

РЕЗУЛЬТАТЫ РЕПЛИКАТИВНОГО АНАЛИЗА АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ГНЕЗДНОЙ АЛОПЕЦИЕЙ

Николаева Т.В.¹, Сетко Н.П.¹, Воронина Л.Г.¹, Калинина Е.Ю.¹, Прокофьев А.Б.¹, Жилиякова Н.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, e-mail: orenderma@yandex.ru

В работе представлены результаты репликативного анализа ассоциаций с гнездной алопецией 8 генетических маркеров (rs9275572 (ген *HLA-DQA2*), rs9479482 (ген *ULBP3*, *ULBP6*), rs1024161 (ген *CTLA4*, *ICOS*), rs3118470 (ген *IL2RA*), rs1701704 (*IKZF4*), rs7682241 (*IL2 – IL21*), rs694739 (*PRDX5 – CCDC88B*), rs10760706 (*STX17*)), связанных по данным всегеномных исследований с гнездной алопецией. Выполнено генотипирование образцов ДНК 105 больных гнездной алопецией и 100 здоровых лиц. Определены частоты аллелей и генотипов. В российской популяции установлены ассоциации с фенотипом гнездной алопеции rs10760706 гена *STX17*, rs1024161 гена *CTLA4*, rs694739 гена *PRDX5*, rs1701704 гена *IKZF4*. Проведенный логистический регрессионный анализ показал, что увеличению вероятности развития заболевания способствуют гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs1024161 гена *CTLA4*, гетерозигота и гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs1701704 гена *IKZF4*, гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs10760706 гена *STX17*. Напротив, гетерозигота и гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs694739 гена *PRDX5* способствуют снижению вероятности развития гнездной алопеции. Предложен алгоритм, позволяющий выявлять лиц с высоким риском развития гнездной алопеции.

Ключевые слова: гнездная алопеция, генотипирование, репликативный анализ ассоциаций, риск развития гнездной алопеции, российская популяция.

RESULTS OF REPLICATIVE ASSOCIATION ANALYSIS OF POLYMORPHIC MARKERS OF GENES ASSOCIATED WITH ALOPECIA AREATA

Nikolaeva T.V.¹, Setko N.P.¹, Voronina L.G.¹, Kalinina E.Ju.¹, Prokofev A.B.¹, Zhiljakova N.A.¹

¹Orenburg State Medical University, Orenburg, e-mail: orenderma@yandex.ru

Was performed the replicative association analysis of alopecia areata with 8 genetic markers (rs9275572 (*HLA-DQA2* gene), rs9479482 (*ULBP3* gene, *ULBP6*), rs1024161 (*CTLA4* gene, *ICOS*), rs3118470 (*IL2RA* gene), rs1701704 (*IKZF4*), rs7682241 (*IL2 - IL21*), rs694739 (*PRDX5 - CCDC88B*), rs10760706 (*STX17*)), related with alopecia areata in genom-wide association study. Genotyping of DNA samples of 105 patients with alopecia areata and 100 healthy individuals was performed. The frequencies of alleles and genotypes were identified. In the Russian population association of phenotype alopecia areata with the rs10760706 in *STX17* gene, rs1024161 in *CTLA4* gene, rs694739 in *PRDX5* gene, rs1701704 in *IKZF4* gene was discovered. The logistic regression analysis showed the increase in the likelihood of developing the disease contribute of the homozygote for the rare allele polymorphism rs1024161 *CTLA4* gene, the heterozygote and homozygote for the rare allele polymorphism rs1701704 gene *IKZF4*, homozygous for the rare allele polymorphism rs10760706 *STX17* gene. In contrast, heterozygous and homozygous for the rare allele polymorphism rs694739 *PRDX5* gene help to reduce the likelihood of the alopecia areata. It was proposed algorithm, which allows to identify individuals at high risk for alopecia areata.

Keywords: alopecia areata, genotyping, replicative association analysis, the risk of alopecia areata, Russian population.

Гнездная алопеция (ГА) – генетически детерминированное органоспецифическое аутоиммунное заболевание, характеризующееся поражением анагеновых волосяных фолликулов, приводящим к временному или стойкому нерубцовому выпадению волос, и в ряде случаев сопровождающееся дистрофическими изменениями ногтевых пластин [5; 8]. Исследование молекулярно-генетических основ ГА с использованием метода всегеномного

анализа ассоциаций, позволившее определить ряд однонуклеотидных полиморфных маркеров генов, ассоциированных с этим заболеванием [3; 16], было выполнено на примере жителей Соединенных Штатов Америки европейского происхождения. Вместе с тем имеющиеся существенные генетические различия популяций по генам, ассоциированным с мультифакториальными заболеваниями [4; 7], требуют обязательной репликации ассоциаций на других популяциях [4; 7; 12]. Работ, посвящённых оценке частоты встречаемости генетических маркеров ГА, выявленных по результатам всегеномного анализа ассоциаций, на примере российской популяции в доступной литературе нет.

В этой связи целью работы явился поиск генетических маркеров, ассоциированных с ГА, на основе репликативного анализа ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов, связанных по данным всегеномного исследования с ГА.

Материалы и методы исследования

Для репликативного анализа ассоциаций из международной базы данных Каталога опубликованных геномных ассоциативных исследований Национального института исследований генома человека (США) (The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies) [3] были отобраны восемь однонуклеотидных полиморфизмов генов, ассоциированных по данным всегеномного исследования, с ГА [15]. Они включали следующие однонуклеотидные полиморфизмы: rs9275572 (ген *HLA-DQA2*), rs9479482 (ген *ULBP3*, *ULBP6*), rs1024161 (ген *CTLA4*, *ICOS*), rs3118470 (ген *IL2RA*), rs1701704 (*IKZF4*), rs7682241 (*IL2 – IL21*), rs694739 (*PRDX5 – CCDC88B*), rs10760706 (*STX17*). Материалом для молекулярно-генетического исследования явились образцы крови 105 взрослых пациентов с ГА и 100 взрослых лиц группы сравнения, не имеющих в личном и семейном анамнезе аутоиммунных заболеваний. Все обследуемые являлись коренными жителями г. Оренбурга. Средний возраст больных ГА и здоровых лиц группы сравнения составил соответственно $29,2 \pm 0,98$ и $26,7 \pm 1,3$ (M \pm m). В группу пациентов вошло 35 мужчин и 65 женщин, в группу сравнения – 39 мужчин и 61 женщина. Диагноз ГА выставлялся в соответствии с классификацией Olsen E. et al. (2004) [14], в основу которой положена стандартизованная оценка выраженности всех клинических признаков ГА: площади выпадения волос на коже волосистой части головы, степени выпадения волос на коже туловища и конечностей и изменений ногтевых пластин. Оценка степени тяжести ГА проводилась с учетом площади поражения волосистой части головы. При площади облысения до 25% диагностировалась легкая степень тяжести болезни, 25-50% - средняя степень тяжести ГА, свыше 50% - тяжелая степень тяжести [1]. Среди включенных в исследование пациентов у 77,1% больных была диагностирована легкая степень тяжести ГА, у 6,7% пациентов – средняя степень тяжести ГА, у 16,2% пациентов – тяжелая ГА.

Генотипирование проводилось методом аллель-специфической гибридизации в формате полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (TaqMan). Выделение ДНК из лейкоцитов крови проводилось с использованием комплекта реагентов для выделения ДНК «Проба ГС» (ООО «НПО ДНК-Технология»). ПЦР-амплификация ДНК выполнена для определения указанных выше полиморфизмов генов с использованием наборов, разработанных и произведенных научно-производственной компанией «Синтол». Молекулярно-генетическое исследование выполнено на детектирующем амплификаторе DTlite (ООО «НПО ДНК-Технология»). При анализе частот генотипов проводилось тестирование на соответствие наблюдаемого распределения теоретически ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга (РХВ) с использованием интерактивного калькулятора Hardy-Weinberg equilibrium calculator (Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology studies) [15]. Статистическая значимость различий в распределении частот аллелей и генотипов рассчитывалась с помощью критерия χ^2 , сила ассоциаций генотипических характеристик обследуемых с фенотипом ГА оценивалась по значению показателя отношения шансов (odds ratio, OR) с расчетом его 95%-ного доверительного интервала, выполненных с использованием интерактивного калькулятора, размещенного на сервере: http://gen-exp.ru/calculator_or.php. В процедурах статистического анализа критическое значение уровня значимости принималось равным 0,05.

Для выявления лиц с высоким и низким риском развития ГА было выполнено моделирование вероятности наличия ГА в зависимости от генотипа обследуемого человека с помощью логистического регрессионного анализа. Для выполнения анализа было сформировано по две бинарные переменные для каждого из восьми полиморфизмов генов с учетом трех возможных генотипов (гомозиготы по частому аллелю, гетерозиготы и гомозиготы по редкому аллелю) путем введения фиктивных переменных [2]. Так были сформированы 16 переменных, позволяющих описать выявленные генотипы и использовать их для построения логит-модели. Вероятность наличия ГА у обследуемых (y) рассчитывалась по формуле (1) бинарной логистической регрессии, имеющей вид:

$$\hat{P}(y = 1 | x) = \frac{\exp(s)}{1 + \exp(s)}, \quad (1)$$

где s – показатель экспоненты, зависящий от генотипа обследуемого,

\hat{P} – вероятность.

В том случае, если вероятность \hat{P} менее 0,5, то обследуемый имел низкий риск развития ГА, если более 0,5 – принадлежал к группе высокого риска развития ГА.

Качество модели оценивалось с помощью псевдокоэффициента детерминации, расчета показателей чувствительности и специфичности, а также ROC-анализа,

включающего построение ROC-кривой и расчета площади под ROC-кривой. Количественную интерпретацию ROC-анализа проводили с помощью показателя AUC (area under curve, численное значение клинической значимости диагностического теста). Согласно экспертной шкале для значений AUC показатель в пределах 0,5–0,6 свидетельствует о неудовлетворительном качестве диагностического теста, в пределах 0,6–0,7 – о среднем качестве диагностического теста, в пределах 0,7–0,8 – о хорошем качестве диагностического теста, в пределах 0,8–0,9 – очень хорошем, 0,9–1,0 – отличном качестве диагностического теста [6].

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ данных таблицы 1 показал, что распределение генотипов rs9275572 гена *HLA-DQA2* как у здоровых пробандов группы сравнения, так и у пациентов с ГА не соответствовало РХВ. Кроме того, у пациентов с ГА распределение генотипов rs1701704 гена *IKZF4* и rs10760706 гена *STX17* также отклонялось от РХВ.

Таблица 1

Распределение частот аллелей у пациентов с гнездной алопецией и в группе сравнения

ОНП	РА	Пациенты (n=105)					Группа сравнения (n=100)				
		11	12	22	ЧРА	р-уровень	11	12	22	ЧРА	р-уровень
rs9479482	A*	0,29	0,48	0,23	0,53	0,66	0,26	0,58	0,16	0,55	0,09
rs1024161	A	0,27	0,41	0,32	0,53	0,07	0,37	0,52	0,11	0,37	0,25
rs694739	A*	0,56	0,33	0,11	0,73	0,11	0,39	0,43	0,18	0,61	0,31
rs7682241	A	0,26	0,58	0,16	0,45	0,08	0,39	0,49	0,12	0,36	0,57
rs1701704	C	0,21	0,61	0,18	0,49	0,02**	0,51	0,35	0,14	0,32	0,06
rs3118470	G	0,39	0,45	0,16	0,39	0,57	0,52	0,35	0,13	0,31	0,08
rs9275572	G*	0,31	0,37	0,32	0,51	0,008**	0,16	0,35	0,49	0,66	0,03**
rs10760706	G	0,38	0,36	0,26	0,44	0,007**	0,46	0,49	0,05	0,29	0,08

Примечание. РА – рисковый аллель; * - частый аллель является рисковым; 11 – гомозиготы по частому аллелю, 12 – гетерозиготы, 22 – гомозиготы по редкому аллелю; р-уровень – достигнутый уровень значимости критерия χ^2 для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому при РХВ; ** - несоответствие РХВ.

Среди причин несоответствия РХВ могут быть ошибки генотипирования [9], популяционная стратификация или ассоциация с заболеванием [10]. Последнее может быть возможным объяснением отклонения от РХВ генотипов rs1701704 гена *IKZF4* и rs10760706 гена *STX17* в группе пациентов. Вместе с тем вероятной причиной несоответствия РХВ распределения генотипов rs9275572 гена *HLA-DQA2* у пробандов обеих групп исследования могут быть ошибки генотипирования, что явилось основанием для исключения полиморфного маркера гена *HLA-DQA2* из дальнейшего анализа.

Моделью для поиска ассоциации между генотипом и фенотипом была выбрана общая генетическая модель наследования [13], которая не требует соблюдения РХВ в исследуемых выборках [13]. Анализ данных таблицы 2, описывающих общую генетическую модель ГА,

свидетельствует об ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs1024161 гена *CTLA4* ($\chi^2=13,74$; $p=0,001$), rs694739 гена *PRDX5* ($\chi^2=6,47$; $p=0,04$), rs1701704 гена *IKZF4* ($\chi^2=20,66$; $p=0,00003$), rs10760706 гена *STX17* ($\chi^2=16,82$; $p=0,0002$) с фенотипом ГА.

Таблица 2

Общая генетическая модель гнездной алопеции

Ген	Генотип	Частоты генотипов		χ^2 ; df=2	p	OR	
		Пациенты	Группа сравнения			Значение	95% ДИ
<i>ULBP3/ULBP6</i>	A/A*	0,295	0,260	2,51	0,28	1,19	0,65 – 2,20
	G/A	0,476	0,580			0,66	0,38 – 1,14
	G/G	0,229	0,160			1,56	0,77 – 3,14
<i>CTLA4/ICOS</i>	G/G	0,267	0,370	13,74	0,001**	0,62	0,34 – 1,12
	A/G	0,410	0,520			0,64	0,37 – 1,11
	A/A	0,324	0,110			3,87	1,38 – 8,19
<i>PRDX5</i>	A/A*	0,562	0,390	6,47	0,04**	2,01	1,15 – 3,50
	G/A	0,333	0,430			0,66	0,38 – 1,17
	G/G	0,105	0,180			0,53	0,24 – 1,19
<i>IL2/IL21</i>	C/C	0,257	0,390	4,23	0,12	0,54	0,30 – 0,98
	A/C	0,581	0,490			1,44	0,83 – 2,50
	A/A	0,162	0,120			1,42	0,64 – 3,14
<i>IKZF4</i>	A/A	0,210	0,510	20,66	0,00003**	0,25	0,14 – 0,47
	G/A	0,610	0,350			2,90	1,64 – 5,12
	G/G	0,181	0,140			1,36	0,64 – 2,88
<i>IL2RA</i>	A/A	0,390	0,520	3,47	0,18	0,59	0,34 – 1,03
	G/A	0,448	0,350			1,50	0,86 – 2,64
	G/G	0,162	0,130			1,29	0,59 – 2,82
<i>STX17</i>	A/A	0,381	0,460	16,82	0,0002**	0,72	0,41 – 1,26
	G/A	0,362	0,490			0,59	0,34 – 1,03
	G/G	0,257	0,050			6,58	2,42 – 17,88

Примечание. * - по данным всегеномного анализа ассоциаций рисковым является частый аллель; ** - статистическая значимость различий $p<0,01$; OR – отношение шансов; 95%ДИ – 95% доверительный интервал.

Установлено, что генотип G/G однонуклеотидного полиморфизма rs10760706 гена *STX17* у пациентов встречался в 5,1 раза чаще, чем у здоровых лиц (OR=6,58; 95% ДИ 2,42 – 17,88). Среди пациентов с ГА носительство гомозиготы A/A полиморфного маркера rs1024161 гена *CTLA4* было в 2,9 раза больше, чем среди здоровых пробандов (OR=3,87; 95% ДИ 1,38 – 8,19). У пациентов, страдающих ГА, частота носительства гомозиготы по частому аллелю A однонуклеотидного полиморфизма rs694739 гена *PRDX5* была в 1,4 раза выше, чем у лиц группы сравнения (OR=2,01; 95% ДИ 1,15 – 3,50). Носительство генотипов G/A и G/G полиморфного маркера rs1701704 гена *IKZF4* у пациентов в 1,7 и 1,3 раза соответственно было выше, чем у здоровых пробандов (OR=1,50; 95% ДИ 0,86 – 2,64 и OR=1,29; 95% ДИ 0,59–2,82 соответственно). В настоящем исследовании не подтверждены ассоциации ГА с однонуклеотидными полиморфизмами rs9479482 гена *ULBP3/ULBP6*, rs7682241 гена

IL2/IL21 и rs3118470 гена *IL2RA*, ранее установленные методом всегеномного анализа ассоциаций в качестве маркеров ГА. Это может объясняться как относительно малой численностью исследуемых групп, так и особенностями исследуемой популяции в отношении ассоциаций ген – признак [11].

Результаты проведения логистического регрессионного анализа с пошаговым исключением наименее значимых признаков представлены в таблице 3.

Таблица 3

Логит-модель для определения вероятности развития гнездной алопеции на основании 6 показателей, характеризующих генотипы участников исследования

Признак ¹	Обозначение	Коэффициент	Станд. ошибка	р-уровень
CTLA4 ₍₂₎	x_1	1,57	0,41	0,000***
PRDX5 ₍₁₎	x_2	-1,04	0,36	0,004**
PRDX5 ₍₂₎	x_3	-1,12	0,51	0,03*
IKZF4 ₍₁₎	x_4	1,45	0,401	0,000***
IKZF4 ₍₂₎	x_5	1,15	0,47	0,01*
STX17 ₍₂₎	x_6	2,02	0,55	0,000***
Свободный член		-0,87	0,36	0,02

Примечание. ¹Подстрочный индекс (1) обозначает бинарную переменную, определяющую признак гетерозиготности/гомозиготности, подстрочный индекс (2) – признак гомозиготы по частому аллелю/гомозиготы по редкому аллелю. Коэффициент значим на уровне: $p < 0,05$ (*); $p < 0,01$ (**); $p < 0,001$ (***)

Построенная логит-модель характеризуется значением статистики Вальда Wald $\chi^2(6)$, равным 51,96, соответствующим р-значению $< 0,0001$ и коэффициентом детерминации Pseudo R^2 , равным 0,2153, что подтверждает статистическую значимость представленной модели.

Математическая модель определения вероятности развития ГА, построенная на основе логит-модели, описана формулой 2:

$$s = -0,87 + 1,57x_1 - 1,04x_2 - 1,12x_3 + 1,45x_4 + 1,15x_5 + 2,02x_6, \quad (2)$$

где s – показатель экспоненты,

-0,87 – свободный член, не имеющий клинической интерпретации,

x_1 – признак гомозиготы по частому аллелю/гомозиготы по редкому аллелю полиморфизма гена *CTLA4*,

x_2 – признак гетерозиготности/гомозиготности полиморфизма гена *PRDX5*,

x_3 – признак гомозиготы по редкому аллелю/гомозиготы по частому аллелю полиморфизма гена *PRDX5*,

x_4 – признак гетерозиготности/гомозиготности полиморфизма гена *IKZF4*,

x_5 – признак гомозиготы по редкому аллелю/гомозиготы по частому аллелю полиморфизма гена *IKZF4*,

x_6 – признак гомозиготы по редкому аллелю/гомозиготы по частому аллелю полиморфизма гена *STX17*.

Анализ полученной логит-модели свидетельствует о том, что значимое влияние на возникновение ГА оказывают полиморфизм rs1024161 гена *CTLA4*, полиморфизм rs694739 гена *PRDX5*, полиморфизм rs1701704 гена *IKZF4* и полиморфизм rs10760706 гена *STX17*. По знакам коэффициентов логистической регрессии можно сделать вывод о том, что увеличению вероятности развития заболевания способствуют гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs1024161 гена *CTLA4*, гетерозигота и гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs1701704 гена *IKZF4*, гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs10760706 гена *STX17*. Напротив, гетерозигота и гомозигота по редкому аллелю полиморфизма rs694739 гена *PRDX5* способствуют снижению вероятности развития ГА.

Представленная логит-модель корректно распознала состояние 71,22% обследуемых. Чувствительность модели, рассчитанная как отношение истинно положительных результатов к общему количеству пациентов, составила 70,48%. Специфичность, являющаяся отношением истинно отрицательных результатов к числу лиц группы сравнения, равна 72,0%. Показатель площади под ROC-кривой AUC (Area Under Curve) составил 0,7831. Согласно экспертной шкале для значений AUC интервал от 0,7 до 0,8 соответствует хорошему качеству модели [6].

Для апробации предсказательной способности логистической регрессионной модели проведено исследование на примере генотипа пациента, включенного в настоящее исследование (табл. 4).

Таблица 4

Пример. Генотип пациента 28 лет, страдающего очаговой формой гнездовой алопеции

Ген	Полиморфизм	Генотип	Рисковый аллель
<i>CTLA4</i>	rs1024161	A/G	A
<i>PRDX5</i>	rs694739	A/A	A*
<i>IKZF4</i>	rs1701704	A/G	G
<i>STX17</i>	rs10760706	G/G	G

Примечание. * - рисковым является частый аллель.

Для расчета вероятности развития ГА выявленные у обследуемого генотипы были приведены в соответствие бинарным переменным по описанному выше алгоритму, и путем подставления значения переменных в уравнение (1) был рассчитан показатель экспоненты:

$$s = -0,87 + 1,57 \times 0 - 1,04 \times 0 - 1,12 \times 0 + 1,45 \times 1 + 1,15 \times 1 + 2,02 \times 1.$$

$s = 3,75$.

Расчетное значение экспоненты $\exp(s)$ составило 42,52. Вероятность \hat{P} , вычисленная по формуле 1, составила 0,98. С учетом полученного значения вероятности обследуемый относится к группе риска по развитию ГА.

Таким образом, проведенный на примере российской популяции репликативный анализ ассоциаций подтвердил ассоциацию с фенотипом гнездной алопеции полиморфных маркеров rs1024161 гена *CTLA4*, rs694739 гена *PRDX5*, rs1701704 гена *IKZF4* и rs10760706 гена *STX17*. Полученные данные, с использованием предложенного на основе логистического регрессионного анализа алгоритма, позволяют проводить персонафицированную оценку риска развития гнездной алопеции.

Список литературы

1. Адаскевич В.П., Мяделец О.Д., Тихоновская И.В. Алопеция (гнездная, андрогенетическая, диффузная). – М. : Медицинская книга; Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. – 192 с.
2. Айвазян С.А., Мхитарян В.С. Прикладная статистика. Основы эконометрики : учебник для вузов. В 2 т. – М. : ЮНИТИ-ДАНА, 2001. - Т. 2. - 432 с.
3. База данных Национального института исследований генома человека (The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ebi.ac.uk/gwas/search?query=alopecia%20areata> (дата обращения: 09.06.2015).
4. Баранов В.С. Полиморфизм генов, экогенетические болезни и предиктивная персонализированная медицина // Экологическая генетика. – 2011. – Т. IX. – № 3. – С. 3–14.
5. Верхогляд И.В., Олисова О.Ю. Иммунные нарушения при гнездной алопеции // Экспериментальная и клиническая дерматокосметология. – 2010. – № 4. – С. 7–10.
6. Власов В.В. Эффективность диагностических исследований. – М. : Медицина, 1988. – 253 с.
7. Степанов В.А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонафицированная медицина // АСТА NATURA. – 2010. – Т. 2. – № 4. – С. 18–34.
8. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. – 5-е изд., перераб. и доп. – М. : Деловой экспресс, 2016. – 768 с.

9. Attia J., Thakkinstian A., McElduff P., Milne E., Dawson S., Scott R.J., Klerk N., Armstrong B., Thompson J. Detecting genotyping error using measures of degree of Hardy-Weinberg disequilibrium // *Stat. Appl. Genet. Mol. Biol.* – 2010. – № 9. – Article 5.
10. Graffelman J., Moreno V. The mid p-value in exact tests for Hardy-Weinberg equilibrium // *Stat. Appl. Genet. Mol. Biol.* – 2013. – Vol. 12. – № 4. – P. 433–448.
11. Ioannides J.P., Ntzani E.E., Trikalinos T.A. «Racial» differences in genetics effects for complex diseases // *Nat. Genet.* – 2004. – Vol. 36. – № 12. – P. 1312–1318.
12. König I.R. Validation in genetic association studies // *Brief. Bioinform.* – 2011. – Vol. 12. – № 3. – P. 253–258.
13. Lewis C.M. Genetic association studies: design, analysis and interpretation // *Brief Bioinform.* – 2002. – Vol. 3. – № 2. - P. 146–153.
14. Olsen E.A., Hordinsky M.K., Price V.H., Roberts J.L., Shapiro J., Canfield D., Duvic M., King L.E. Jr., McMichael A.J., Randall V.A., Turner M.L., Sperling L., Whiting D.A., Norris D. National Alopecia Areata Foundation. Alopecia areata investigational assessment guidelines-Part II. // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2004. – Vol. 51. – № 3. - P. 440–447.
15. Online Encyclopedia for Genetic Epidemiology studies. – URL: <http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>.
16. Petukhova L., Duvic M., Hordinsky M., Norris D., Price V., Shimomura Y., Kim H., Singh P., Lee A., Chen W.V., Meyer K.C., Paus R., Jahoda C.A., Amos C.I., Gregersen P.K., Christiano A.M. Genome-wide association study in alopecia areata implicates both innate and adaptive immunity // *Nature.* – 2010. – Vol. 466. – № 7302. – P. 113–117.