

# Новые иммунологические методы диагностики аутоиммунного полиэндокринного синдрома 1-го типа (первый опыт в России)

К.м.н. Е.М. ОРЛОВА<sup>1</sup>, Л.С. СОЗАЕВА<sup>1\*</sup>, М.Е. КАРМАНОВ<sup>2</sup>, к.б.н. Л. БРЕЙВИК<sup>3</sup>, к.м.н. Э. ХУСБИ<sup>3</sup>, к.м.н. М.А. КАРЕВА<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ «Российская детская клиническая больница», Москва, Россия; <sup>3</sup>Университет Бергена, Норвегия

Оценивали роль аутоантител (АТ) к интерферонам (ИФН)- $\omega$  и - $\alpha_2$  в диагностике аутоиммунного полигланулярного синдрома 1-го типа (АПС 1), а также специфичность и чувствительность метода HEK-Blue cell для определения этих АТ. В исследование были включены 34 пациента с АПС 1 и 21 пациент с очаговой алопецией. Среди пациентов с АПС 1 высокие титры антител к ИФН- $\omega$  обнаружены в 100%, а АТ к ИФН- $\alpha_2$  — в 97% случаев. У всех пациентов с очаговой алопецией соответствующие АТ отсутствовали. Таким образом, определение АТ к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$  с использованием клеток HEK-Blue является высокоспецифичным и высокочувствительным методом диагностики АПС 1.

*Ключевые слова:* аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа, алопеция, тимома, интерфероны- $\omega$  и - $\alpha_2$ , метод HEK-blue cells.

## The new immunological methods for diagnostics of type 1 autoimmune polyendocrine syndrome (the first experience in Russia)

E.M. ORLOVA<sup>1</sup>, L.S. SOZAEVA<sup>1</sup>, M.E. KARMANOV<sup>2</sup>, L. BREIVIK<sup>3</sup>, E. HUSEBYE<sup>3</sup>, M.A. KAREVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; <sup>2</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia; <sup>3</sup>University of Bergen, Norway

This study was designed to ascertain the role of anti-interferon (IFN)- $\omega$  and - $\alpha_2$  antibodies (AB) in diagnostics of type 1 autoimmune polyglandular syndrome (APS-1) and evaluate specificity and sensitivity of the HEK-Blue cells method used to detect these antibodies. The study included 34 patients presenting with APS-1 and 21 patients with focal alopecia. All 100% of the patients with APS-1 exhibited high titers of anti IFN- $\omega$  antibodies; 97% of them had anti IFN- $\alpha_2$  antibodies. These antibodies were not found in the patients with focal alopecia. It is concluded that the measurement of anti IFN- $\alpha$  and  $\alpha_2$  antibodies with the use of HEK-Blue cells is a highly specific and sensitive method for diagnostics of APS-1.

*Keywords:* type 1 autoimmune polyglandular syndrome, alopecia, thymoma, interferon - $\omega$  and  $\alpha_2$ , HEK-Blue cells method.

doi: 10.14341/probl20156159-13

Аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа (АПС 1) — это редкое моногенное заболевание, связанное с мутациями в гене «аутоиммунного регулятора» (*AIRE* — *autoimmune regulator*) [1, 2]. Мутации в гене *AIRE* приводят к нарушению образования белка аутоиммунного регулятора, функция которого до конца не известна, и патогенез заболевания не ясен, однако предполагается, что данный белок участвует в регуляции процессов негативной селекции Т-лимфоцитов в центральных органах иммунной системы. Отсутствие белка «аутоиммунного регулятора» приводит к снижению экспрессии аутоантигенов в тимусе и нарушению негативной селекции Т-лимфоцитов, что способствует развитию различных аутоиммунных компонентов этого заболевания: хронического кожно-слизистого кандидоза (ХКСК), гипопаратиреоза (ГПТ), первичной хронической надпочечниковой недостаточности (ХНН), алопеции, витилиго, гипоплазии зубной эмали, аутоиммунной энтеропатии, инсулинзависимого сахарного диабета, аутоиммунного тиреоидита, пер-

вичного гипогонадизма, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного кератита и блефарита и т.д. [1, 3, 4].

Диагностика заболевания основана на обнаружении у пациента как минимум двух из трех «основных» компонентов заболевания («классическая диада или триада»: ХКСК, ГПТ и ХНН), а также при наличии одного из трех компонентов в случае, если

### Сведения об авторах:

Орлова Елизавета Михайловна, к.м.н., в.н.с. отделения Опухолей эндокринной системы Института детской эндокринологии ФГБУ ЭНЦ,

Созаева Лейла Салиховна, аспирант Института детской эндокринологии ФГБУ ЭНЦ,

Карманов Максим Евгеньевич, зав. отд-нием эндокринологии №2 РДКБ

Брейвик Л., к.б.н., постдокторант, Отдел клинической науки, Университет Бергена

(Brevik L. PhD, postdoc researcher, Department of clinical science, university of Bergen)

Хусби Э.С., к.м.н., проф., глава эндокринной медицинской группы, Отдел клинической науки, Университет Бергена (Husebye E.S. PhD, professor, Head of the endocrine medicine group, Department of clinical science, University of Bergen)

Карева Мария Андреевна, к.м.н., в.н.с., зав. отд-нием опухолей эндокринной системы Института детской эндокринологии ФГБУ ЭНЦ,

© Коллектив авторов, 2015

у родственника первого порядка доказано это заболевание. В течение многих лет заболевание может протекать монокомпонентно, что может затруднять клиническую диагностику. Исследование гена *AIRE* позволяет подтвердить диагноз АПС 1 в нетипичных случаях или еще до того, как манифестировали основные клинические компоненты.

В России исследование гена *AIRE* проводится с 2002 г. Наличие частой мутации Arg257Stop, характерной для российской популяции, позволяет во многих случаях путем исследования одного экзона обнаружить мутацию и поставить диагноз. Однако в 30% аллелей встречаются другие мутации, и в этих случаях необходимо полное секвенирование гена, что является более долгим по срокам выполнения и дорогостоящим методом диагностики. В 5–8% аллелей мутации не удается обнаружить даже при исследовании всего гена [5].

В настоящий момент разработаны и широко применяются новые иммунологические методы диагностики АПС 1 — определение антител к интерферонам (ИФН) 1 типа (ИФН- $\alpha$  и - $\omega$ ) [6].

Интерфероны 1-го типа, как и все остальные цитокины, участвуют в иммунных процессах, происходящих в организме, отличаются от других интерферонов рецептором, с которым они взаимодействуют [7, 8]. Аутоантитела (АТ) к ИФН- $\alpha$  и - $\omega$  впервые были выявлены у пациентов с тимоматами и миастенией А. Меагер и соавт. [9]. Исследование АТ к данным цитокинам у пациентов с АПС 1 впервые было проведено также под руководством А. Меагер. Исследователи выявили высокие титры этих антител у всех пациентов с АПС 1, тогда как ни у одного из пациентов с АПС 2 или изолированными аутоиммунными заболеваниями эти антитела обнаружены не были. У пациентов с тимоматами антитела к ИФН- $\alpha$  и - $\omega$  обнаруживались в более низких титрах и в меньшем проценте случаев (60%) [6, 10].

В дальнейшем проводились многочисленные работы по изучению АТ к ИФН- $\alpha$  и - $\omega$ , и было доказано, что они являются высокоспецифичными и высокочувствительными маркерами АПС 1 [9, 11–14].

Очаговая (гнездная) алопеция — аутоиммунное заболевание, которое встречается, по разным данным, у 0,9–6,9% людей в общей популяции. Этиология заболевания до конца не ясна. По тяжести проявлений выделяют одноочаговую, многоочаговую формы, которые относят к легким, и тяжелые формы — субтотальное и тотальное выпадение волос на голове, универсальную форму с выпадением волос на всем теле, а также ресниц и бровей. Описаны генетические предрасполагающие факторы (гаплотипы HLA II класса, полиморфизмы в генах *AIRE*, *FLG*, *MX1*, *PTPN22* и др.), факторы окружающей среды. Корреляций между тяжестью течения и

конкретными полиморфизмами не установлено [15–18]. Очаговая алопеция может также развиваться при других аутоиммунных заболеваниях — ревматоидном артрите, системной красной волчанке, аутоиммунных заболеваниях эндокринной системы, в том числе при АПС 1, при котором частота алопеции достигает 30% [15, 19]. Выявление случаев АПС 1 среди пациентов с изолированной очаговой алопецией является актуальной и трудной клинической задачей.

Цель данного исследования — определить значение АТ к ИФН в диагностике АПС 1, а также установить специфичность и чувствительность метода НЕК-Blue cells для определения антител к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$  для диагностики АПС 1 и изолированной очаговой алопеции.

## Материал и методы

Мы включили в исследование две группы пациентов: группа А — пациенты с АПС 1, группа В — пациенты с очаговой алопецией без АПС 1.

**Группа А** — пациенты с АПС 1, которые участвовали в исследовании, состоят в Российском регистре пациентов с АПС 1, который ведется в Институте детской эндокринологии ЭНЦ с 2000 г. Пациенты наблюдаются постоянно в Институте детской эндокринологии ЭНЦ (Москва), Российской республиканской детской больнице (РДКБ, Москва), а также эндокринологами в разных регионах РФ. В данное исследование были включены 34 пациента с АПС 1 (20 женщин и 14 мужчин в возрасте от 7 до 28 лет, средний возраст 23 года). Диагноз АПС 1 был установлен на основании клинической картины (два и более основных компонента заболевания) и/или наличия мутаций в гене *AIRE*.

**В группу В** включен 21 пациент с очаговой алопецией (12 женщин и 9 мужчин в возрасте от 4 до 43 лет, средний возраст 12,5 года), которые наблюдаются в Институте детской эндокринологии ЭНЦ и у которых на момент последнего осмотра не выявлено ни одного из основных клинических компонентов АПС 1.

Всем пациентам из групп А и В был проведен анализ клинических проявлений, исследование антител к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$ . Всем пациентам из группы А и 6 пациентам из группы В был проведен анализ гена *AIRE* (частично данные по выявленным мутациям в гене *AIRE* были опубликованы нами ранее) [14].

Исследование АТ к ИФН- $\alpha_2$  и - $\omega$  проводилось методом НЕК-blue cells assay (метод разработан группой ученых под руководством проф. Е. Husebye, Норвегия [5]) с использованием культуры клеток человеческой эмбриональной почки, трансфектированных специфическими плазмидами. В основе метода лежит способность трансфекти-

рованных клеток синтезировать щелочную фосфатазу в присутствии ИФН. Клетки имеют рецепторы к ИФН и систему биосинтеза щелочной фосфатазы, которые кодируются плазмидами, содержащими специфические векторы. В присутствии сыворотки пациента с высоким титром антител к ИФН способность клетки синтезировать щелочную фосфатазу подавляется, что в свою очередь можно зафиксировать при помощи абсорбционного анализа с применением красителя.

Исследование антител методом проводилось в лаборатории Университета Бергена (Норвегия).

Расчет чувствительности и специфичности метода проводился стандартными методами.

## Результаты

### Группа А

В результате анализа фенотипа пациентов с АПС 1 триада основных компонентов выявлена у 21 (62%) из 34 пациентов, диада — у 9 (26%). На основании генетического исследования диагноз установлен 4 (12%) пациентам, которые имели только один основной компонент (изолированный или в сочетании с другими «малыми» компонентами). У всех пациентов с АПС 1 обнаружена хотя бы одна мутация в гене *AIRE* (у 31 пациента — в двух аллелях, у 3 — в одном аллеле). В 67% аллелей выявлена частая мутация *R257X*, в 29% — другие мутации, в 4% — мутаций не обнаружено. У 44% пациентов из данной группы наблюдалась очаговая алопеция.

Высокие титры антител к ИФН- $\omega$  обнаружены у 34 (100%) пациентов с подтвержденным АПС 1, к ИФН- $\alpha_2$  — у 33 (97%). Пациентка, у которой антитела к ИФН- $\alpha_2$  не были выявлены при положительных антителах к ИФН- $\omega$ , соответствует по клиническим критериям диагнозу АПС 1, но заболевание имеет относительно мягкое медленно прогрессирующее течение: гипопаратиреоз манифестировал в 6 лет, надпочечниковую недостаточность установили в 17 лет, никогда не отмечалось признаков кандидоза, имеет 2 здоровых детей, в возрасте 28 лет новых компонентов не было выявлено. При генетическом анализе у данной пациентки найдена только одна частая мутация *R257X*, во втором аллеле мутация не обнаружена.

Данные представлены в **таблице**.

### Группа В

При анализе клинической картины среди пациентов с алопецией у 13 из 21 пациента не было других нарушений, у 6 также был выявлен хронический аутоиммунный тиреоидит, 3 страдали сахарным диабетом 1-го типа, у 1 пациента отмечалось витилиго. Алопеция легкой степени (одно- и многоочаговая) была у 11 (52%) пациентов, тяжелой степени (субтотальная, тотальная, универсальная) у 10 (48%). У 6

пациентов проведено исследование гена *AIRE*, в результате которого мутации не были найдены.

Антитела к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$  не были обнаружены ни у одного пациента из группы с очаговой алопецией (**см. таблицу**).

Специфичность методов определения антител к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$  составляет 100%. Чувствительность метода определения антител к ИФН- $\omega$  достигает 100%, что выше, чем чувствительность метода определения антител к ИФН- $\alpha_2$  (97%). Прогностическая значимость положительного результата этих двух методов также достигает 100%, а прогностическая значимость отрицательного результата метода определения антител к ИФН- $\omega$  (100%) выше, чем метода определения антител к ИФН- $\alpha_2$  (95%) (**см. таблицу**).

## Обсуждение

Основными методами диагностики АПС 1 в РФ в настоящий момент являются клиническая и генетическая диагностика заболевания, тогда как иммунологические методы диагностики не применяются. Исследование гена *AIRE* на наличие одной частой мутации *R257X* позволяет установить диагноз у 50% российских пациентов с АПС 1, у которых эта мутация выявляется в гомозиготном состоянии, и у 20% предположить с высокой вероятностью, когда данная мутация определяется в одном аллеле [5]. Таким образом, примерно в половине случаев диагностики АПС 1 требуется проведения полного секвенирования гена *AIRE*, что делает это исследование существенно дороже и продлевает сроки его выполнения.

Определение антител к ИФН- $\omega$  является высокоспецифичным и высокочувствительным методом диагностики АПС 1. В данном исследовании показано, что все российские пациенты с АПС 1, включенные в исследование, имели высокие титры этих антител.

В настоящий момент разработано и применяется в лабораторной клинической практике несколько методов определения нейтрализующих антител к ИФН- $\omega$ , в том числе экспресс-метод НЕК-blue cells assay, который является сравнимым по специфичности и чувствительности и может применяться в клинической практике. Использование метода определения антител к ИФН- $\omega$  позволяет за 2 дня установить диагноз пациентам с изолированными и нетипичными формами АПС 1.

Результаты, полученные в российской группе пациентов, полностью совпадают с международными результатами и еще раз подтверждают чувствительность и специфичность нового метода диагностики АПС 1.

Распространенность очаговой алопеции в общей популяции в различных странах варьирует от 0,9 до 6,9%, у пациентов с АПС 1 — от 30 до 40% [15, 19]. Хотя АПС 1 встречается гораздо реже, чем оча-

Клиническая и иммунологическая характеристика пациентов с АПС 1 и пациентов с очаговой алопецией

Клинические проявления	N (%)	АТ к ИФН- $\omega$	АТ к ИФН- $\alpha_2$
Группа А. АПС 1 (n=34):		100%	97%
«триада» <sup>1</sup>	21 (62)		
«диада» <sup>2</sup>	9 (26)		
один «большой компонент» <sup>3</sup>	2 (6)		
ХНН	28 (82)		
ХКСК	30 (88)		
ГПТ	28 (82)		
алопеция	15 (44)		
другие компоненты <sup>4</sup>	31 (91)		
Группа В. Очаговая алопеция (n=21):		0%	0%
легкая форма алопеции <sup>5</sup>	11 (52)		
тяжелая форма алопеции <sup>6</sup>	9 (48)		
хронический аутоиммунный тиреоидит	6 (21)		
сахарный диабет 1-го типа	3 (14)		
витилиго	1 (5)		
Чувствительность и специфичность, %:			
чувствительность		100	97
специфичность		100	100
Прогностическая значимость положительного результата, %		100	100
Прогностическая значимость отрицательного результата, %		100	95

*Примечание.* <sup>1</sup> — наличие у пациента хронической надпочечниковой недостаточности, гипопаратиреоза, хронического кожно-слизистого кандидоза; <sup>2</sup> — наличие у пациента 2 из 3 больших компонентов (хроническая надпочечниковая недостаточность, гипопаратиреоз, хронический кожно-слизистый кандидоз); <sup>3</sup> — из классической «триады» компонентов у пациента присутствует только один. <sup>4</sup> другие компоненты — все компоненты за исключением тех, которые входят в классическую «триаду». <sup>5</sup> — одно- или многоочаговая формы. <sup>6</sup> — субтотальная, тотальная и универсальная формы.

говая алопеция, но при обследовании пациента с алопецией невозможно с уверенностью сказать, что в дальнейшем у него не сформируются другие компоненты АПС 1. Ранее наша научная группа проводила молекулярно-генетическое исследование гена *AIRE* у пациентов с изолированной аутоиммунной алопецией. В исследовании выявили 12 пациентов, у которых мутаций в гене *AIRE* обнаружено не было [20]. Мы пришли к выводу, что мутации в гене *AIRE* и АПС 1 не являются частой причиной изолированной алопеции. Также в некоторых зарубежных работах проводилось исследование гена *AIRE* у пациентов с изолированной очаговой алопецией и было выявлено несколько полиморфизмов в этом гене, которые чаще встречались у данной группы пациентов, но не было обнаружено мутаций [16, 17].

В нескольких крупных исследованиях доказано самостоятельное значение аутоантител к ИФН- $\omega$  и - $\alpha_2$  в диагностике АПС 1, при этом эти антитела не выявлялись при других аутоиммунных заболеваниях [6, 9, 12]. В нашем исследовании данные антитела также не выявляются у пациентов с очаговой алопецией без АПС 1. Это позволяет использовать этот метод для поиска редких форм АПС 1 среди пациентов с очаговой алопецией.

### Заключение

Определение антител к ИФН- $\omega$  является новым диагностическим критерием АПС 1. Метод с ис-

пользованием клеток НЕК-Blue эффективен для диагностики классических и нетипичных форм АПС 1, является высокоспецифичным (специфичность 100%) и высокочувствительным (чувствительность 100%) и может также применяться для обследования пациента с предполагаемым диагнозом АПС 1, семьи пациента и скрининга на этот синдром среди пациентов с другими аутоиммунными заболеваниями.

Внедрение в клиническую практику в России данного метода исследования позволит проводить раннюю диагностику АПС 1 у пациентов с нетипичными клиническими вариантами заболевания, у родственников пациентов с АПС 1 и у пациентов с неустановленными мутациями в гене *AIRE* в более короткие сроки.

### Благодарности

Мы благодарим всех врачей за активное участие и помощь в обследовании пациентов, в частности коллектив эндокринологического отделения ФГБУ «Российская детская клиническая больница» (Л.В. Арзамасцева, Н.В. Полякова, Е.В. Кувалдина)

Особую благодарность за участие в исследовании выражаем пациентам и их родственникам.

Работа выполнена в рамках программы помощи детям с эндокринной патологией «Альфа-Эндо» при финансовой поддержке «Альфа-групп» и фонда «The “CAF” Foundation for Philanthropy Support and Development».

## Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования — Орлова Е.М., Созаева Л.С.

Сбор и обработка материала — Орлова Е.М., Созаева Л.С., Карева М.А., Карманов М.Е., Брейвик Л., Хусби Э.С.

Статистическая обработка данных — Орлова Е.М., Созаева Л.С.

Написание текста — Орлова Е.М., Созаева Л.С.

Редактирование — Карева М.А., Хусби Э.С.

**Конфликт интересов отсутствует.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ahonen P. Autoimmune polyendocrinopathy — candidosis — ectodermal dystrophy (apeced): autosomal recessive inheritance. *Clin Genet.* 2008;27(6):535-542.  
doi: 10.1111/j.1399-0004.1985.tb02037.x.
2. Jääskeläinen J, Perheentupa J. Autoimmune polyendocrinopathy — candidosis — ectodermal dystrophy (apeced) — a diagnostic and therapeutic challenge. *Pediatric Endocrinology Reviews.* 2009;7(2):95-108.
3. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol.* 2006;24(1):571-606.  
doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115601.
4. Anderson MS, Venanzi ES, Klein L, et al. Projection of an immunological self shadow within the thymus by the aire protein. *Science.* 2002;298(5597):1395-1401.  
doi: 10.1126/science.1075958.
5. Orlova EM, Bukina AM, Kuznetsova ES, et al. Autoimmune polyglandular syndrome type 1 in russian patients: clinical variants and autoimmune regulator mutations. *Horm Res Paediatr.* 2010;73(6):449-457.  
doi: 10.1159/000313585.
6. Meager A, Visvalingam K, Peterson P, et al. Anti-interferon autoantibodies in autoimmune polyendocrinopathy syndrome type 1. *Plos Med.* 2006;3(7):e289.  
doi: 10.1371/journal.pmed.0030289.
7. Pestka S, Krause CD, Walter Mr, Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev.* 2004;202(1):8-32.  
doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00204.x.
8. Vilcek J. Novel interferons. *Nat Immunol.* 2003;4(1):8-9.  
doi: 10.1038/ni0103-8.
9. Meager A, Wadhwa M, Dilger P, et al. Anti-cytokine autoantibodies in autoimmunity: preponderance of neutralizing autoantibodies against interferon-alpha, interferon-omega and interleukin-12 in patients with thymoma and/or myasthenia gravis. *Clin Exp Immunol.* 2003;132(1):128-136.  
doi: 10.1046/j.1365-2249.2003.02113.x.
10. Kisand K, Link M, Wolff ASB, et al. Interferon autoantibodies associated with aire deficiency decrease the expression of ifn-stimulated genes. *Blood.* 2008;112(7):2657-2666.  
doi: 10.1182/blood-2008-03-144634.
11. Breivik L, Oftedal BEV, Bøewolff AS, et al. A novel cell-based assay for measuring neutralizing autoantibodies against type i interferons in patients with autoimmune polyendocrine syndrome type 1. *Clin Immunol.* 2014;153(1):220-227.  
doi: 10.1016/j.clim.2014.04.013.
12. Meloni A, Furcas M, Cetani F, et al. Autoantibodies against type i interferons as an additional diagnostic criterion for autoimmune polyendocrine syndrome type i. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4389-4397.  
doi: 10.1210/jc.2008-0935.
13. Oftedal BE, Bøewolff AS, Bratland E, et al. Radioimmunoassay for autoantibodies against interferon omega; its use in the diagnosis of autoimmune polyendocrine syndrome type i. *Clin Immunol.* 2008;129(1):163-169.  
doi: 10.1016/j.clim.2008.07.002.
14. Wolff ASB, Sarkadi AK, Maródi L, et al. Anti-cytokine autoantibodies preceding onset of autoimmune polyendocrine syndrome type i features in early childhood. *J Clin Immunol.* 2013;33(8):1341-1348.  
doi: 10.1007/s10875-013-9938-6.
15. Нефёдова Е.Д. *Гнездная алопеция: клинико-генетические предикторы тяжёлого течения заболевания*: Дис. ... канд. мед. наук. М. 2011. [Nefedova ED. *Gnezdnyaya alopetsiya: kliniko-geneticheskie prediktory tyazhelogo techeniya zabolevaniya* [PhD dissertation]. Moscow. 2011. (In Russ.)].
16. Pffor J, Blaumeiser B, Becker T. et al. Investigation of the p.ser278arg polymorphism of the autoimmune regulator (aire) gene in alopecia areata. *Tissue Antigens.* 2006;68(1):58-61.  
doi: 10.1111/j.1399-0039.2006.00598.x.
17. Tazi-Ahnini R, Cork MJ, Gawkrödger DJ, et al. Role of the autoimmune regulator (aire) gene in alopecia areata: strong association of a potentially functional aire polymorphism with alopecia universalis. *Tissue Antigens.* 2002;60(6):489-495.  
doi: 10.1034/j.1399-0039.2002.600604.x.
18. Alzolibani AA, Zari S, Ahmed AA, Epidemiologic and genetic characteristics of alopecia areata (part 2). *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2012;21(1):15-19.
19. Islam N, Leung PSC, Huntley AC, Eric Gershwin M. The autoimmune basis of alopecia areata: a comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2015;14(2):81-89.  
doi: 10.1016/j.autrev.2014.10.014.
20. Орлова Е.М. *Генетические основы и клинические варианты аутоиммунного полигланулярного синдрома 1-го типа*: Дис. ... канд. мед. наук. М. 2005. [Orlova EM. *Geneticheskie osnovy i klinicheskie varianty autoimmunnogo poliglandulyarnogo sindroma 1 tipa* [PhD dissertaton]. Moscow 2005. (In Russ.)].