

**КОНДРАХИНА ИРИНА НИКИФОРОВНА**

**АНДРОГЕННАЯ АЛОПЕЦИЯ У МУЖЧИН:  
ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ, ГОРМОНАЛЬНЫХ И  
МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

3.1.23. Дерматовенерология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

**Москва – 2022**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России

**Научные консультанты:**

академик РАН, доктор медицинский наук, профессор

**Кубанова Анна Алексеевна**

член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор

**Кубанов Алексей Алексеевич**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник института молекулярной патологии и патоморфологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» Минобрнауки России (Новосибирск)

**Креницына Юлия Михайловна**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой дерматовенерологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России

**Тлиш Марина Моссовна**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой Медицинской элементарологии медицинского института РУДН

**Скальный Анатолий Викторович**

**Ведущее научное учреждение:**

ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г. на заседании Диссертационного совета 21.1.007.01(Д 208.115.01) при ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России по адресу: 107076, Москва, ул. Короленко, д.3, корп.6

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета,

кандидат медицинских наук

**Карамова Арфеня Эдуардовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Андрогенная алопеция (код L64 по МКБ-10) является наиболее распространенной формой патологического выпадения волос [Randall V.A., 2010]. Среди представителей европеоидной расы к тридцати годам данное заболевание регистрируется у 30% мужчин, к пятидесяти поражает каждого второго в популяции и, примерно, 80% к семидесяти [G. Severi, R. Sinclair, J.L. Nopper et al., 2003]. По данным российских авторов [Аравийская Е.Р., Михеев Г.Н., Мошкалова И.А., Соколовский Е. В. , 2003], в РФ андрогенная алопеция занимает лидирующее положение, в то время как гнездная, рубцовая и другие формы алопеций встречаются значительно реже.

Несмотря на то, что андрогенная алопеция не изменяет показатели трудоспособности, инвалидизации и смертности, данное заболевание существенно ухудшает качество жизни пациентов [Pirastu N, Joshi P.K., deVries P.S. et al. , 2017; Rinaldi S., Bussa M., Mascaro A., 2016] что сделало его предметом многочисленных междисциплинарных исследований.

Сформировавшиеся представления о патогенезе андрогенной алопеции связывают возникновение и развитие данного заболевания с двумя ведущими факторами: генетической предрасположенностью и действием андрогенов - мужских половых гормонов [Marcinińska M., Pośpiech E., Abidi S. et al. , 2015; Lolli F., Pallotti F., Rossi A. et al., 2017]. Кроме того, признается и действие различных эндогенных факторов, связанных с наличием вредных привычек или загрязнением среды обитания [Prie B.E., Iosif L., Tivig I. et al., 2016; Upton J.H., Hannen R.F., Bahta A.W. et al., 2015].

Несмотря на то, что доказана негативная роль повышения уровня мужских половых гормонов (андрогенов), в первую очередь – тестостерона и производного от него дигидротестостерона, образующегося в результате активности фермента 5 $\alpha$ -редуктазы [Sánchez P., Serrano-Falcón C., Torres J.M, et al., 2018] в сокращении фазы активного роста волоса (анагена) за счет удлинения фазы регрессии (телогена) и фазы отдыха (катагена), уменьшении числа волосяных фолликулов, их прогрессирующей миниатюризации и, в конечном итоге, в облысении [Lolli F., Pallotti F., Rossi A. et al., 2017], в значительном проценте случаев развитие андрогенной алопеции возможно и при нормальных значениях гормонального фона [Randall V.A., 2010], что позволяет говорить о значимой роли в развитии этого заболевания целого ряда других негенетических факторов.

Перечень прочих негенетических факторов включает ряд микроэлементов [Jin W., Zheng H., Shan B., Wu Y., 2017] и витаминов [Fawzi M.M., Mahmoud S.B., Ahmed S.F. et al., 2016; Mahmood L., 2014], дефицит

которых оказывает воздействие на трофику придатков кожи и связанную с этим продолжительность стадий телогена и анагена волосяных фолликулов. Дополнительными факторами, значимыми для нормального роста волос, являются гормон инсулин и определяемая им концентрация глюкозы в сыворотке крови [Lie C., Liew C.F., Oon H.H., 2018], а также иные метаболические параметры крови [Chakrabarty S., Hariharan R., Gowda D., Suresh H., 2014].

В целом критический анализ накопленных данных свидетельствует в пользу многофакторности патогенеза андрогенной алопеции. При этом в большинстве цитируемых работ каждый из анализируемых генетических или негенетических факторов анализируется по отдельности, что существенно снижает фундаментальную новизну и практическую значимость получаемых результатов.

**Целью работы явилось** изучение патогенетических механизмов возникновения и развития андрогенной алопеции у мужчин на основании комплексного учета генетических, гормональных и метаболических факторов с разработкой на данной основе персонализированных подходов к прогнозированию развития и лечению данного заболевания

#### **Основные задачи работы:**

1. Характеристика клинических форм и стадий андрогенной алопеции у пациентов, обращающихся за специализированной медицинской помощью дерматологического профиля.

2. Определение генетических маркеров, содержания гормонов, витаминов и микроэлементов в крови у пациентов с начальными стадиями (I-IV по классификации Норвуд-Гамильтон) андрогенной алопеции, патогенетически значимых для возникновения и прогрессирования данного заболевания.

3. Исследование спектра значимых однонуклеотидных генетических полиморфизмов у пациентов с различным уровнем половых гормонов (андрогенов) с построением на данной основе вероятностной модели риска возникновения андрогенной алопеции.

4. Анализ показателей витаминного и микроэлементного статуса в возникновении и прогрессировании андрогенной алопеции у пациентов с гипер- и нормоандрогемией, а также их роли в формировании различных клинических форм и стадий данного заболевания.

5. Построение многопараметрической модели развития андрогенной алопеции у мужчин, учитывающей уровень их генетического риска, а также наиболее информативные негенетические факторы.

6. Разработка персонализированных схем терапии андрогенной

алопеции у мужчин с определением информативных предикторов ожидаемой эффективности проводимого лечения.

### **Научная новизна**

Показано, что в возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин вовлечена совокупность генетических, гормональных и микронутриентных факторов, при этом у значительной доли пациентов патологическая утрата волос происходит без выраженного повышения уровня андрогенов (тестостерона и дигидротестостерона), что свидетельствует о гетерогенности патогенетических механизмов данного заболевания.

Показана значимость однонуклеотидных генетических полиморфизмов rs5919324 (выше *AR* гена), rs1998076 (в 20p11 локусе), rs929626 (в гене *EBF1*), rs12565727 (в гене *TARDBP*) и rs756853 (в гене *HDAC9*), как факторов генетического риска развития андрогенной алопеции у мужчин, подтверждающая полигенный тип наследования данного заболевания. Впервые доказано, что каждый из названных полиморфизмов не имеет самостоятельного прогностического значения, а выявление предрасположенности возможно только при их совместном использовании с учетом гормонального статуса обследуемого пациента. Наибольшая значимость факторов генетического риска мужской андрогенной алопеции отмечается у лиц с уровнем андрогенов в пределах физиологической нормы.

Впервые выявлено дифференцированное значение показателей микронутриентного статуса в возникновении и развитии андрогенной алопеции, а также в определении андроген-зависимого и андроген-независимого паттернов утраты волос. Показано, что возникновение андрогенной алопеции у пациентов мужского пола происходит на фоне множественного дефицита цинка, меди, магния, селена, витаминов В<sub>12</sub>, Е, Д и фолиевой кислоты. В свою очередь дальнейшее прогрессирование данного заболевания в андроген-независимой затылочной области определяется интенсивностью дефицита железа, а в андроген-зависимой области обратно связано с нарушением метаболизма меди.

С позиций доказательной медицины идентифицированы эффективные направления персонализированной консервативной терапии андрогенной алопеции при выявляемой моно- или полинутриентной недостаточности. Установлено, что проведение коррекции дефицитов фолиевой кислоты и витамина Е оказывает позитивный, а использования препаратов селена - негативный эффект на результат консервативной терапии начальных стадий данного заболевания. Впервые показано, что исходный сывороточный уровень цинка является информативным предиктором эффективности консервативной терапии андрогенной алопеции.

## **Практическая значимость**

Разработана многопараметрическая модель возникновения и развития андрогенной алопеции, приоритет которой защищен Патентом РФ №2713374 на изобретение «Способ прогнозирования андрогенной алопеции у мужчин».

Для практической реализации данного способа предложен алгоритм, включающий комплексный анализ трихограмм и лабораторное исследование совокупности патогенетически значимых генетических и негенетических факторов с их последующей обработкой в рамках «Программы многопараметрического анализа генетических и негенетических факторов, определяющих возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин» (Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2020612365).

Использование данного алгоритма позволяет получать максимально подробные представления о клинико-лабораторных соответствиях при определении стадии андрогенной алопеции, выявляет индивидуальные факторы риска возникновения и развития данного заболевания, на основании чего создает возможность персонализации подходов к его консервативной терапии.

## **Методология и методы исследования**

Методология анализа патогенетически значимых факторов возникновения и развития андрогенной алопеции (АА) соответствует формату открытого проспективного когортного сравнительного исследования, предусматривающего формирование основной группы обследования из лиц мужского пола с клинической картиной АА, а также аналогичной ей по половому, возрастному и этническому составу контрольной группы здоровых добровольцев. Анализ эффективности использования фармакологических форм микроэлементов и витаминов при проведении консервативной терапии АА соответствует формату экспериментального проспективного клинического исследования.

Клиническое и инструментальное обследование лиц основной и контрольной групп с анализом показателей трихограмм и фототрихограмм проводилось в соответствии со стандартом первичной медико-санитарной помощи при андрогенной алопеции (утвержден Приказом Минздрава России от 25 марта 2013 года, регистрационный № 27867).

Исследование генетических, гормональных, метаболических и микронутриентных факторов, патогенетически значимых в развитии АА, проводилось с использованием оборудования и диагностических тест-систем, имеющих регистрационные удостоверения на проведение соответствующих видов лабораторных исследований.

Критерием прогностической значимости эффективности проводимого

консервативного лечения АА являлись корреляционные связи динамики исследуемых гормонов, метаболитов и микронутриентов с качественными и количественными характеристиками волосяного покрова в андрогензависимой (лобно-теменной, макушечной) и андрогеннезависимой (затылочной) областях.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Патогенез андрогенной алопеции у пациентов мужского пола имеет многофакторный характер и более чем в трети случаев не связан с повышением уровня мужских половых гормонов.

2. Генетический риск развития андрогенной алопеции у пациентов мужского пола определяется множеством однонуклеотидных полиморфизмов и наиболее значим у лиц с неизменными значениями гормонального фона.

3. Возникновение и прогрессирование андрогенной алопеции у пациентов мужского пола связано с множественным дефицитом микроэлементов и витаминов, имеющих неидентичное значение в подгруппах высокого и низкого генетического риска.

4. Интегральный учет патогенетически значимых генетических и негенетических факторов позволяет прогнозировать течение и моделировать эффективность консервативного лечения андрогенной алопеции у пациентов мужского пола.

#### **Внедрение результатов диссертации в практику**

Предложенная многофакторная модель патогенеза андрогенной алопеции используется при преподавании на цикле профессиональной переподготовки по профилю «Косметология» Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» Минздрава России.

Разработанный многопараметрический алгоритм обследования пациентов с андрогенной алопецией и поддерживающая его программа для ЭВМ внедрены в практическую работу ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический кожно-венерологический диспансер».

Предложенный вариант исследования генетических предикторов – полиморфизмов генов, влияющих на развитие андрогенной алопеции у пациентов мужского пола, внедрен в научные исследования кожно-венерологического отделения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет Минздрава России».

Схемы клинико-лабораторного обследования пациентов с андрогенной алопецией и основанные на них протоколы персонализированной

консервативной терапии данного заболевания включены в актуализированный вариант клинических рекомендаций по нозологии L 64 Андрогенная алопеция (дети/взрослые), поданных для утверждения в МЗ РФ за №178 (РОДВК, 2022).

#### **Личный вклад автора**

Соискателем совместно с научным консультантом сформулирована цель и определены основные задачи диссертационной работы, выбраны необходимые методы исследований. Соискателем самостоятельно проведен анализ российских и зарубежных источников литературы по теме исследования, по результатам которого подготовлен аналитический обзор. Соискателем лично на базе консультативно-диагностического центра «Здоровые волосы» ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России проведено обследование и лечение всех включенных в исследование пациентов мужского пола с андрогенной алопецией, выполнена обработка результатов трихограмм и фототрихограмм, проанализированы и систематизированы результаты клинических и лабораторных исследований, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы, а также написан текст диссертации.

#### **Степень достоверности и апробация работы**

Достоверность данных, полученных в ходе исследования, обоснованность выводов базируется на достаточном количестве наблюдений, применении современных методов исследования и оборудования, статистического анализа полученного материала с помощью программного пакета STATISTICA 13.0 (StatSoftInc., США) и RStudioforMacOS (версия 1.3.1056) и языка программирования R.

Основные материалы исследования представлены и обсуждены на XV Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 23–26 июня 2015 г), XIX Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 18–21 июня 2019г.), Юбилейной научно-практической конференции дерматовенерологов и косметологов, посвященной 135-летию основания РОДВК (г. Москва, 24-25 сентября 2020г.), X конференции дерматовенерологов и косметологов Сибирского федерального округа (г. Новосибирск, 15 ноября 2020г.), XXI Всероссийском съезде дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 7–10 сентября 2021 г.).

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, входящих в международные системы научного цитирования *Web of Science* и *Scopus*, а также 5 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ для публикации результатов диссертационных



исследований. Получен 1 патент РФ на изобретение и 1 свидетельство о регистрации программы для ЭВМ.

### **Объем и структура диссертации**

Работа изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из введения и 8 глав, представляющих обзор литературы, описание материалов и методов исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 26 российских и 318 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 20 рисунками.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

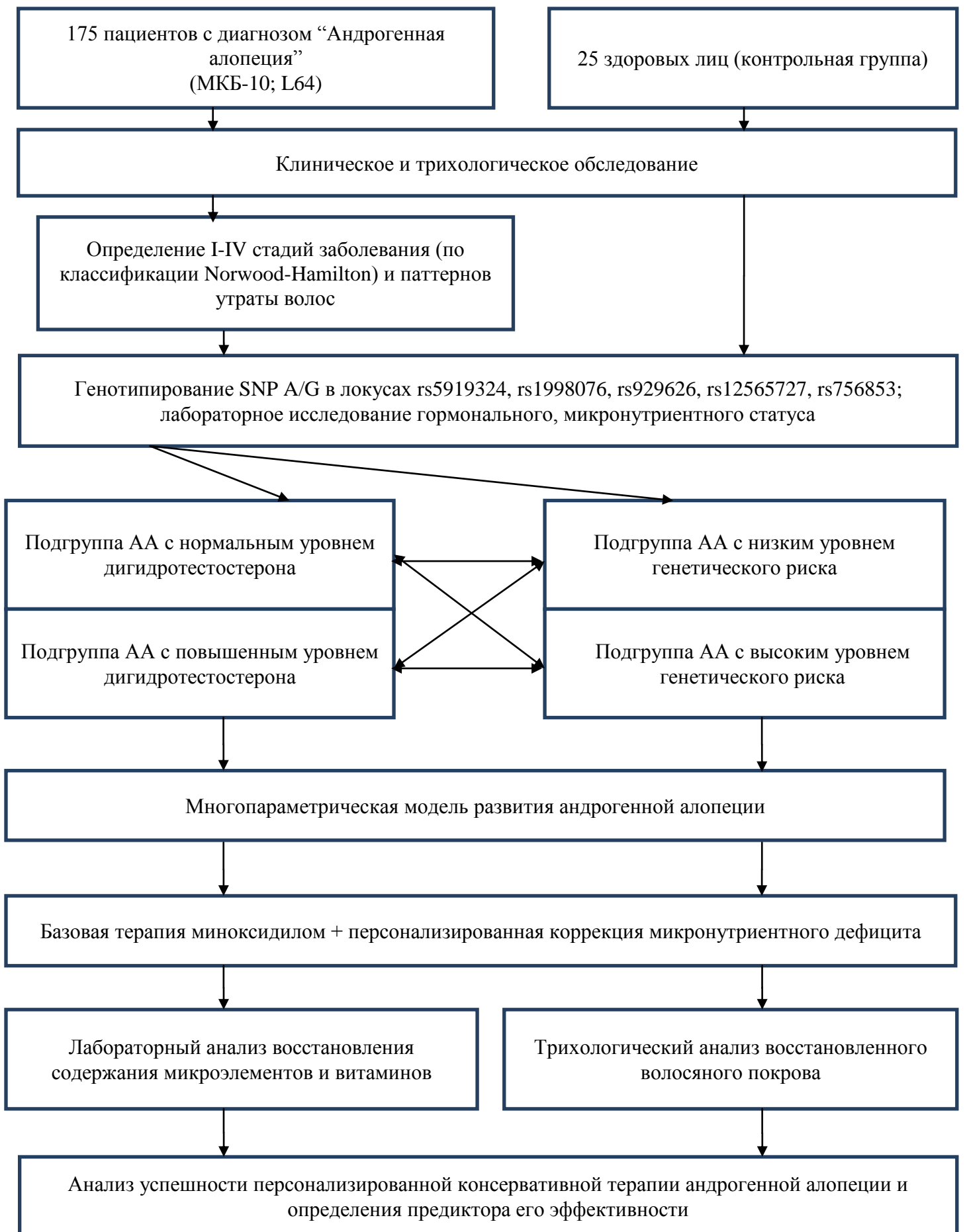
#### **Критерии формирования основной и контрольной групп**

Формирование основной группы проводилось из состава пациентов, самостоятельно обратившихся за медицинской помощью в ФГБУ «Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии» (ГНЦДК) Минздрава России с жалобами на потерю волос, а основным критерием их включения в настоящее исследование являлось соответствие диагнозу «Андрогенная алопеция» по МКБ-10: L64. Критериями невключения являлись иные формы алопеции, а также случаи потери волос как осложнения другого (основного) заболевания.

Критериями включения в состав контрольной группы являлись нормальные показатели трихограммы волосистой части головы, отсутствие (на момент исследования) иных дерматологических заболеваний, отсутствие в анамнезе родителей и близких родственников с клинической картиной алопеции, а также нормальные уровни содержания гормона дигидротестостерона (в интервале 250 - 990 пг/мл крови).

Все лица, включенные в состав основной и контрольной групп, предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании. Исследование выполнено в соответствии с этическими правилами Хельсинской Декларации 1975 г. (<https://www.wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki/>) с дополнениями 2013 г. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России (протокол №7 от 31 октября 2017 года), согласно которому оно соответствует стандартам добросовестной клинической практики и доказательной медицины.

Принципиальный дизайн исследования представлен на Рисунке 1.



**Рисунок 1.** Дизайн исследования

## **Методы клинического и трихологического обследования**

В клиническое обследование входили сбор жалоб и осмотр кожи волосистой части головы, оценка видимого изменения качества волос и паттернов их утраты.

Оценка количественных характеристик волосяного покрова проводилась с использованием микрокамеры Aramo SG (Aram HUVIS Co. Ltd., Республика Корея), с последующей обработкой полученных изображений профессиональной компьютерной диагностической программой Trichoscience PRO v. 1.4 (Россия). При помощи объектива  $\times 60$  на участках  $0,1 \pm 0,004 \text{ см}^2$  определялось количество волос в андрогензависимой (теменной) и андрогеннезависимой (затылочной) зонах. Измерение диаметра стержней волос проводилось с помощью объектива  $\times 200$ .

Перед проведением фототрихограммы выполнялось подбривание волос на длину 0,2–0,3 мм на участках площадью 8–10 мм<sup>2</sup> в теменной и затылочной зонах, после чего через 48 ч на них наносился красящий состав IgoraBonacrom черного цвета (Schwartzkopf, Германия). После 10-минутной экспозиции краситель смывался спиртосодержащим средством, а прокрашенные участки анализировались с помощью объектива  $\times 60$ . Подсчет количества волос на 1 см<sup>2</sup> осуществлялся автоматически. Постановка диагноза АА осуществлялась на основании Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), раздел № 64, введенной в действие на территории РФ с 01.01.1999, приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации №170. Стадии АА были определены в соответствии с международно признаваемой классификацией Norwood-Hamilton.

## **Методы лабораторных исследований**

Для анализа генетических и негенетических факторов, потенциально значимых для возникновения и развития АА, у лиц основной и контрольной групп из кубитальной вены, натошак, в покое, в утренние часы (с 8.30 до 10.00) производился забор периферической крови в вакуумные пробирки Vacuette K3 с ЭДТА (GreinerBio-One, Австрия). Плазму крови отделяли центрифугированием при 3000 g в течение 10 минут на центрифуге «Allegra X-14» (BeckmanCoulter, США), после чего использовали для анализа гормонов, метаболитов, витаминов и микроэлементов. Из лейкоцитарной массы с использованием набора «QIAmpgenomic DNA minikit» (QIAGEN, Германия) выделяли геномную ДНК, в дальнейшем используемую для проведения геномных исследований.

Определение уровней общего и свободного тестостерона, дигидротестостерона, 17-ОН-прогестерона, дегидроэпиандростенона, глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), тиреотропного гормона

и инсулина в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа при помощи микропланшетного фотометра MultiscanAscent (ThermoScientific, США) с использованием наборов реагентов производства DRG Instruments GmbH (Германия).

Концентрацию макро- и микроэлементов (Mg, Ca, Zn, Cu, Fe), а также железосвязывающего белка ферритина в плазме крови оценивали с помощью прямых колориметрических тестов с использованием биохимического анализатора KONELAB 20XTi (ThermoScientific, США) и соответствующих наборов реагентов, кальциевого микрообъемного электрода 981595 (ThermoScientific, США) для Ca. Уровень ферритина определяли набором 22934 (BioSystems S.A., Испания). Определение уровней меди базировалось на реакции с 3,5-DiBr-PAESA [4-(3,5-дибромо-2-пиридилазо)-N-этил-N-(3-сульфопропил)-анилин]; цинка – в реакции с 5-Br-PAPS [(5-бromo-2-пиридилазо)-5-(N-пропил-N-сульфо-пропиламино) фенол]; магния – с использованием голубого ксилидила-1; кальция – крезолфталеинкомплексным методом (Sentinel, Италия); железа – в реакции с хромазуолом В и цетилтриметиламмоний бромидом (BioSystems S.A., Испания).

Для лабораторного контроля качества данных исследований использовались сертифицированные стандартные образцы сыворотки крови человека (ClinChemControl 1, №16150, ClinChemControl 2, №16250; Sentinel, Италия). Уровень Se в плазме крови определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии на платформе AA-7000 (Shimadzu, Япония) в соответствии с инструкцией производителя и с использованием сертифицированного стандартного образца сыворотки крови человека (Seronorm Trace Elements, Serum Level 1, 0903106; SeroAS, Норвегия).

Концентрация витаминов B<sub>12</sub>, D (в форме 25(OH)-D<sub>3</sub>), E и фолиевой кислоты определена методами иммуноферментного и иммунолюминесцентного анализа, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией на платформе EVOQ TQ MS (Bruker Daltonics GmbH, Germany).

Концентрации глюкозы и холестерина в плазме крови определены на биохимическом анализаторе KONELAB 20XTi (ThermoScientific, США) с использованием наборов реагентов «GOD» и «GHOD-PAP» производства АО «ДиаС» (Россия).

Исследование однонуклеотидных полиморфизмов (англ. – single nucleotide polymorphism, SNP) A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 проведено методом минисеквенирования. Первичные данные, полученные на генетическом анализаторе «ABI 3130 Genetic Analyser»

(AppliedBiosystems, США) после проведения мультиплексной ПЦР с использованием набора SNaPshot, обрабатывали при помощи программного обеспечения GeneMapper v. 4.0 (AppliedBiosystems, США).

### **Методы консервативной терапии андрогенной алопеции**

Базовая консервативная терапия АА осуществлялась с использованием 5% раствора миноксидила (местно, 2 раза в день). Персонализированная коррекция выявленного при первичном обследовании микроэлементного и витаминного дефицитов осуществлялась в течение 2-х месяцев доступными фармакологическими формами, содержащими: цинка сульфат 124 мг (1 таб. 2 раза в день, после еды); хелат меди 400 мг (1 таб. в день, после еды); селен 50 мкг (1 таб. 2 раза в день, после еды); железо III гидроксид полимальтозат 357 мг (1 таб. в день, после еды); магния оротатадигидрат 500 мг (1 таб. 2 раза в день, после еды); колекальциферол (витамин Д3) – по 5000 МЕ 1 раз в день; фолиевая кислота 5мг (1 таб. в день, после еды); витамин Е 400 мг 1 раз в день, после еды; витамин В<sub>12</sub> – 1 мг в/м через день N10.

Результативность консервативной терапии АА оценивалась косвенным критерием (по изменению содержания микроэлементов или витаминов в плазме крови) и прямым критерием (по изменению количественных характеристик волосяного покрова).

### **Методы статистического анализа**

Полученные данные обрабатывали с помощью программы STATISTICA 13.0 (StatSoftInc., США), а также языка программирования R и RStudio для MacOS (версия 1.3.1056). Погрупповое сравнение данных выполнено с помощью U-критерия Манна-Уитни для двух групп, а также критерий Краскела-Уоллиса с последующим апостериорным тестом Данна на множественность сравнений при сравнении более двух групп. Для оценки достоверности различий показателей трихограммы до и после проведения консервативной терапии использовался критерий Уилкоксона для парных сравнений. Различия между группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Для анализа генетических факторов возникновения АА использовались искусственные нейронные сети, организованные по принципу «многослойного перцептрона» (англ. – multilayer perceptron; MLP). При многопараметрическом исследовании патогенетически значимых факторов развития АА использован алгоритм линейного дискриминантного анализа. При определении прогностической значимости отдельных лабораторных параметров рассчитывались положительные и отрицательные прогностические значения, а также интегральный показатель значимости. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя OR (odds ratio – отношение шансов).

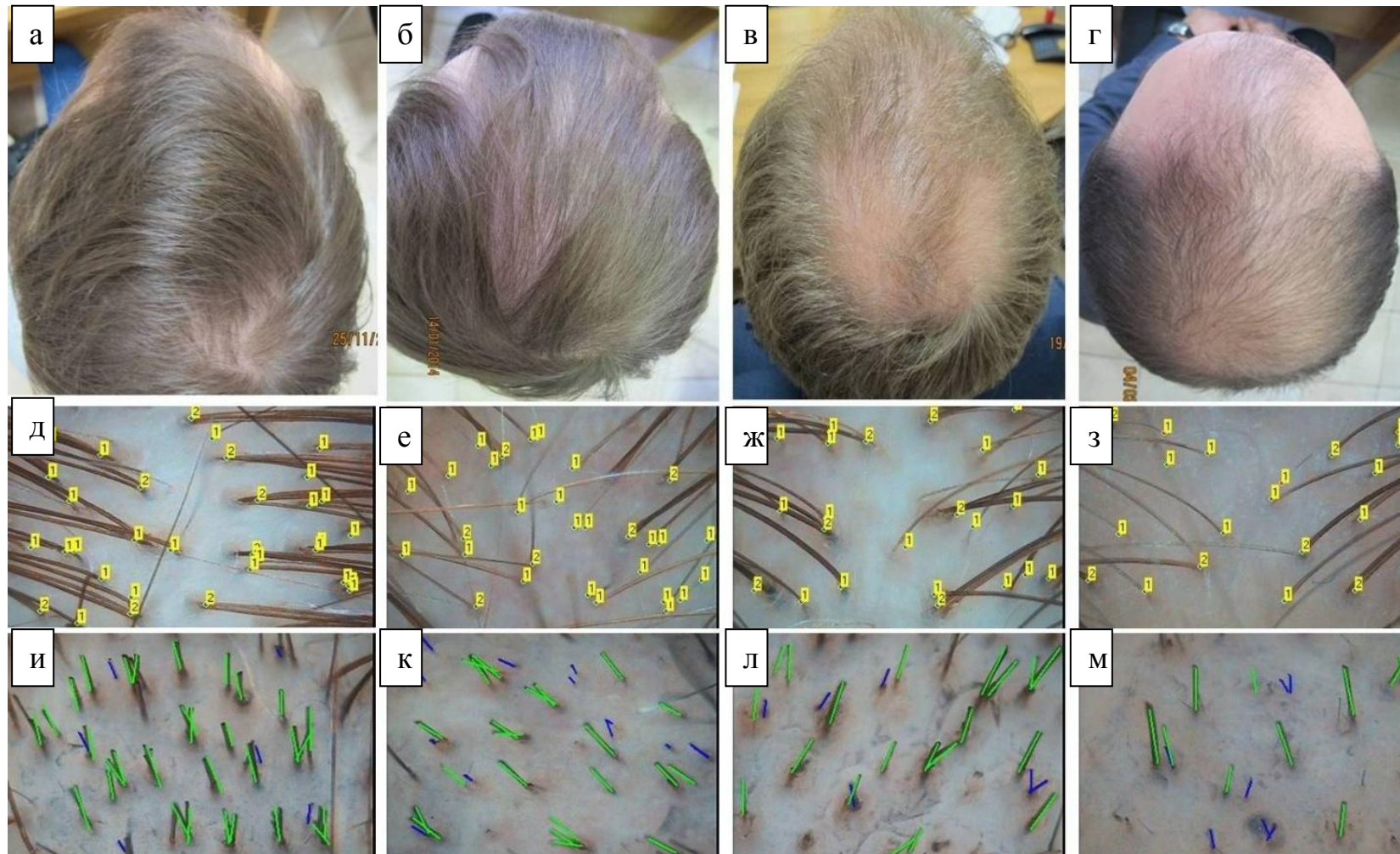
## Результаты исследований

### Клиническая характеристика пациентов с андрогенной алопецией

Основная группа обследуемых включала 175 мужчин с клинически верифицированным диагнозом «Андрогенная алопеция». Возраст пациентов с АА на момент обследования варьировал от 18 до 55 ( $26,2 \pm 5,3$ ) лет. Длительность заболевания составляла от 1 года до 5 лет со средней продолжительностью  $3,2 \pm 1,1$  года. У пациентов с АА предъявляемыми жалобами являлись: усиленное выпадение волос (100%) и их истончение (68%), усиление салоотделения кожи волосистой части головы (75%), зуд (33%), болезненность у корней волос (34%).

При осмотре регистрировалось выпадение волос вдоль лобной линии роста волос (I стадия по классификации Norwood-Hamilton), образование двусторонних лобно-височных залысин и поредение волос в теменной или макушечной областях (II стадия), прогрессирующее разрежение волос в лобной и теменной зонах (III стадия) вплоть до полного слияния очагов облысения (IV стадия). По результатам проведенного клинического обследования, I и II стадии АА диагностированы у 81 (46%), III стадия — у 57 (33%), IV — у 37 (21%) пациентов. Примеры стадий и паттернов утраты волос представлены на Рисунке 2 (а-г).

При объективном исследовании с анализом трихограмм и фототрихограмм у пациентов с АА в сравнении с контрольной группой были выявлены множественные статистически значимые отличия по количеству волос, их диаметру, доли волос на стадиях анагена/телогена. В частности, наблюдалось выраженное снижение среднего диаметра волос — на 30% ( $p < 0.001$ ) в лобно-теменной области и на 10% ( $p < 0.001$ ) в затылочной области. Констатировано уменьшение плотности волос в лобно-теменной области на 37% ( $p < 0.001$ ) и в затылочной области на 21% ( $p < 0.001$ ) по сравнению с контролем. Доля волос в фазе анагена у лиц с АА была снижена на 27% в лобно-теменной области ( $p < 0.001$ ) и на 10% в затылочной области ( $p < 0.001$ ) по сравнению с контролем, а в фазе телогена — возросла в 7,5 раз ( $p < 0.001$ ) и в 11 раз ( $p < 0.001$ ), соответственно. Типичные примеры трихограмм и фототрихограмм, соответствующих определенным стадиям АА, представлены на Рисунке 2 (д-м); их количественная характеристика в сравнении с контрольной группой приведена в Таблице 1.



**Рисунок 2.** Примеры паттернов утраты волос (а-г), результатов анализа трихограмм (д-з) и фототрихограмм (и-м) теменной зоны у пациентов с I (а,д,и), II (б,е,к), III (в,ж,л) и IV (г,з,м) стадиями андрогенной алопеции по классификации Norwood-Hamilton.

В ряду трихограмм – количество волос на 1 кв. см: 246 (д), 216 (е), 174 (ж), 150 (з) при норме 300-350. В ряду фототрихограмм – доля волос, находящихся в фазе телогена (%): 16,2 (и), 23,1 (к), 35,3 (л), 41,2 (м) при норме 10%.

Таблица 1

**Показатели трихограмм и фототрихограмм у пациентов основной (андрогенная алопеция) и контрольной групп** (данные представлены в виде медианных значений (в скобках указан диапазон 25-го и 75-го перцентиля))

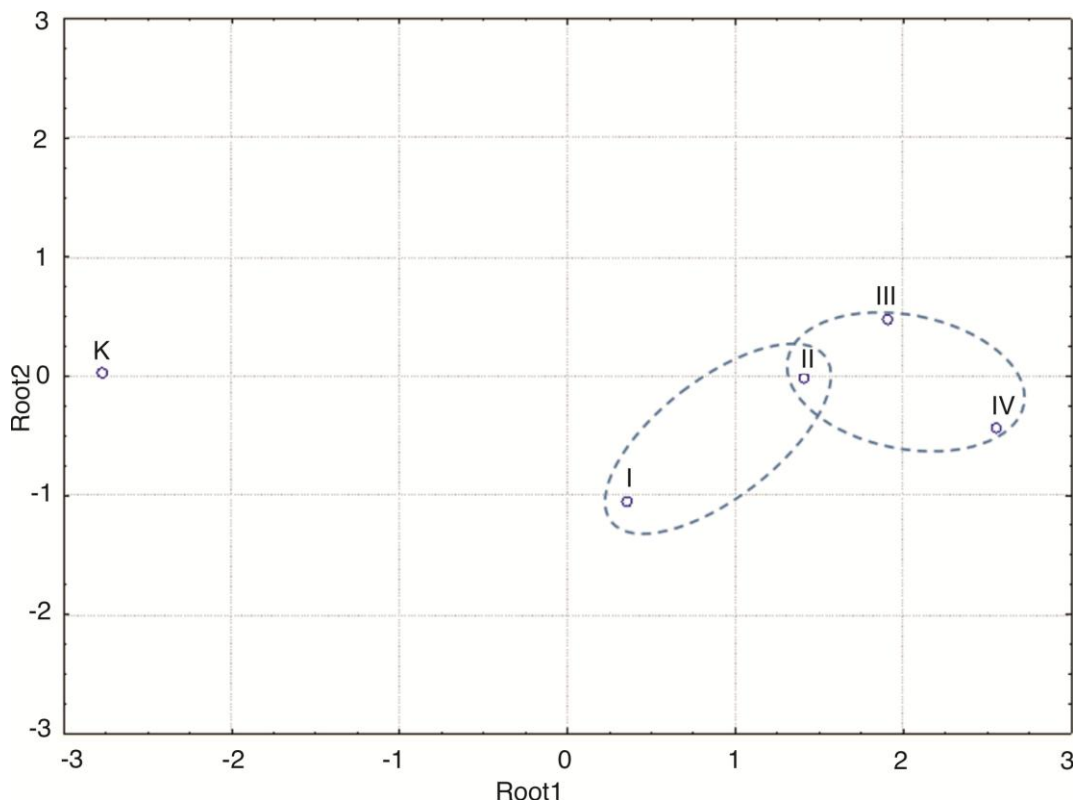
Зона	Анализируемый параметр	Контрольная группа (n=25)	Пациенты с АА (n=175)
Андроген-зависимая (лобно-теменная область)	Плотность волос [число волос на см <sup>2</sup> ]	298 (285-310)	188 (150-201)*
	Диаметр волос [мкм]	60 (58-61)	42 (39.5-44.5)*
	Доля волос в фазе анагена, %	96 (93-99)	70 (60-80)*
	Доля волос в фазе телогена, %	4 (1-7)	30 (21-40)*
Андроген-независимая (затылочная) область	Плотность волос [число волос на см <sup>2</sup> ]	320 (315-350)	252 (207-264)*
	Диаметр волос [мкм]	62 (61-63)	56 (54 -58)*
	Доля волос в фазе анагена, %	99 (96-100)	89 (81-95)*
	Доля волос в фазе телогена, %	1 (0-4)	11 (5-18.6)*
*различия достоверны по сравнению с контролем (p<0.001)			

В то же время сравнение трихограмм и фототрихограмм пациентов с АА, демонстрируя общую тенденцию изменений от I к IV стадии (по классификации Норвуд-Гамильтон), не позволяло указать строгие пороговые значения каждого из анализируемых параметров, по которым можно четко классифицировать стадию развития данного заболевания. Одновременно в качестве наиболее значимого дискриминирующего количественного параметра трихограммы был определен диаметр волос, а фототрихограммы – доля волос в фазе анагена, вносящие наибольший вклад в различение стадий АА. Построенная на данной основе модель корректно отражала стадийность заболевания, но не обнаруживала существенных статистически значимых различий между I и II, а также III и IV стадиями АА (Рисунок 3), что при выполнении следующих этапов работы делало целесообразным их объединение в одну группу.

Проведенный факторный анализ полученных трихограмм и фототрихограмм с выделением главных компонент позволил определить основные параметры, характеризующие паттерны утраты волос в андрогензависимой (лобно-теменной) и андрогеннезависимой (затылочной) областях. При этом наиболее высокие значения факторных нагрузок были установлены для параметра «доля волос в фазе телогена» (0,88; 0,89), а также



обратно коррелирующего с ним параметра «доля волос в фазе анагена» (-0,88; -0,89) в соответствующих областях. Коэффициенты корреляции  $>0,8$  указывают на их высокую информативность, что является основанием их преимущественного использования в оценке трихограмм.



**Рисунок 3.** Модель значимости показателей трихограмм и фототрихограмм в определении стадии развития андрогенной алопеции (обозначения на рис.: I; II; III; IV – стадии АА)

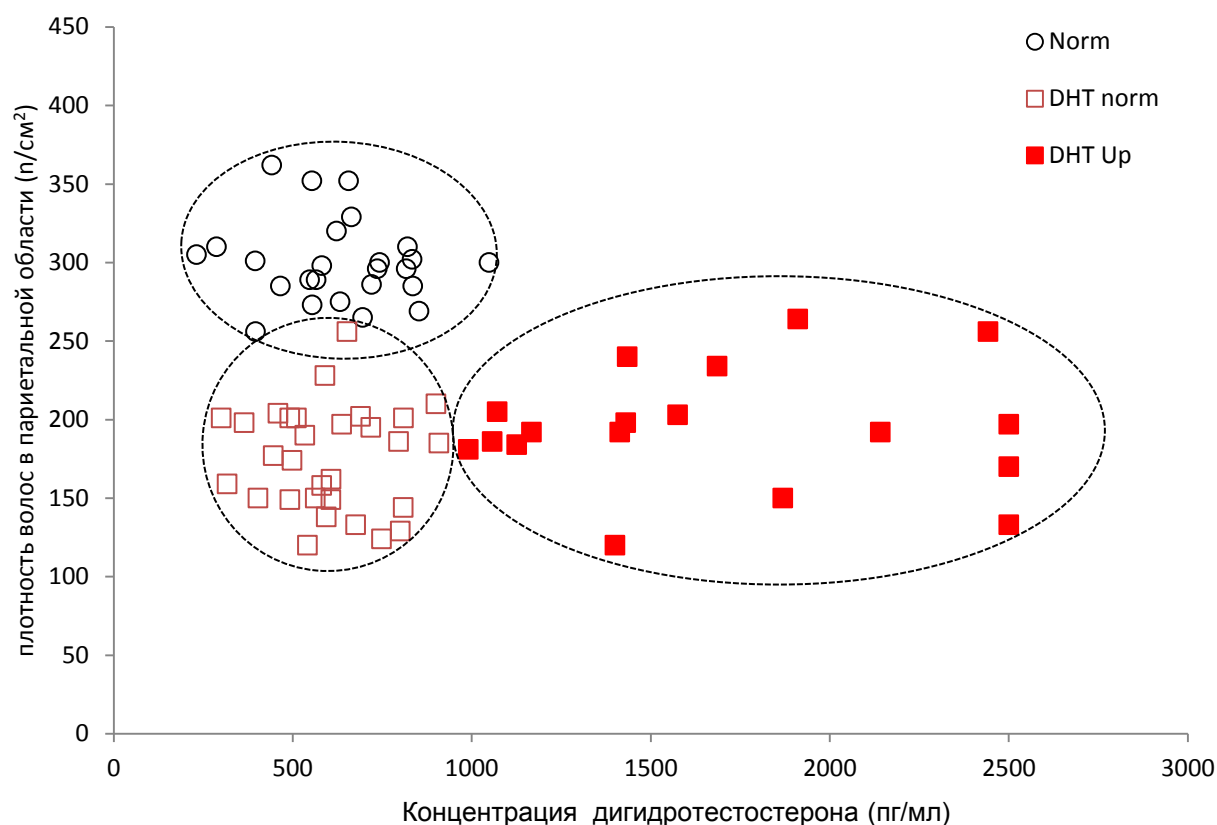
В завершение данного этапа работы для последующего углубленного поиска генетических и негенетических факторов, значимых в возникновении и развитии АА, из состава основной группы методом случайной выборки была выделена группа из 50 пациентов с АА, возрастная, этническая и клиническая характеристика которых полностью воспроизводила параметры основной группы.

#### **Характеристика андрогенного статуса у пациентов с андрогенной алопецией**

Традиционно важная роль в развитии АА приписывается андрогенным гормонам, действующим непосредственно в волосяном фолликуле и подавляющим рост волос на скальпе, но стимулирующим рост бороды, что известно как "андрогенный парадокс". С другой стороны известно, что заболеваемость АА увеличивается с возрастом, т.е. на фоне снижения уровня

половых гормонов. Компромиссной точкой зрения являются представления о андроген-зависимом и андроген-независимом паттернах утраты волос с различной значимостью гормональных факторов.

С учетом уровня ДГТ все пациенты с АА были разделены на подгруппы с повышенным (n=19) и нормальным (n=31) содержанием этого гормона. Анализ трихологических характеристик волосяного покрова показал статистически значимое изменение количественных характеристик волосяного покрова в подгруппах с повышенным и нормальным уровнем ДГТ в сравнении с группой контроля, причем в теменной области они были более выраженными по сравнению с затылочной (снижение плотности и среднего диаметра волос составило 37 и 30% соответственно, против 21 и 10%).



**Рисунок 4.** Корреляция между плотностью волос в затылочной области ( $n/cm^2$ ) и уровнем ДГТ (пг/мл). Три кластеры обведены кружками и обозначают три группы: Norm - контрольная группа; DHT norm - подгруппа АА с с нормальным уровнем ДТС; DHT Up - подгруппа АА с повышенным уровнем ДГТ.

При этом статистически значимых отличий между подгруппами по исследуемым параметрам трихограмм обнаружено не было. Более того, корреляционный анализ также не выявил значимых отличий между уровнем ДГТ и количественными показателями трихограмм, что хорошо проиллюстрировано на рис. 4.

## Характеристика генетических факторов риска развития андрогенной алопеции у лиц с различным андрогенным статусом

Результаты исследование SNP A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 представлены в табл. 2. Сравнение частот их встречаемости в группе пациентов с АА относительно контрольной группы показал существование аллелей риска (G), хотя ни один из исследованных SNP в отдельности не позволял достоверно дифференцировать названные группы ( $p > 0,05$ ). Для интегрального анализа результатов генетического исследования была задействована технология искусственных нейронных сетей, широко используемых для поиска ассоциаций и построения моделей прогнозирования некоторых заболеваний, в том числе полигенной природы.

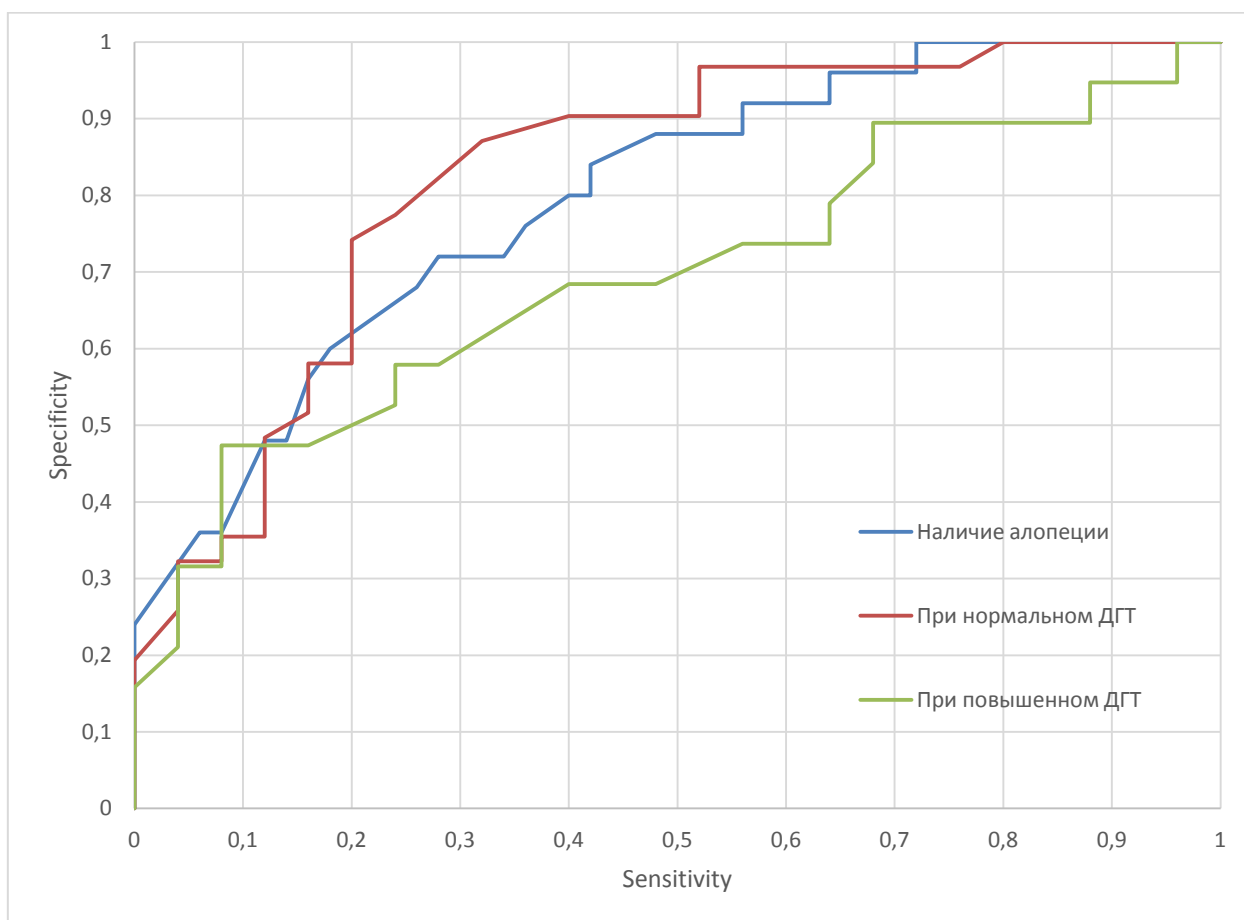
**Таблица 2**

### Распределение генетических полиморфизмов, потенциально значимых для развития андрогенной алопеции

Сравниваемые группы	Выявляемые генотипы и аллельные варианты	Частота встречаемости в участках генома				
		rs12565727	rs756853	rs929626	rs1998076	rs5919324
Здоровые доноры (n=25)	A/A	0,64	0,36	0,32	0,24	0,88
	G/A	0,32	0,56	0,64	0,4	0,04
	G/G	0,04	0,08	0,04	0,36	0,08
	Аллель G	0,2	0,36	0,36	0,56	0,1
Пациенты с андрогенной алопецией (n=50)	A/A	0,62	0,34	0,24	0,16	0,88
	G/A	0,32	0,48	0,48	0,5	0
	G/G	0,06	0,18	0,28	0,34	0,12
	Аллель G	0,22	0,42	0,52	0,59	0,12
Вероятность совпадения распределений генотипов в сравниваемых группах (тест Фишера)		0,93	0,5	0,05	0,62	0,32

Для оценки прогностической способности применяемых нейронных сетей был применен метод кривых ROC (от англ. - receiver operating characteristic) - позволяющий оценить точность предсказаний модели. При этом полная площадь под данной ROC-кривой является важным статистическим показателем, представляющим собой вероятность правильного прогноза в отношении исследуемого состояния, в данном случае – вероятность развития АА. Количественную интерпретацию ROC даёт показатель площади под ROC-кривой - AUC (от англ. - area under ROC curve),

ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций. Построенная на основе многослойного перцептрона прогностическая модель возникновения АА показала наилучшую дифференцирующую эффективность (ROC) в случае алгоритма MLP-14-6-2 (рис. 5).



**Рисунок 5.** Характеристики моделей прогнозов, построенных с использованием автоматизированной нейронной сети Statistica: то есть кривые ROC-анализа для исследуемых групп

Следует отметить, что каждый из сравниваемых SNP в модели прогнозирования АА по отдельности показал низкую прогностическую ценность. При этом анализ SNP всех 5-ти исследованных rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 с использованием многовариативной логистической регрессии позволил достичь AUC 0,8, что практически, соответствовало аналогичному показателю в исследовании Marcińska M. et al. (2015). Более того, разделение группы АА на две подгруппы в соответствии с уровнями ДТС привело к увеличению значения AUC модели прогнозирования на основе нейросети до 0,85 в случае нормального уровня ДГТ, тогда как AUC в случае лиц с АА с повышенным уровнем ДГТ, было существенно ниже даже уровня общей группы (рис. 5), что свидетельствовало

о высокой прогностической значимости данной модели именно в отношении лиц с АА с нормоантропогенемией и сниженной прогностической значимости у лиц с повышенным уровнем ДГТ.

### **Характеристика микронутриентного статуса у пациентов с андрогенной алопецией с различным андрогенным статусом**

В продолжение исследований негенетических факторов было проведено попарное сопоставление содержания микроэлементов и витаминов в крови общей группы пациентов с АА, подгруппах с нормальным и повышенным уровнем ДГТ и контрольной группы (табл. 3). Это позволило показать, что, во-первых, пациенты с АА имели более высокие уровни ДГТ, в среднем на 22,1% ( $p=0,029$ ), по сравнению с контролем, во-вторых, пациенты с АА, независимо от уровня ДГТ, характеризуются множественным дефицитом микроэлементов и витаминов в сравнении с группой здоровых лиц. Так содержание цинка было снижено на 21,4% ( $p=0,003$ ), меди на 42,1% ( $p<0,001$ ), магния на 10% ( $p=0,005$ ), селена на 30% ( $p=0,0024$ ), витамина В<sub>12</sub> на 15,5% ( $p=0,012$ ), витамина Д на 53,3% ( $p<0,001$ ). На этом фоне достоверных различий по определенным микроэлементам и витаминам между группами с нормальным и высоким уровнями ДГТ у лиц с АА выявлено не было. Единственным исключением являлось значимое различие уровней фолиевой кислоты, которое не только в целом было снижено у пациентов с АА, но и было более выраженным у пациентов с повышенным уровнем ДГТ (66%,  $p=0,034$ ), против (39%,  $p=0,047$ ) в подгруппе с нормальным уровнем ДГТ по сравнению с контролем. По содержанию Са, Fe и ферритина сравниваемые группы и подгруппы не различались, как между собой, так и от контроля.

Исследование взаимосвязи между количественными показателями трихограмм и содержанием микроэлементов и витаминов в крови пациентов с АА показало, что на фоне выраженных качественных различий по содержанию Zn, Mg, Se, витаминов В<sub>12</sub>, Е, D и ФК между контрольной группой и пациентами с АА, ни один из этих микронутриентов не показал связи с выраженностью процесса утраты волос, оцененного по количественным показателям трихограммы и соответствующего прогрессированию АА от I к IV стадиям по шкале Норвуд-Гамильтон.

В противоположность этому незначимые при дифференцировке лиц с АА и контроля параметры метаболизма железа (Fe и его переносчик – ферритин) продемонстрировали положительную корреляционную взаимосвязь с некоторыми количественными параметрами трихограммы. Так, при анализе взаимосвязи параметров трихограммы в гормоннечувствительной (затылочной) области была выявлена положительная корреляция между «количество волос – Fe» ( $r=0.36$ ;  $p<0.05$ ) (рис 6А) и «диаметр волос

–ферритин» ( $r=0.39$ ;  $p<0.05$ ) (рис 6Б) у всех пациентов с АА. При этом оба параметра метаболизма железа положительно коррелировали между собой ( $r=0.37$ ;  $p<0.05$ ) и, дополнительно, с содержанием фолиевой кислоты ( $r=0.40$ ;  $p<0.05$ ) и ( $r=0.32$ ,  $p<0.05$ ), соответственно.

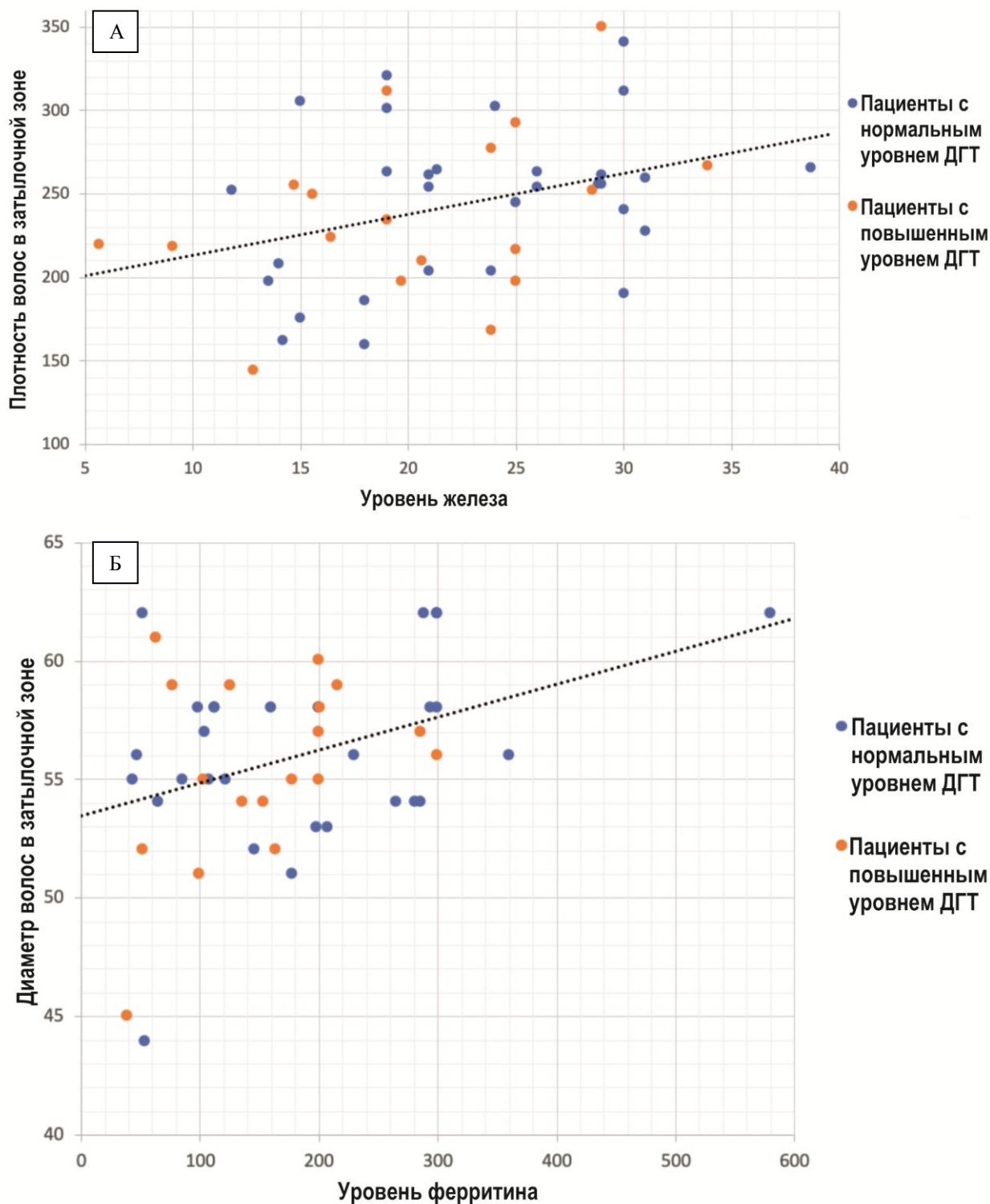
**Таблица 3**

**Показатели содержания микроэлементов и витаминов в крови пациентов с АА с повышенным и нормальным уровнем ДГТ** (данные представлены в виде медианных значений (в скобках указан диапазон 25-го и 75-го процентиля)

Параметры	Контроль (n=25)	Андрогенная алопеция		
		Общая группа (n=50)	Подгруппа с нормальным уровнем ДГТ (n=31)	Подгруппа с повышенным уровнем ДГТ (n=19)
Дигидротестостерон, пг/мл	632,2 (547,1 - 742,5)	771,7 (541 - 1413,4) <sup>a</sup>	589,9 (491,7 - 718)	1575 (1166,7 - 2347) <sup>cd</sup>
Zn, мкмоль/л	14 (12 - 15)	11 (9 - 14) <sup>a</sup>	11,5 (9 - 14) <sup>b</sup>	10,6 (9 - 13,9) <sup>c</sup>
Cu, мкмоль/л	19 (17 - 20)	11 (9,9 - 13,3) <sup>a</sup>	10,2 (9,3 - 13) <sup>b</sup>	11,5 (10 - 13,4) <sup>c</sup>
Mg, ммоль/л	1 (0,9 - 1)	0,9 (0,8 - 1) <sup>a</sup>	0,8 (0,7 - 1) <sup>b</sup>	0,9 (0,8 - 1) <sup>c</sup>
Ca, ммоль/л	2,4 (2,3 - 2,5)	2,4 (2,3 - 2,5)	2,3 (2,3 - 2,4)	2,4 (2,4 - 2,5) <sup>cd</sup>
Fe, мкмоль/л	26 (19 - 28)	21,4 (18 - 28,6)	22,7 (18 - 29)	20,6 (15,5 - 25)
Ferretin, нг/мл	198 (125 - 265)	160 (98 - 230)	168,5 (98 - 285)	153 (76,9 - 200)
Se, мкмоль/л	1 (0,9 - 1)	0,7 (0,5 - 1) <sup>a</sup>	0,7 (0,6 - 1) <sup>b</sup>	0,6 (0,5 - 1) <sup>c</sup>
Витамин В <sub>12</sub> , пг/мл	369 (290 - 741)	312 (199 - 403) <sup>a</sup>	315 (200 - 403) <sup>b</sup>	294 (165 - 409) <sup>c</sup>
Витамин Е, мкг/мл	9 (8 - 13)	5,4 (4 - 10,5) <sup>a</sup>	6,5 (4,9 - 11) <sup>b</sup>	4,2 (4 - 10) <sup>c</sup>
Витамин D, нг/мл	45 (35 - 59)	21 (19 - 35) <sup>a</sup>	20,5 (18 - 32) <sup>b</sup>	24 (19 - 37,8) <sup>c</sup>
Фолиевая кислота, нг/мл	10 (9 - 12)	4,7 (3 - 9) <sup>a</sup>	6,1 (3 - 11) <sup>b</sup>	3,4 (3 - 6) <sup>cd</sup>

Примечание: а –  $p<0,05$  при сравнении группы наблюдения и контрольной группы; б –  $p<0,05$  при сравнении подгруппы пациентов с АА с низким уровнем ДГТ и контрольной группы; с –  $p<0,05$  при сравнении подгруппы пациентов с АА с высоким уровнем ДГТ и контрольной группы; d –  $p<0,05$  при сравнении подгруппы пациентов с АА с высоким и низким уровнем ДГТ.

Это косвенно указывало на более высокую значимость описанного эффекта в подгруппе с нормальным содержанием ДГТ, поскольку существовала отрицательная корреляция – между ФК и уровнем ДГТ ( $r=-0.43$ ,  $p<0.05$ ), соответствующая двум подгруппам, описанным в таблице 3.



**Рисунок 6.** Зависимость между уровнем железа и плотностью волос (А), уровнем ферритина и диаметром волос (Б) в затылочной зоне

При этом зависимость показателей трихограммы от содержания Fe и ферритина была статистически значима в обеих подгруппах пациентов с алопецией независимо от уровня ДГТ, что указывает на универсальную роль Fe и ферритина на рост волос в затылочной области.

В свою очередь, в андрогензависимой лобно-теменной области некоторые характеристики трихограммы (в первую очередь – диаметр волос) демонстрировали взаимосвязь с содержанием в крови Cu. Интересно, что во всей анализируемой выборке зависимость между содержанием Cu и диаметром волос являлась положительной ( $r = 0,44$ ): больше меди – толще волосы. В случае же АА эта зависимость инвертировалась и становилась отрицательной ( $r = -0,39$ ;  $p < 0,05$ ), т.е. больше меди – тоньше волосы, а наиболее выражена эта инверсия была у пациентов с повышенным уровнем ДГТ ( $r = -0,65$ ;  $p < 0,05$ ) при также отрицательном, но менее значимом коэффициенте в подгруппе АА с нормальным уровнем ДГТ ( $r = -0,29$ ).

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что возникновение и прогрессирование АА, вне зависимости от уровня ДГТ, происходит на фоне множественного дефицита таких МЭ и витаминов, как цинк, медь, магний, селен, витамин В<sub>12</sub>, Е, Д, ФК. Важно отметить, что проведенный корреляционный и факторный анализ парадоксально выявили только слабые взаимосвязи между множественным дефицитом МЭ и витаминов при АА со значимым изменением количественных характеристик волосяного покрова, как в затылочной, так и в лобно-теменной области.

Данный факт, а также то, что, несмотря на различные уровни ДГТ, степень алопеции не различалась между подгруппами, позволяет говорить о наличии более сложных механизмов развития данного состояния и существенной роли негормональных факторов.

### **Интегральная оценка значимости генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции**

Для оценки генетического риска возникновения и развития АА была использована двухэтапная модель с использованием нейросети (для генетических факторов) и пошагового линейного дискриминантного анализа (для негенетических факторов). Генетическое исследование однонуклеотидных полиморфизмов A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 с последующим сравнением частоты их встречаемости в группе пациентов с АА относительно контрольной группы показал существование аллелей риска (G), хотя ни один из исследованных однонуклеотидных полиморфизмов в отдельности не позволял достоверно дифференцировать названные группы ( $p > 0,05$ ). Для интегрального анализа результатов генетического исследования была задействована технология



искусственных нейронных сетей, среди которых наилучшую дифференцирующую эффективность показал алгоритм MLP-14-6-2, как было уже показано выше. Использование подобного подхода позволило объяснить возникновение андрогенетической алопеции у 47 из 50 обследованных пациентов, что характеризовало чувствительность предложенной модели величиной 94,0%. При этом значения критерия «уровни доверия» для отдельных индивидуальных прогнозов имели бимоминальное распределение в диапазоне от 0,51 до 1,0, что свидетельствовало об объективном присутствии в группе андрогенной алопеции двух равновеликих подгрупп по 25 пациентов в каждой с низким ( $\leq 0,75$ ) и высоким ( $> 0,75$ ) генетическим риском возникновения этого заболевания. Ограничениями предложенной модели оказались относительно низкая специфичность (44,0%), приводящая интегральную точность к значению 77,3%, а также невозможность дифференциации ранних и выраженных стадий андрогенной алопеции по классификации Норвуд-Гамильтон.

В соответствии с полученными результатами, последующий анализ негенетических факторов, потенциально значимых в патогенезе андрогенной алопеции, был проведен как в общей группе наблюдения ( $n=50$ ), так и в подгруппах с низким ( $n=25$ ) и высоким ( $n=25$ ) уровнем генетического риска развития данного заболевания. При этом если в группе пациентов с АА относительно контрольной группы наблюдалось статистически значимое повышение концентрации ДГТ ( $p=0,029$ ) и 17-ОН-прогестерона ( $p=0,022$ ), при разделении пациентов на подгруппы высокого и низкого генетического риска развития АА, подобная картина сохранялась только в подгруппе «низкий уровень генетического риска» ( $p=0,021$  и  $p=0,012$ , соответственно), в то время как показатели гормонального статуса в подгруппе высокого генетического риска и контрольной группе оказывались статистически незначимыми ( $p>0,05$ ). Следует отметить, что показанное ранее значимое снижение по сравнению с контролем в крови лиц с АА уровней Mg, Cu и Se сохранялось и при дифференцировке на подгруппы высокого и низкого генетического риска. При этом характерный для общей группы пациентов с алопецией дефицит Zn оказался значим только в подгруппе с низким уровнем генетического риска. Витаминный статус пациентов с АА характеризовался дефицитом D, E и фолиевой кислоты, подтверждаемым при анализе групп и подгрупп, в то время как достоверное снижение содержания витамина B<sub>12</sub> было показано только в объединенной группе и подгруппе высокого генетического риска.

Выявленные факторы были использованы для построения многопараметрической модели возникновения и развития АА, основанной на учете значимых негенетических параметров в подгруппах с разной степенью

генетического риска (Табл.4).

**Таблица 4**

**Значения нормирующих коэффициентов и констант, используемых в многопараметрической модели андрогенной алопеции**

Учитываемые параметры	Дифференцируемые состояния		
	Отсутствие алопеции (A <sub>0</sub> )	Ранние стадии алопеции (A <sub>I-II</sub> )	Выраженные стадии алопеции (A <sub>III-IV</sub> )
При низком генетическом риске развития заболевания			
Фолиевая кислота (a <sub>1</sub> )	2,431	1,6448	1,7859
Cu (a <sub>2</sub> )	1,2013	0,7911	0,9532
Mg (a <sub>3</sub> )	97,479	82,2709	86,5415
Поправочная константа (b)	-70,4829	-44,8113	-52,2931
При высоком генетическом риске развития заболевания			
Витамин D (a <sub>1</sub> )	0,3063	0,1775	0,1644
Cu (a <sub>2</sub> )	2,1684	1,2912	1,7636
Поправочная константа (b)	-27,5057	-10,4727	-17,245

При этом в рамках линейного дискриминантного анализа был осуществлен дополнительный анализ сопряженности значимых негенетических факторов с пошаговым отбором наиболее информативных параметров. Проведение подобной процедуры в подгруппе низкого генетического риска позволило сократить количество учитываемых факторов с 10 до 3, сохранив в качестве параметров с наибольшей дискриминирующей значимостью содержание в плазме крови ФК, а также двух микроэлементов: Mg и Cu (p<0,001). В свою очередь среди 8 параметров, отличающих подгруппу пациентов с высоким генетическим риском развития АА от контрольной группы, наибольшая дискриминирующая значимость была констатирована для Cu и витамина D (p<0,001). Разработанная на этой основе система классификационных уравнений (отдельно для случаев низкого и высокого генетического риска) имела общий вид:

$$A_x = a_1(F_1) + \dots + a_n(F_n) + b,$$

где A<sub>x</sub> – классификационное решение; F<sub>1</sub>-F<sub>n</sub>– лабораторно определенные значения отобранных негенетических параметров; a<sub>1</sub>-a<sub>n</sub>– коэффициенты, характеризующие вклад каждого из них в дискриминации подгрупп; b – поправочная константа (табл.4). Рассчитываемое с их использованием максимальное значение классификационной функции указывало на принадлежность к определенной группе (подгруппе) наблюдения, соответствующей отсутствию андрогенной алопеции (A<sub>0</sub>), ранним (A<sub>I-II</sub>) или выраженным (A<sub>III-IV</sub>) стадиям данного заболевания. Важным результатом

использования предложенной многопараметрической модели явилась правильная классификация всех контрольных случаев, что свидетельствовало о 100% специфичности подобного анализа. Использование модели в подгруппе низкого генетического риска позволило правильно классифицировать 81,2% случаев с ранними (I-II) стадиями андрогенной алопеции при 14,3% правильных заключений в отношении выраженных (III-IV) стадий данного заболевания. Аналогичные значения в группе высокого генетического риска составили 87,5% и 16,7%, соответственно. В целом же интегральная точность разработанной модели характеризовалась значениями 81,2% в подгруппе пациентов низкого генетического риска и 85,1% в подгруппе высокого генетического риска развития андрогенной алопеции.

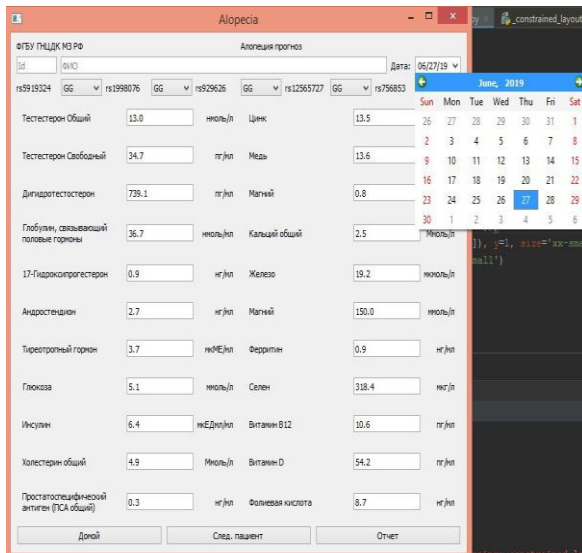
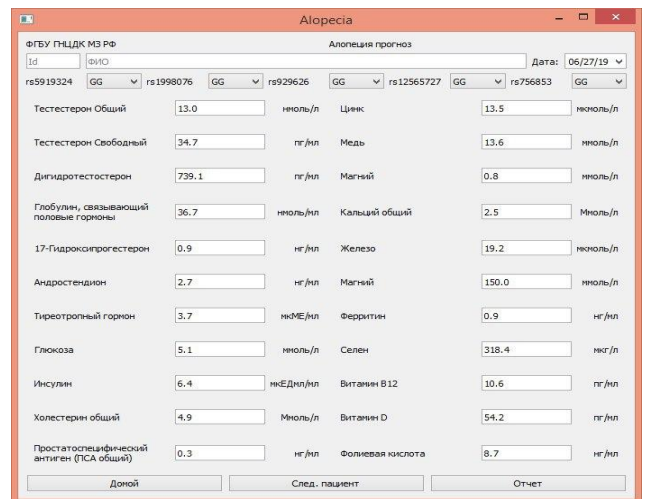
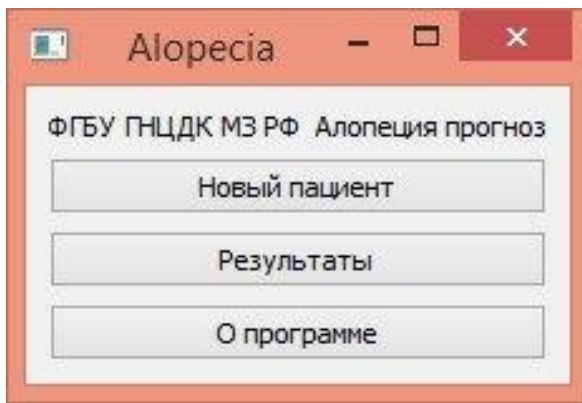
Полученные результаты позволили развить представления о многофакторности патогенеза АА, возникающей при сочетании генетической предрасположенности, гормональных изменений и микронутриентных нарушений. Показанная неидентичность перечня негенетических факторов, действующих у пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска данного заболевания, безусловно, свидетельствует в пользу вариативности патогенетических путей, ведущих к патологической утрате волос.

Тем самым полученные результаты подтвердили взгляд на АА как заболевание, возникающее только при суперпозиции факторов генетического риска и реализующих его негенетических (средовых) факторов.

Для комплексного учета и интерпретации результатов исследования основных генетических и негенетических факторов, значимых в возникновении и развитии АА у мужчин была разработана программа: «Многопараметрический анализ генетических и негенетических факторов, определяющих возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин».

Программа позволяет вводить индивидуальные данные, включающие однонуклеотидные полиморфизмы в наиболее информативных участках генома и результаты лабораторного исследования гормонального фона, метаболических маркеров, витаминного и микроэлементного статуса. В результате анализа с использованием нейросетевого модуля определяется генетический риск возникновения АА, а следующий за ним модуль дискриминантного анализа по выборочной совокупности негенетических параметров, информативных при различных степенях генетического риска, позволяет рассчитать ожидаемую стадию АА у конкретного пациента.

Алгоритм работы программы проиллюстрирован на рисунке 7.



**Рисунок 7.** Скриншоты алгоритмов работы программы «Многопараметрический анализ генетических и негенетических факторов, определяющих возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин».

Следует отметить, что разработанная в процессе исследования двухэтапная многопараметрическая модель возникновения АА имела высокий уровень соответствия текущему статусу пациента, что позволило на её основе разработать и применить схему персонализированной терапии андрогенной алопеции, учитывающую первоначально выявленный дефицит витаминов и микроэлементов.

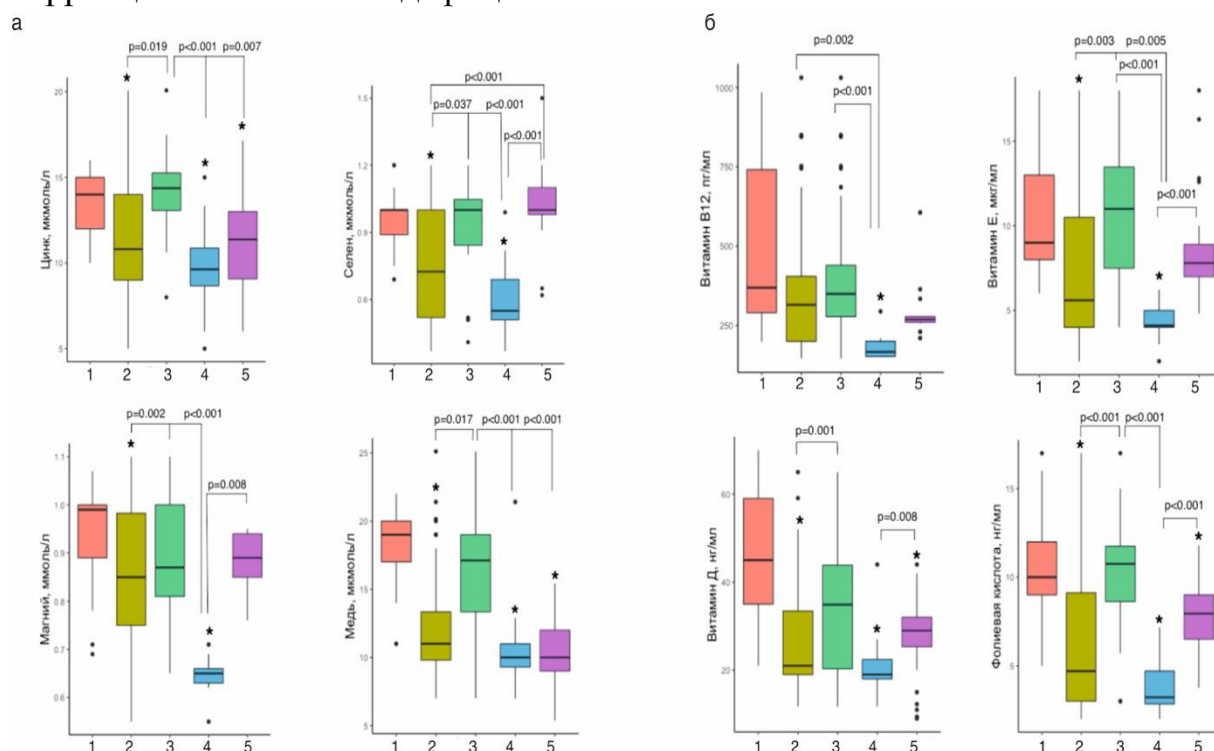
### Оценка эффективности персонализированной консервативной терапии лиц с андрогенной алопецией

Положительный эффект топического применения миноксидила (2, 4-пиримидинодиамин-6-(1-пиперидинил)-3-оксид) известен довольно давно, однако дополнение стандартной терапии исследованиями и коррекцией уровней микроэлементов и витаминов конкретного пациента происходят не всегда. Чаще используют стандартные схемы препаратов, независимо от

текущего микронутриентного статуса.

При выполнении данного фрагмента исследования были использованы клинические и лабораторные данные 48 пациентов, ранее включенных в группу углубленного исследования (2 пациента в процессе проведения исследования выбыли по объективным причинам).

С учетом результатов лабораторного исследования о наличии моно- или полимикронутриентного дефицита у 46 из 48 пациентов с АА (95,8%): дефицит Си выявлен у 33 (68,8%), Zn- у 28 (58,3%), Se- у 25 (52,1%), Mg- у 10 (20,8%), Fe- у 5 (10,4%); витамина D – у 32 (66,7%); ФК – у 30 (62,5%); витамина Е - у 25 (52,1%); витамина В<sub>12</sub> – у 15 (31,3%), в дополнение к 5% раствору миноксидила местно были включены фармакологические формы микроэлементов и витаминов, направленные на персонализированную коррекцию выявленных дефицитов.



**Рисунок 8.** Количественное содержание микроэлементов (а) и витаминов (б) в плазме крови пациентов с АА и контрольной группы до и после проведения персонализированной коррекции выявленных микронутриентных дефицитов.

Обозначения: 1 – контрольная группа; 2 – пациенты с АА (общая группа); 3 – пациенты с АА без признака дефицита определенного микронутриента; 4 – группа пациентов с АА с дефицитом определенного микронутриента до начала персонализированной терапии; 5 - группа пациентов с АА с дефицитом определенного микронутриента после завершения персонализированной терапии. Указаны статистически значимые различия (р) между подгруппами пациентов с АА; \* - достоверность отличия от контрольной группы (р<0,05).

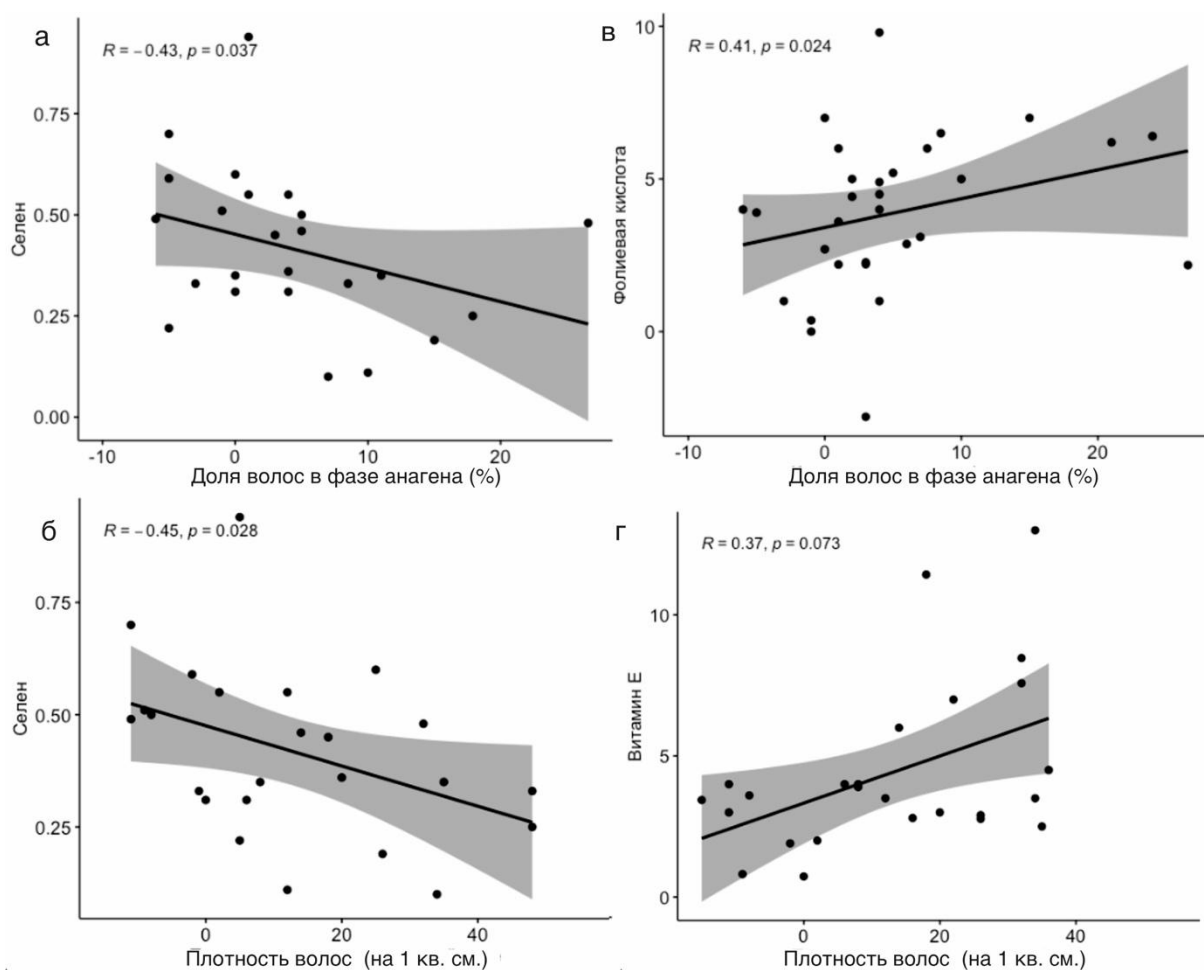
Исход консервативной терапии АА оценивался косвенным критерием (по изменению содержания микроэлементов или витаминов в плазме крови) и прямым критерием (по изменению количественных характеристик волосяного покрова). Косвенным результатом применения фармакологических форм микроэлементов при проведении консервативной терапии АА стало статистически значимое повышение содержания в плазме крови Se (на 82% от исходного уровня;  $p=0,001$ ), Fe (на 78%;  $p=0,001$ ), Mg (на 31%;  $p=0,008$ ) и Zn (на 18,3%;  $p=0,001$ ). При этом уровень контрольной группы был достигнут в отношении Se, Fe и Mg (Рис. 8а). В то же время проведенная коррекция дефицита Cu не сопровождалась значимым изменением уровня названного микроэлемента в плазме крови. Коррекция витаминного статуса также сопровождалась статистически значимым повышением содержания в плазме крови витаминов D, E и фолиевой кислоты (на 53%, 89,3%, и 147%, соответственно). При этом достичь уровня контрольной группы у пациентов с АА удалось только в отношении витамина E и B<sub>12</sub> (Рис. 8б). При этом, несмотря на 62% повышение уровня витамина B<sub>12</sub> после коррекции, оно было статистически не значимым.

Сопоставление различий ( $\Delta$ ) содержания анализируемых микронутриентов в плазме крови пациентов с АА до и после завершения персонализированной консервативной терапии и достигнутых у них количественных изменений трихограмм позволило установить существование единичных статистически значимых взаимосвязей (рис. 9).

Наиболее выраженный вклад в восстановление волосяного покрова вносило повышение уровня фолиевой кислоты:  $\Delta$  данного витамина в плазме крови положительно коррелировала с увеличением доли волос в фазе анагена ( $r=0,41$ ;  $p=0,024$ ). Другой положительный коэффициент корреляции связывал  $\Delta$  витамина E с достигаемым увеличением плотности волос ( $r=0,37$ ), достоверность которого находилась возле порога статистической значимости ( $p=0,073$ ). На этом фоне обращала на себя внимание статистически значимая отрицательная корреляция между  $\Delta$  Se и изменением доли волос в фазе анагена ( $r=-0,43$ ;  $p=0,037$ ), сопровождаемая существованием отрицательной корреляции ( $r=-0,45$ ;  $p=0,028$ ) между  $\Delta$  Se и изменением плотности волос, что, в совокупности, характеризовало терапевтический эффект от применения названного микроэлемента как негативный.

Таким образом, с позиций доказательной медицины показана необходимость персонализированного подхода к коррекции выявляемых дефицитов микроэлементов (Mg, Zn, Cu, Se, Fe) и витаминов (B<sub>12</sub>, D, E, фолиевая кислота) у пациентов с АА. При этом системное применение фармакологических форм микроэлементов в большинстве случаев позволяет

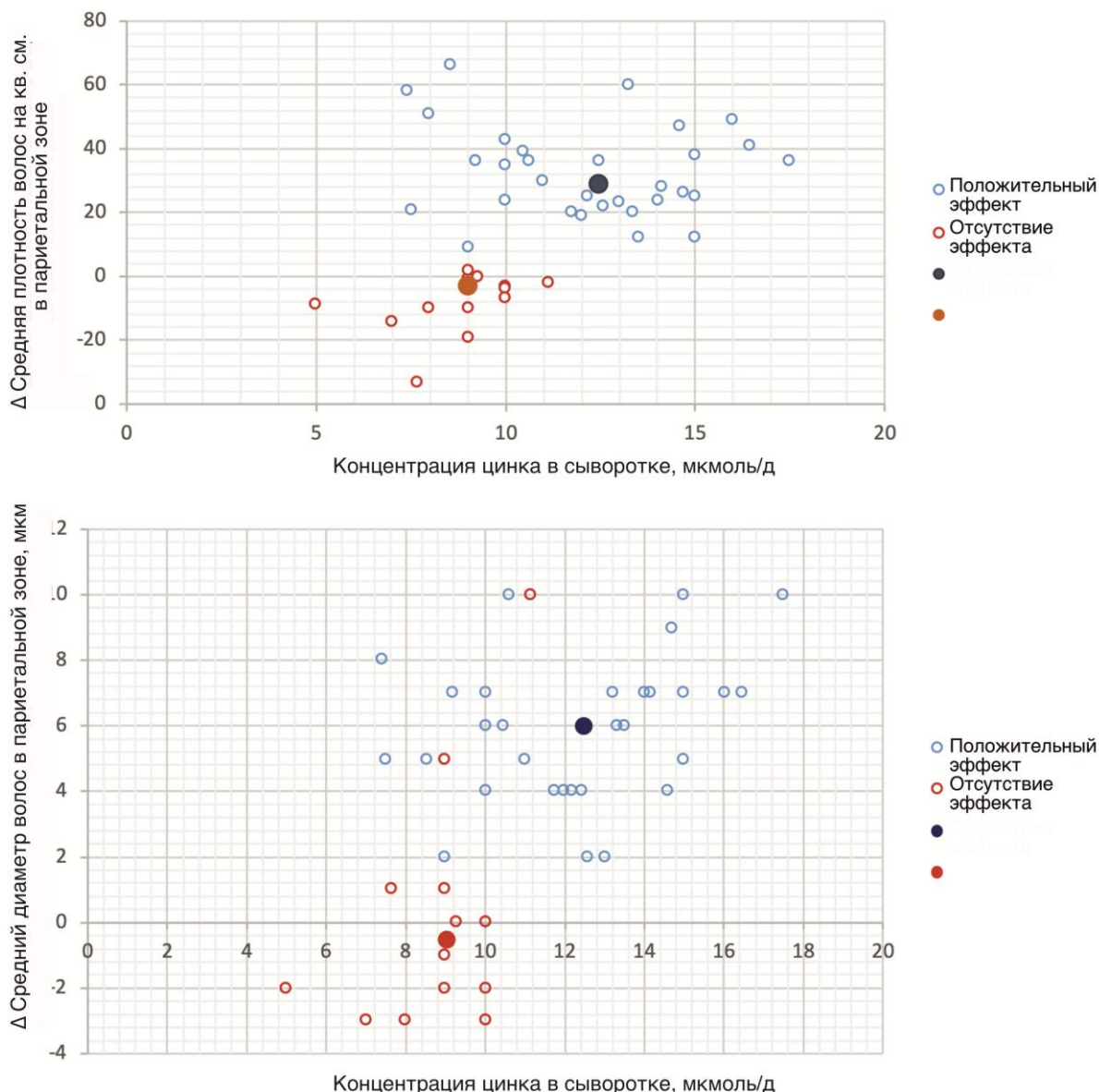
ликвидировать соответствующие дефициты (Se, Mg и Fe), однако в отношении некоторых из них процесс восстановления идет недостаточно активно (Zn) или оказывается неэффективным (Cu).



**Рисунок 9.** Корреляционные зависимости, связывающие изменения доли волос в фазе анагена (а, в) и плотности волос (б, г) после проведения персонализированной консервативной терапии АА с достигнутым повышением содержания в плазме крови фолиевой кислоты (в), витамина Е (г) и Se (а, б).

В завершение анализа было проведено погрупповое сравнение исходных микронутриентных параметров сыворотки крови между группами пациентов с положительным эффектом («+») и отсутствием эффекта («-») терапии. Из всех исследуемых микронутриентов (Zn, Cu, Mg, Ca, Fe, Se, B<sub>12</sub>, E, D, ФК) статистически значимые различия между подгруппами были выявлены только для Zn. Сопоставление исходно определенного уровня Zn и последующих изменений трихограммы показало наиболее значимые изменения вновь в лобно-теменной области, где уровень Zn статистически значимо коррелировал с последующим изменением ( $\Delta$ ) плотности волос у всех

пациентов с АА ( $r=0.290$ ,  $p<0.05$ ) и в группе «-» ( $p=0.51$ ,  $r<0.05$ ) и  $\Delta$  диаметра волос ( $r=0.403$ ,  $p=0.06$ ) у всех пациентов с АА. Выявленные зависимости проиллюстрированы на рис.10.



**Рисунок 10.** Сывороточный уровень Zn в сравнении с  $\Delta$  плотности волос (А) и  $\Delta$  среднего диаметра волос в париетальной области.

Примечание: ● ● - центры

Полученные результаты позволили говорить о возможной прогностической значимости цинка в оценке восприимчивости пациентов с АА к проводимой консервативной терапии. При этом наилучшее разделение подгрупп с «-» эффект терапии по сравнению с подгруппой «+» эффект достигалось при установлении пограничной концентрации Zn в 10 мкмоль/л. С использованием порога  $\leq 10$  мкмоль/л для «-» эффекта и  $> 10$  мкмоль/л для «+» эффекта были рассчитаны позитивный и негативный прогноз проводимой



терапии, составившие 88% и 55%, соответственно. Рассчитанный с учетом этих показателей интегральный показатель значимости Zn в прогнозе эффективности или неэффективности проводимой консервативной терапии составил 72,3%.

Для анализа возможных механизмов влияния Zn на восстановление волосяного покрова был проведен корреляционный анализ взаимосвязи исходного уровня микроэлементов и витаминов в подгруппах с их динамикой после проведенного лечения. Было выявлено наличие отрицательной корреляции между исходным уровнем цинка и  $\Delta$  селена ( $r=-0.762$ ,  $p<0.05$ ) в подгруппе «-» эффект и общей группе АА ( $r=-0.436$ ,  $p<0.05$ ), при этом в подгруппе «+» эффект значимой корреляции между исходным уровнем микроэлементов и их динамикой обнаружено не было.

Анализ взаимосвязи исходного уровня Zn с динамикой микронутриентных показателей позволил выявить, что, во-первых, как в общей группе АА, так и группах «+» эффект и «-» эффект исходный уровень Zn у лиц, у которых возникла необходимость в коррекции Se, был существенно ниже уровня контроля (14,0 (12,0–15,0) мкмоль/л) и составлял 9,2 (9,0-10,0) ( $\downarrow 34\%$ ), 9,6 (9,0-13,0) ( $\downarrow 31\%$ ) и 9,0 (9,0-10,0) ( $\downarrow 36\%$ ) мкмоль/л соответственно. Следовательно, более низкий уровень Zn у лиц с АА может свидетельствовать о возможном сочетанном дефиците Se. Во-вторых, исходно высокое содержание Zn в плазме крови лиц с АА сопровождалось более выраженным приростом витамина E ( $r=-0,299$ ).

После коррекции выявленного пониженного уровня Zn у пациентов с АА после 4-х месяцев консервативной терапии его сывороточный уровень в группах «+» эффект и «-» эффект практически не отличался (11,56 и 11,34 мкмоль/л, соответственно). Выявленный в нашем исследовании факт выравнивания уровня Zn в группах «+» эффект и «-» эффекта по завершении консервативного лечения, свидетельствует прежде всего о прогностической значимости исходного уровня Zn в отношении эффективности проводимой консервативной терапии, но никак не о его решающей роли в реализации позитивного эффекта лечения.

Таким образом, продемонстрирован полиэтиологический характер мужской АА, включающей в себя генетические, гормональные, метаболические и микронутриентные параметры, степень и особенности корреляции которых индивидуальны, что позволило, с одной стороны, разработать алгоритм прогноза возникновения данного заболевания, а с другой стороны – коррегируя выявленные отклонения в микронутриентном статусе, проводить высокоэффективную лично ориентированную терапию с предсказанием её эффективности.

## ВЫВОДЫ

1. Среди пациентов, обратившихся за амбулаторной помощью в консультативно-диагностический центр «Здоровые волосы» ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России, наибольшую долю (68 %) составляют мужчины с начальными и умеренно выраженными клиническими проявлениями андрогенной алопеции (L64 по МКБ-10), соответствующими I-IV стадиям заболевания по классификации Норвуд-Гамильтон. Наиболее часто регистрируемым (64,3%) является лобно-теменной андроген-зависимый паттерн утраты волос, в то время как на долю затылочного андроген-независимого паттерна приходится 35,7 % от общего количества выявляемых случаев андрогенной алопеции.

2. У пациентов с начальными стадиями андрогенной алопеции (I-IV по классификации Норвуд-Гамильтон) патогенетически значимыми факторами развития заболевания являются генетическая предрасположенность, множественный дефицит микронутриентов, а также метаболические изменения. В 61,25 % случаев заболевание протекает при повышенном содержании мужских половых гормонов, в то время как у 38,75 % пациентов андрогенная алопеция не связана с изменениями гормонального фона.

3. Однонуклеотидные генетических полиморфизмы rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 значимы в оценке генетического риска возникновения андрогенной алопеции. Более высокая значимость анализируемых факторов генетического риска наблюдается при нормальном уровне мужских половых гормонов (андрогенов).

4. В возникновении и развитии андрогенной алопеции значимую роль играют моно- и полидефицит микроэлементов (Zn, Cu, Mg, Se) и витаминов (B<sub>12</sub>, E, D, фолиевая кислота). Прогрессирование заболевания в андроген-независимой затылочной области связано с нарушением метаболизма железа (Fe и ферритин), в то время как паттерн утраты волос в андроген-зависимой лобно-теменной области демонстрирует обратную зависимость от содержания Cu, наиболее выраженную у пациентов с повышенным уровнем дигидротестостерона.

5. Разработанная двухэтапная модель развития андрогенной алопеции у пациентов мужского пола с учетом генетических и негенетических факторов характеризуется 81,2% и 85,1% точностью в подгруппах низкого и высокого генетического риска развития андрогенной алопеции, соответственно.

6. Предложенная персонализированная схема терапии андрогенной алопеции с использованием миноксидила, комплекса микроэлементов и

витаминов, обеспечивает эффективное восстановление волосяного покрова у 67 % пациентов с начальными и умеренно выраженными клиническими проявлениями данного заболевания. В случае выявления микронутриентной недостаточности проведение персонализированной коррекции дефицитов ФК и витамина Е оказывает позитивный, а использования препаратов Se негативный эффект на результат консервативной терапии начальных стадий андрогенной алопеции. Интегральным предиктором эффективности подобной консервативной терапии выступает исходное содержания Zn ( $>10$  мкмоль/л) в плазме крови пациентов с андрогенной алопецией.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Научные статьи в изданиях, индексируемых в базах данных *Web of Science* и *Scopus*:

1. **Кондрахина И.Н.**, Вербенко Д.А., Затевалов А.М., Кубанов А.А., Дерябин Д.Г. Значение генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции у мужчин: многопараметрический анализ //Вестник РАМН. - 2019. – Т.74. - №3. - С.167-175.

2. **Kondrakhina I.N.**, Verbenko D.A., Zatevalov A.M., Kubanov A.A., Deryabin D.G. SNP variation in male pattern hair loss in Russians with different dihydrotestosterone levels // Meta Gene. - 2019. - Vol.19. - P.219-224

3. **Kondrakhina I.N.**, Verbenko D.A., Zatevalov A.M., Gatiatulina E.R., Nikonorov A.A., Deryabin D.G., Kubanov A.A. Plasma zinc levels in males with androgenetic alopecia as possible predictors of the subsequent conservative therapy effectiveness // Diagnostics. – 2020. – Vol.10(5). - P.336.

4. **Kondrakhina I.N.**, Verbenko D.A., Zatevalov A.M., Gatiatulina E.R., Nikonorov A.A., Deryabin D.G., Kubanov A.A. A Cross-sectional study of plasma trace elements and vitamins content in androgenetic alopecia in men //Biological Trace Element Research. – 2021. – 199(9). – P. 3232-3241

5. **Кондрахина И.Н.**, Затевалов А.М., Гатиатулина Е.Р., Никоноров А.А., Дерябин Д.Г., Кубанов А.А. Оценка эффективности персонализированной коррекции микроэлементного и витаминного статуса при консервативной терапии начальных стадий андрогенной алопеции у мужчин // Вестник РАМН. - 2021. – Т.76 - №6 – С. 604-611

### Научные статьи в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований:

6. **Кондрахина И.Н.**, Мареева А.Н. Неинвазивная диагностика нерубцовых алопеций методом трихоскопии //Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – №5. – С. 81–85.

7. **Кондрахина И.Н.**, Мареева А.Н. Системная терапия больных андрогенетической алопецией //Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – №1. – С. 41–45.

8. **Кондрахина И.Н.**, Мареева А.Н. Оценка качества жизни больных гнездовой и андрогенетической алопецией //Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – №5. – С. 53–58.

9. **Кондрахина И.Н.**, Мареева А.Н., Калинина П.А., Абуладзе М.Г. Андрогенный статус у пациентов с андрогенетической алопецией //Вестник

дерматологии и венерологии. – 2015. – №6. – С. 30–32.

10. Мареева А.Н., **Кондрахина И.Н.** Психоэмоциональные состояния у больных нерубцующими алопециями (гнездной, андрогенетической) //Вестник дерматологии и венерологии. – 2015. – №6. – С. 50-56.

#### **Объекты интеллектуальной собственности:**

11. **Кондрахина И.Н.**, Дерябин Д.Г., Вербенко Д.А., Кубанов А.А., Затевалов А.М. Способ прогнозирования андрогенной алопеции у мужчин. *Патент на изобретение* RU 2713374 С1 от 04.02.2020.

12. **Кондрахина И.Н.**, Дерябин Д.Г., Вербенко Д.А., Дубин Е.П., Затевалов А.М. Программа многопараметрического анализа генетических и негенетических факторов, определяющих возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин. *Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ* RU 2020612365 от 20.02.2020.

#### **Материалы конференций:**

13. **Кондрахина И.Н.** Современные аспекты обследования и лечения андрогенетической алопеции у мужчин //Тезисы научных работ XV Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов г. Москва, 23–26 июня 2015 г.

14. **Кондрахина И.Н.**, Вербенко Д.А. Интегральный анализ влияния генетических и негенетических факторов на возникновение и развитие андрогенной алопеции у мужчин//Тезисы научных работ XIX Всероссийского съезда дерматовенерологов и косметологов г. Москва, 18–21 июня 2019 г.

15. **I.N. Kondrakhina**, A.A. Nikonov Role of trace elements in androgen-dependent and androgen-independent hair loss patterns in male androgenetic alopecia. *Trace Elements and Electrolytes*, 2021, V. 38 – N. 3, P. 151.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- BASP - basic and specific classification  
FDA - Food and Drug Administration  
FGF - fibroblast growth factors (фактор роста фибробластов)  
HDD - Hair Diameter Diversity (разнообразие диаметра волос – анизотрихоз)  
HGF - Hepatocyte Growth Factor (фактор роста гепатоцитов)  
NO - монооксида азота  
*PARP* - Poly (ADP-ribose) polymerase (поли-АДФ-рибозо-полимераза)  
PDGF - Platelet-derived growth factor (тромбоцитарный фактор роста)  
PDAF - Platelet-derived angios growth factor (тромбоцитарный фактор роста кровеносных сосудов)  
PRP - Platelet-rich plasma (богатая тромбоцитами плазма)  
ROC - receiver operating characteristic  
SALT - Severity of Alopecia Tool  
SNP - single nucleotide polymorphisms (однонуклеотидный полиморфизм)  
TGF- $\beta$ 1 - transforming growth factor-beta 1 (трансформирующий фактор роста  $\beta$ -1)  
VDR - vitamin D receptor (рецептор витамина Д)  
VEGF - Vascular endothelial growth factor (сосудистый эндотелиальный фактор роста)  
АА – андрогенная алопеция  
АР - андрогеновый рецептор  
АТФ - аденозинтрифосфат  
АФК – активные формы кислорода  
ГА – гиперандрогения  
ГСПГ - глобулин, связывающий половые гормоны  
ДГТ – дигидротестостерон  
ДГЭА-С - дегидроэпиандростерон сульфат  
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
ЛГ – лютеинизирующий гормон  
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота  
МЭ - микроэлементы  
ОНП - однонуклеотидный полиморфизм  
ПЦР – полимеразная цепная реакция  
СОД - супероксиддисмутаза  
ТТГ – тиреотропный гормон  
Т – тестостерон  
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
ФК – фолиевая кислота  
17-ОН прогестерон – 17 - гидроксипрогестерон  
1,25(ОН)<sub>2</sub>D - 1,25-дигидроксивитамин D