que os péptidos derivados do HLA-B27 podem ser reconhecidos como autoantígenos pelos linfócitos T do sangue periférico em indivíduos HLA-B27+ com AS, sendo este reconhecimento quantitativamente inferior nos indivíduos HLA-B27+ saudáveis^{49,50}.

A teoria dos péptidos promíscuos foi posta de parte uma vez que, através de estudos com ratos transgênicos, se veio a demonstrar que as moléculas de classe II não são necessárias ao desenvolvimento de artrite⁵¹.

Alteração da molécula HLA-B27

Esta teoria está relacionada com a presença de uma cisteína (Cys67), desemparelhada, existente no domínio extracelular α 1 da maior parte dos subtipos HLA-B27 (52).

Foram propostos três mecanismos na tentativa de explicar o modo de predisposição da artrite com base na Cys67:

1) Em determinadas condições, a Cys67 pode ser quimicamente modificada, alterando, deste modo, a especificidade antigénica do HLA-B27. Propôs-se que a Cys67 pudesse sofrer oxidação, o que faria variar o epítipo HLA-B27, alterando a especificidade peptídica⁵².

2) Uma modificação química semelhante à anterior, poderá alterar as propriedades da ligação peptídica do HLA-B27. As cisteínas reactivas na posição 67 podem formar pontes dissulfito com grupos tiol, causando uma alteração conformacional da molécula HLA-B27 que, por sua vez, pode ser reconhecida pelos linfócitos T citotóxicos⁵³.

3) A presença da Cys67 poderá ser responsável por características invulgares nas propriedades moleculares do HLA-B27, tal como a sua capacidade para formar dímeros. De facto, uma das potenciais capacidades do resíduo Cys67 na molécula HLA-B27 é a formação de homodímeros entre as cadeias pesadas, sem qualquer associação com a β_2 microglobulina. Esta formação sugere uma modificação estrutural da molécula, que vai permitir a acomodação de péptidos mais longos que podem ser reconhecidos tanto por células CD4+ como CD8+⁵⁴. Os homodímeros da molécula HLA-B27 podem, também, funcionar como um ligando para os receptores das células NK, ou outros receptores, e podem ainda ser reconhecidos por anticorpos específicos⁵⁵.

HLA-B27 *Misfolding* – estrutura tridimensional anómala

A estruturação das moléculas HLA Classe I ocorre no Retículo Endoplasmático (RE), sendo de seguida transportadas, por vesículas do Complexo de Golgi, até à superfície celular. No RE as cadeias pesadas de moléculas HLA Classe I, recém formadas, são rapidamente glicosiladas e associadas à β_2 -microglobulina (β_2 -m) através de ligações não covalentes. As cadeias pesadas, livres ou associadas à β_2 -m, adquirem uma conformação apropriada mediante a acção das seguintes *chaperones*: calnexina quando livres e calreticulina quando associadas à β_2 -m. O heterodímero resultante liga-se preferencialmente a péptidos resultantes de proteínas citosólicas degradadas pelo proteosoma. Estes péptidos são transportados activamente para o lúmen do RE, a partir do citosol, por transportadores associados ao processamento de antígenos (TAP). Aí, são fisicamente associados a dímeros livres de péptidos, através de uma glicoproteína (tapasina). A correcta ligação da cadeia pesada com uma sub-unidade solúvel da β_2 -m e o péptido (8 a 10 resíduos) é essencial

para se efectuar o transporte do trímero até à superfície celular. Verificando-se a ausência quer da β_2 -m, quer do péptido a ser apresentado, o complexo não é transportado até à superfície celular sendo de imediato degradado pelos proteosomas⁷.

Foi recentemente observado que uma molécula HLA-B27, logo após a sua síntese, obtém a forma tridimensional e associa-se à β_2 -m mais lentamente do que outras moléculas HLA Classe I⁵⁶. A presença de cadeias pesadas não glicosiladas no citosol, em células que expressam o HLA-B27, indica que estas foram para aí transportadas, por possuírem estrutura tridimensional deficiente. Curiosamente, a má conformação das moléculas HLA-B27, ocorre mesmo em presença de uma via de estruturação funcional e de um bom processamento de antígenos, diferindo, desta forma, de outras moléculas HLA Classe I cuja deficiente conformação é resultante da insuficiência de cadeias β_2 -m ou de péptidos. A estrutura tridimensional deficiente, apresentada pela molécula HLA-B27, é menos pronunciada do que a resultante da ausência de moléculas acessórias (β_2 -m ou péptidos), o que faz com que a sua expressão na membrana celular não seja significativamente comprometida⁷. Mear et al. verificaram que esta conformação deficiente poderia ser corrigida pela substituição do *pocket* B da molécula HLA-B27 pelo mesmo *pocket* de outro alelo HLA Classe I (HLA-A*0201), sugerindo que seria este *pocket* o responsável pelo fenótipo aberrante⁵⁶.

O *misfolding* resulta num produto proteico deficiente, por vezes, até funcional, que é acumulado e degradado, sendo conhecida a sua importância na patogénese de várias doenças. O stress provocado pela acumulação de proteínas com estrutura tridimensional anómala no RE pode resultar em dois tipos respostas: 1) recrutamento de chaperones para proceder a alterações conformacionais nestas moléculas; 2) activação do factor de transcrição nuclear κ B (NF- κ B) que, por sua vez, estimula a expressão de vários genes, o que poderá resultar, em determinadas células, no aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias. O *misfolding* e consequente acumulação da molécula HLA-B*27 pode contribuir para o desencadear de uma resposta ao stress no ER, levando à activação do NF- κ B. Tal, poderá estimular a síntese de citocinas pró-inflamatórias, tais como: TNF- α , IL-1 e IL-6, em monócitos/macrófagos. Por sua vez, o TNF- α e outras citocinas pró-inflamatórias poderão ainda estimular, através de mecanismos autócrinos, a expressão de cadeias pesadas MHC classe I, aumentando ainda mais o *misfolding*. Nesta teoria, a hipótese que se põe é o desencadear, ou o aumento, de uma resposta do sistema imunitário inato, devido ao *misfolding* do HLA-B*27, que levaria à inflama-

ção, independentemente da sua estrutura antigénica ou das suas propriedades no que respeita a apresentação de péptidos⁷.

Os resultados de um trabalho efectuado por Dangoria *et al* em 2002, sustentam a ideia de que as características imunobiológicas aberrantes da molécula HLA-B*27, se devem à composição aminoácídica do seu *pocket B*, sendo pouco provável a sua relação com o papel deste *pocket* na selecção peptídica, por si só. Sugerem também que a combinação de uma cinética lenta na aquisição da estrutura tridimensional e retenção no RE, aliada a uma cisteína desemparelhada, exposta na molécula não estruturada, poderiam criar um fenótipo de *misfolding* total, que incluiria pontes dissulfúto aberrantes no RE⁵⁷.

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÃO FUTURAS

Pretendeu-se, com este artigo, realçar a importância da molécula HLA-B27 no desenvolvimento das espondilartropatias. Para tal, foi efectuada uma revisão sobre a estrutura e polimorfismo desta, bem como do seu hipotético papel na patogénese da AS.

No decorrer da pesquisa, verificámos a existência de um elevado número de estudos epidemiológicos efectuados em etnias específicas de locais recônditos e, geneticamente, pouco explorados. Este tipo de trabalho, além de contribuir para o conhecimento da evolução populacional continuará a fornecer indícios para o esclarecimento desta curiosa associação.

As teorias acima expostas resultam de uma vasta investigação feita em torno da molécula HLA-B*27 e da sua relação com as espondilartropatias. Apesar dos avanços verificados, os mecanismos implicados na patogénese destas doenças não estão ainda totalmente esclarecidos, havendo discordâncias de fundo quanto ao modelo explicativo mais adequado.

Há estudos que apontam para a existência de outros genes candidatos que interactivam com o HLA-B27 contribuindo para a patogénese da doença. Sendo assim, é de extrema importância o estudo e caracterização destes, por forma a identificar precocemente os indivíduos HLA-B27+ susceptíveis de desenvolver uma SpA. Desta forma poder-se-á estabelecer um plano de medidas preventivas, assim como novas estratégias no tratamento da Espondilite Anquilosante e restantes SpA.

BIBLIOGRAFIA

1. DELVES PJ, ROITT IM: The Immune System - First of Two Parts. *NEJM* 2000;343(1):37-49
2. LÓPEZ LARREA C, MARTÍNEZ-NAVES E, SÉTIEN F: Linfocitos B. In: Corell A, Madroño A, Rivero M, Setién F, editors. *Inmunología*. Madrid: Editorial Complutense 1995;p. 47-56
3. PACHECO A, RIVERO M, REGUEIRO JR: Linfocitos T. In: Corell A, Madroño A, Rivero M, Setién F, editors. *Inmunología*. Madrid: Editorial Complutense 1995; p. 57-62
4. KLEIN J, SATO A: The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343(10):702-9
5. BRUGES-ARMAS J: Espondiloartrites e Doenças Associadas - Heterogeneidade genética e sua expressão [Dissertação]. Porto: Universidade do Porto 2001
6. GONZÁLEZ ROCES S, LÓPEZ-LARREA C: Contribution of HLA-B27 polymorphism to AS development. In: López-Larrea C, editor. *HLA-B27 in the development of Spondyloarthropathies*. Austin: R.G. Landes Company 1997;p. 113-133
7. COLBERT RA: HLA-B27 misfolding: a solution to the spondyloarthropathy conundrum? *Mol Med Today* 2000;6(6):224-230
8. EREN E, TRAVERS P: The Structure of the Major Histocompatibility Complex and its Molecular Interactions. In: Robert Lechler AW, editor. *HLA in Health and Disease*. London: Academic Press 2000;p. 23-33
9. LAMAS JR, PARADELA A, RONCAL F, LÓPEZ DE CASTRO JA: Modulation at multiple anchor positions of the peptide specificity of HLA-B27 subtypes differentially associated with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1999;42(9):1975-85
10. KHAN MA: Genetic Aspects of Ankylosing Spondylitis: Recent Advances. Basel: Novartis Pharma AG. January 2002; Report N° 11
11. MARTINEZ-BORRA J, ROCES SG, LÓPEZ-VASQUEZ A et al: HLA-B27 alone rather than B27-related class I haplotypes contributes to ankylosing spondylitis susceptibility. *Hum Immunol* 2000;61:131-9
12. RAMOS M, LOPEZ DE CASTRO JA: HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthritis. *Tissue Antigens* 2002;60(3):191-205
13. MARTÍNEZ-BORRA J, GONZÁLEZ S, LÓPEZ-LARREA C: Genetic Factors Predisposing to Spondylarthropathies. *Arthritis Rheum* 2000;43(3):485-92
14. BREWERTON DA, CAFFREY M, HART FD, JAMES DCO, NICHOLLS A, STURROCK RD: Ankylosing Spondylitis and HLA-A 27. *Lancet* 1973;1:904-7
15. WUCHERPFENNIG KW: Presentation of a Self-peptide in Two Distinct Conformations by a Disease-associated HLA-B27 Subtype. *J Exp Med* 2004;199(2):151-4
16. GONZÁLEZ ROCES S, ALVAREZ MV, GONZALEZ S et al: HLA-B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1997;49:116-23
17. KHAN M: HLA-B27 and its subtypes in world populations. *Curr Opin Rheumatol* 1995;7(4):263-9
18. BALL EJ, KHAN MA: HLA-B27 polymorphism. *Joint Bone Spine* 2001;68:378-82
19. DHALIWAL JS, TOO CL, LISUT M, LEE YY, MURAD S: HLA-B27 polymorphism in the Malays. *Tissue Antigens* 2003;62(4):330-2
20. SUDARSONO D, HADI S, MARDJUADI A et al: Evidence that HLA-B*2706 is not protective against spondyloarthropathy. *J Rheumatol* 1999;26(7):1534-6
21. BRUGES-ARMAS J, SANTOS M, PEIXOTO MJ, COUTO AR, GARRETT F: HLA and the Spondyloarthritis. *Int J Hum Genet* 2004;4(2):125-135
22. GARCIA-FERNANDEZ S, GONZALEZ S, MINA BLANCO A et al: New insights regarding HLA-B27 diversity in the Asian population. *Tissue Antigens* 2001;58(4):259-62
23. SHANKARKUMAR U, GHOSH K, MOHANTY D: HLA B27 polymorphism in Western India. *Tissue Antigens* 2002;60(1):98-101

24. RAMOS M, PARADELA A, VÁSQUEZ M, MARINA A, VÁSQUEZ J, LÓPEZ DE CASTRO JA: Differential Association of HLA-B*2705 and B*2709 to Ankylosing Spondylitis Correlates with Limited Peptide Subsets but Not with Altered Cell Surface Stability. *J Biol Chem* 2002;277(32):28749-56
25. OLIVIERI I, PADULA A, CIANCIO G et al: The HLA-B*2709 subtype in a patient with undifferentiated spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000;59:654-655
26. OLIVIERI I, CIANCIO G, PADULA A, GAUDIANO C, MASCIANDARO S, MORO L et al: The HLA-B*2709 subtype confers susceptibility to spondyloarthropathy. *Arthritis Rheum* 2002;46:553-554
27. MARCHIONNI L, MODENA V, ROGGERO R, CURTONI ES: The polymorphism of HLA-B*27 and the seronegative spondyloarthropathies in the Italian population. In: EFI, editor. 13th European Histocompatibility Conference. Crete. 1999
28. BROWN M, JEPSON A, YOUNG A, WHITTLE HC, GREENWOOD BM, WORDSWORTH BP: Ankylosing spondylitis in West Africans - evidence for a non-HLA-B27 protective effect. *Ann Rheum Dis* 1997;56:68-70
29. HIELDEBRAND WH, DOMENA JD, SHEN SY et al: The HLA-B7Q antigen is encoded by a new subtype of HLA-B27 (B*2708). *Tissue Antigens* 1994;44(1):47-51
30. BROWN MA, PILE KD, KENNEDY LG et al: HLA Class I associations of ankylosing spondylitis in the white population in the United Kingdom. *Ann Rheum Dis* 1996;55:268-70
31. ARMAS JB, GONZALEZ S, MARTINEZ-BORRA J et al: Susceptibility to ankylosing spondylitis is independent of the Bw4 and Bw6 epitopes of HLA-B27 alleles. *Tissue Antigens* 1999;53(3):237-43
32. GONZALEZ S, GARCIA-FERNANDEZ S, MARTINEZ-BORRA J et al: High variability of HLA-B27 alleles in ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies in the population of northern Spain. *Hum Immunol* 2002;63(8):673-6
33. OZGUL A, ORKUNOGLU FE, SENGU A, ALACA R, KALYON TA: HLA-B27 subtypes in Turkish patients with spondyloarthropathy. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20(4):P2.5
34. SHANKARKUMAR U, GOSH K, MOHANTY D: HLA-B*2714 and B*2708 allele associations in seronegative spondylarthritis and haemophilia patients with chronic synovitis in India. *Tissue Antigens* 2003;62(2):175-8
35. LOPEZ-LARREA CMM, GONZALEZ S, FERNANDEZ-MORERA JL, BLANCO-GELAZ MA, MARTINEZ-BORRA J, LOPEZ-VAZQUEZ A: Association of ankylosing spondylitis with HLA-B*1403 in a West African population. *Arthritis Rheum* 2002;46(11):2968-2971
36. BROWN MA, KENNEDY LG, MACGREGOR AJ et al: Susceptibility to ankylosing spondylitis in twins: the role of genes, HLA, and the environment. *Arthritis Rheum* 1997;40(10):1823-28
37. ROBINSON WPVDL, KHAN MA, RENTSCH HU, CATS A, RUSSEL A, THOMSON G: HLA-Bw60 increases susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA-B27+ patients. *Arthritis Rheum* 1989;32(9):1135-1141
38. FELTKAMP TE: Non HLA-B27 genetic factors in HLA-B27 associated diseases. *Clin Rheumatol* 1996;15(Suppl. 1):40-43
39. BROWN M, BUNCE M, CALLIN A, DARKE C, WORDSWORTH P: HLA-B associations of HLA-B27 negative ankylosing spondylitis: comment on the article by Yamaguchi et al. *Arthritis Rheum* 1996;39(10):1768-1769
40. REVEILLE JD, SUAREZ ALMAZOR ME, RUSSELL AS et al: HLA in ankylosing spondylitis: is HLA-B27 the only MHC gene involved in disease pathogenesis? *Semin Arthritis Rheum* 1994;23(5):295-309
41. YAMAGUCHI A, TSUCHIYA N, MITSUI H et al: Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1995;38(11):1672-7
42. WEI JC, TSAI WC, LIN HS, TSAI CY, CHOU CT: HLA-B60 and HLA-B61 are strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients. *Rheumatology (Oxford)* 2004;43(7):839-42
43. LOPEZ-LARREA C, NJOBVU PD, GONZALEZ S, BLANCO-GELAZ MA, MARTINEZ-BORRA J, LOPEZ-VAZQUEZ A: The HLA-B*5703 allele confers susceptibility to the development of spondylarthropathies in Zambian human immunodeficiency virus-infected patients with slow progression to acquired immunodeficiency syndrome. *Arthritis Rheum* 2005;52(1):275-9
44. BROWN MA, KENNEDY LG, DARKE C et al: The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1998;41(3):460-465
45. MIEHLE W, SCHATTENKIRCHNER M, ALBERT D, BUNGE M: HLA-DR4 in ankylosing spondylitis with different patterns of joint involvement. *Ann Rheum Dis* 1985;44:39-44
46. ISLAM SM, NUMAGA J, FUJINO Y, MASUDA K, OHADA H, IRATA R: HLA-DR8 and acute anterior uveitis in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1995;38:547-50
47. ORCHARD TR, THIYAGARAJA S, WELSH KI, WORDSWORTH BP, GASTON JSH, JEWELL DP: Clinical Phenotype is Related to HLA Genotype in the Peripheral Arthropathies of Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol* 2000;118:274-8
48. BENJAMIN R, PARHAM P: Guilt by association: HLA-B27 and ankylosing spondylitis. *Immunol Today* 1990;11(4):137-42
49. DAVENPORT MP: The promiscuous B27 hypothesis. *Lancet* 1995;346:500-1
50. MARKER-HERMANN E, BUSCHENFELDE KHM, WILDNER G: HLA-B*27-derived peptides as autoantigens for T lymphocytes in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 1997;40(11):2047-54
51. KHARE SD, BULL MJ, HANSON J, LUTHRA S, DAVID CS: Spontaneous Inflammatory Disease in HLA-B27 Transgenic Mice is Independent of MHC Class II Molecules: A Direct Role for B27 Heavy Chains and Not B-27-Derived Peptides. *J Immunol* 1998;160:101-6
52. MACLEAN L, MACEY M, LOWDELL M: Sulphydryl reactivity of the HLA-B27 epitope: accessibility of the free cysteine studied by flow cytometry. *Ann Rheum Dis* 1992;51:456-60
53. GAO XM, WORDSWORTH BP, MCMICHAEL AJ, KYAW MM, REES D, DOUGAN G: Homocysteine modification of HLA antigens and its immunological consequences. *Eur J Immunol* 1996;26:1143-50
54. ALLEN RL, O'CALLAGHAN CA, MCMICHAEL AJ, BOWNESS PCE: HLA-B27 Can Form a Novel B2-Microglobulin-Free Heavy Chain Homodimer Structure. *J Immunol* 1999;162:5045-48
55. LANIER LL: Follow the Leader: NK cell receptors for classical and nonclassical MHC Class I. *Cell* 1998;92:705-7
56. MEAR JP, SCHREIBER KL, MUNZ C et al: Misfolding of HLA-B27 as a Result of Its B Pocket Suggests a Novel Mechanism for Its Role in Susceptibility to Spondyloarthropathies. *J Immunol* 1999;163(12):6665-70
57. DANGORIA NS, DELAY ML, KINGSBURY DJ et al: HLA-B27 Misfolding is Associated with Aberrant Intermolecular Disulfide Bond Formation (dimerization) in the Endoplasmic Reticulum. *J Biol Chem* 2002;277(26):23459-68

