

И.Н. Кондрахина¹, Д.А. Вербенко^{1*}, А.М. Затевалов², А.А. Кубанов¹, Д.Г. Дерябин¹¹ Государственный научный центр дерматовенерологии и косметологии, Москва, Российская Федерация² Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского, Москва, Российская Федерация

Значение генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции у мужчин: многопараметрический анализ

Обоснование. Андрогенная алопеция у мужчин (МКБ-10: L64) является наиболее распространенной формой патологического выпадения волос. Однако причины возникновения и развития данного заболевания остаются во многом неясными, что затрудняет разработку обоснованных подходов к персонализированной терапии. **Цель исследования** — интегральный анализ совокупности генетических и негенетических факторов, играющих роль в патогенезе андрогенной алопеции у мужчин, с построением на данной основе многопараметрической модели, наиболее полно описывающей индивидуальные причины возникновения и развития данного заболевания. **Методы.** Генетическая предрасположенность оценивалась спектром однонуклеотидных полиморфизмов rs929626, rs5919324, rs1998076, rs12565727 и rs756853, проанализированных методом минисеквенирования. Исследованные негенетические факторы включали гормональные и метаболические маркеры, а также характеристики микроэлементного и витаминного статуса. Построение двухэтапной модели возникновения и развития андрогенной алопеции проведено с использованием нейросети (для генетических факторов) и пошагового линейного дискриминантного анализа (для негенетических факторов). **Результаты.** В исследование, выполненное методом «случай-контроль», включены 50 мужчин со I–IV стадиями андрогенной алопеции (по Norwood–Hamilton), а также 25 соответствующих им здоровых добровольцев. Анализ частоты каждого из однонуклеотидных полиморфизмов в сравниваемых группах не показал существенных различий, в то время их совместный учет позволил оценить генетические причины возникновения андрогенной алопеции, а также сформировать подгруппы низкого и высокого риска развития данного заболевания. При этом низкому уровню генетического риска соответствовало большое количество значимых негенетических факторов, в том числе повышенный уровень дигидротестостерона, 17-ОН-прогестерона, инсулина, а также дефицит микроэлементов Mg, Cu, Zn, Se и витаминов D, E, фолиевой кислоты. В свою очередь в группе лиц высокого генетического риска перечень значимых негенетических факторов ограничивался метаболическим и микронутриентными нарушениями. Построенная на данной основе многопараметрическая модель в подгруппах низкого и высокого генетического риска развития андрогенной алопеции характеризовалась 81,2 и 85,1% точностью соответственно, будучи наиболее эффективной при описании ранних стадий данного заболевания. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о различной значимости негенетических факторов в группах пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции. Их совместный учет в рамках предложенной двухэтапной многопараметрической модели обеспечивает высокий уровень соответствия текущему статусу пациента, что формирует основу для разработки на данной основе схем персонализированной терапии данного заболевания.

Ключевые слова: андрогенная алопеция, генетические факторы, негенетические факторы, многопараметрическая модель.

(Для цитирования: 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;74(3):167–175. doi: 10.15690/vramn1141)

Обоснование

Андрогенная алопеция (код L64 по МКБ-10) является наиболее распространенной формой патологического выпадения волос [1]. Среди представителей европеоидной расы к тридцати годам данное заболевание регистрируется у 30% мужчин, а к пятидесяти — у каждого второго в популяции [2]. Несмотря на то, что андрогенная алопеция не изменяет показателей трудоспособности, инвалидизации и смертности, данное заболевание существенно ухудшает качество жизни пациентов [3], что сделало его предметом многочисленных междисциплинарных исследований.

Согласно современным представлениям, андрогенная алопеция рассматривается как генетически обусловленное заболевание, в возникновении которого важная роль принадлежит индивидуальной вариабельности и изменчивости экспрессии совокупности определенных генов [4]. Так, в недавней работе М. Marcińska и соавт. [5] при анализе 50 однонуклеотидных полиморфизмов ассоциация с развитием данного заболевания подтверждена для

29 из них, расположенных на хромосомах X, 1, 5, 7, 18 и 20. В нашем предшествующем исследовании [6] анализ пяти наиболее значимых однонуклеотидных полиморфизмов, а именно rs5919324 (выше AR гена), rs1998076 (в 20p11 локусе), rs929626 (в гене EBF1), rs12565727 (в гене TARDBP) и rs756853 (в гене HDAC9), позволил разработать компьютерный алгоритм, с высокой вероятностью оценивающий риск возникновения андрогенной алопеции. Одновременно была показана зависимость эффективности подобного прогноза от гормонального статуса пациента, что определяет актуальность дополнительного учета названного и иных негенетических факторов, играющих роль в патогенезе данного заболевания.

Среди негенетических факторов важнейшим считается повышение уровня мужских половых гормонов (андрогенов), в первую очередь тестостерона и производного от него дигидротестостерона, образующегося в результате активности фермента 5 α -редуктазы [7]. При этом патогенетически важным является не только повышение абсолютной концентрации тестостерона, но и его присутствие в крови пациентов в так называемой свободной

форме, обратно зависящей от концентрации глобулина, связывающего половые гормоны [2]. Кроме того, развитие андрогенной алопеции возможно и при нормальных значениях тестостерона, но при повышении концентрации дегидроэпиандростерона, дегидроэпиандростерон-сульфата или изменении содержания других стероидных гормонов [1].

Перечень прочих негенетических факторов включает ряд микроэлементов [8] и витаминов [9, 10], 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 [11], а также иные метаболические параметры.

Цель исследования — интегральный многопараметрический анализ значения генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенетической алопеции у мужчин, в том числе направленный на идентификацию ведущих негенетических параметров, определяющих клиническую картину данного заболевания у пациентов с различным уровнем генетического риска.

Методы

Дизайн исследования

Исследование выполнено методом «случай—контроль», который предусматривал формирование основной группы обследования из пациентов с клинической картиной андрогенной алопеции и сопоставимой ей контрольной группы здоровых добровольцев (рис. 1).

Критерии соответствия

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». Критериями не-включения являлись иные формы алопеции, а также случаи утраты 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, а также отсутствие в анамнезе родителей и близких родственников с клинической картиной алопеции. Все лица, включенные в состав основной и контрольной групп, предоставили письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Условия проведения

Клиническое обследование с анализом показателей трихограммы и фототрихограммы выполнено сотрудниками консультативно-диагностического отделения ГНЦДК. Исследование генетических маркеров риска развития андрогенной алопеции проведено на базе отдела лабораторной диагностики ИППП и дерматозов, а определение негенетических показателей — в лабораторном центре того же медицинского учреждения.

Продолжительность исследования

Все клинические, инструментальные и лабораторные исследования выполнены в период с января 2017 по декабрь 2018 г.

I.N. Kondrakhina¹, D.A. Verbenko^{1*}, A.M. Zatevalov², A.A. Kubanov¹, D.G. Deryabin¹

¹ State Research Center of Dermatovenereology and Cosmetology, Moscow, Russian Federation

² G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation

The Value of Genetic and Non-Genetic Factors in the Emergence and in the Development of Androgenetic Alopecia in Men: Multifactor Analysis

Background: Among pathological hair loss conditions in men the androgenic alopecia (L64 according to ICD-10) has been the most common diagnosed. However, the reasons of the occurrence and development of the disease remain incompletely clarified, that determines the difficulties of personalized therapy. **Aims:** To analyze both genetic and non-genetic factors involved in the pathogenesis of androgenic alopecia in men, and to create personalized multifactorial model for description of individual causes of the disease. **Materials and methods:** The genetic predisposition to androgenic alopecia was estimated by the set of SNP rs929626, rs5919324, rs1998076, rs12565727 and rs756853, analyzed by mini-sequencing. The non-genetic factors included: hormones and metabolic markers, trace elements, and vitamins. Two-stage model creation of androgenic alopecia occurrence and development was carried out using a neural network (for genetic factors) followed by step-by-step linear discriminate analysis (for non-genetic factors). **Results:** The case-control study included 50 men revealing I–IV stages of androgenic alopecia (according to Norwood-Hamilton classification) and 25 healthy volunteers relevant in their age and origin. The analysis of each SNP separately did not show significant differences between these groups, while SNP joint consideration in neural network model made it possible to assess the genetic predisposition to androgenic alopecia, as well as to divide the low and high genetic risk subgroups. A large number of significant non-genetic factors, including elevated levels of dihydrotestosterone, 17-OH-progesterone, insulin, and deficiency of Mg, Cu, Zn, Se, vitamins D, E, folic acid was shown in low genetic risk subgroup. In turn, in the high genetic risk subgroup the set of significant non-genetic factors was limited to metabolic and micronutrient disorders only. These data were used for the multifactorial model showing 81.2–85.1% accuracy being the most effective in early (I–II) stages of androgenic alopecia. **Conclusions:** The different influence of non-genetic factors in patients with low and high genetic risk of androgenic alopecia has been revealed. The integral factors consideration in the proposed two-stage multifactorial model identifies individual causes of the disease and gives the chance for the development of personalized therapy of androgenic alopecia in men.

Keywords: androgenic alopecia, genetic predisposition, trace element, vitamin, hormone, statistical model.

(For citation): Kondrakhina IN, Verbenko DA, Zatevalov AM, Kubanov AA, Deryabin DG. The value of genetic and non-genetic factors in the occurrence and development of androgenetic alopecia in men: multifactor analysis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2019;74(3):167–175. doi: 10.15690/vramn1141)

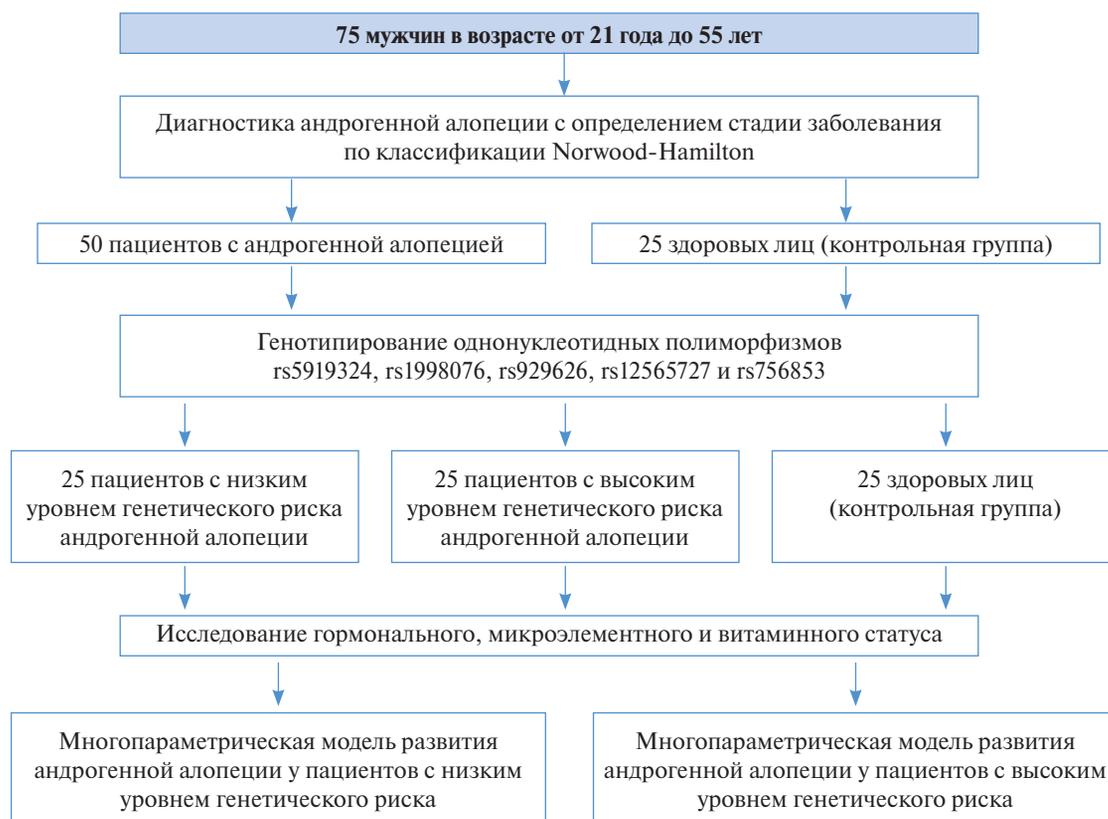


Рис. 1. Дизайн исследования роли генетических и негенетических факторов в возникновении и развитии андрогенной алопеции

Описание медицинского вмешательства

У каждого участника основной и контрольной групп в вакуумные пробирки Vacuette K3 с ЭДТА (Greiner Bio-One, Австрия) были отобраны пробы венозной крови в объеме 5–10 мл, разделенные на клеточную и плазменную фракции при 3000 g в течение 10 мин в центрифуге Allegra X-14 (Beckman Coulter, США).

Исходы исследования

Основной исход исследования

Охарактеризованы паттерны утраты волос и количественные характеристики волосяного покрова.

Дополнительные исходы исследования

Оценена степень генетического риска развития андрогенной алопеции на основе анализа однонуклеотидных полиморфизмов в значимых локусах; определены негенетические факторы (гормоны, микроэлементы, витамины, метаболические маркеры), потенциально значимые для возникновения и прогрессирования данного заболевания.

Анализ в подгруппах

Группа пациентов с андрогенной алопецией дополнительно подразделялась на подгруппы, соответствующие ранним (I–II) и выраженным (III–IV) стадиями данного заболевания по классификации Норвуд–Гамильтон (Norwood–Hamilton).

По результатам анализа однонуклеотидных полиморфизмов с использованием нейросети на основании критерия «уровень доверия» (confidence level) основная группа обследования дополнительно была разделена на подгруппы с низким и высоким уровнем генетической предрасположенности к развитию андрогенной алопеции.

Методы регистрации исходов

Оценка количественных характеристик волосяного покрова проводилась на основе данных трихограммы и фототрихограммы, выполненных 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. При помощи объектива $\times 60$ на участках $0,1+0,004 \text{ см}^2$ определялись количество волос в андрогенозависимой (теменной) и андрогенонезависимой (затылочной) зонах, процентное соотношение терминальных и веллусоподобных волос. Измерение диаметра стержней волос проводилось с помощью объектива $\times 200$. Перед проведением фототрихограммы выполнялось подбрасывание волос на длину 0,2–0,3 мм на участках площадью 8–10 мм² в теменной и затылочной зонах, после чего через 48 ч на них наносился красящий состав Igora Wopacrom черного цвета (Schwartzkopf, Германия). После 10-минутной экспозиции краситель смывался спиртосодержащим средством, а покрашенные участки анализировались с помощью объектива $\times 60$. При длине стержня волоса менее 40 мкм он определялся как телогеновый, а при длине более 40 мкм — как анагеновый. Подсчет количества волос на 1 см² осуществлялся автоматически.

Для определения однонуклеотидных полиморфизмов A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 из клеточной биомассы с использованием набора QIAmp genomic DNA mini kit (QIAGEN, Германия) выделяли геномную ДНК, которую анализировали методом минисеквенирования, подробно описанным в работе [6]. Первичные данные, полученные на генетическом анализаторе ABI 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США), после проведения мультиплексной полимераз-

ной цепной реакции с использованием набора SNaPshot обрабатывали при помощи программного обеспечения GeneMapper v. 4.0 (Applied Biosystems, США).

Определение уровней общего и свободного тестостерона, дигидротестостерона, 17-ОН-прогестерона, дегидроэпиандростерона, глобулина, связывающего половые гормоны, тиреотропного гормона и инсулина в плазме крови проводили методом иммуноферментного анализа при помощи микропланшетного фотометра Multiscan Ascent (Thermo Scientific, США) и с использованием наборов реагентов производства DRG Instruments GmbH (Германия).

Определение концентраций микроэлементов Mg, Ca, Zn, Cu, Se, Fe, а также железосвязывающего белка ферритина в плазме крови проводили с использованием прямых колориметрических тестов при помощи биохимического анализатора KONELAB 20XTi (Thermo Scientific, США) или атомно-абсорбционной спектрометрии, реализованной на платформе AA-7000 (Shimadzu, Япония).

Для определения концентраций витаминов B₁₂, D (в форме 25(OH)-D₃), E и фолиевой кислоты использованы методы иммуноферментного и иммунолюминесцентного анализа, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией.

Концентрации глюкозы и холестерина в плазме крови определены стандартными биохимическими методами.

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «ГНЦДК» Минздрава России (протокол № 7 от 31.10.2017), согласно которому оно соответствует стандартам добросовестной клинической практики и доказательной медицины.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных

Полученные данные обработаны с использованием пакета статистических программ STATISTICA 13.0 (StatSoft Inc., США) [12]. Различия между группами и подгруппами считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Для анализа генетических факторов возникновения андрогенной алопеции использовались искусственные нейронные сети, организованные по принципу «многослойного перцептрона» (multilayer perceptron, MLP); при многопараметрическом исследовании использован алгоритм линейного дискриминантного анализа.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Постановка диагноза «Андрогенная алопеция» осуществлялась в соответствии Международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), введенной в действие на территории Российской Федерации с 01.01.1999 г. приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 170.

Возраст обследованных составлял от 18 до 55 (в среднем $26,2 \pm 5,3$) лет. Длительность заболевания варьировала от нескольких месяцев до 6 лет со средней продолжительностью $3,2 \pm 1,1$ года.

Основными жалобами являлись усиленное выпадение волос (100%) и их истончение (68%), усиление салоотде-

ления кожи волосистой части головы (75%), зуд (33%), болезненность у корней волос при механическом воздействии — расчесывании и мытье (34%).

При осмотре регистрировалось выпадение волос вдоль лобной линии роста волос (I стадия по классификации Norwood–Hamilton), образование двусторонних залысин на лобной зоне и поредение волос на теменной или макушечной области (II стадия), прогрессирующее выпадение волос в лобной и теменной зоне роста волос (III стадия) вплоть до полного слияние очагов облысения в лобной и теменной области (IV стадия). Типичные паттерны утраты волос приведены на рис. 2 (а–г).

Анализ трихограмм показал существенное истончение волос у пациентов с андрогенной алопецией по сравнению с контрольной группой, что, в частности, проявлялось снижением среднего диаметра волос в теменной области ($41,66 \pm 1,32$ против $59,28 \pm 0,99$ мкм; $p < 0,00001$), а также выраженным увеличением доли пушковых (веллусоподобных) волос. В свою очередь анализ фототрихограмм показал почти восьмикратное увеличение доли волос в теменной области, находящихся на стадии телогена ($32,28$ против $4,28\%$ в контроле; $p < 0,00005$), при противоположной тенденции изменения числа анагеновых волос. Типичные примеры трихограмм и фототрихограмм, соответствующих определенным стадиям заболевания, приведены на рис. 2 (д–м).

В целом, по результатам проведенного клинического обследования, ранние (I и II стадии по классификации Norwood–Hamilton) диагностированы у 24 пациентов (48%), III стадия — у 16 (32%), IV — у 10 (20%).

Основные результаты исследования

Генетическое исследование однонуклеотидных полиморфизмов A/G в локусах rs5919324, rs1998076, rs929626, rs12565727 и rs756853 с последующим сравнением частоты их встречаемости в группе пациентов с андрогенной алопецией 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 нами была задействована технология искусственных нейронных сетей, среди которых наилучшую дифференцирующую эффективность показал алгоритм MLP-14-6-2 [12]. 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 биномиальное распределение в диапазоне от 0,51 до 1,0 (рис. 3), 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 Norwood–Hamilton.

Дополнительные результаты исследования

В соответствии с полученными результатами последующий анализ негенетических факторов, потенциаль-

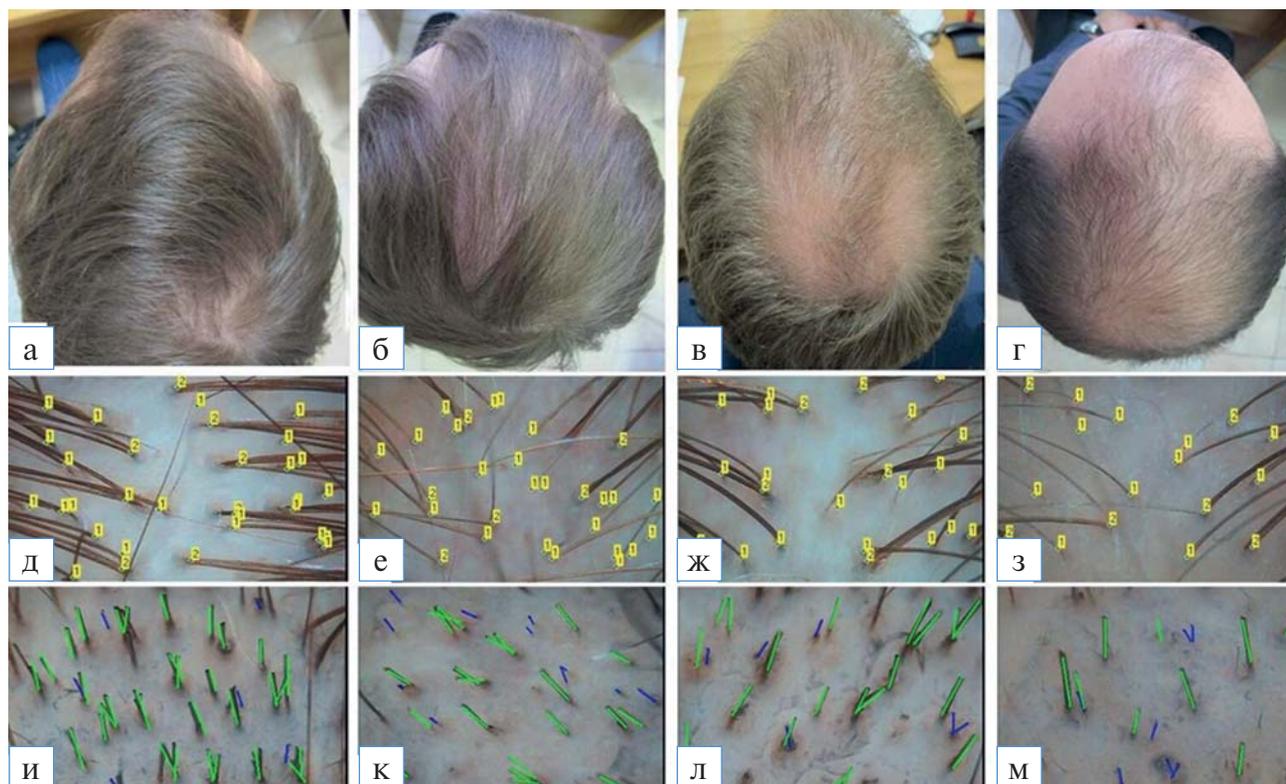


Рис. 2. Примеры паттернов утраты волос (а–г), результатов анализа трихограмм (д–з) и фототрихограмм (и–м) теменной зоны у пациентов с I (а, д, и), II (б, е, к), III (в, ж, л) и IV (г, з, м) стадиями андрогенной алопеции по классификации Norwood–Hamilton

Примечание. В ряду трихограмм — количество волос на 1 см²: 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%.

но 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 предварительная оценка включенных в анализ данных по критерию Шапиро–Уилка свидетельствовала об отличном от нормального характере их распределения (за исключением концентраций Са и Fe в плазме крови), что потребовало использования непараметрического критерия Манна–Уитни для их корректного сравнения с контрольной группой ($n=25$).

Анализ гормонального статуса в группе пациентов с андрогенной алопецией относительно контрольной группы (табл. 1) позволил констатировать у них статистически значимое повышение концентрации дигидротестостерона ($p=0,029$) и 17-ОН-прогестерона ($p=0,022$). Однако сравнение в подгруппах сохраняло подобную оценку только для пациентов с низким уровнем 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 неразличимыми ($p>0,05$). На этом фоне статистически значимое снижение гормона инсулина относительно контроля являлось значимым при сравнении как групп, так и подгрупп (см. табл. 1) при отсутствии различий по включенным в исследование гомеостатическим параметрам (в т.ч. глюкозе).

Статистически значимое снижение присутствия микроэлементов Mg, Cu и Se также было универсальным явлением (см. табл. 1), в то время как характерный для общей группы пациентов с алопецией дефицит Zn оказался значимым только в подгруппе с низким уровнем генетического риска.

Витаминный статус пациентов с андрогенной алопецией характеризовался статистически значимым дефицитом D, E и фолиевой кислоты, подтверждаемым при анализе групп и подгрупп (см. табл. 1), в то время как достоверное снижение содержания витамина B₁₂ было показано только в объединенной группе и подгруппе высокого генетического риска.

Выявленные факторы были использованы для построения многопараметрической модели возникнове-

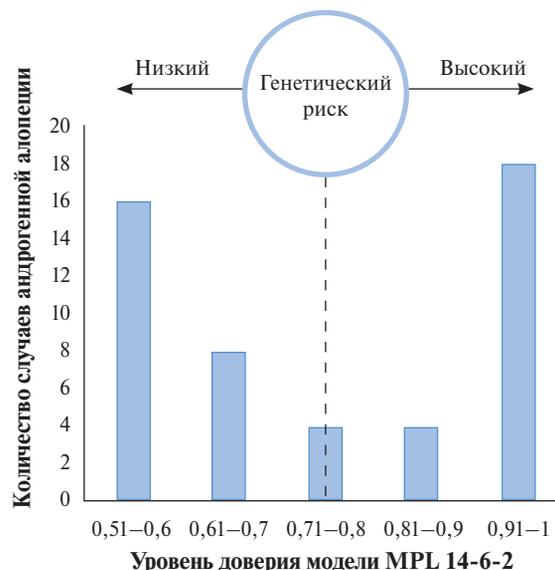


Рис. 3. Принцип деления группы пациентов с андрогенной алопецией на подгруппы низкого и высокого генетического риска развития данного заболевания

ния и развития андрогенной алопеции, основанной на учете значимых негенетических параметров в подгруппах с разной степенью генетического риска. 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 фолиевой кислоты, а также двух микроэлементов — Mg и Cu ($p < 0,001$). В свою очередь

среди 8 параметров, отличающих подгруппу пациентов с высоким генетическим риском развития алопеции 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_x — классификационное решение, F_1-F_n — лабораторно определенные значения отобранных негенетических параметров, a_1-a_n — коэффициенты, характеризующие

Таблица 1. Характеристика негенетических факторов в группах и подгруппах андрогенной алопеции относительно контрольной группы: медианные значения (в скобках указан диапазон 25-го и 75-го процентиля)

Анализируемые негенетические параметры	Контрольная группа $n=25$	Андрогенная алопеция		
		Общая группа $n=50$	Подгруппа с низким уровнем генетического риска $n=25$	Подгруппа с высоким уровнем генетического риска $n=25$
Тестостерон общий, нмоль/л	24,0 (18,0–39,0)	16,9 (12,2–30,0)	16,9 (8,9–27,0)	17,9 (13,5–32,0)
Тестостерон свободный, пг/мл	20,0 (11,0–23,0)	17,0 (11,0–27,1)	12,0 (6,0–22,0)	20,5 (15,0–35,0)
Дигидротестостерон, пг/мл	632,2 (547,1–742,5)	795,5 ^a (562,9–1400,0)	795,6 ^b (589,9–1413,4)	759,1 (533,7–1166,7)
17-ОН-прогестерон, нг/мл	1,0 (0,9–1,5)	1,5 ^a (1,0–1,9)	1,6 ^b (1,0–2,0)	1,4 (1,0–1,7)
Андростендион, нг/мл	2,0 (1,0–2,5)	2,0 (1,0–3,1)	2,1 (1,1–3,9)	2,0 (1,0–3,0)
ГСПГ, нмоль/мл	36,0 (19,0–55,0)	31,5 (21,0–45,0)	32,5 (25,0–51,7)	29,1 (19,0–45,0)
ТТГ, мкМЕ/мл	2,3 (1,9–2,9)	2,1 (1,9–3)	2,0 (1,8–3,0)	2,3 (2,0–3,0)
Инсулин, мкЕД/мл	14,0 (9,0–19,0)	6,0 ^a (3,0–12,4)	5,1 ^b (3,0–12,4)	7,5 ^c (3,0–12,9)
Глюкоза, ммоль/л	4,8 (4–5,1)	4,8 (4,1–5)	4,5 (4–5)	4,9 (4,3–5)
Холестерин общий, ммоль/л	4,7 (4,0–5,5)	4,1 (3,8–5,0)	4,6 (4,0–5,1)	4,0 (3,7–5,0)
Mg, ммоль/л	0,99 (0,89–1,0)	0,85 ^a (0,75–0,95)	0,85 ^b (0,79–0,92)	0,83 ^c (0,75–0,99)
Ca, ммоль/л	2,39 (2,30–2,45)	2,39 (2,30–2,50)	2,39 (2,30–2,50)	2,40 (2,30–2,50)
Zn, мкмоль/л	14,0 (12,0–15,0)	10,6 ^a (9,0–13,5)	10,0 ^b (8,6–13,2)	12,0 (9,3–14,1)
Cu, мкмоль/л	19,0 (17,0–20,0)	11,0 ^a (9,9–13,4)	11,0 ^b (10,0–17,0)	10,5 ^c (9,4–13,3)
Se, мкг/л	1,0 (0,9–1,0)	0,8 ^a (0,6–1,0)	0,7 ^b (0,5–1,0)	0,8 ^c (0,6–1,0)
Fe, мкмоль/л	26,0 (19,0–28,0)	21,4 (16,4–28,6)	23,9 (15,0–26,0)	21,2 (19,0–29,0)
Ферритин, нг/мл	198 (125–265)	177 (99–265)	160 (85–281)	188 (112–230)
Витамин B ₁₂ , пг/мл	369 (290–741)	312 ^a (200–398)	318 (204–415)	275 ^c (177–357)
Витамин D, нг/мл	45 (35–59)	21 ^a (19–32)	20 ^b (19–41)	21,5 ^c (18–29)
Витамин E, мкг/мл	9,0 (8,0–13,0)	5,6 ^a (4,0–10,0)	6,0 ^b (4,0–11,0)	5,4 ^c (4,4–10,0)
Фолиевая кислота, нг/мл	10,0 (9,0–12,0)	4,7 ^a (3,0–9,5)	4,0 ^b (3,0–9,5)	5,5 ^c (3,1–11,0)

Примечание. ^a — $p < 0,05$ при сравнении группы наблюдения и контрольной группы; ^b — $p < 0,05$ при сравнении подгруппы пациентов с низким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции и контрольной группы; ^c — $p < 0,05$ при сравнении подгруппы пациентов с высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции и контрольной группы. ГСПГ — глобулин, связывающий половые гормоны, ТТГ — тиреотропный гормон.

Таблица 2. Значения нормирующих коэффициентов и констант, используемых в многопараметрической модели андрогенной алопеции

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

ющие вклад каждого из них в дискриминации подгрупп, b — поправочная константа (табл. 2). Рассчитываемое с их использованием максимальное значение классификационной функции указывало на принадлежность к определенной группе (подгруппе) наблюдения, соответствующей отсутствию андрогенной алопеции (A₀), ранним (A_{I–II}) или выраженным (A_{III–IV}) 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 и лишь 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.

Нежелательные явления

Нежелательных явлений зарегистрировано не было.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Полученные результаты развивают представления о многофакторности патогенеза андрогенной алопеции, возникающей при сочетании генетической предрасположенности, гормональных изменений и микронутриентных нарушений. При этом впервые показана неидентичность перечня негенетических факторов, действующих у пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска данного заболевания, что свидетельствует в пользу вариативности патогенетических путей, ведущих к патологической утрате волос. Построенная на данной основе многопараметрическая модель позволила связать развитие андрогенной алопеции с дефицитом ряда витаминов и микроэлементов, но слабо объясняла прогрессирование данного заболевания, вероятно, определяемое неучтенными в настоящем исследовании факторами.

Обсуждение основного результата исследования

Анализ генетических причин возникновения андрогенной алопеции подтвердил значимость пяти однонуклеотидных полиморфизмов, предварительно выбранных из числа 50 хромосомных маркеров [5] и в дальнейшем использованных для построения нейросети, ориентированной на оценку риска возникновения данного заболевания [6]. Подобный подход продемонстрировал высокую чувствительность, позволив объяснить генетическую природу заболевания у большинства пациентов с диагностированной андрогенной алопецией, но характеризовался относительно низкой специфичностью, определяемой констатацией генетического риска утраты волос примерно у половины включенных в исследование здоровых добровольцев. Тем самым полученный результат является еще одним аргументом в пользу взгляда на андрогенную алопецию как заболевание, возникающее только при суперпозиции факторов генетического риска и реализующих его негенетических (средовых) факторов [3].

Биноминимальное распределение степени генетического риска в обследуемой группе позволило не только идентифицировать ряд негенетических факторов, значимых в патогенезе данного заболевания, но и впервые показать их неполную идентичность в выделенных подгруппах. Так, важным наблюдением представляется отсутствие значимости гормонального фактора (в том числе отсутствие статистически значимого повышения концентрации гормона дигидротестостерона) у пациентов с высоким уровнем генетического риска, развитие заболевания у которых, вероятно, определяется гормоннезависимыми нарушениями функционирования волосяного фолликула [6]. В свою очередь гормонозависимый характер данного заболевания подтвержден у пациентов с низким уровнем генетического риска, у которых наиболее вероятным механизмом утраты волос является воздействие дигидротестостерона и других стероидных гормонов через андрогенный рецептор с последующим связыванием комплекса лиганд–рецептор с генетическими элементами отклика на андрогены, располагающимися в промоторах генов-мишеней [13].

В качестве другого важного негенетического фактора, принимающего участие в возникновении и развитии андрогенной алопеции, результаты проведенного исследования позволяют назвать микронутриентную недостаточность, определяемую множественными дефицитами

витаминов и микроэлементов. В частности, после устранения мультиколлинеарности в качестве универсального дефицитного микроэлемента идентифицирован *Cu*, что согласуется с формирующимися представлениями о нем как одним из ключевых факторов развития андрогенной алопеции [14]. При этом роль *Cu* в патогенезе данного заболевания может объясняться его присутствием в активном центре металлоферментов, принимающих участие в синтезе коллагена, меланина и защите от окислительного стресса [15], а также участием в дифференциации и пролиферации клеток сосочка волосяного фолликула [16]. Другим микроэлементом, наиболее значимым при построении модели в группе пациентов низкого генетического риска, явился *Mg*, являющийся кофактором более 300 ферментных систем, связанных в том числе с биосинтезом нуклеотидов и транспортом витамина *D* [17]. В свою очередь дефицит названного витамина, универсально регистрируемый при андрогенной алопеции, оказался наиболее значимым при построении модели в группе высокого генетического риска, где его вовлеченность в развитие андрогенной алопеции традиционно объясняется его активирующим взаимодействием с *VDR*-рецептором на клетках волосяного фолликула, находящегося в фазе анагена [1–3]. На этом фоне дефицит фолиевой кислоты оказался наиболее значим в подгруппе низкого генетического риска, где обусловленные дефицитом данного витамина нарушения биосинтеза нуклеотидов и эпигенетической регуляции [18, 19] могут вести к нарушениям цитодифференцировки клеток волосяного фолликула независимо от значимых аллельных вариантов однонуклеотидных полиморфизмов [16].

Полученные результаты положены в основу двухэтапной многопараметрической модели, наиболее полно описывающей индивидуальные причины возникновения и развития андрогенной алопеции. При этом суть подобного подхода заключалась в первоначальной оценке степени генетического риска развития данного заболевания (с использованием нейросети) и последующем анализе совокупности негенетических факторов, наиболее значимых в подгруппах низкого и высокого генетического риска (с использованием дискриминантного анализа). Предложенная модель продемонстрировала высокие показатели специфичности, позволяя четко дифференцировать случаи отсутствия заболевания, а также с высокой эффективностью описывала его ранние формы, что характеризует учитываемые негенетические факторы как важные триггеры, реализующие генетические риски развития андрогенной алопеции.

Ограничение исследования

Выявленное ограничение предложенной многопараметрической модели заключается в ее недостаточной эффективности при описании выраженных форм андрогенной алопеции, что может объясняться отсутствием среди учитываемых факторов молекулярных механизмов, обуславливающих выраженное нарушение кровотока в коже головы, истончение скальпа и другие дегенеративные изменения, характерные для прогрессирующего патологического выпадения волос [1, 2].

Заключение

Полученные данные впервые демонстрируют различную значимость негенетических факторов в группах пациентов с низким и высоким уровнем генетического риска развития андрогенной алопеции. При этом роль гормонального фактора показана только в подгруппе с низким генетическим риском развития данного заболевания, в то время как высокий генетический риск (и определяемые им нарушения функционирования генома) может вести к патологической утрате волос и при нормальном уровне андрогенов. Кроме того, в качестве важных причин возникновения и развития андрогенной алопеции выявлены множественные дефициты микроэлементов и витаминов, в разных сочетаниях реализующих низкий или высокий риск данного заболевания. Совместный учет определенных генетических и негенетических факторов в рамках предложенной двухэтапной многопараметрической модели обеспечивает высокий уровень соответствия текущему статусу пациента, что формирует основу для разработки на данной основе схем персонализированной терапии андрогенной алопеции.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллекттива.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Выражение признательности. Авторы выражают искреннюю благодарность пациентам и здоровым добровольцам, принявшим участие в проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Randall VA. *Molecular basis of androgenetic alopecia*. In: Trüeb RM, Tobin DJ (eds). *Aging hair*. Springer, Berlin; 2010. Pp. 9–24.
2. Lolli F, Pallotti F, Rossi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017;57(1):9–17. doi: 10.1007/s12020-017-1280-y.
3. Pirastu N, Joshi PK, de Vries PS, et al. GWAS for male-pattern baldness identifies 71 susceptibility loci explaining 38% of the risk. *Nat Commun*. 2017;8(1):1584. doi: 10.1038/s41467-017-01490-8.
4. Yap CX, Sidorenko J, Wu Y, et al. Dissection of genetic variation and evidence for pleiotropy in male pattern baldness. *Nat Commun*. 2018;9(1):5407. doi: 10.1038/s41467-018-07862-y.
5. Marcińska M, Pośpiech E, Abidi S, et al. Evaluation of DNA variants associated with androgenetic alopecia and their potential to predict male pattern baldness. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127852. doi: 10.1371/journal.pone.0127852.
6. Kondrakhina IN, Verbenko DA, Zatevalov AM, et al. SNP variation in male pattern hair loss in Russians with different dihydrotestosterone levels. *Meta Gene*. 2019;19(2):219–224. doi: 10.1016/j.mgene.2018.12.011.
7. Sánchez P, Serrano-Falcón C, Torres JM, et al. 5 α -Reductase isozymes and aromatase mRNA levels in plucked hair from young women with female pattern hair loss. *Arch Dermatol Res*. 2018;310(1):77–83. doi: 10.1007/s00403-017-1798-0.
8. Jin W, Zheng H, Shan B, Wu Y. Changes of serum trace elements level in patients with alopecia areata: a meta-analysis. *J Dermatol*. 2017;44(5):588–591. doi: 10.1111/1346-8138.13705.

9. Fawzi MM, Mahmoud SB, Ahmed SF, et al. Assessment of vitamin D receptors in alopecia areata and androgenetic alopecia. *J Cosmet Dermatol*. 2016;15(4):318–323. doi: 10.1111/jocd.12224.
10. Mahmood L. The metabolic processes of folic acid and Vitamin B12 deficiency. *J Health Res Rev*. 2014;1(1):5–9. doi: 10.4103/2394-2010.143318.
11. Lie C, Liew CF, Oon HH. Alopecia and the metabolic syndrome. *Clin Dermatol*. 2018;36(1):54–61. doi: 10.1016/j.clindermatol.2017.09.009.
12. STATISTICA help [Internet], 2019. STATISTICA automated neuronal networks overviews — network types. The multilayer perceptron neural networks. [cited 2019 Apr 11] Available from: <http://documentation.statsoft.com/STATISTICAHelp.aspx?path=SANN/Overview/SANNNeuralNetworksAnOverview>.
13. Panda S. A review on regulation of gene in eukaryotes. *Int J Bioassays*. 2016;5(8):4729–4732. doi: 10.21746/ijbio.2016.08.001.
14. Skalnaya MG. Copper deficiency a new reason of androgenetic alopecia? In: Pharmacology and nutritional intervention in the treatment of disease. Chapter 17. 2014. Pp. 337–348. doi: 10.5772/58416.
15. Rajendrasingh JR. Role of non-androgenic factors in hair loss and hair regrowth. *J Cosmo Trichol*. 2017;3:118. doi: 10.4172/2471-9323.1000118.
16. Madaan A, Verma R, Singh AT, Jaggi M. Review of hair follicle dermal papilla cells as in vitro screening model for hair growth. *Int J Cosmet Sci*. 2018;40(5):429–450. doi: 10.1111/ics.12489.
17. Almohanna HM, Ahmed AA, Tsatalis JP, Tosti A. The role of vitamins and minerals in hair loss: a review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2019;9(1):51–70. doi: 10.1007/s13555-018-0278-6.
18. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr*. 2012;3(1):21–38. doi: 10.3945/an.111.000992.
19. Hochfeld LM, Anhalt T, Reinbold CS, et al. Expression profiling and bioinformatic analyses suggest new target genes and pathways for human hair follicle related microRNAs. *BMC Dermatol*. 2017;17(1):3. doi: 10.1186/s12895-017-0054-9.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

***Вербенко Дмитрий Анатольевич**, к.б.н. [*Dmitry A. Verbenko*, PhD]; Адрес: 107076, Москва, ул. Короленко, д. 3, стр. 6 [address: 3 bld 6, Korolenko street, 107076 Moscow, Russia], тел.: +7 (499) 785-20-74, e-mail: verbenko@cnikvi.ru, SPIN-код: 8261-6561, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1104-7694>

Кондрахина Ирина Никифоровна, к.м.н. [*Irina N. Kondrakhina*, MD, PhD]; e-mail: kondrakhina77@gmail.com, SPIN-код: 8721-9424, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3662-9954>

Затевалов Александр Михайлович, д.б.н. [*Alexander M. Zatevalov*, PhD]; e-mail: zatevalov@mail.ru, SPIN-код: 3718-6127, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>

Кубанов Алексей Алексеевич, д.м.н., профессор чл.-корр. РАН [*Alexey A. Kubanov*, MD, PhD, Professor]; e-mail: kubanov@list.ru, SPIN-код: 8771-4990, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7625-0503>

Дерябин Дмитрий Геннадиевич, д.м.н., профессор [*Dmitrij G. Deryabin*, MD, PhD, Professor]; e-mail: dgderyabin@yandex.ru, SPIN-код: 8243-2537, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2495-6694>