



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

CAROLINE BITTENCOURT

EFLÚVIO TELÓGENO CRÔNICO: ANÁLISE CLÍNICA, LABORATORIAL,
HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

*CHRONIC TELOGEN EFFLUVIUM: CLINICAL, LABORATORY, HISTOLOGICAL AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS*

CAMPINAS
2015

CAROLINE BITTENCOURT

EFLÚVIO TELÓGENO CRÔNICO: ANÁLISE CLÍNICA, LABORATORIAL,
HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA

*CHRONIC TELOGEN EFFLUVIUM: CLINICAL, LABORATORY, HISTOLOGICAL AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL ANALYSIS*

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de
Doutora em Ciências Médicas, na área de concentração Anatomia
Patológica.

*Doctoral thesis presented to the School of Medical Sciences,
University of Campinas for obtaining the title of Doctor in Medical
Sciences, concentration area of Anatomic Pathology.*

ORIENTADORA: PROF.^a DRA MARIA LETÍCIA CINTRA

COORIENTADORA: PROF.^a DRA APARECIDA MACHADO DE MORAES

Este exemplar corresponde à versão final
da tese defendida por Caroline Bittencourt
e orientada pela Prof.^a Dra. Maria Letícia
Cintra.

CAMPINAS
2015

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP. 2010/19678-9

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

B548e Bittencourt, Caroline, 1973-
Eflúvio telógeno crônico : análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-
histoquímica / Caroline Bittencourt. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Maria Leticia Cintra.
Coorientador: Aparecida Machado de Moraes.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Alopecia. 2. Imunohistoquímica. 3. Proliferação de células. I. Cintra, Maria
Leticia, 1951-. II. Moraes, Aparecida Machado de, 1950-. III. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Chronic telogen effluvium : clinical, laboratory, histological and
immunohistochemical analyses

Palavras-chave em inglês:

Alopecia
Immunohistochemistry
Cell proliferation

Área de concentração: Anatomia Patológica

Titulação: Doutora em Ciências Médicas

Banca examinadora:

Maria Leticia Cintra [Orientador]
Fabricio Passador Santos
Marcelo Henrique Napimoga
Patricia Sabino de Matos
Elenir Macedo de Souza

Data de defesa: 11-12-2015

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

CAROLINE BITTENCOURT

ORIENTADORA: Prof.ª Dra. Maria Letícia Cintra

COORIENTADORA: Prof.ª Dra. Aparecida Machado de Moraes

MEMBROS:

1. PROF.ª DRA. MARIA LETÍCIA CINTRA

2. PROF. DR. FABRICIO PASSADOR SANTOS

3. PROF. DR. MARCELO HENRIQUE NAPIMOGA

4. PROF.ª DRA. PATRÍCIA SABINO DE MATOS

5. PROF. DR. ELEMIR MACEDO DE SOUZA

Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 11/12/2015

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Edson e Alzira, minhas irmãs Adriana e Michele e minha avó Luiza, que sempre estiveram presentes na minha vida, apoiando-me, incentivando-me e acreditando no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre me ajuda em todas as jornadas da minha vida.

À minha orientadora, Prof.^a Dra. Maria Letícia Cintra, que com seu conhecimento, sua generosidade e dedicação, sempre foi minha grande incentivadora, mesmo antes do início deste projeto, enxergando minhas potencialidades, ajudando-me a superar as dificuldades e a crescer como pessoa.

À minha coorientadora Prof.^a Dra. Aparecida Machado de Moraes, pela ajuda nos momentos de dificuldade de coleta dos pacientes.

À Dra. Daniela Andrade Ferraro, pela ajuda na coleta e análise dos dados, e por estar sempre presente em todo o processo. Aprendemos muitas coisas juntas.

À Dra. Tânia B.C. Soares, pelos ensinamentos e pelo auxílio em toda a parte da análise dos marcadores imuno-histoquímicos.

À estaticista Creuza Maria Roveri dal Bó, pela assessoria estatística durante toda a tese.

Ao Prof. Dr. Renato Marchi, pela ajuda no teste de ansiedade.

À Leticia Fogagnolo, que fez todos os procedimentos do seu doutorado na mesma época que eu, e assim ficamos amigas, compartilhando medos, ansiedades, alegrias, até a finalização com êxito dos nossos trabalhos.

À técnica do laboratório de anatomia patológica Luzia Reis e à bióloga Ana Claudia Sparapani Piazza, que realizaram o preparo de todos os fragmentos para análise histológica e imuno-histoquímica.

À Maria do Carmo Machado da Silva, secretária da subcomissão da Pós-Graduação, por toda ajuda e atenção em todos os momentos.

À Marcia Aguiar dos Santos, técnica administrativa do programa de Ciências Médicas, pelas orientações sobre os procedimentos durante todo o processo.

Ao técnico de imagem Adilson Abílio Piazza, pela competência e pelo auxílio na documentação da tese e dos artigos científicos.

Aos 44 pacientes que fizeram parte deste estudo, submetendo-se a biopsia e doando parte do seu tempo para a realização dessa pesquisa.

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), FAEPEX (Fundo de Apoio ao Ensino, à Pesquisa e à Extensão) e ao CNPq (Centro Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pelo suporte financeiro para a realização do projeto.

RESUMO

O eflúvio telógeno crônico (ETC), frequentemente confundido com a alopecia androgenética feminina inicial (AAGfi), é pouco estudado e é diagnóstico de exclusão. Ambos acometem a mesma faixa etária e na AAGfi a queda de cabelos pode ser difusa e episódica, como no ETC. A distinção requer associação dos achados clínicos e histológicos, e isso é importante porque o prognóstico e tratamento dessas condições são diferentes. Um método não invasivo pode ser usado para diferenciá-los. Nele, são contados e medidos os fios que se desprendem à lavagem dos cabelos após 5 dias sem lavá-los. Na AAG há aumento do número de fios curtos (pseudovelos), contando-se mais de 10% de fios ≤ 3 cm. Quando o número de fios desprendidos é ≥ 100 e mais de 90% é >3 cm, o diagnóstico é de ETC. A patogenia do ETC proposta é a de teloptose prematura e sincronização do ciclo folicular. A redução local do fluxo sanguíneo, causando transformação precoce do folículo anágeno em telógeno, poderia determinar a queda excessiva dos fios.

O objetivo deste trabalho foi analisar os aspectos clínicos, laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos do ETC, com vistas à caracterização da entidade e investigação da patogênese.

Participaram do estudo 46 pacientes do sexo feminino, com diagnóstico clínico de ETC (N=20) e AAGfi (N=17), sendo o grupo-controle composto por 9 pacientes sem doenças do couro cabeludo. Todas responderam a um questionário-padrão e foram avaliadas clinicamente. Os exames laboratoriais foram solicitados e coletou-se biopsia do couro cabeludo. Adicionalmente, nos grupos com ETC e AAGfi foram contados os cabelos pelo método de lavagem. Nos espécimes histológicos foram feitas análises morfométricas dos folículos pilosos e imuno-histoquímicas, com o uso dos anticorpos anti- CD31, VEGF e MIB-1/Ki67.

O resultado laboratorial que apresentou diferença estatística foi o do ferro sérico: maior número de pacientes com ETC apresentaram valores $< 70 \mu\text{g/dL}$ comparando-se com o grupo AAGfi. A contagem média dos cabelos foi de 438 (156 a 1239) no grupo ETC e em todas as amostras a porcentagem de fios pseudovelos foi $<10\%$. No grupo AAGfi, a contagem média foi de 215 (59 a 623); em 16 amostras, o número de pseudovelos foi $>10\%$. À histomorfometria observou-se miniaturização dos folículos no grupo AAGfi, mas não no ETC ou no controle. A análise imuno-histoquímica demonstrou correlação positiva entre o

índice proliferativo e os achados histológicos indicativos de miniaturização folicular no grupo AAGfi. Neste, os valores da densidade das áreas VEGF-positivas eram significativamente maiores, seguindo-se os do ETC e, por último, os do controle.

Nossos resultados ratificam o caráter singular do ETC, distinto da AAG desde o início. O método de lavagem mostrou-se útil para distinguir as entidades, podendo evitar a biopsia. Os níveis séricos de ferro apresentam-se como ferramenta diagnóstica adicional do ETC. Para o ETC, os achados dão suporte ao mecanismo proposto de liberação precoce do cabelo telógeno e sincronização do ciclo. Na AAG, os resultados se alinham ao mecanismo patogênico vigente de aceleração do ciclo, com elevados valores de Ki-67 e VEGF, menor tempo para a maturação folicular e conseqüente miniaturização folicular progressiva.

Palavras-chave: patogênese, alopecia, VEGF, CD31, Ki-67.

ABSTRACT

Chronic telogen effluvium (CTE) is a diagnosis of exclusion; it is often confused with initial female androgenetic alopecia (ifAGA), and is little studied. Both involve the same age range and, in ifAGA, hair loss may be diffuse and episodic, as in the CTE. The distinction is important because prognosis and treatment of these conditions are different; it requires association between clinical and histological findings. A non-invasive method can be used to differentiate them. After five days without head washing, hair shafts that shed during shampooing, are counted and measured. In AGA there is an increase in the number of short (<3 cm) hairs (pseudo-vellus), accounting for more than 10% of total. When the number of shedding hairs is ≥ 100 and more than 90% is > 3 cm, the diagnosis is CTE. The putative pathogenesis of CTE is premature teloptose and synchronization of follicular cycle. The local reduction of blood flow, causing premature shift of anagen follicles in telogen, could determine excessive hair loss. The objective of this study was to analyze the clinical, laboratory, histological and immunohistochemical features of CTE, in order to characterize the entity and investigate its pathogenesis.

The study included 46 female patients with a clinical diagnosis of CTE (N = 20) and ifAGA (N = 17), and the control group, consisting of 9 patients without scalp diseases. All answered a standardized questionnaire and were clinically evaluated. Laboratory tests were requested and a scalp biopsy was obtained. In addition, the hair samples of CTE and ifAGA patients were counted and measured, and the results analyzed by washing method. Histological specimens were studied through morphometry of hair follicles on HE- and CD31-, VEGF- and MIB-1 / Ki67- stained sections. The laboratory result showing significant differences was the serum iron: more patients with CTE presented values <70 mg / dL, compared with those of ifAGA group. The average hair count was 438 (156-1239) in CTE group and, in all samples, the percentage of pseudo-vellus hairs was <10%. In ifAGA group, the average score was 215 (59-623); in 16 samples, the number of pseudo-vellus was > 10%. On histomorphometry, significant follicle miniaturization was observed within ifAGA group but not in CTE or control. In the immunohistochemical analysis a positive correlation was found between the proliferative index and the histological findings of follicular miniaturization in ifAGA group. The values of the density of VEGF-positive areas were significantly higher in ifAGA, followed by

CTE-and, finally, the control group. Our results confirm CTE as a unique entity, distinct from AGA from the start. The washing method proved useful to distinguish the entities and may avoid biopsy. Serum iron levels present as an additional diagnostic tool for CTE. The findings support the proposed mechanism of early release of telogen hair and cycle synchronization for CTE. In ifAGA, the results align to the current pathogenic mechanism of follicles cycle acceleration with high values of Ki-67 and VEGF, progressive time shortening for maturation and consequent gradual miniaturization.

Keywords: pathogenesis, alopecia, VEGF, CD31, Ki-67.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. a-fase anágena; b-fase catágena; c-fase telógena [H&E, aumento original x40 (a, b) e x100 (c)]......21
- Figura 2. folículo terminal (seta preta), com bulbo folicular volumoso e inserido na tela subcutânea, folículo intermediário (seta vermelha) e folículo miniaturizado (seta azul) (H&E, aumento original x40)......22
- Figura 3. folículo piloso; parte permanente (P) representada pelo infundíbulo (INF) e istmo (IST) e parte cíclica (C) à esquerda, que é representada pela porção progenitora (PROG) e pelo bulbo (maior aumento à direita) (H&E, aumento original x40)......24
- Figura 4. corte longitudinal do couro cabeludo, visão macroscópica. Nota-se uma unidade folicular com três folículos pilosos (setas)......29
- Figura 5. corte horizontal do couro cabeludo (diagrama)......30
- Figura 6. observam-se 2 unidades foliculares, com folículos terminais, intermediários, velos, glândulas sebáceas e feixes do músculo piloerector (H&E, aumento original x40)......31
- Figura 7. paciente com ETC, cabelos grossos e volumosos, ausência de rarefação capilar.50
- Figura 8. paciente com AAGF, apresentando rarefação capilar frontoparietal.....58
- Figura 9. bainha fibrosa perifolicular: os pequenos vasos, imunomarcados pela diaminobenzidina, em marrom, para o anticorpo anti- CD34, se misturam aos dendrócitos de tipo 2, o que os torna menos distintos, relativamente aos imunomarcados pelo CD31 (vistos na Fig. 10) (método da imunoperoxidase, aumento original x400)......88
- Figura 10. bainha fibrosa perifolicular: pequenos vasos imunomarcados pelo CD31, alguns deles apontados pelas setas (imunoperoxidase, com diaminobenzidina, aumento original x400)......89
- Figura 11. unidade folicular na zona ceratógena em corte imunocorado pelo VEGF: observam-se 5 folículos pilosos (asteriscos) em que o citoplasma de diversas células epiteliais da bainha externa folicular expressa o marcador (técnica da imuno-histoquímica, método da fosfatase alcalina/anti-fosfatase alcalina, revelação com o vermelho permanente, aumento original x100)......90
- Figura 12. unidade folicular na zona ceratógena em corte imunomarcado pelo MIB1/ Ki67: observam-se 4 folículos pilosos em que os núcleos (parte deles apontada pelas setas) de diversas células epiteliais da bainha externa apresentam-se corados pela diaminobenzidina (método da imunoperoxidase, aumento original x400)......91

Figura 13. unidade folicular contendo um único folículo piloso terminal, glândulas sebáceas e feixes de músculo eretor do pelo. A seta indica qual área nessa unidade contém o maior número de vasos (*hot spot*), sendo que o DAB (diaminobenzidina) é o revelador, que cora os vasos em marrom (Imuno-histoquímica para CD31, aumento original x100).....92

Figura 14. análise da microdensidade vascular pelo método de Chalkley- nesta imagem 4 pontos são contados, a saber, os que coincidiram com a parede (mas não o lume) do vaso ou se encostaram a uma célula endotelial marcada (Imuno-histoquímica para CD31, aumento original x400).....93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Alopecias cicatriciais primárias.....	34
Quadro 2. Alopecias cicatriciais secundárias.....	35
Quadro 3. Alopecias não cicatriciais.....	48
Quadro 4. Medicções associadas à alopecia.....	73
Quadro 5. Número de folículos, sexo e idade dos indivíduos nas mais frequentes formas de alopecia não cicatricial.....	81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	- Alopecia areata
AAG	- Alopecia androgenética
AAGFi	- Alopecia androgenética feminina inicial
AFFPM	- Alopecia fibrosante frontal da pós-menopausa
CD	- Celulite dissecante
CD4+	- Linfócito CD4+ (<i>cluster of differentiation</i>)
CD8+	- Linfócito CD8+ (<i>cluster of differentiation</i>)
CD31	- Antígeno CD31 (<i>cluster of differentiation</i>)
CD34	- Antígeno CD34 (<i>cluster of differentiation</i>)
c-flt	- Receptor tirosina kinase do VEGF flt
cm	- Centímetro
DAB	- Tetraidrocloroeto de diaminobenzidina
DHEA	- Deidroepiandrosterona
DNCB	- Dinitroclorobenzeno
DPCP	- Difenilciclopropenona
ET	- Eflúvio telógeno
ETC	- Eflúvio telógeno crônico
FAN	- Fator antinuclear
FD	- Foliculite decalvante
FSH	- Hormônio folículo-estimulante
Go	- Fase do ciclo celular G0
HLA +	- Antígeno leucocitário humano
KDR	- Receptor tirosina kinase do VEGF
Ki-67	- Antígeno nuclear Ki-67
LE	- Lúpus eritematoso
LECC	- Lúpus eritematoso cutâneo crônico
LED	- Lupus eritematoso discoide

LH	- Hormônio luteinizante
LP	- Líquen plano
LPP	- Líquen plano pilar
mg	- Miligrama
mj/cm ²	- Microjaulas por centímetro quadrado
mL	- Mililitro
mm	- Milímetro
MTX	- Metotrexate
ng/mL	- Nanograma por mililitro
PEC	- Proliferação de células endoteliais
SADBE	- Dibutilester do ácido esquálico
SAHA	- <i>Seborrhea, acne, hirsutism and alopecia</i>
SDHEA	- Sulfato de deidroepiandrosterona
TGO (AST)	- Transaminase glutâmica oxalacética
TGP (ALT)	- Transaminase glutâmica pirúvica
TSH	- Hormônio estimulador da tireoide
T4 livre	- Tiroxina livre
VDRL	- <i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VEGF	- Fator de crescimento endotelial vascular
VO	- Via oral
x/semana	- Vezes por semana
μm	- Micrômetro
S	- Fase do ciclo celular S (síntese)
>	- Maior
<	- Menor
≥	- Maior ou igual
≤	- Menor ou igual
+/-	- Mais ou menos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
1.1. Alopecias – generalidades	18
1.1.1. O folículo piloso	20
1.1.2. Fases de crescimento folicular.....	24
1.1.3. Considerações técnicas.....	26
2. REVISÃO DA LITERATURA ..	33
2.1. Alopecias cicatriciais	33
2.1.1. Alopecia cicatricial primária.....	36
2.1.2. Alopecia cicatricial secundária.....	47
2.2. Alopecias não cicatriciais.....	47
2.2.1. Eflúvio telógeno	48
2.2.1.1. Eflúvio telógeno agudo.....	49
2.2.1.2. Eflúvio telógeno crônico	50
2.2.2. Alopecia androgenética de padrão feminino	55
2.2.3. Alopecia areata	61
2.2.4. Alopecias congênitas	72
2.2.5. Alopecia associada a doença endócrina.....	72
2.2.6. Alopecia por drogas.....	72
2.2.7. Alopecia de tração	77
2.2.8. Alopecias secundárias ao uso de procedimentos estéticos	78
2.2.9. Eflúvio anágeno.....	79
2.2.10. Síndrome do anágeno frouxo.....	79
2.2.11. Tricotilomania	80
2.3. Microvascularização e proliferação das células epiteliais do folículo piloso	81
3. OBJETIVOS	84
3.1. Objetivo geral	84
3.2. Objetivos específicos	84
4. MATERIAIS E MÉTODOS	85
5. RESULTADOS	94
5.1. Capítulo I.....	94
5.2. Capítulo II.....	101
6. DISCUSSÃO	120
7. CONCLUSÃO	126
REFERÊNCIAS	127
ANEXOS	151

ANEXO I. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	151
ANEXO II. Ficha do paciente	154
ANEXO III. Escala de avaliação de ansiedade de Hamilton (Ham-A)	160
ANEXO IV. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp	162
ANEXO V. Autorização dos periódicos (<i>Copyright</i>) para inclusão dos artigos publicados na tese	163

1. INTRODUÇÃO

1.1. ALOPECIAS - GENERALIDADES

O cabelo é considerado um componente muito importante na aparência geral de um indivíduo. A perda difusa de cabelos é uma queixa muito comum no consultório do dermatologista e causa de significativo impacto psicológico. Homens e mulheres consideram a perda de cabelos uma experiência estressante que implica em ansiedade e perda da autoestima e confiança. O patologista tem papel essencial na abordagem das alopecias porque o diagnóstico precoce é crítico, já que o tratamento pode interromper a perda folicular permanente. Contudo, interpretar os achados histológicos de biopsias de couro cabeludo com alopecia requer o conhecimento da complexa histologia normal nas diferentes fases evolutivas dos folículos pilosos, bem como dos processos gerais que afetam esta região da pele. Mas, apenas obedecer a estes quesitos, não torna esta tarefa mais simples. Para começar, os patologistas estão pouco familiarizados com os achados do couro cabeludo com alopecia, porque não recebem muitas amostras na sua prática diária. As alopecias difusas, por exemplo, são infreqüentemente investigadas pela coleta de biopsias, pois se tenta, primeiro, apenas pela avaliação clínica, alcançar o diagnóstico e tratá-las. Ademais, os achados morfológicos são, muitas vezes, sutis, especialmente nas alopecias não cicatriciais. Também, a caracterização do quadro de alopecia cicatricial é subjetiva e de baixa reprodutibilidade. Desta forma, como em todas as áreas da dermatologia, é necessária uma estreita cooperação entre o clínico e o patologista para que se obtenha o diagnóstico nosológico. Médicos não dermatologistas e, portanto, sem o necessário treino semiológico, também coletam biopsias de couro cabeludo. Desconhecendo o vasto espectro etiopatogênico das doenças do couro cabeludo, não encaminham as hipóteses pertinentes, tornando ainda mais árdua a avaliação histológica. Para dificultar, formas distintas de alopecia freqüentemente se associam.

As alopecias são afecções que provocam queda dos cabelos ou pelos do corpo. Elas podem causar um grande desconforto para os pacientes, principalmente quando acometem o couro cabeludo. Isso ocorre porque os cabelos têm uma importante função psicológica.

Uma pesquisa¹ realizada na Europa com homens que possuíam vários graus de calvície devido à alopecia androgenética (AAG) mostrou que, independente do grau de calvície, os homens pesquisados relataram efeitos negativos devido à perda dos cabelos. Quanto maior a perda dos cabelos, menor foi a satisfação com a aparência, maior a preocupação com a queda dos fios e com a sensação de estar envelhecendo. Esses homens também se mostraram inseguros. O trabalho sugere que os homens com perda dos cabelos, mesmo os que não procuraram tratamento, são afetados negativamente em termos de angústia, preocupação e falta de satisfação com a aparência.

Outro estudo realizado em 1991², por Van Der Donk e colaboradores, compararam mulheres com AAG feminina (graus I e II da classificação de Ludwig), mulheres com outros problemas dermatológicos não crônicos (grupo controle) e homens com AAG masculina. Os resultados evidenciaram que as mulheres com AAG apresentaram mais queixas com relação a seu problema do que o grupo controle. Elas mostraram também um maior desinteresse em relação às outras pessoas e aos seus problemas. Além disso, as pacientes com AAG obtiveram maior pontuação na inadequação social, ou seja, apresentavam angústia com o contato social e procuravam evitá-lo. Elas mostraram menor avaliação positiva de si próprias com relação às atitudes no trabalho, à flexibilidade e à capacidade de adaptação em comparação aos homens com AAG. Observou-se também um maior desajustamento psicológico, com humor depressivo, ansiedade inespecífica e sentimentos de insuficiência. Mais da metade das pacientes pesquisadas com AAG preocupava-se com a perda de seus cabelos, e mais de um terço se sentia menos atraente e envergonhada. A porcentagem de pontos dessas pacientes foi significativamente maior para cada problema do questionário quando comparada às respostas de mulheres com outras doenças dermatológicas e de homens com AAG. Elas se preocupavam aproximadamente cinco vezes mais com sua queda de cabelos do que os homens com o mesmo problema. Também se sentiam mais desconfortáveis na presença de homens e mulheres que os homens com AAG.

Embora a maioria dos trabalhos sobre a influência da queda dos cabelos no cotidiano de pacientes afetados pela alopecia enfoque a AAG, provavelmente por ser o tipo mais prevalente na população, possivelmente esses resultados se estendam para outros tipos de alopecias.

Observa-se, hoje em dia, uma grande necessidade de aprofundamento e aprimoramento do estudo da fisiologia do pelo, pois, como será discutido adiante, o quadro clínico de várias doenças dos cabelos pode ser semelhante e trazer dificuldades para o diagnóstico nosológico preciso.

É imprescindível definir o diagnóstico certo para que os pacientes tenham um tratamento adequado com possibilidade de estabilizar, atenuar ou eliminar o problema, e, assim, melhorar a interferência que essas doenças podem causar nos aspectos emocionais dessas pessoas.

1.1.1. O folículo piloso

Como qualquer das demais estruturas da pele, os folículos pilosos têm componentes de origem ecto- e mesodérmica. Com 9-12 semanas de vida do embrião, ocorre o início de formação dos brotos germinativos primordiais, que se mostram como saliências de células imaturas na basal da epiderme, gotejando para a derme. A partir deles origina-se o folículo piloso todo, bem como suas glândulas (sebácea e apócrina). Com 28 semanas, os folículos estão formados e os pelos que cobrem o corpo do feto são chamados de lanugos. Desta forma, o folículo é formado de cima para baixo. Já na vida pós-natal, é a porção inferior do istmo (células-tronco ou progenitoras) que dá origem a um novo folículo, quando termina o período de repouso (telógeno).

O couro cabeludo apresenta cerca de 100 mil cabelos (+/- 700 por cm^2) que crescem 1mm a cada 3 dias. Os folículos pilosos sofrem alterações cíclicas aleatórias (não sincronizadas) continuamente. O período de crescimento (fase anágena) dura de 2 a 10 anos; quanto mais longa for esta fase, maior comprimento o cabelo pode atingir. Na região da barba, é menor que 1 ano e na axila/púbis, poucos meses. A fase regressiva (catágena) dura 3 semanas, em média, e a fase de repouso (telógena), cerca de 3 meses (figuras 1 a, b e c). Entre 70 e 100 fios telógenos se despreendem do couro cabeludo por dia. No restante do corpo, a maioria dos folículos pilosos é telógena. O couro cabeludo apresenta 75 a 95% dos folículos na fase anágena, 10 a 15% são telógenos e menos de 5% são catágenos. Durante a vida toda de um indivíduo, cada folículo piloso passa por 10 a 30 ciclos anágeno-catágeno-telógeno-exógeno (despreendimento da haste).

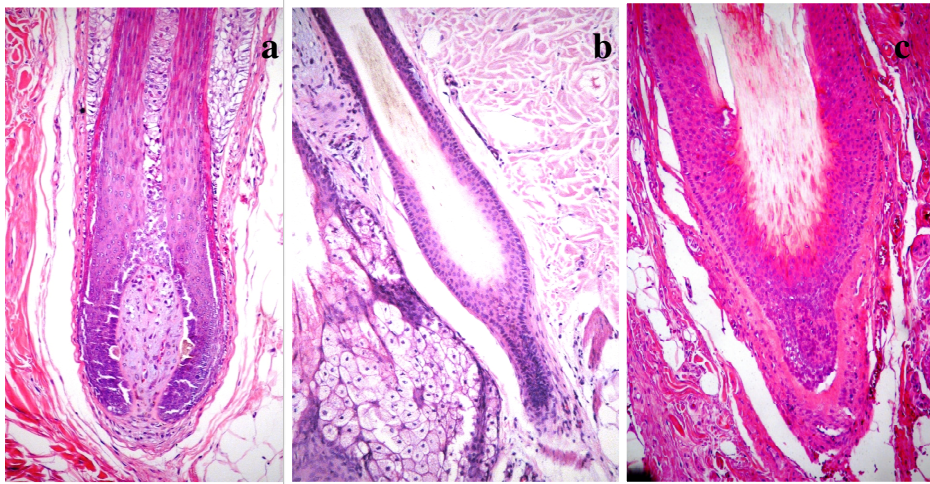


Figura 1: a-fase anágena; b-fase catágena; c-fase telógena
[H&E, aumento original x40 (a, b) e x100 (c)]

Os cabelos podem ser lisos, helicoidais, ondulados ou espiralados (indivíduos negros), porém todos têm a mesma composição bioquímica. Os bulbos dos cabelos espiralados encontram-se em direção oblíqua, quase paralela em relação à epiderme e os folículos têm relevo sinuoso. Os cabelos terminais, que são espessos, estão presentes no couro cabeludo normal, medem mais de 60 μm de diâmetro (no homem, em média, entre 60 e 84 μm).³ Os seus bulbos localizam-se profundamente, junto à gália, a cerca de 4mm da superfície epidérmica.⁴ Já os cabelos velos são curtos (menos que 3mm) e delgados (entre 34 e 42 μm), sendo menores que a espessura da bainha interna folicular), despigmentados e não têm cavidade medular. Os folículos velos podem ser primários ou secundários (miniaturização patológica de folículos terminais); os mais espessos apresentam músculos eretores inseridos e bainha fibrosa perifolicular na base. Entre eles, há cabelos de diferentes espessuras e comprimentos chamados intermediários (figura 2).

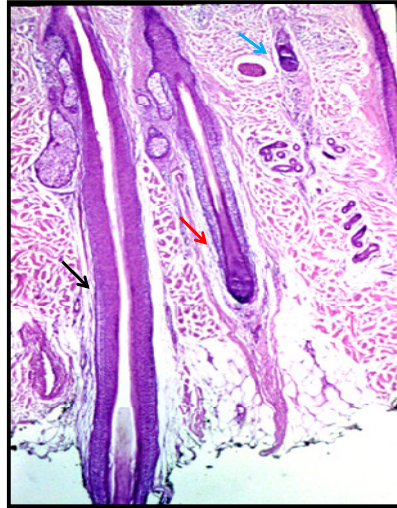


Figura 2: folículo terminal (seta preta), com bulbo volumoso e inserido na tela subcutânea, folículo intermediário (seta vermelha) e folículo miniaturizado (seta azul) (H&E, aumento original x40)

Acredita-se que as características do folículo são definidas pela papila conjuntiva do folículo anágeno. As papilas são ricas em receptores androgênicos e representam o alvo dos andrógenos: na AAG, os folículos vão gradativamente se tornando menores.^{5,6} A bainha conjuntiva perifolicular é um envelope que fornece a direção que um novo folículo anágeno deve seguir rumo à tela subcutânea. A sua destruição pode inviabilizar o desenvolvimento do novo folículo.³ A origem embriológica da derme do couro cabeludo pode determinar as características dos folículos: o mesênquima do vértice, face e região anterior do pescoço é estimulado pela crista neural, enquanto o do couro cabeludo temporal e occipital deriva da mesoderme cefálica ou somática. Os folículos de regiões diferentes também são diferentes. Eles diferem em comprimento, espessura, cor, área de secção transversal e sensibilidade aos hormônios. Envelhecimento, doenças sistêmicas e alguns medicamentos podem mudar o padrão de crescimento folicular. Os folículos pilosos do homem são mais espessos que os da mulher e elas acentuam estas diferenças com práticas estéticas de depilação.

Quando a biopsia de couro cabeludo é analisada em cortes transversais (horizontais), os folículos ovalados ou elípticos (que produzem cabelos ondulados ou espiralados) têm diâmetros mínimos menores do que aqueles circulares (que produzem cabelos lisos). Consequentemente, a haste folicular de cabelos espiralados ou negroides tem forma ovalada ou reniforme, e a de cabelos lisos, forma redonda.

O folículo piloso é composto de duas partes (figura 3): a mais superficial é permanente e a mais profunda, cíclica, ou seja, passa por períodos de crescimento (fase anágena), involução (catágena), repouso (telógena) e atrofia, com expulsão da haste (exógena).

A porção superficial ou permanente divide-se em duas partes:

Infundíbulo: de forma cônica, apresenta uma porção dilatada superficial (2/3), chamada de acro-infundíbulo, com epitélio idêntico ao da epiderme, e uma profunda (1/3), cilíndrica, chamada de infra- infundíbulo, que é desprovida da camada granulosa. Seu limite inferior é o ponto de abertura do ducto sebáceo. Acima deste ponto, abrem-se os ductos das glândulas apócrinas.

Istmo: estende-se do ponto de abertura das glândulas sebáceas até o ponto de inserção dos feixes do músculo eretor (que se inserem em projeções chamadas de *bulges*), nível este em que a bainha interna do folículo perde os grânulos de trico-hialina e se cornifica num tom cinza-azulado. Apresenta epitélio com células escamosas *pink*, que têm pontes intercelulares imprecisas e borda luminal ondulada (corrugada) na sua porção acral, próxima do infundíbulo. Há uma densa camada periférica de fibras elásticas. Mais profundamente, é chamada de bainha externa folicular, que é rica em glicogênio e que se estende até a porção inferior do folículo. Quanto mais profunda a sua localização, maior a riqueza de glicogênio (células claras).

A porção profunda ou cíclica, também se divide em duas partes:

Porção progenitora (com suas células-tronco): estende-se do ponto de inserção do músculo eretor até o nível em que o cabelo se cornifica (perde os núcleos), a assim chamada zona ceratógena.

Bulbo: porção mais inferior. Na sua base encontra-se a papila conjuntiva, que se aninha no recesso bulbar, onde se encontram as células matriciais. Estas originarão a bainha interna e, no centro, o cabelo. Em torno do bulbo há uma camada de células da bainha externa que se

originou no istmo e migrou para a profundidade, a membrana basal espessa (vítrea) e, finalmente, a bainha fibrosa folicular. Neste nível, há um agregado de fibras elásticas (corpo de Arão-Perkins) entre a papila folicular e a derme. Ele se forma a cada novo ciclo anágeno e ali permanece.⁷ Os folículos terminais (espessos) têm o bulbo localizado profundamente, na tela subcutânea, próximo à gália. Os velos (delgados) têm o bulbo na derme reticular: quanto mais próximos da epiderme, mais delgada será a haste pilosa. A estrutura de ambos é igual, mas, por vezes, as glândulas sebáceas impedem que os seus bulbos foliculares sejam vistos. Também não se observa a inserção dos músculos eretores.

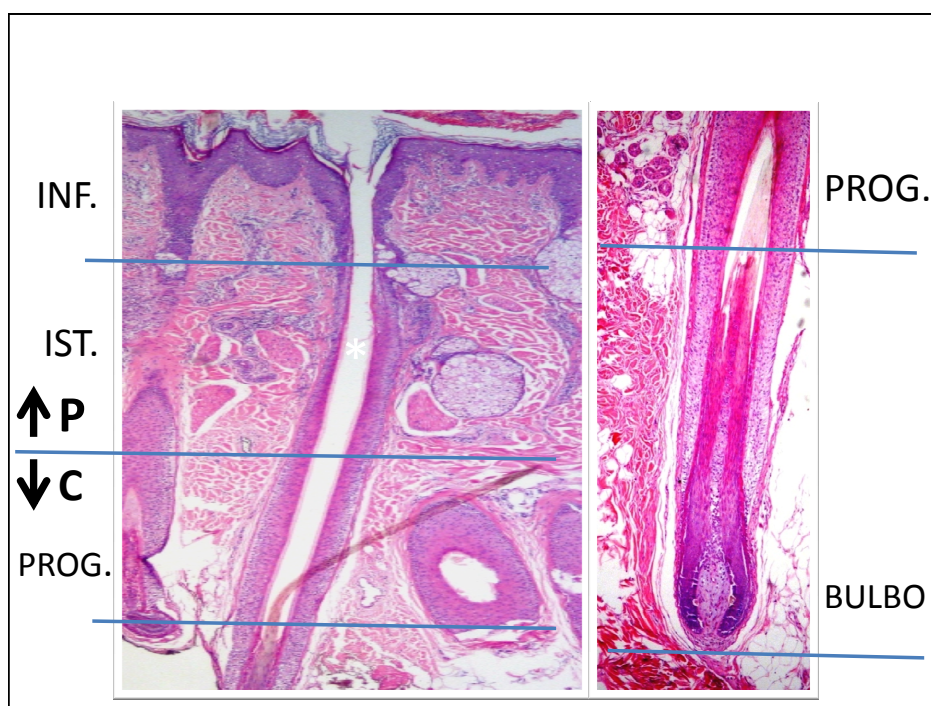


Figura 3: folículo piloso; parte permanente (P) representada pelo infundíbulo (INF) e istmo (IST) e parte cíclica (C) à esquerda, que é representada pela porção progenitora (PROG) e pelo bulbo (maior aumento à direita) (H&E, aumento original x40)

1.1.2. Fases de crescimento folicular

Seja em cortes horizontais (transversais), seja em cortes verticais (longitudinais), as características das 3 fases cíclicas dos folículos pilosos podem ser identificadas pela análise da porção inferior do folículo piloso.

Anágena

Bulbo (basal) – próximo da gália

- As células matriciais exibem mitoses e há melanócitos.
- O bulbo envolve a papila de tecido conjuntivo.
- A papila apresenta substância fundamental evidente, o que lhe confere metacromasia sob o azul de Alcian.
- Há uma só camada de células claras, ricas em glicogênio (bainha externa) na periferia.
- Porção intermediária (zona ceratógena) – hipoderme média.
- O cabelo já se formou e ainda contém os núcleos das células matriciais que o originou.
- A bainha interna contém os grânulos de trico-hialina e já é cinza-azulada na periferia.
- A bainha externa apresenta mais camadas e as suas células são claras; não se observa apoptose nesta região.
- Porção distal (progenitora) – hipoderme alta.
- O cabelo já se encontra livre e anucleado.
- A bainha interna já se cornificou (não apresenta grânulos de cerato-hialina, mas se converteu em uma faixa cinza-azulada).
- A bainha externa tem várias camadas celulares e pouco glicogênio e não apresenta apoptose.

Catágena: a papila cessa a estimulação das células matriciais. Os achados que serão descritos a seguir podem ser observados em toda esta fase, só no seu início ou só no seu fim.

- O bulbo perde o aspecto piriforme, achata-se na base, deixando de envolver a papila, vai se superficializando, acompanhado logo abaixo da papila conjuntiva, e o envelope (bainha fibrosa) vai se tornando livre.
- A papila perde a substância fundamental que lhe confere a metacromasia pelo azul de Alcian.
- As células matriciais já não apresentam mitoses, perdem a melanina e vão se tornando similares às germinativas.
- Os melanócitos vão desaparecendo e a melanina aparece livre na bainha conjuntiva subjacente.

- A membrana vítrea se espessa e se torna ondulada, mais acima se separa e se fragmenta, convertendo-se em filamentos cinza-azulados na espessura da bainha fibrosa.
- Há células apoptóticas na bainha externa que vão perdendo o glicogênio e se tornando acidófilas (há apoptose também de melanócitos).
- As células matriciais remanescentes e da bainha interna se descamam e somem.
- Quando vista em torno do folículo piloso, a bainha fibrosa se apresenta como uma delgada faixa de tecido fibroso frouxo, bem vascularizado. À medida que o folículo sobe, esta bainha permanece como um saco vazio, parecendo ser mais espessa (“*stela*”). O encontro destas traves (*stelae*) não implica no diagnóstico de alopecia cicatricial, mas sim na fase inativa em que se encontra o folículo que ela continha.

Telógena

- Forma-se estrutura saculiforme com células escamosas apresentando borda luminal acidófila e corrugada na base (células ístmicas residuais da bainha externa).
- O pelo, no seu interior, tem forma de clava.
- Com o tempo, forma-se um diminuto agregado de células germinativas, similar ao germe folicular (unidade germinativa telógena), correspondendo à fase mais tardia do folículo telógeno.
- A papila permanece pouco evidente na derme subjacente. A bainha fibrosa perifolicular é indistinta na superfície, mas é demonstrada com colorações para fibras elásticas.

Anágena inicial: a papila volta a estimular as células progenitoras residuais da unidade germinativa telógena, que voltam a proliferar. Observa-se:

- Minúsculo bulbo sobre minúscula papila, na base de folículo telógeno.
- Mitoses.
- As células matriciais vão se tornando aparentes.
- O bulbo vai se aprofundando e volta a ter a reentrância basal que envolve a papila.
- A unidade germinativa telógena é progressivamente descamada e desaparece.

1.1.3. Considerações técnicas

Os seguintes princípios devem de ser obedecidos para que o diagnóstico preciso das alopecias seja alcançado:

1- Seleção do local de coleta da biopsia

As áreas de atividade do processo devem ser escolhidas, mas evitando-se coleta em áreas escoriadas e impetiginizadas. O teste do puxão (tração intensa) dos cabelos pode auxiliar na seleção: no couro cabeludo normal, obtém-se até 1 cabelo no local onde se tracionou (puxão). Em algumas formas de alopecia, vários cabelos são removidos (no eflúvio telógeno crônico, obtém-se de 2 a 8 fios na fase ativa; na AAG, pode ser positivo só no vértice). O dermatologista apanha alguns fios entre o 1º e o 2º quirodáctilos e os puxa suavemente. Os cabelos dos folículos anágenos, profundamente enraizados, irão resistir ao puxão, mas os telógenos, superficiais, serão removidos. Contando-se o número total de cabelos que foram puxados e o número dos que se desprenderam, pode-se, grosseiramente, estimar o número relativo de telógenos. Aproximadamente 10% dos fios em telógeno é um número excelente, até 25% é comum e acima de 35% é excessivo, indicando investigação. A distinção entre cabelos telógenos e anágenos extraídos faz-se pela morfologia: os telógenos são de diâmetro uniforme, base bulbosa apigmentada, sem epitélio (os telógenos iniciais têm um pouco de bainha externa). Os anágenos têm a base pigmentada, de diâmetro variado, contendo células da bainha interna.

A borda da lesão geralmente oferece as melhores informações do processo, mas a região central, mais antiga, deve ser escolhida se o objetivo da biopsia for avaliar o grau de destruição folicular.

2- Orientação para a coleta e tamanho da amostra

A biopsia de couro cabeludo é um procedimento simples e pouco doloroso. Atualmente é consenso que o material deve ser obtido com o uso do *punch* de 4 a 6mm.^{3,8,9} Os *punches* devem ser inseridos paralelamente à orientação dos cabelos (que não emergem perpendicularmente à superfície do couro, mas sim obliquamente). É fundamental que as amostras incluam os bulbos dos folículos anágenos terminais, localizados profundamente na hipoderme. A retirada do fragmento deve ser realizada pela secção inferior do material, com tesoura, fornecendo amostra cilíndrica.^{8,10} Amostras cônicas apresentam número reduzido de bulbos anágenos terminais, interferindo na avaliação.

Orientação dos cortes da amostra

Os espécimes podem ser cortados no sentido longitudinal ou horizontal.⁸⁻¹³

- 1- No sentido longitudinal (figura 4), pode-se seccionar o *punch* ao meio e incluir as duas metades, no mesmo cassete.
- 2- No sentido horizontal (figura 5), deve-se partir o fragmento ao meio, 1mm acima da junção dermo-hipodérmica (para se analisar os folículos logo abaixo da emergência dos ductos das glândulas sebáceas) ou 1mm abaixo da epiderme (se a derme for mais espessa, 1,5mm abaixo da epiderme).¹⁴ A superfície de corte destes 2 segmentos é, então, pintada com nanquim e cada um é colocado em um cassete, rotulado como S (superficial) e P (profundo). Os cortes no micrótomo devem ser iniciados da face pintada com nanquim em direção ao outro extremo. É importante orientar o técnico de que a inclusão será invertida para que os cortes sejam feitos paralelamente à epiderme. Cortes seriados adicionais podem ser obtidos de tal forma que se examinem os diferentes níveis dos folículos pilosos.

Vantagem dos cortes horizontais (transversais): É possível estimar a densidade das unidades foliculares apenas nesta incidência de cortes (vide descrição a seguir).

- Neles se examina um número muito maior de folículos. Nas alopecias não cicatriciais, a avaliação da densidade folicular e da dinâmica folicular são importantes para a acurácia diagnóstica.¹⁵ Em cada corte histológico no plano vertical (longitudinal), apenas 10 a 15% dos folículos da amostra podem ser observados.

Em cada corte transversal: num *punch* de 4mm encontram-se até 14 unidades foliculares (20-30 folículos terminais).

Num *punch* de 6mm encontram-se até 30 unidades foliculares (60 a 80 folículos terminais).

Em cada corte vertical: num *punch* de 4mm encontram-se até 3 unidades foliculares (6 a 8 folículos por corte).

Num *punch* de 6mm encontram-se até 4 unidades foliculares.

- Os seguintes parâmetros são identificados com mais facilidade: a relação anágeno:telógeno; a degeneração elastótica (alopecia androgenética) e a presença de melanina na espessura das bainhas fibrosas perifoliculares; o infiltrado linfocitário peribulbar (alopecia areata); os moldes melânicos (“casts” da tricotilomania); os folículos catágenos (que por serem menos frequentes são mais bem observados nos cortes transversais, que oferecem maior número de folículos para observação); as alterações que são muito focais e a atrofia assimétrica do folículo (na síndrome da degeneração folicular).

Vantagem dos cortes verticais (longitudinais)

- Pode-se avaliar a junção dermoepidérmica, importante para o diagnóstico do lúpus e de quadros liquenoides.
- É mais fácil observar a tricomalácia e a miniaturização dos folículos (que estão muito próximos à epiderme).
- O patologista está mais habituado aos cortes longitudinais; se ele optar por esta forma de inclusão para avaliar maior número de folículos, podem ser feitos cortes seriados adicionais até se esgotar o bloco.

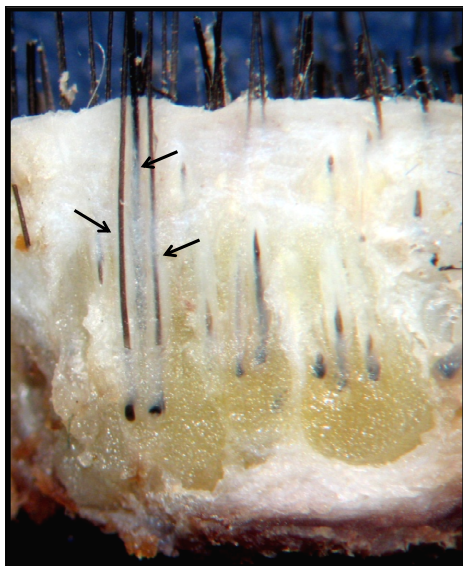


Figura 4: corte longitudinal do couro cabeludo, visão macroscópica. Nota-se uma unidade folicular com três folículos pilosos (setas)

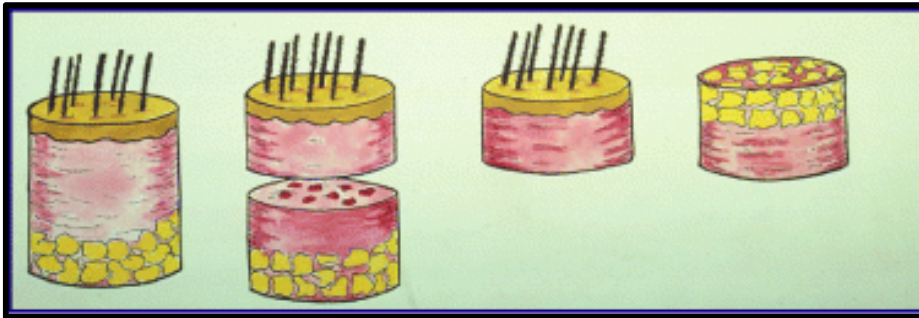


Figura 5: corte horizontal do couro cabeludo (diagrama)

Aspectos histológicos do couro cabeludo em cortes transversais

Neste sentido, podem ser observadas na derme reticular as chamadas unidades pilo-sebáceas, que são estruturas dinâmicas, coexistindo em diferentes fases de proliferação e regressão. O melhor nível para analisá-las é o ponto de transição entre o infundíbulo e o istmo, local em que as glândulas sebáceas se abrem no folículo. Neste ponto pode-se encontrar, em cortes transversais, cerca de 10 unidades foliculares, cada uma delas com 2 a 4 folículos terminais e 1 velo (até 2 velos, mais raramente) num espécime (*punch*) de 4 mm. Também fazem parte das unidades os lóbulos sebáceos (posteriores), fibras dos músculos eretores e tecido conjuntivo. É difícil distinguir o colágeno da derme reticular do colágeno adventicial perifolicular nesta região. Em torno de cada unidade há tecido conjuntivo e também fibras elásticas. A densidade destas unidades é o seu número por mm^2 : o normal é 1 unidade por mm^2 . Os folículos terminais são mais espessos e as hastes pilosas são pigmentadas, enquanto que os velos são mais delgados e suas hastes são despigmentadas. Em torno de cada unidade folicular, separando-a das demais, há fibras concêntricas de colágeno espesso (tipo 1) da derme reticular. Numa inspeção panorâmica, a rarefação das unidades foliculares é uma indicação inicial da redução do número de folículos terminais.

A fase de desenvolvimento folicular só pode ser estimada na porção inferior (abaixo da inserção dos músculos eretores), na tela subcutânea e, portanto, apenas nos folículos

terminais: 80 a 90% dos folículos encontram-se na fase anágena. Em geral, numa unidade folicular encontra-se, no máximo, um único folículo terminal em catágeno/telógeno.

O que se deve analisar, em cortes transversais (figura 6): as unidades pilo-sebáceas (volume, número total e densidade por mm^2), os folículos (número total, densidade por mm^2 e dos anágenos, catágenos e telógenos, relação terminais:velos) e as hastes capilares (avaliar o menor diâmetro para minimizar os efeitos dos cortes oblíquos). O número total de folículos (anágenos ou não, terminais ou velos) dividido por 13 corresponde à densidade máxima folicular por mm^2 (a área do corte, num *punch* 4, é de $12,5 \text{ mm}^2$). A razão anágeno:telógeno só deve ser calculada para folículos terminais.

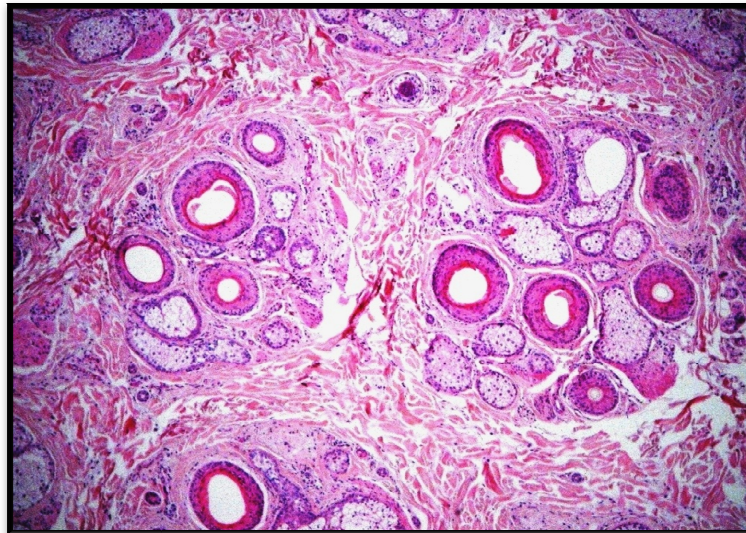


Figura 6: observam-se 2 unidades foliculares, com folículos terminais, intermediários, velos, glândulas sebáceas e feixes do músculo piloerector (H&E, aumento original x40)

Informações clínicas necessárias para auxiliar a elaboração do diagnóstico histológico

São muitas as causas de alopecia adquirida. Quando o dermatologista coleta uma biopsia, habitualmente várias destas causas já foram excluídas (uso de medicamentos, hipotireoidismo, deficiência de ferro, insuficiência renal ou hepática, doenças sistêmicas e distúrbios nutricionais, como hipervitaminose A, por exemplo). Assim, na maior parte dos casos, as hipóteses aventadas são: eflúvio telógeno, alopecia androgenética e alopecia

areata. Para associação com os achados histológicos, as seguintes informações devem ser consideradas:

- 1- Idade, sexo, achados relevantes do exame dermatológico, como, por exemplo, se as áreas de alopecia obedecem a um padrão de distribuição (por exemplo, alopecia androgenética masculina ou feminina) ou não; história e hipóteses diagnósticas.
- 2- A forma de apresentação da alopecia (rápida ou insidiosa). Algumas formas de alopecia caracterizam-se por um início insidioso (alopecia androgenética, por exemplo) e outras, por perda súbita e maciça dos cabelos (eflúvio telógeno agudo e alopecia areata, por exemplo).
- 3- A fase de desenvolvimento do processo (há quanto tempo a alopecia se iniciou: inicial, madura ou em repilação/cicatrização). Cada uma das formas de alopecia tem seu curso natural: o momento em que a biopsia é coletada precisa ser considerado para a avaliação dos achados. Processos em fase inicial são passíveis de uma resposta terapêutica melhor.
- 4- O local escolhido para a biopsia (borda ativa ou centro).

2. REVISÃO DA LITERATURA

As alopecias podem ser classificadas, à clínica, segundo diferentes parâmetros. Exemplo: difusas ou localizadas; se localizadas, obedecendo ou não a um padrão particular; cicatriciais ou não cicatriciais; congênitas/hereditárias ou adquiridas. Algumas formas apresentam características precisas, que permitem diagnósticos apenas pela clínica; exemplo: a síndrome do cabelo anágeno solto: é um tipo de alopecia infantil que se caracteriza pela extração fácil e indolor dos cabelos anágenos. Há redução do número de cabelos, difusa ou localizada. À tração, obtém-se de 10 a 15 fios, que apresentam a raiz encurvada com desprendimento da cutícula (anágenos). O processo costuma se resolver conforme a criança cresce.¹⁶

Do ponto de vista anátomo-patológico, as alopecias podem ser assim classificadas em cicatriciais e não cicatriciais.

2.1. ALOPECIAS CICATRICIAIS

As alopecias cicatriciais englobam um grupo de doenças caracterizadas por destruição da unidade do folículo piloso. Esse processo pode ser primário, quando o alvo da inflamação é o próprio folículo, ou secundário, quando ele é destruído incidentalmente devido à extensão de um processo inflamatório ou degenerativo/neoplásico no local (quadros 1 e 2).¹⁷⁻²³ Algumas alopecias podem começar como não cicatriciais e com o tempo tornarem-se cicatriciais, ou seja, permanentes. Isso pode acontecer com a alopecia de tração.

Primárias:

Quadro 1 – Alopecias cicatriciais primárias

Grupo 1: linfocíticas	Grupo 2: neutrofílicas	Grupo 3: mistas
Líquen plano pilar: Líquen plano pilar clássico Alopecia fibrosante frontal Síndrome Graham-Little	Foliculite decalvante	Foliculite necrótica
Pseudopelada clássica	Foliculite dissecante do couro cabeludo	Foliculite queloidiana
Lúpus eritematoso cutâneo crônico		Dermatose pustular erosiva
Alopecia mucinosa		
Ceratose folicular espinulosa decalvante		
Alopecia cicatricial centrífuga central		

Secundárias:

Quadro 2 – Alopecias cicatriciais secundárias

Genodermatoses e defeitos de desenvolvimento com alopecia permanente	Injúria química ou física	Infecções
<ul style="list-style-type: none"> • Displasia ectodérmica • Aplasia cútis congênita • Incontinência pigmentar • Poroceratose de Mibelli • Ictiose • Epidermólise bolhosa hereditária • Meningocele • Hamartoma • Nevo organoide • Malformação vascular • Doença de Darier • Fibrodisplasia • Alopecia triangular temporal 	<ul style="list-style-type: none"> • Trauma mecânico e pressão • Queimadura • Radiação • Arranhadura • Congelamento 	<ul style="list-style-type: none"> • Bacterianas • Virais • Fúngicas • Protozoários
Doenças dermatológicas inflamatórias	Drogas	Neoplasias
<ul style="list-style-type: none"> • Psoríase • Pitiríase amiantácea • Arterite temporal • Pioderma gangrenoso • Doença do enxerto contra o hospedeiro crônica • Morfeia/ Esclerodermia em golpe de sabre • Penfigoide cicatricial • Porfíria cutânea tardia • Epidermólise bolhosa adquirida • Sarcoidose • Granuloma anular • Necrobiose lipoídica 	<ul style="list-style-type: none"> • Bussulfan • Sais de ouro 	<ul style="list-style-type: none"> • Doenças linfoproliferativas • Mastocitose • Cistos • Tumores vasculares • Tumores anexiais • Plasmocitoma • Angiossarcoma • Dermatofibrossarcoma protuberans • Histiocitoma fibroso maligno • Melanoma • Carcinoma espinocelular • Carcinoma basocelular • Metástases • Linfoma

A alopecia cicatricial é resultado da destruição permanente dos folículos pilosos. À histologia, observa-se redução do número de folículos pilosos, que são substituídos por traves fibróticas, por vezes com hialinização do colágeno adjacente. Há muitos processos que resultam em perda permanente dos folículos pilosos. A natureza específica do mecanismo de lesão é pouco compreendida, mas inclui a ação citotóxica de linfócitos a antígenos foliculares próprios, alterações na função das glândulas sebáceas, destruição das células-tronco foliculares e distúrbio da sinalização entre o mesênquima folicular e o epitélio.²⁴ Quando o conjunto dos dados clínicos e laboratoriais, incluindo a biopsia, não permitirem o diagnóstico, o processo deverá ser considerado como o de uma alopecia cicatricial de causa indeterminada.

2.1.1. Alopecia cicatricial primária

A classificação usual das alopecias cicatriciais primárias é baseada no principal tipo de célula inflamatória presente na biopsia do couro cabeludo, realizada na lesão clinicamente ativa: linfocítica ou neutrofílica. As entidades que não puderem ser classificadas são designadas como mistas ou não específicas.²⁵

A seguir, as principais alopecias cicatriciais primárias:

A- Líquen plano pilar

O líquen plano pilar (LPP) é considerado a forma folicular do líquen plano (LP). Existem três variantes clínicas: LPP clássico, alopecia frontal fibrosante e síndrome de Piccardi-Lassueur-Graham Little.

O LPP clássico é uma doença de adultos que se inicia na meia-idade. As mulheres são mais acometidas. O acometimento da pele extracranial pode ocorrer em 50% dos pacientes com LPP durante o curso da doença. Os sintomas comuns são queda de cabelo e prurido. Podem ocorrer também descamação e dor em queimação. Observa-se, na doença ativa, eritema perifolicular, pápulas violáceas ou marrons e hiperqueratose folicular, associadas à prova de

tração positiva de fios anágenos.²⁶ A apresentação típica do LPP clássico é multifocal, porém, a localização central também é comum. Raramente o couro cabeludo inteiro é acometido. As cicatrizes podem ser atróficas e despigmentadas e variam de milímetros a centímetros. A doença ativa geralmente está confinada às bordas da lesão. Uma complicação que pode ocorrer na área afetada é a ulceração. A doença pode ser autolimitada ou lentamente progressiva. As sorologias para hepatite B e C geralmente são negativas. Um estudo evidenciou que 28% dos pacientes com LPP apresentavam AAG.

A alopecia frontal fibrosante geralmente afeta mulheres na pós-menopausa, tipicamente após os 40 anos. Caracteristicamente apresenta-se com alopecia cicatricial da linha frontotemporal. Pode ocorrer prurido. A região afetada se apresenta brilhante, uniformemente pálida, como uma banda de perda de cabelo incompleta, variando de 1 a 8 centímetros de largura. A nova linha de implantação dos cabelos se apresenta serrada e frequentemente contém fios com eritema perifolicular e hiperqueratose, indistinguível das lesões que são vistas no LPP clássico. A pele das sobrancelhas e axilas também pode ser afetada. A alopecia frontal fibrosante^{27,28} geralmente é insidiosa e pode ser autolimitada ou rapidamente progressiva. O papel dos hormônios na patogênese ainda não está definido. O curso da doença não é alterado pela terapia de reposição hormonal.

A síndrome de Piccardi-Lassueur-Graham Little é uma condição incomum dos adultos, caracterizada por placas de alopecia cicatriciais no couro cabeludo, alopecia não cicatricial das regiões axilar e pubiana e pápulas foliculares que lembram o líquen espinuloso ou a queratose pilar no tronco e nas extremidades. O desenvolvimento da alopecia no couro cabeludo pode ocorrer a qualquer momento durante o curso da doença e ela é marcada por hiperqueratose folicular ou eritema e descamação variável das lesões. As opções terapêuticas locais ou sistêmicas variam e a recidiva é comum.

Achados histológicos

Na fase **inicial**:

- 1- Marcada agressão de interface do epitélio infundibular, com fendas periepiteliais;
- 2- Acometimento de interface variável também da epiderme;
- 3- Ceratinócitos apoptóticos no epitélio e na derme adventicial;

Na fase **tardia**:

- 1- Faixa de fibrose concêntrica peri-infundibular, com número variável de linfócitos na sua espessura;
- 2- Número variável de folículos terminais, com atrofia de grau variado;
- 3- Granulomas de corpo estranho a hastes pilosas livres e melanófagos na derme, na projeção dos folículos.

Diagnóstico diferencial:

O infiltrado liquenoide, a liquefação basal folicular (fendas) e o número de ceratinócitos foliculares necróticos são maiores que no lúpus. As rolhas córneas têm forma de funil no LED e crateriforme no LPP. Em ambas há destruição das glândulas sebáceas.

B- Lúpus eritematoso

O lúpus eritematoso discoide (LED), o subtipo clínico mais comum de lúpus eritematoso cutâneo crônico (LECC)²⁹, é a forma de lúpus eritematoso (LE) que pode resultar em alopecia cicatricial.^{30,31} Ele acomete mais mulheres que homens^{31,32}, mas a proporção de homens e mulheres com LED que desenvolvem alopecia cicatricial é semelhante.³¹ O LED inicia-se geralmente entre 20 e 60 anos de idade, em média aos 38,9 anos.³² É incomum na infância.³³ De 6,5% a 12% dos adultos com LED desenvolvem o lúpus eritematoso sistêmico.^{32,34} De acordo com uma pesquisa conduzida por Callen, o acometimento do couro cabeludo ocorre em 53,5% dos pacientes com LED, sendo que em torno de 11% deles é o único lugar afetado.³² Um outro estudo publicado por Wilson e colaboradores³¹ evidenciou que 34% dos pacientes com LED evoluíram com alopecia cicatricial. Desses, em mais da metade, o couro cabeludo foi o primeiro lugar de aparecimento da doença, e em 20% dos doentes, o único lugar acometido. O LED pode ser localizado, quando o indivíduo apresenta lesões apenas no segmento cefálico, ou generalizado, com lesões também abaixo do segmento cefálico. Alterações laboratoriais são incomuns nos pacientes com LED localizado.^{32,33}

Os pacientes com LED geralmente se queixam de queda de cabelo e prurido.³⁵ Podem apresentar também dor em queimação. A lesão inicial é uma pápula ou pequena placa eritematosa que cresce de maneira centrífuga, em forma de moeda, com rolha córnea

folicular e escamas aderidas.²⁹ A prova de tração suave dos cabelos geralmente evidencia fios anágenos. Com a progressão da doença, as placas tornam-se maiores, o eritema diminui e ocorre atrofia, telangiectasias, hipopigmentação ou despigmentação e perda dos óstios foliculares. Essa alopecia cicatricial está associada à cronicidade das lesões. Os pacientes que eram mais jovens no início da doença ou que têm maior tempo de doença tendem a ter mais cicatrizes.³¹ O eritema, as escamas e as alterações pigmentares podem ser significantes, ajudando a diferenciar clinicamente o LED de outras alopecias cicatriciais.³⁶ Apesar do LE ser exacerbado pela luz ultravioleta, o acometimento do couro cabeludo não é proeminente nas áreas de AAG (áreas calvas).³¹ As complicações do LED do couro cabeludo incluem: desfigurações estéticas, ulceração e carcinoma espinocelular.^{35,37-39}

O tratamento deve ser iniciado com orientações para o paciente evitar a radiação solar e, se houver a necessidade de se expor ao sol, fazer uso de protetor solar e de vestimentas, de preferência que contenham proteção contra a radiação ultravioleta.

Nos pacientes com doença limitada, o tratamento é feito com corticoides tópicos e/ou intralesionais (triancinolona 3-10mg/ml a cada 4 semanas).^{30,33} Se não houver melhora no prazo de 8 semanas, inicia-se um antimalárico.³⁰ O antimalárico é a droga de escolha nos pacientes com doença rapidamente progressiva ou com grande extensão. Inicia-se com hidroxicloroquina 200-400mg/dia nos adultos⁴⁰ e 4-6mg/kg/dia nas crianças.³³ A melhora é observada em torno de 4 a 8 semanas. Pode-se associar a prednisona oral (1mg/kg) nos pacientes com doença grave.³⁵ Existem alguns relatos de uso de: dapsona⁴¹, talidomida^{38,42}, micofenolato mofetil⁴³, metotrexate⁴⁴, azatioprina⁴⁵, tacrolimus⁴⁶, imiquimod⁴⁷, tazaroteno⁴⁸, ouro⁴⁹ e 2 interferon-alfa-2.⁵⁰

Achados histológicos

Os achados são similares aos do lúpus de outras regiões do corpo nas suas fases evolutivas. A agressão linfocitária ocorre na interface entre o epitélio infundibular e a derme, o que leva à atrofia do epitélio e formação de rolhas córneas. Nas lesões antigas, vai se desenvolvendo fibrose perifolicular. Com o passar do tempo, tanto os folículos quanto a derme são substituídos por fibrose esclerótica. Em geral, mesmo nesta fase, ainda se encontram células inflamatórias. É importante que o patologista informe ao clínico o grau de atividade do processo (infiltrado inflamatório), especialmente quando se tratar de

material proveniente de cirurgia estética para redução da área alopécica. É ineficaz remover a área calva se ao aproximar as bordas a atividade persistir, pois o processo continuará a destruir os folículos.

Diagnóstico diferencial:

Nas fases tardias do processo pode ser impossível diferenciar o lúpus do líquen plano pilar e da pseudopelada. Os achados típicos do lúpus, especialmente a mucinose dérmica, o infiltrado em torno dos glomérulos sudoríparos e na tela subcutânea, quando presentes, auxiliam na diferenciação, pois não são vistos nas outras duas doenças.

C- Alopecia mucinosa (mucofanerose)

Na alopecia mucinosa, em vez das células sebáceas imaturas se lipidizarem, elas passam a produzir ácido hialurônico. A doença evolui com degeneração reticular e a glândula se converte numa bolsa de mucina e ceratina. Com o tempo, as alterações se estendem à bainha folicular externa, ocorre atrofia bulbar e alopecia (eflúvio anágeno), a qual regride com o término do processo. A derme acometida apresenta pouca ou nenhuma inflamação (CD4+). É importante considerar que, independentemente da forma da alopecia mucinosa, o infiltrado linfóide não é neoplásico. Em 1957, a alopecia mucinosa foi descrita (Pinkus) e classificada (Braun-Falco). Clinicamente, ela caracteriza-se por pápulas foliculares e/ou placas endurecidas, eritema, descamação, hiperkeratose folicular, com alopecia, ou só hipocromia. A face, o pescoço e o couro cabeludo são as sedes mais frequentes, mas qualquer parte do corpo pode ser afetada. A patogênese parece relacionar-se a imunocomplexos circulantes e/ou alterações na imunidade celular. O tratamento é variado e de eficácia discutível. Há 3 variantes clínicas: 1- Primária aguda: em jovens, há poucas lesões cutâneas focais com progressão limitada, cura espontânea em até 2 anos, acomete mais a face e o couro cabeludo; nem sempre regride. 2- Primária crônica: adultos acima de 40 anos, lesões generalizadas, persistem ou recidivam. 3- Secundária: 40 a 70 anos, lesões generalizadas e numerosas. 3a- Benigna (associada a doenças como o lúpus eritematoso e o líquen simples crônico, a gravidez, reticuloses familiares e hiperplasia angiolinfóide); 3b- Maligna: corresponde a 12% das alopecias mucinosas; a maioria associa-se a linfoma/leucemia e micose fungóide. O prognóstico da micose fungóide é pior quando associada à alopecia mucinosa. Outras neoplasias incluem o sarcoma de Kaposi e o CEC

de língua. A alopecia mucinosa pode preceder, coexistir ou ocorrer muito tempo depois da neoplasia se manifestar.⁵¹⁻⁵³

D- Alopecia cicatricial central centrífuga (e suas variantes: pseudopelada em afro-americanos, pseudopelada central elíptica em caucasianos, síndrome da degeneração folicular, alopecia do pente quente)

Essa doença acomete na sua grande maioria mulheres adultas negras. Os homens negros também podem ser afetados.⁵⁴ A alopecia se inicia na região central do couro cabeludo e se expande centrifugamente de forma simétrica. As áreas acometidas são lisas e brilhantes, não se observando os orifícios foliculares. Não há eritema ou descamação. Em algumas pacientes observa-se hiperpigmentação perifolicular discreta. Muitas pacientes apresentam disestesia na área envolvida.

Apesar de a maioria dessas pacientes utilizarem métodos para embelezar os cabelos, como *hot comb* (pente quente), produtos químicos e penteados que tracionam as raízes foliculares, muitas negam que a suspensão desses métodos tenha influenciado a melhora do quadro. Alguns trabalhos inclusive mostram que no início da doença essas mulheres não estavam utilizando o *hot comb*. Os pesquisadores Sperling e Sal⁵⁵, em 1992, sob a nomenclatura de Síndrome da Degeneração Folicular, sugeriram que essa doença poderia ser causada por uma descamação prematura da bainha interna do folículo piloso durante a vida adulta na população predisposta (maioria negra). Essa predileção pela raça negra poderia ser explicada por fatores peculiares dos folículos nesse grupo (genéticos) e culturais (técnicas empregadas para o cuidado dos cabelos). Esses folículos anormais seriam mais predispostos a danos externos como tração, alisamento, relaxamento e pente quente, causando o início do processo.⁵⁶ Mas para alguns autores³⁰ ainda permanece a dúvida se o processo primário é um defeito herdado no folículo piloso e/ou a influência adicional de agressões exógenas como as práticas de cuidados com os cabelos.⁵⁷ Variações fenotípicas das formas dos cabelos, que podem se associar à gênese da doença, são decorrentes de diferenças na estrutura tridimensional dos fios. Existem basicamente 4 tipos de cabelos: lisos, ondulados, helicoidais e crespos. Os asiáticos tipicamente apresentam cabelos lisos com formato circular e têm o diâmetro da fibra mais largo em relação às demais raças. Os cabelos dos negros comumente são helicoidais (formam cachos de

diâmetro constante) ou crespos (formam cachos que diminuem de diâmetro nas extremidades) e têm aos cortes formato elíptico. Os cabelos dos caucasianos podem ser lisos, ondulados ou helicoidais e aos cortes são circulares ou ovais.

O tratamento dessa entidade ainda é um desafio, pois a patogênese não está elucidada. Por enquanto, tratamentos empíricos têm sido utilizados, com controle moderado dos sintomas e diminuição da progressão da doença.

De acordo com os pesquisadores do Hospital Henry Ford - Centro Dermatológico Multicultural⁵⁸, a primeira linha de terapia inclui os corticoides de média e alta potência tópicos e corticoides intralesionais. Os corticoides tópicos são utilizados diariamente até controle do quadro, quando, então, passam a ser usados 3x/semana para manutenção. A aplicação intralesional é feita em doses mais altas do que 10mg/ml, mensalmente, por um período de pelo menos 6 meses. Concomitantemente pode ser feito um tratamento para dermatite seborreica, com isso ajudando a diminuir o prurido e a descamação. Os pacientes são orientados a lavar os cabelos pelo menos uma vez por semana. As áreas alvo da terapia são as regiões na periferia da lesão, para evitar a progressão da inflamação. Outras medicações como a tetraciclina e os antimaláricos podem também trazer algum benefício. Devem-se evitar algumas práticas de cuidados com os cabelos que possam estragá-los, como químicas para relaxamento, calor excessivo, tração, géis e sprays.

Achados histológicos

Na fase **inicial**

- 1- Leve infiltrado inflamatório linfo-plasmo-histiocitário em torno do infundíbulo e istmo.

Na fase **tardia**

- 1- Fibrose concêntrica peri-infundibular, com adelgaçamento assimétrico do epitélio, especialmente na região inferior do infundíbulo e do istmo.
- 2- A haste pilosa vai se aproximando da derme, no ponto onde o epitélio se adelgaçou.
- 3- Fibrose lamelar, em casca de cebola, na região de epitélio adelgado.
- 4- Posteriormente, destruição do epitélio folicular e das glândulas sebáceas e fibrose (com fibras elásticas presentes junto à região do bulge) na projeção do infundíbulo

e istmo. Músculos eretores permanecem presos nas traves de tecido conjuntivo; glândulas sudoríparas intactas.

- 5- Infiltrado linfoide na periferia dos anéis fibróticos que se estende à derme adjacente.
- 6- Hastes pilosas soltas envoltas por células gigantes.
- 7- Ausência de alterações de interface na epiderme ou no infundíbulo folicular.
- 8- Descamação prematura da bainha interna folicular.⁵⁵

E- Folliculite decalvante (doença de Quinquaud; folliculite epilante, quando acomete outras áreas do corpo)

A folliculite decalvante (FD) é uma forma rara de alopecia cicatricial neutrofílica. Ela é caracterizada por placas de alopecia cicatricial com pústulas foliculares, crostas e tufo de cabelos, localizadas preferencialmente no vértice.⁵⁹ Na fase ativa podem ocorrer prurido e tricodínia. O curso da doença geralmente é crônico e recidivante. A FD acomete frequentemente pessoas de meia-idade, com pequena predominância nos homens.⁵⁹ A etiologia da FD não está totalmente compreendida. O *Staphylococcus aureus* parece ter um papel importante na patogênese, visto que ele pode ser isolado na maioria dos pacientes nas culturas das pústulas.⁵⁹ Além disso, acredita-se também que um defeito na imunidade do paciente possa contribuir para a doença. O diagnóstico é feito pela clínica e biópsia de área ativa. Por enquanto não existem tratamentos efetivos por longos períodos para a FD. Antibióticos orais, principalmente as tetraciclina e a rifampicina associada à clindamicina VO, têm sido utilizados com respostas variáveis. Além disso, há casos de uso de dapsona, terapia fotodinâmica, corticoide oral, tópico e intralesional, tacrolimus tópico e isotretinoína via oral.⁵⁹ Alguns desses tratamentos resultam em melhora transitória. Entretanto, na maioria dos casos, não há resposta permanente e a doença progride rapidamente após a parada do tratamento.

Achados histológicos

Rolhas córneas foliculares (podem ocorrer folliculite e perifolliculite supurativa), fibrose perifolicular, atrofia folicular, hastes livres com granulomas de corpo estranho. A fibrose restringe-se ao domínio folicular.

F- Celulite dissecante do couro cabeludo (*Perifolliculitis capitis abscedens e suffodiens*; de Hoffmann)

A celulite dissecante (CD) é uma doença rara do couro cabeludo geralmente vista em homens de 20 a 40 anos afrodescendentes.⁶⁰ Ela é caracterizada por pústulas perifoliculares, nódulos e abscessos flutuantes que se intercomunicam e formação de fístulas. Ocorre mais frequentemente no vértice e na região occipital. O curso é crônico e recidivante. Sua causa não é conhecida, mas acredita-se que a patogênese esteja baseada no acúmulo de material nos folículos, com dilatação folicular e ruptura dos folículos. A cultura bacteriana das lesões tende a ser estéril.^{60,61} Considerando a alta frequência de culturas estéreis, especialmente aquelas obtidas por aspiração em lesões previamente fechadas, acredita-se que a infecção bacteriana não seja de fundamental importância na patogênese, sendo um evento secundário. A queratina e as bactérias dos folículos rotos podem iniciar uma resposta neutrofílica e granulomatosa. Sendo assim, provavelmente o processo inicial seja inflamatório com uma infecção bacteriana secundária. Concomitantemente com a CD pode ocorrer acne conglobata e hidradenite supurativa. O diagnóstico é feito pelas características clínicas e histopatológicas. Raramente pode-se desenvolver um carcinoma espinocelular nas lesões crônicas e recidivantes.⁶² O tratamento é difícil, sendo utilizados antibióticos, como os derivados da tetraciclina e quinolonas, retinóides VO, sulfato de zinco VO, corticoides intralesionais, incisão e drenagem e laser.^{60,63-68}

Achados histológicos

Na fase **inicial**:

- 1- Pústulas foliculares, rolhas foliculares, rotura, inflamação supurativa perifolicular;
- 2- Confluência de abscessos adjacentes, granulomas de corpo estranho a hastas pilosas e ceratina;
- 3- Formação de fístulas e trajetos epitelizados que se intercomunicam;

Na fase **tardia**:

Fibrose dermo-hipodérmica.

G- Acne queloidiana da nuca

Mais comum em homens negros e obesos, caracteriza-se por foliculite purulenta da região occipital do couro cabeludo e nuca e fibrose de aspecto queloidiano associada. Tufos de cabelos podem estar presentes. O prurido é comum.

Acredita-se que os folículos capilares curvos, torcidos, com hastes grossas, que são comuns nos negros, tenham um papel no desenvolvimento da doença. Traumas crônicos no local, como arranhões, fricção dos colarinhos das camisas e cortes de cabelo muito curtos também podem contribuir.⁶⁹⁻⁷¹ O tratamento pode ser feito com antibióticos tópicos, como a clindamicina, e orais, como a tetraciclina, corticoides tópicos e intralesionais, excisão cirúrgica e laser.^{70,72}

Achados histológicos

O quadro é similar ao da celulite dissecante; pela necrose do epitélio folicular, há numerosos plasmócitos no infiltrado.

Um trabalho publicado por Price⁷³ em 2006 separa os tratamentos não pelas doenças em si, mas pelos achados inflamatórios:

As alopecias cicatriciais linfocíticas são tratadas da seguinte forma:

- Hidroxicloroquina (primeira linha de tratamento oral): antes do início do tratamento e a cada 6 meses é necessária uma avaliação oftalmológica completa. Exames de sangue com função hepática são pedidos apenas no começo. A dose é de 200mg duas vezes ao dia e o paciente é avaliado a cada 3 meses. Ocasionalmente os pacientes podem apresentar intolerância gástrica à medicação.
- Terapia tópica: adicionalmente à terapia sistêmica, são utilizados imunomoduladores tópicos, como corticoides potentes, tacrolimus, pimecrolimus e triancinolona intralesional (10mg/ml). Alguns pacientes podem ser mantidos apenas com tratamento tópico.
- Micofenolato Mofetil (segunda linha de tratamento oral): se o tratamento com hidroxicloroquina por 3 a 6 meses não surtir efeito, pode ser utilizado o micofenolato mofetil, o qual é um imunomodulador que inibe especificamente a

proliferação de linfócitos T. Antes do início do tratamento é necessário um hemograma completo e função hepática. A dose é de 0,5g duas vezes ao dia no primeiro mês. Após esse período é feito um novo hemograma completo e a dose é aumentada para 1g duas vezes ao dia por 5 meses. Os pacientes são avaliados a cada 3 meses com novos exames de sangue.

- Ciclosporina (terceira linha de tratamento oral): pacientes com líquen plano pilar que trataram previamente com hidroxicloroquina utilizaram a ciclosporina por 3 a 5 meses com parada da progressão da perda de cabelos, alívio dos sintomas e sinais de atividade. Antes do início da medicação é necessária uma avaliação da pressão sanguínea, dosagem de creatinina e ureia, urina I, hemograma completo e função hepática. A dose é de 3 a 5mg/kg por dia. Por razões práticas, o autor utiliza 300mg/dia. A pressão sanguínea, função renal e hepática devem ser monitoradas a cada 2 semanas no primeiro mês e em seguida mensalmente. Os efeitos adversos dessa medicação incluem: sintomas de gripe, hipertensão e nefro e hepatotoxicidade.

Nas alopecias cicatriciais neutrofílicas geralmente são isolados *Staphylococcus aureus* nas culturas e, embora se observe supuração e destruição folicular no couro cabeludo, os pacientes são saudáveis e não apresentam infecções em outros locais. São necessárias repetidas culturas com antibiograma para o tratamento adequado. A cultura é obtida de pústulas intactas ou, se estas estiverem ausentes, de biopsias de folículos de cabelo.

- Rifampicina 300mg duas vezes ao dia associada à clindamicina 300mg duas vezes ao dia por 10 semanas.
- Para pacientes intolerantes à clindamicina: ciprofloxacina 750mg duas vezes ao dia, cefalexina 500mg quatro vezes ao dia ou doxiciclina 100mg duas vezes ao dia. Todos associados à rifampicina.

Se o paciente é colonizado por *Staphylococcus aureus*, é necessário utilizar mupirocina tópica diariamente por 1 semana e, então, uma vez ao mês.

- Isotretinoína: inicia-se com doses baixas, como 20mg/dia, e então aumenta-se a dose devagar até atingir 1mg/kg/dia por alguns meses.

Embora a classificação das alopecias cicatriciais se baseie no tipo de célula inflamatória que predomina, os achados histológicos podem ser insuficientes para o diagnóstico nosológico. Nestes casos, é preferível optar por um diagnóstico histológico descritivo padronizado, diferente da classificação usual descrita no quadro 1. Desta forma, para a escolha da modalidade terapêutica, pode-se avaliar:

- 1- O grau de destruição folicular:
 - Localização no folículo com ou sem extensão do exsudato inflamatório para outras estruturas da derme/hipoderme.
 - Presença ou ausência das glândulas sebáceas.⁷⁴
- 2- Tipo celular e forma de agressão do folículo (alopecia com infiltrado linfocitário de interface, alopecia cicatricial com infiltrado linfocitário intrafolicular, alopecia com inflamação supurativa).

Do ponto de vista histológico, podemos subdividi-la em: alopecia com agressão linfocitária de interface, alopecia cicatricial com infiltrado linfocitário, alopecia com inflamação supurativa.

2.1.2. Alopecia cicatricial secundária

Muitos são os processos que resultam em destruição da derme e seus folículos, com alopecia resultante. Como exemplo, esclerodermia localizada (morfeia), defeito ectodérmico cicatrizado, traumas, queimaduras, radioterapia, doenças granulomatosas (sarcoidose), sífilis terciária, infecções locais e neoplasias podem ser citados. Vale lembrar que o couro cabeludo é sede frequente de metástase.

2.2. ALOPECIAS NÃO CICATRICIAIS

As alopecias não cicatriciais referem-se aos quadros em que se altera a dinâmica do ciclo de crescimento folicular ou há redução do volume dos folículos terminais

(“miniaturização”)¹⁷ (quadro 3). O número total de folículos e a sua orientação espacial estão preservados.

Quadro 3 – Alopecias não cicatriciais

Alopecia androgenética
Alopecia areata
Alopecias congênitas
Alopecia endócrina
Alopecia por drogas
Alopecia por tração
Alopecias secundárias ao uso de procedimentos cosméticos
Eflúvio anágeno
Eflúvio telógeno: agudo e crônico
Síndrome do anágeno frouxo
Tricotilomania

A queda difusa dos cabelos, de forma não cicatricial, pode ter várias causas e muitas vezes pode haver dificuldade de diferenciá-las. Como exemplo, são condições similares à apresentação o eflúvio telógeno (ET) agudo, a alopecia androgenética feminina na forma inicial (AAGFi), o eflúvio telógeno crônico (ETC), a alopecia areata (AA) difusa, a alopecia secundária ao uso de medicações e o LE sistêmico. Frequentemente, a anamnese e os exames clínico e laboratorial já são suficientes para fazer o diagnóstico, mas às vezes são necessários outros exames complementares, como uma biopsia, na tentativa de descobrir a causa.

A seguir serão discutidas as causas mais frequentes de queda difusa dos cabelos que podem ser motivo de dificuldade no diagnóstico.

2.2.1. Eflúvio telógeno

Kligman⁷⁵ usou o termo eflúvio telógeno em 1961 para designar uma queda excessiva de cabelos normais causada por uma variedade de estímulos, como febre, parto, psicogênicos e alterações sistêmicas.

Em 1993 o conceito de ET foi revisto⁷⁶ e foram descritos cinco tipos funcionais de eflúvio telógeno: 1- desprendimento imediato do fio anágeno, sendo que os folículos entram prematuramente em fase telógena. Ocorre após febre, medicações e outras formas de estresse, e se reverte após resolução do problema. 2- prolongamento da fase anágena, atrasando o início da telógena, como, por exemplo, na gestação. Quando os folículos entram em fase telógena, após o parto, ocorre uma grande queda (eflúvio gestacional). 3- diminuição do tempo da fase anágena, causando um ET leve, mas persistente. 4- desprendimento imediato do telógeno; após o término da fase anágena não há o intervalo normal de 4 a 6 semanas para o início da liberação dos fios. Ocorre uma abreviação do tempo da fase telógena. Pode ser causado por drogas, como o minoxidil tópico. 5- atraso na liberação dos fios telógenos, que ocorre nos mamíferos que trocam os pelos após o inverno. Talvez seja causado por um estímulo como a luz do dia.

Pode ser subdividido em formas aguda e crônica.

2.2.1.1. Eflúvio telógeno agudo

Caracteriza-se por um quadro agudo de perda maciça de cabelos, em torno de 3 meses, após um evento desencadeador, que pode ser fisiológico (queda de cabelos do recém nascido) ou patológico (doença sistêmica ou febril, parto ou interrupção do uso de hormônios, dietas radicais, estresse emocional ou físico, vacinação, uso de drogas, especialmente a heparina, anestesia ou cirurgia, entre outros). No couro cabeludo normal, os folículos pilosos anágenos migram periodicamente para a fase catágena e posteriormente para a telógena de forma aleatória. Na forma aguda do ET, o evento desencadeia a migração para as fases de repouso (catágena e telógena), de forma sincrônica, em número variável de folículos. O patologista não recebe a biopsia nesta fase, quando seriam observados mais de 15% de folículos telógenos. Além disso, o tempo em que o folículo permanece na fase telógena pode se estender além dos habituais 3 ou 4 meses. Apenas quando estes folículos retornam à fase anágena e os cabelos dos folículos que se encontravam em repouso começam a se desprender é que os pacientes observam a

perda maior e procuram o médico. É nesta fase que a biopsia é coletada. Como o tempo em que os folículos permanecem em telógeno é variável, pode ser difícil determinar o estímulo desencadeador. De maneira geral, em até 1 ano o crescimento normal é restaurado.

2.2.1.2. Eflúvio telógeno crônico

O eflúvio telógeno crônico (ETC) foi descrito em 1996 por Whiting⁷⁷, que observou que em várias pacientes com queda difusa dos cabelos não havia nenhuma causa orgânica, medicamentosa, nutricional ou gatilhos precedendo o quadro. O ETC é caracterizado por uma queda generalizada dos cabelos de forma abrupta, principalmente em mulheres de meia-idade que antes da queda diziam ter cabelos grossos e abundantes, com ou sem um fator desencadeante identificado e com duração acima de seis meses. Geralmente ele tem um curso flutuante que dura vários anos. Pode haver queda de grandes quantidades de cabelo obstruindo os ralos do banheiro nos dias de lavagem.

Clinicamente observa-se um recesso bitemporal no couro cabeludo e pode haver ou não um afinamento generalizado dos fios. Muitas vezes a paciente é a única pessoa que observa o afinamento de seus cabelos. A queda dos cabelos varia de 50 a 400 fios nos dias em que não há lavagem.^{77,78} Essa queda acomete todo o couro cabeludo e o desprendimento dos cabelos é fácil tanto nas regiões temporais como na occipital. O ETC parece ser autolimitado e quase nunca causa calvície (figura 7).



Figura 7: paciente com ETC, cabelos grossos e volumosos, ausência de rarefação capilar

A tricodínia (sensação de agulhadas no couro cabeludo) ocorre em 30% dos casos.⁷⁹

As pacientes ficam muito preocupadas com a persistência da queda de seus cabelos, acreditando que ficarão calvas e muitas trazem recipientes cheios de cabelos para a inspeção.

A prova de tração dos cabelos, na fase ativa do ETC, pode ser positiva em toda a extensão do couro cabeludo, com desprendimento acima de 20% dos cabelos tracionados, ou seja, no tracionamento de 10 fios, irão sair mais de 2 fios, embora possa ocorrer um falso negativo se houver lavagem dos cabelos previamente.⁷⁷

Alguns pesquisadores questionam como é possível ser mantido o volume aparente dos cabelos no ETC, uma vez que há queda aumentada por um período prolongado. De acordo com Kligman⁷⁵, uma quantidade surpreendente de cabelos precisa cair antes que um observador qualquer, que não conhecia o paciente, possa observar a falta de cabelos. Os pacientes com queda de cabelo só começariam a apresentar rarefação quando houvesse uma queda de aproximadamente 1/4 dos fios, ou seja, 25000 fios. Se a queda diária fosse o dobro do normal (200 fios), seriam necessários 125 dias (+/- 4 meses) para apresentar alguma alteração no couro cabeludo ($25.000:200=125$). Porém, os primeiros fios que caíram, no início do telógeno, já começariam a nascer, anulando parcialmente o déficit.

A causa do ETC pode ser multifatorial e difícil de estabelecer. O diagnóstico de ETC por enquanto é feito pela exclusão de outras causas de queda telógena difusa, como anemia, deficiência de ferro, vitaminas e proteínas, alterações na tireoide, doenças renais, hepáticas, medicações, lúpus eritematoso sistêmico, dermatomiosite, sífilis, AA difusa e AAG.⁸⁰ São necessários exames laboratoriais tais como função tireoidiana, renal, hepática, sorologia para sífilis, anticorpo antinuclear, dosagem de zinco e investigação nutricional. Muitas vezes pode ser importante também a realização de uma biopsia, principalmente para excluir AAG e AA difusa.⁸⁰

A biopsia do couro cabeludo geralmente é necessária para confirmar o diagnóstico. É realizada uma biopsia horizontal para analisar a relação de fios terminais com velos e excluir as outras formas de alopecia.

O ETC é comum no paciente HIV+. Nos que são negros, acompanha-se de alisamento das hastes. As causas são a própria infecção crônica pelo HIV ou outras doenças oportunistas, distúrbios nutricionais, imunológicos e endócrinos e exposição a numerosos medicamentos. Tipicamente, à histologia, além da apoptose frequente das células da bainha externa, há infiltrado linfocitário perifolicular com eosinófilos e distrofia das hastes foliculares.⁸¹

Não se sabe por que o ETC é mais comum nas mulheres. Talvez isso ocorra pelo fato de serem mais sensíveis aos sinais da queda dos cabelos e terem os cabelos mais compridos, notando-se mais a queda.

Em alguns animais o ETC também ocorre mais em fêmeas e mais velhas.⁸²

A patogênese do ETC é desconhecida, mas acredita-se que a causa seja uma redução na duração da fase de crescimento anágena (o que levaria a uma sincronização do ciclo), sem miniaturização dos folículos.

Um trabalho realizado por Gilmore e Sinclair em 2010, utilizando uma ferramenta de modelo computacional (automação folicular) que simula a dinâmica do ciclo folicular humano, permitiu reproduzir o ETC apenas pela redução de duração da fase anágena.⁸³

Os diagnósticos diferenciais do ETC são: AAG na fase inicial; AA difusa e formas congênitas e hereditárias de alopecia difusa e hipotricose, quando há uma longa história de alopecia ou outros membros da família afetados.⁸⁰

Devido ao ETC apresentar-se muitas vezes sem qualquer evidência de rarefação de cabelos, deve-se incluir nos diagnósticos diferenciais o transtorno dismórfico corporal (dismorfofobia ou pseudo-eflúvio psicogênico), que é uma condição mais comum em mulheres cuja expectativa de beleza é discrepante em relação ao seu estado físico.

O ETC pode ser diferenciado do ET agudo por ter curso flutuante e com duração maior que seis meses. É distinguido da AAG pela clínica e histologia. Um método não invasivo pode ser usado para diferenciar a AAG do ETC.⁸⁴ Nesse método é feita a contagem dos fios coletados na hora da lavagem dos cabelos, após a paciente permanecer 5 dias sem lavá-los. Nessa análise, além da contagem dos cabelos, é feita uma medição do tamanho dos fios. Na AAG observa-se um aumento no número de fios pseudovelos, sendo detectado um número grande de fios pseudovelos telógenos (fios pequenos). Os pacientes com AAG têm perda de

fios pequenos e finos, próprios do processo de miniaturização. Quando os fios têm até 3 cm de comprimento são chamados de fios pseudovelos, e se representarem mais de 10% do total de fios soltos⁸⁵, pode-se considerar que o paciente tem AAG. Quando o número de fios soltos é 100⁸⁶ ou mais, e estes são maiores que 3cm, o diagnóstico de ETC deve ser considerado.

Guarrera e colaboradores⁸⁷ compararam três métodos não invasivos e de fácil execução que quantificam os cabelos que caem para selecionar o melhor. Foram estudadas: (A) a prova de tração suave, (B) a contagem dos fios que caem no período de um dia e (C) a contagem dos fios na lavagem dos cabelos após cinco dias sem lavar. Todos mostraram algum grau de limitação. Porém, de acordo com o estudo, a técnica de lavagem é provavelmente a melhor. Reborá, num estudo de 2004⁸⁸, mostrou que mulheres normais e sem queixas capilares apresentam um número menor do que 100 fios soltos no método da lavagem.

É muito importante definir o diagnóstico correto, principalmente no caso da AAG e do ETC, já que eles acometem a mesma faixa etária. Além disso, a queda dos cabelos no início da AAG pode ser difusa e episódica, o que também ocorre no ET.⁸⁹ Isso porque, como foi citado por Rand⁹⁰, que trabalha no desenvolvimento de medicações dermatológicas, pacientes com ETC poderiam, erroneamente, ser incluídos em estudos de terapêutica como tendo AAG e distorcer os resultados ou a eficácia dos tratamentos. Na fase aguda do ETC, os fios envolvidos provavelmente não responderiam ao medicamento investigado, causando um falso negativo. E na fase de resolução, o aumento do crescimento dos cabelos poderia ser interpretado como um falso positivo. Conseqüentemente, poderia haver alterações nos resultados de possíveis pesquisas na área de tratamento da AAG.

Um estudo feito por Sinclair e colaboradores¹² mostrou que em 40 % dos pacientes com eflúvio difuso crônico sem alterações na densidade dos cabelos, a biopsia não apresentava alterações, o que levou ao diagnóstico de ETC. Na opinião do pesquisador Messenger⁹¹, uma parte desses pacientes diagnosticados com ETC tem, na realidade, um aumento da queda dos fios devido à diminuição do ciclo dos cabelos relacionado à idade. Entretanto, nesse trabalho não foi mencionada a idade dos pacientes que tiveram o diagnóstico de ETC. Apenas foi mencionado que a idade dos pacientes recrutados para o estudo era de 13 a 74 anos.

Como foi dito anteriormente, a patogênese do ETC é desconhecida, mas acredita-se que seja causada pela diminuição da duração da fase anágena, sem miniaturização dos fios. Como essa redução da fase anágena também ocorre na AAG, mas com miniaturização, alguns autores acreditam que o ETC seja o início da AAG. No entanto, um estudo realizado com longo tempo de seguimento mostrou que 4 dos 5 pacientes com queda crônica dos cabelos por longo período não apresentaram evolução para AAG.⁷⁸

A prevalência de mulheres com AAG por volta dos 60 anos é de pelo menos 25%, ou seja, pacientes com ETC podem, coincidentemente, desenvolver a AAG.

O tratamento ainda é empírico, não existindo um consenso. Alguns trabalhos mostraram não haver melhora com uso de minoxidil tópico.⁷⁸ Parte da investigação consiste na realização da biopsia para estabelecer o diagnóstico e, com isso, confortar a paciente de que os cabelos perdidos são devido a um aumento da queda, e que eles estão sendo continuamente repostos pelo nascimento de novos fios.⁸⁰

O prognóstico é incerto. Tem sido relatado que a queda dos cabelos tem um curso flutuante, que a paciente com essa condição não ficará calva e que o problema se resolverá após alguns anos.⁷⁷

Achados histológicos

O couro cabeludo pode ter aparência histológica normal, de forma que são necessárias informações clínicas precisas.

Na forma aguda, como a biopsia é coletada no momento em que o paciente percebe a queda dos cabelos, a maioria dos folículos já se encontra novamente na fase anágena.

Na forma crônica, o número de folículos telógenos é variável, mas pode ser superior ao espectro da normalidade (10 a 20% em relação ao normal de média de 6,5%). A relação entre folículos terminais e velos encontra-se entre os valores normais (9:1), ao contrário da AAG, cujo valor é de 1.9:1.

Diagnóstico diferencial: na AA são vistas células inflamatórias em torno e na espessura dos bulbos foliculares. Porém, pode haver pouca inflamação. Na AAG há maior número de folículos pilosos na fase telógena e eles estão miniaturizados. Quando a biopsia na AA é

coletada na fase em que os cabelos voltam a aparecer, há maior proporção de folículos anágenos.

2.2.2. Alopecia androgenética de padrão feminino

As mulheres geralmente desenvolvem a AAG após o início da puberdade, sendo mais comum entre os 20 e 40 anos, embora haja alguns relatos de início na fase pré-puberal, quando já existe um aumento dos hormônios sexuais.⁹²

A AAG masculina foi amplamente investigada e sabe-se que é determinada pelos andrógenos e pela herança genética. Hamilton⁹³, em 1960, mostrou que homens geneticamente predispostos à AAG masculina, mas que foram orquiectomizados, e com isso tiveram reduzidos seus estímulos androgênicos, não desenvolviam a alopecia. Outro trabalho⁹⁴ mostrou a importância da enzima 5 alfa-redutase tipo II no desenvolvimento da AAG, pois os pacientes com deficiência dessa enzima, que converte a testosterona em diidrotestosterona, não desenvolveram alopecia. A AAG em homens é facilmente identificada e são raros os erros de diagnóstico.

Já a AAG feminina apresenta maior complexidade no seu reconhecimento, podendo haver dificuldade no diagnóstico definitivo. As influências genéticas e hormonais não estão totalmente elucidadas.

A AAG feminina, assim como a AAG masculina, é uma condição genética que requer uma mediação dos andrógenos para sua expressão fenotípica (conhecida como alopecia andrógeno-dependente, alopecia androgênica, alopecia androgenética ou alopecia padrão feminino).⁹⁵

A paciente com AAG feminina, na maioria dos casos, não apresenta manifestações clínicas de hiperandrogenismo (acne, hirsutismo, alterações menstruais), provavelmente porque a doença possa ser resultante do metabolismo periférico dos andrógenos.⁹²

Em alguns casos, entretanto, as pacientes com alopecia androgenética apresentam excesso de andrógenos, endógenos ou exógenos. Nesses casos quase não há dúvidas na associação hormonal. Essas mulheres podem apresentar quadro clínico de AAG semelhante ao dos homens. As mulheres com AAG padrão feminino associada ao hirsutismo e à acne podem

responder a tratamentos com antiandrogênicos.⁹⁶ Isso evidencia a dependência hormonal nesses quadros.

Um estudo⁹⁷ mostrou que 33% das mulheres com AAG e 16% das pacientes que apresentavam AAG associada ao hirsutismo tinham níveis normais de hormônios. Outro estudo⁹⁸ evidenciou que 67 de 109 pacientes com queda difusa dos cabelos apresentavam níveis normais de andrógenos. Observou-se também um aumento dos andrógenos em 79% das pacientes que apresentavam hirsutismo ou distúrbio menstrual associado à AAG, mas em apenas 16% daquelas com AAG somente.

Quando a mulher apresenta sinais ou sintomas de hiperandrogenismo devem ser investigados três possíveis causadores: síndrome do ovário policístico (SOP), atualmente chamado de hiperandrogenismo ovariano funcional; hiperplasia congênita da suprarrenal e síndrome metabólica.

Devido à possibilidade de haver alterações hormonais, é necessário dosar por meio de exames laboratoriais a testosterona livre, o LH, o FSH, o SDHEA, a prolactina, a androstenediona e o 17-hidroxiprogesterona.⁹⁸

Uma pesquisa realizada com homens e mulheres com AAG mostrou um aumento de receptores de andrógenos e da enzima 5 alfa redutase na região frontal em ambos os sexos, com maiores níveis nos homens. Foi observado também um nível aumentado da aromatase na região occipital, com maiores níveis nas mulheres.⁹⁹ Isso poderia explicar as diferenças fenotípicas entre homens e mulheres com AAG. Os folículos pilosos processam os andrógenos e têm uma suscetibilidade diferente a eles dependendo do local do couro cabeludo. Os folículos pilosos da região occipital sofrem pouca interferência dos andrógenos.

Existem teorias genéticas para a AAG, principalmente de herança poligênica^{100,101}, devido às diferenças de apresentações clínicas, idades de início do sintomas e graus de intensidade.⁵⁹ O polimorfismo do gene do receptor androgênico foi associado à AAG, porém também foi identificada a participação de outros genes nos cromossomos 3q26 e 20p11, sugerindo que outras vias independentes dos estrógenos também atuavam.¹⁰²

Os diagnósticos diferenciais são: AA difusa, ET, ETC, síndrome da perda anágena e tricotilomania¹⁰³, sendo que a avaliação microscópica dos fios pode ajudar no

esclarecimento de algumas dessas causas. Em alguns casos, as pacientes com AAG padrão feminino iniciam o quadro com queda excessiva dos cabelos por meses ou anos antes do aparecimento da diminuição da densidade dos fios (que paulatinamente vão se tornando mais finos), dificultando diferenciá-la do ETC.¹⁰⁴

Também se deve diferenciar a AAG do pseudo-eflúvio psicogênico (transtorno dismórfico corporal ou dismorfofobia). No início, o quadro da AAG parece-se com o de um couro cabeludo normal ou com o de um ETC, mas se observam folículos intermediários na AAG. O adelgaçamento progressivo das hastes pilosas, que pode ocorrer no ETC, especialmente nas mulheres, pode ser uma indicação de uma associação entre AAG e ETC, ou mesmo ser um indício de que estas duas formas de alopecia representam variações de um mesmo processo. Diferenciar a AAG da AA, na fase de repilação ou da alopecia de tração, pode ser muito difícil, se não houver informações clínicas, pois as 3 compartilham a atrofia folicular.

Nos casos onde há dúvida no diagnóstico é necessária a realização de uma biopsia.

A mulher com AAG raramente desenvolve uma verdadeira calvície, ao contrário dos homens.

Clinicamente observa-se um afinamento dos fios, aparentando haver redução difusa da densidade dos cabelos principalmente na região frontal e no vértice, embora as regiões parietal e occipital também possam ser acometidas (figura 8). A linha frontal de implantação dos cabelos geralmente é preservada. Dependendo da intensidade do quadro, a AAG feminina pode ser classificada em três níveis, de acordo com a classificação de Ludwig.¹⁰⁵ No grau I observa-se um afinamento perceptível dos fios no topo do couro cabeludo com preservação da linha frontal; no grau II a rarefação capilar é mais pronunciada, mantendo-se a linha frontal; e no grau III nota-se ausência quase total de fios no topo, com preservação da linha frontal. Ocasionalmente a mulher pode desenvolver alopecia com características masculinas, com recesso bitemporal. Essa alopecia é mais comum após a menopausa.¹⁰⁶ Olsen, em 1999¹⁰⁷, observou que a AAG feminina pode também ser reconhecida quando se reparte os cabelos na linha mediana, observando-se uma diminuição da densidade dos fios que se estende do vertex à região frontal nos graus iniciais da AAG.



Figura 8: paciente com AAGF, apresentando rarefação capilar frontoparietal

Alterações foliculares são vistas tanto nos homens quanto nas mulheres com AAG.¹⁰⁸ Provavelmente isso decorre de uma redução gradual do tempo da fase anágena, um prolongamento da fase quenógena¹⁰⁹ (após a queda do fio telógeno, ou seja, fase exógena, o folículo piloso permanece um certo tempo inativo antes de um novo período anágeno, quando há novamente atividade mitótica) e miniaturização dos fios.¹¹⁰ Nessa miniaturização é observada a transformação de fios terminais em fios pseudovelos. Isso acontece pela redução do tamanho da papila dérmica e diminuição do tempo da fase anágena, resultando em fios finos e curtos.¹¹¹ Todas essas transformações levam a uma diminuição do volume e da densidade dos cabelos.

Sabe-se que as papilas dos folículos pilosos são ricas em receptores androgênicos e representam o alvo dos andrógenos.^{5,6}

Esse encurtamento progressivo do tempo do ciclo de crescimento folicular (anágeno-catágeno-telógeno) não é sincrônico, de forma que, nas fases iniciais, esta forma de alopecia é um tipo de ET; a cada novo crescimento anágeno forma-se um folículo mais superficial e delgado. Clinicamente ocorre uma rarefação capilar da região central da cabeça. Porém, com o tempo, o comprimento vai diminuindo.

Dois estudos mostram que a incidência da AAG nas mulheres com menos de 50 anos varia de 6% a 13,5%, e de 29% a 38% nas mulheres acima de 70 anos.^{112,113}

O avançar da idade pode causar mudanças no ciclo dos cabelos, densidade, diâmetro e pigmentação dos fios, além de alterar qualitativamente a estrutura capilar.

Um estudo comparando as alterações de densidade e diâmetro dos fios em mulheres com AAG e um grupo controle sem queixa de queda de cabelo evidenciou que há uma diminuição progressiva da densidade dos cabelos nas mulheres acima dos 40 anos.¹¹³ O que define essa densidade é o número de fios que emergem de um único orifício folicular. Pacientes com maior densidade têm 3 ou mais fios em um único orifício, enquanto pacientes com diminuição da densidade têm, na maioria das vezes, apenas um fio no orifício. O diâmetro foi analisado mensurando-se o maior e o menor eixo em cada fio.

A menopausa afeta a densidade dos cabelos. A incidência de perda dos cabelos na região bitemporal anterior aumenta de 13% na pré-menopausa para 37% após a menopausa.¹⁰⁶

A redução numérica de folículos pilosos relacionada diretamente apenas à idade é mínima. Na velhice, não há aumento numérico do número de folículos miniaturizados, ao contrário do que ocorre na AAG, esta, sim, uma causa de alopecia no idoso.^{89,114}

Os tratamentos utilizados são anti-andrógenos e minoxidil tópico. Um trabalho publicado em 2005 mostrou que o uso da espirolactona ou acetato de ciproterona por um período médio de 16 meses possibilitou estabilizar o quadro, ou seja, prevenir a queda dos cabelos, e/ou estimular seu crescimento em 88% das pacientes com AAG feminina estudadas, com a mesma eficácia.¹¹⁵

A espirolactona age competitivamente bloqueando os receptores andrógenos e inibindo a produção dos hormônios andrógenos pelos ovários. A dose utilizada varia de 50 a 300mg/dia. Seus efeitos colaterais são: hipotensão postural, irregularidade menstrual, alterações eletrolíticas, fadiga e urticária.

O acetato de ciproterona também atua bloqueando os receptores de andrógenos. Nas pacientes não menopausadas a dose utilizada é de 100mg/dia, por 10 dias, em cada ciclo menstrual. Após a menopausa a dose é de 50mg/dia continuamente. Seus efeitos colaterais são dose dependentes e incluem irregularidade menstrual, aumento de peso, diminuição da libido, depressão e náusea.

O minoxidil tópico também é muito utilizado nos quadros de queda dos cabelos. Um estudo¹¹⁶ realizado com mulheres com AAG feminina utilizando minoxidil 2% em solução,

aplicado duas vezes ao dia, ou placebo, por 32 semanas, concluiu que em aproximadamente metade das pacientes que usaram minoxidil houve um aumento da quantidade de fios variando de mínimo a moderado.

Outro estudo¹¹⁷ comprovou a superioridade do tratamento com minoxidil 2% tópico aplicado duas vezes ao dia em relação ao acetato de ciproterona 50mg/dia por 20 dias/ mês em pacientes com AAG feminina sem outros sinais de hiperandrogenismo.

Com relação à finasterida, inibidor específico da 5 alfa redutase tipo II, os resultados ainda são controversos. Whiting e colaboradores, em um estudo realizado em 1999¹¹¹, evidenciaram que a finasterida utilizada na dose de 1mg/dia via oral não foi eficiente para o tratamento de mulheres com AAG feminina na pós-menopausa. O mesmo resultado foi observado no trabalho realizado por Price e colaboradores em 2000.¹¹⁸ Entretanto, em 2002, Shum e colaboradores⁹⁶ observaram que o tratamento da AAG feminina com finasterida 1,25mg/dia via oral foi eficaz para as quatro pacientes estudadas que apresentavam hiperandrogenemia associada. Os investigadores sugeriram que nem todas as pacientes com AAG feminina têm a mesma fisiopatologia.

Thai e Sinclair¹¹⁹ obtiveram sucesso no tratamento de uma paciente menopausada com AAG feminina e sem hiperandrogenemia utilizando finasterida 5mg/dia por um período de 1 ano.

Achados histológicos

Numa inspeção panorâmica, observa-se variável (que chega a ser marcada, nas fases tardias do processo) redução da relação entre o número de folículos terminais (espessura igual ou superior a 250 µm) e os miniaturizados (ou velos secundários) e, portanto, redução no diâmetro médio dos folículos pilosos e hastes pilosas. Há também aumento do número de folículos intermediários (cujas hastes medem entre 30 e 60 micrômetros). No início do processo, pela redução de tempo da fase anágena, há aumento numérico de folículos telógenos (16% para um normal de 6,5% em média). Na alopecia androgenética feminina e nas fases iniciais da alopecia androgenética masculina não há redução do número total de folículos (terminais + miniaturizados). Nas fases tardias, no homem, ocorre redução da densidade folicular e os folículos presentes são velos (relação terminal:velos de 1,9:1)^{14,89}, bem como aumento do número de *stelaes* (traves conjuntivo-vasculares). Nestas traves observam-se os corpos de Arão-Perkins (agregados de elastina sob o folículo velo,

correspondendo ao local onde se encontrava a papila). Cada vez que o folículo entra na fase catágena e sobe, o corpo de elastina permanece no local. Na nova fase anágena o folículo se forma um pouco menor, mais superficial, o agregado de elastina permanece e numa nova fase catágena um novo agregado de material elástico é deixado, e assim, sucessivamente, estes nódulos vão se empilhando sobre os antecessores.^{5,6,11,102,105,106,120}

2.2.3. Alopecia Areata

A AA é uma doença clinicamente heterogênea caracterizada por perda de cabelos no couro cabeludo, de forma não cicatricial, e/ou perda de pelos no corpo. Nas clínicas dermatológicas a porcentagem de atendimento de pacientes com AA varia entre 0,7 e 3,8%.^{121,122} Nos EUA estima-se que a AA ocorra em 0,1 a 0,2% da população em geral.¹²³ Ela afeta homens e mulheres na mesma proporção.¹²⁴ A doença é mais prevalente entre a segunda e a quarta década de vida. Aproximadamente 37% dos pacientes desenvolvem a primeira lesão antes dos 20 anos.¹²¹

Ela pode ser classificada de acordo com o grau de abrangência da queda dos pelos em: alopecia areata em placas, na qual há perda dos cabelos em parte do couro cabeludo; alopecia total, com perda completa de cabelos no couro cabeludo e alopecia universal, com perda total no couro cabeludo e no corpo.^{125,126} Em aproximadamente 1 a 2% dos pacientes ocorrerá evolução para alopecia total ou universal.¹²⁷ Existem alguns tipos de apresentações menos comuns da alopecia como reticular¹²¹; ofiásica¹²¹, com faixa de alopecia na região parietotemporoccipital; ofiásica inversa¹²⁸, com perda de cabelos na região frontoparietotemporal e alopecia difusa do couro cabeludo sem placas de alopecia. Um nova variante, com perda aguda e difusa de todos os cabelos, primeiramente descrita por Sato-Kawamura e colaboradores, deve também ser considerada. Ela é caracterizada por rápida progressão e envolvimento extenso, mas apresenta bom prognóstico.¹²⁹

As lesões clássicas da AA são áreas sem pelos, bem delimitadas, circulares ou ovais, com coloração normal, discretamente eritematosas ou com cor de pêssego. Podem acometer qualquer região do corpo, como couro cabeludo, sobrancelhas, cílios, barba, axila, região pubiana e restante do corpo.^{121,122} O local mais afetado, em torno de 90% dos casos¹²⁴, é o couro cabeludo. Um achado característico são os pelos em ponto de exclamação, que correspondem a pelos telógenos fraturados, que se desenvolvem devido ao dano que ocorre

no córtex e na medula do fio, tornando-os curtos e mais grossos na extremidade distal.¹³⁰ Podem ser encontrados dentro ou na borda da área de alopecia. Na doença ativa pode ser observado o teste de tração positivo dos cabelos na periferia das lesões. No início da repilação os cabelos tendem a ser despigmentados, com retorno da coloração posteriormente.^{127,131}

A maioria dos pacientes é assintomática, embora alguns descrevam parestesia, com discreto ou moderado prurido, sensação de queimação ou dor antes do aparecimento das placas.^{121,129}

A unha pode ser afetada em 20 a 25% dos pacientes^{132,133}, sendo o pitting ungueal a alteração mais frequente.¹³⁴ Outras anormalidades são linhas de Beau, onicorrexe, onicomadese, traquioníquia, coiloníquia, afinamento ou espessamento, leuconíquia puntata ou transversa e manchas vermelhas na lúnula.¹³⁵ Essas anormalidades podem ocorrer antes, durante ou após a resolução da alopecia.

Existe uma associação entre a AA e outras doenças autoimunes, como a tireoidite autoimune e o vitiligo, com incidência de 7 a 24%, e 3 a 8%, respectivamente.¹³⁶⁻¹³⁸ Não há relação entre os anticorpos tireoidianos e a gravidade da AA. Outras doenças associadas são: atopia, síndrome de Down, doença de Addison, síndrome poliglandular autoimune autossômica recessiva, anemia perniciosa, psoríase, líquen plano, lúpus eritematoso, doença celíaca, colite ulcerativa e esclerose múltipla.¹³⁹ Um trabalho publicado em 2009 por Pandhi e colaboradores¹⁴⁰ evidenciou associações da AA com oftalmopatias, tais como alterações do cristalino e mudanças no fundo de olho, que ocorreram, respectivamente, em 40,9% e 32,5% dos pacientes com AA.

O curso da doença é imprevisível. Os pacientes podem apresentar vários episódios de alopecia seguidos de repilação durante a vida. Mais de 50% dos pacientes terão resolução da alopecia dentro de um ano, mesmo sem tratamento.¹⁴¹ Os indicadores de pior prognóstico são: grande extensão da área acometida (um estudo acompanhou os pacientes por aproximadamente 14,8 anos e nele 75% dos pacientes com AA total ou universal não apresentaram repilação)¹⁴¹, forma ofiásica, atopia associada, história familiar positiva, presença de outras doenças autoimunes, acometimento das unhas e início na pré-puberdade.¹⁴¹

O diagnóstico diferencial da AA típica, principalmente em crianças, é a tinea capitis e a tricotilomania. A tinea capitis pode ser diferenciada pela presença de inflamação ou descamação. Na tricotilomania observam-se lesões de formas irregulares e bizarras, com cabelos quebrados de vários tamanhos. Já a AA difusa pode ser difícil de distinguir do ET ou da AAG. Na história do paciente pode ser detectado um fator desencadeante, favorecendo o diagnóstico de ET. A prova de tração dos cabelos também pode ajudar a diferenciar a AA do ET. Na AA serão evidenciados cabelos telógenos e anágenos distróficos em contraste com apenas fios telógenos no ET. Pode ser necessária uma biopsia para diferenciar as doenças. Na AAG geralmente a prova de tração é negativa e não há uma queda proeminente dos cabelos. Outros diagnósticos a serem considerados são lúpus eritematoso e sífilis secundária, sendo necessários às vezes testes sorológicos e biopsia.¹⁴²

Além disso, deve-se lembrar da atriquia congênita, doença genética rara na qual se observa uma forte associação familiar de queda universal dos cabelos.¹⁴³

A alopecia areata pode ser diagnosticada com certa segurança mesmo quando o infiltrado inflamatório não estiver presente pelo grande número de: 1- folículos telógenos no início do quadro, 2- folículos catágenos na fase subaguda e 3- folículos miniaturizados na fase crônica.¹⁴⁴ Nos cortes transversais observa-se que com o tempo de alopecia o número e a densidade das unidades foliculares diminui, o número de catágenos e telógenos aumenta, a relação anágeno:telógeno e terminal:velos se inverte e o infiltrado linfóide diminui.

Com relação aos diagnósticos diferenciais anátomo-patológicos, os mais importantes são: o ETC, a AAG e a alopecia de tração, especialmente na fase de repilação da AA, pois nas quatro enfermidades podem ser encontrados vários folículos telógenos e velos. No eflúvio anágeno (dos pacientes sob tratamento quimioterápico e envenenamento por metais pesados) não há células inflamatórias, mas o mesmo pode ocorrer na AA. Desta forma, a correlação clínica é importante.

Quando o infiltrado linfocitário é proeminente, o diagnóstico diferencial inclui o líquen plano pilar e o lúpus crônico: nestes, o infiltrado é de interface e mais superficial.

Observa-se na AA um ciclo folicular anormal. O folículo anágeno torna-se prematuramente telógeno ou catágeno tardio nas áreas acometidas.

O ciclo dos cabelos tem três fases: anágena, catágena e telógena. Essas fases são coordenadas por hormônios, citocinas e fatores de transcrição e seus receptores correspondentes. Elas são reguladas por meio de rotas endocrinológicas, parácrinas e autócrinas. Interferências nesse delicado processo podem resultar no desenvolvimento de doenças dos cabelos.¹⁴² Na AA podem ocorrer diferentes alterações no ciclo dos cabelos dependendo da gravidade, duração e forma da doença em cada paciente. Primeiro, pode ocorrer inflamação na fase anágena, mantendo, com isso, um ciclo anágeno distrófico, incapaz de produzir fios longos e íntegros. Quando há uma inflamação intensa os fios podem passar para a fase telógena precocemente, tornando curta a duração da fase anágena-telógena. Na fase crônica da doença, a fase telógena tende a se tornar prolongada, dificultando um retorno para a fase anágena.

Pesquisas atuais mostram que provavelmente a AA é uma doença autoimune. Um dos argumentos a favor é sua associação com doenças autoimunes¹³⁹ e a melhora com tratamentos imunossupressores. Observa-se um infiltrado de linfócitos ao redor e dentro dos folículos afetados^{145,146} e a presença de células apresentadoras de antígenos como macrófagos e células de Langerhans. Essas células podem representar uma resposta aos autoantígenos dentro dos folículos.

Associações entre o antígeno leucocitário humano (gene HLA) e a AA também têm sido evidenciadas principalmente em se tratando do HLA classe II. Antígenos HLA classe II têm uma alta expressão nos folículos pilosos afetados na AA. Uma associação da doença com HLA-DR e HLA-DQ sugere um papel das células T na AA.¹⁴⁷⁻¹⁵¹

Um estudo de genoma feito em famílias que tinham muitos pacientes com AA identificou como prováveis locais de suscetibilidade da AA os intervalos dos cromossomos 6, 10, 16 e 18.¹⁵²

Os linfócitos CD8+ e CD4+ são observados na região peri e intrafolicular.¹⁵³ Estudos em animais têm demonstrado um predomínio de células CD8+ no infiltrado intrafolicular e células CD4+ na região peribulbar.¹⁵⁴ Isso pode indicar que provavelmente a célula CD8+ é o principal autor do processo, atacando diretamente o epitélio folicular, e provavelmente é o mediador-chave na patogenia. Os potenciais alvos da resposta autoimune na AA incluem ceratinócitos foliculares, melanócitos e antígenos da papila dérmica.¹⁵⁵

A hipótese de que a AA é hereditária se baseia nas observações de gêmeos monozigóticos, nos quais a AA pode ter início no mesmo período e com as mesmas características.^{156,157} Além disso, alguns pacientes com AA têm uma história familiar forte, acometendo várias gerações.^{136,139} A probabilidade de um membro da família de um paciente com AA ser afetado varia de 7 a 37 %.¹⁵¹

Fatores ambientais também podem contribuir para o desenvolvimento da AA. Genes específicos podem proporcionar um grau de suscetibilidade individual, porém fatores ambientais, provavelmente cumulativos, determinam o início, o tipo de apresentação e a gravidade da doença.¹⁵⁸ Os gatilhos ainda não estão bem determinados, mas podem ser flutuações hormonais, agentes infecciosos¹⁵⁹ e vacinações.¹⁶⁰ O estresse é muito citado como causa do início da AA, porém os estudos são inconclusivos.^{161,162} Alguns autores confirmam a associação de eventos estressantes com o início da doença, mas outros não observaram uma correlação significativa.¹⁶³ O que muitos estudos evidenciam é que os pacientes têm uma propensão maior a ter um traço psicossocial aberrante, como aumento da ansiedade, depressão e/ou agressividade.^{162,164,165}

Atualmente, as hipóteses do desenvolvimento da AA concentram-se no colapso do privilégio imune dos folículos pilosos ou na apresentação inadequada dos antígenos durante o ciclo normal do folículo.¹⁶⁶ Na fase anágena os folículos apresentam um privilégio imune, e se isso for danificado, a exposição de um único antígeno folicular pode resultar num gatilho do sistema imune. Outra hipótese está relacionada à fase catágena. A imunoproteção é transitória e limitada à fase anágena. Na fase catágena normal ocorre apoptose¹⁶⁷⁻¹⁶⁹ e infiltrado de células inflamatórias.¹⁷⁰ Essa fase poderia expor o sistema imune continuamente a baixos níveis de antígenos derivados dos folículos. Isso pode explicar porque pessoas e animais sem AA podem ter autoanticorpos específicos contra folículos pilosos.^{171,172} Se a fase catágena se tornar desordenada, o infiltrado celular imune poderá causar a expressão de antígenos de forma inapropriada e com isso induzir uma resposta imunológica.

Existem vários tratamentos propostos para a AA, mas nenhum capaz de curá-la ou preveni-la, e sim para tentar deter sua atividade. Cerca de 34 a 50% dos pacientes com AA têm a possibilidade de remissão espontânea dentro de 1 ano. A seguir serão descritas as opções de tratamento:

- Corticoide intralesional: tem sido usado no tratamento da AA há aproximadamente 50 anos. Um estudo mostra repilação dos cabelos em 71% dos pacientes com AA em placas tratados com acetona de triancinolona intralesional por 3 vezes, em intervalos de 2 semanas, quando comparados a 7% no grupo controle.¹⁷³ Essa é a primeira linha de tratamento para os pacientes adultos com menos de 50% do couro cabeludo afetado. São usadas concentrações de 2,5 a 10mg/ml, um volume máximo de 3 ml, a cada 4 a 6 semanas intradermicamente, 0,1ml em cada ponto com distância de 1cm entre cada ponto. Nas regiões das sobrancelhas e face são usados 2,5mg/ml (0,5ml em cada sobrancelha).¹⁷⁴ Os resultados iniciais do tratamento geralmente são observados após 1 a 2 meses.¹⁷³ Os efeitos colaterais são: atrofia transitória e telangiectasias que podem ser minimizadas com menores volumes, aplicações não superficiais e em menos pontos por local. Se não houver melhora durante seis meses de aplicação, o tratamento deve ser suspenso. Uma das razões possíveis da falta de resposta em alguns pacientes depois de 6 meses de terapia é um baixo nível da enzima tioredoxina redutase na bainha externa do fio, a qual ativa o receptor de glucocorticoide.¹⁷⁵
- Corticoide tópico: muitas formas de corticoide tópico têm sido relatadas com graus variáveis de eficácia. Um estudo na AA de leve a moderada intensidade, multicêntrico prospectivo, aleatório, controlado, mostrou repilação maior que 75% em 61% dos pacientes usando valerato de betametasona 0,1% em espuma, em comparação com 27% no grupo que usou dipropionato de betametasona 0,05% loção.¹⁷⁶ Outro estudo utilizando proprionato de clobetasol a 0,05% em pomada sob oclusão em pacientes com AA total e AA universal mostrou resposta em 28,5% dos pacientes.¹⁷⁷ Raramente são observadas telangiectasias e atrofias. Essa é uma boa opção para crianças por não causar dor e ter uma grande margem de segurança. A taxa de recaída durante o tratamento ou após o término é de 37 a 53%.^{177,178}
- Minoxidil: tem sido usado no tratamento de repilação há mais de 20 anos. Seu mecanismo de ação ainda não está totalmente elucidado. Vários mecanismos têm sido propostos, como vasodilatação¹⁷⁹, angiogênese¹⁸⁰, aumento na proliferação de células¹⁸¹ e abertura do canal de potássio.¹⁸² Um estudo comparando a concentração do minoxidil tópico a 1% e 5% no tratamento de pacientes com AA extensa (maior que 75% de perda

dos cabelos) mostrou uma resposta em 38% e 81% dos pacientes que usaram minoxidil a 1% e 5% respectivamente.¹⁸³ Ele deve ser usado duas vezes ao dia. A repilação geralmente inicia-se em torno de 12 semanas. Os efeitos colaterais são dermatite de contato (6% dos pacientes que usaram minoxidil solução)¹⁸⁴ e hipertricose (3% dos pacientes).¹⁸⁵ A absorção sistêmica é mínima.

- Antralina: usada nas concentrações de 0,5% a 1% em creme. Inicia-se com contato rápido de 20 a 30 minutos diariamente, e a cada duas semanas aumenta-se o tempo de contato em 10 minutos até chegar a 1 hora ou até aparecimento de dermatite no local. Se não houver resposta em três meses, o tratamento deve ser descontinuado. Os efeitos adversos são: irritação intensa, foliculite, linfadenopatia regional, manchas na pele, roupas e nos cabelos claros.^{186,187}
- Imunoterapia tópica: a imunoterapia tópica é definida como a indução e provocação periódica de uma dermatite de contato alérgica pela aplicação de alérgenos de contato potentes na pele. Esta modalidade é o tratamento de escolha para adultos com mais de 50% de acometimento do couro cabeludo. São conhecidas três medicações para o tratamento: dinitroclorobenzeno (DNCB), que atualmente tem seu uso restrito devido ao fato de ter se mostrado mutagênico no teste Ames; dibutilester do ácido esqualico (SADBE), que é instável na acetona, e difenilciclopropenona (DPCP). O sensibilizante de escolha é o DPCP. Estudos evidenciaram taxa de repilação de 40% a 80%.^{188,189} Inicia-se a aplicação de DPCP a 2% em acetona numa área de 4x4cm em um lado do couro cabeludo. Após duas semanas, aplica-se a solução de DPCP a 0,001% na metade do couro cabeludo no mesmo lado. A concentração do medicamento é aumentada gradualmente a cada semana até o aparecimento de reação de dermatite. Quando atingir a concentração adequada, esta deverá ser mantida semanalmente. A medicação é deixada no couro cabeludo por 48 horas e lavada em seguida.¹⁷⁴ O paciente tem que evitar a exposição ao sol, pois a radiação causa degradação do medicamento. Uma reação eczematosa leve é esperada com o tratamento. Podem ocorrer também lesões vesiculares ou bolhosas¹⁸⁹, sendo então necessárias a lavagem do local e aplicação de corticoide tópico. Outras reações incluem linfadenopatia cervical e occipital, edema facial e do couro cabeludo, urticária de contato, reação de eritema multiforme-símile,

distúrbios pigmentares e sintomas parecidos com os da gripe.¹⁸⁸⁻¹⁹¹ Uma pesquisa mostrou que a taxa de resposta em pacientes com AA total e universal foi de 17,4%.¹⁸⁹

- Corticoide sistêmico: um estudo¹⁹² mostrou que no uso de prednisolona 200mg uma vez por semana por três meses obteve-se moderada (31-60%) repilação dos cabelos em 30% dos pacientes. Em 10% dos pacientes houve melhora acima de 60%, comparativamente ao placebo. Houve recaída em 25% dos pacientes no final do período de observação de três meses. Outros modos de administração dos corticoides são: prednisona em dias alternados¹⁹³, prednisona 40mg/dia reduzindo-se 5mg/semana até completar 6 semanas¹⁹⁴, prednisolona 2g intravenosa em dose única¹⁹⁵, metilprednisolona 250mg duas vezes por dia por três dias¹⁹⁶ e dexametasona 5mg duas vezes por semana por um período mínimo de 12 semanas.¹⁹⁷ As desvantagens do corticoide sistêmico são seus efeitos colaterais e as taxas de recaída após a diminuição da dose. O uso de corticoide administrado em pulso parece ter menos efeitos colaterais se comparado ao uso oral diário ou em dias alternados.¹⁹⁸
- Fotoquimioterapia: o uso de psoralênico tópico ou VO associado à luz ultravioleta A para o tratamento da AA tem resultados variados. Estudos evidenciaram que a taxa de resposta com o tratamento é semelhante à remissão espontânea.^{199,200} Esta não é a primeira linha de tratamento devido às altas taxas de recaída e ao risco de aparecimento de lesões malignas na pele.
- Laser excimer: trabalhos mostram que alguns pacientes com AA em placas tiveram melhora com o laser excimer 308nm. As placas foram tratadas duas vezes por semana por no máximo 24 sessões, iniciando com fluência de 50mj/cm².^{201,202} São necessários mais estudos para confirmação da eficácia desse tratamento.
- Ciclosporina: existem trabalhos mostrando melhora dos pacientes com uso de ciclosporina VO sozinho ou associado à metilprednisolona. Entretanto, existem relatos de pacientes transplantados que desenvolveram AA durante o uso de ciclosporina. Esse

tratamento geralmente não é recomendado devido aos efeitos adversos da droga, às taxas de recidiva e à necessidade de longos períodos de tratamento.²⁰³⁻²⁰⁶

- Metotrexate (MTX): um trabalho com 22 pacientes com AA total ou universal mostrou que a associação de MTX 20-25mg/semana com prednisona 20mg/dia teve eficácia em 64% dos pacientes. Há necessidade de mais estudos para comprovação dos resultados.²⁰⁷
- Biológicos: muitas medicações biológicas têm sido estudadas no tratamento da AA por seus efeitos em doenças autoimunes mediadas por células T. Porém os resultados não se mostraram satisfatórios.²⁰⁸⁻²¹⁵
- Sulfassalazina: um estudo com 22 pacientes com AA extensa evidenciou completa repilação em 27,3% dos pacientes. A medicação foi iniciada com 500mg duas vezes por dia por um mês, a seguir 1,0g duas vezes por dia e por último 1,5g duas vezes por dia por quatro meses. A taxa de recidiva foi de 45,5%.²¹⁶ Os efeitos adversos incluem alterações gastrintestinais, cefaleia, erupção cutânea e anormalidades laboratoriais.
- Análogos da prostaglandina: a prostaglandina F_{2α} e seus análogos mostraram efeitos estimulatórios nos folículos, melanócitos na fase telógena e anágena e aumento da conversão de telógeno para anágeno em experimentos em animais.²¹⁷ Mas trabalhos utilizando seu uso em solução oftalmológica em pacientes com AA de cílios e sobrancelhas não se mostraram eficazes.²¹⁸ Os tratamento mostraram poucos efeitos colaterais, com discreto eritema e prurido em alguns pacientes.
- Inibidores tópicos da calcineurina: o uso tópico de tacrolimus e pimecrolimus já foi testado em casos de AA, porém sem resultados animadores.²¹⁹⁻²²²

- Bexaroteno: um estudo com bexaroteno a 1% em gel usado na metade do couro cabeludo foi conduzido em pacientes com AA. Observou-se repilação em 26% dos pacientes.²²³
- Capsaicina: a capsaicina usada a 0,075% em creme foi eficaz na repilação de cabelos vellus em dois pacientes após três semanas de uso.²²⁴ O efeito colateral foi dor em queimação. Outro estudo²²⁵ comparou o uso de capsaicina e clobetasol 0,05%, ambos em pomada, no tratamento de pacientes com AA em placas por seis semanas. Foi observada uma repilação significativa dos cabelos em 9,5% dos pacientes de ambos os grupos na 12ª semana. O uso da capsaicina causou reação eczematosa em apenas um paciente.
- Laser de fototermólise fracionado: existe um caso na literatura de um paciente de 35 anos, sexo masculino, que apresentava AA havia dois anos sem resposta com o uso de minoxidil tópico e de corticoides tópicos e intralesionais. Foi realizada uma sessão de laser por semana durante 24 semanas com completa repilação em seis meses.²²⁶
- Suporte psicossocial: um pequeno estudo com oito pacientes com AA tratados com paroxetina 20mg/dia, e três com placebo por três meses, mostrou repilação total em dois pacientes com o uso da medicação e parcial em quatro pacientes. No grupo controle houve repilação total em um paciente.²²⁷ Um outro trabalho evidenciou repilação de 75% a 100% em 12 de 21 pacientes com AA extensa tratados com sessões de hipnose.²²⁸

Achados histológicos

Na fase **inicial**:

- 1- Observam-se numerosos folículos telógenos (80% ou mais). Ocorre rápida interrupção da fase anágena, demonstrada pela presença de numerosas células matriciais apoptóticas, o que resulta na desintegração da porção proximal das hastes pilosas, que apresentam, ao cair, base pontiaguda (em ponto de exclamação), em vez da forma

típica, que é bulbosa. Cabelos anormais (tricomalácia) mostram que a doença é ativa).^{142,144,229,230}

- 2- Edema, microvesiculação, apoptose, necrose, macrófagos e gigantócitos, incontinência pigmentar e necrose de ceratinócitos na região afetada, incluindo a matriz.¹⁴²
- 3- O achado fundamental nesta forma de alopecia é o infiltrado de células linfocitárias T (CD4+, especialmente na fase aguda, e CD8 +, HLA+) e eosinófilos, presentes na bainha perifolicular e na matriz, com o clássico aspecto de enxame de abelhas. Este infiltrado é menos proeminente na forma difusa e na forma crônica, persistente, do processo.^{142,229,231}

Na fase **subaguda**:

- 1- Muitos folículos catágenos e telógenos (> 50%).¹⁴²
- 2- O infiltrado permanece na bainha de tecido conjuntivo perifolicular que está abaixo do folículo que subiu.¹⁴²

Na fase **crônica persistente**:

- 1- Há maior número de folículos em fase catágena/telógena e, portanto, maior número de *stelae*, mesmo sem atrofia (não se encontram os corpos de Arão-Perkins nestas traves).^{142,230}
- 2- Presença de folículos velos (miniaturizados ou atróficos) em número variável (relação terminal:velo de 1:1).^{142,230}
- 3- Os folículos miniaturizados permanecem em anágeno e são um pouco mais longos do que os velos primários.¹⁴²
- 4- Pouco ou nenhum infiltrado em torno dos folículos miniaturizados.^{142,230}
- 5- Redução do número de melanócitos no bulbo folicular.

Na fase de **repilação**:

- 1- Há aumento do número de folículos anágenos e vários folículos reduzidos de volume (velos); em cortes transversais observam-se em média 27 folículos (normal: 40), devido ao aumento do número de telógenos e velos.

Há redução do número de melanócitos bulbares, pelo menos no início.

2.2.4. Alopecias congênitas

Duas situações congênitas podem resultar em alopecia: 1- aplasia (parcial ou completa) de folículos pilosos e 2- folículos que produzem hastes pilosas anágenas anormais que se partem facilmente (eflúvio anágeno). Podem estar associados a defeitos ectodérmicos. As hastes capilares podem apresentar tricurix nodosa, pili torti, cabelo retorcido, moniletrix, pseudomoniletrix, defeitos cuticulares e corticais.⁷

Achados histológicos: dependendo da forma, um ou mais dos seguintes achados podem estar presentes:

- 1- Redução do número de folículos terminais ou ausência deles;
- 2- Rolhas córneas foliculares;
- 3- Cistos foliculares;
- 4- Hamartomas foliculares.

2.2.5. Alopecia associada a doença endócrina

A queda dos cabelos pode ser causada por várias doenças endócrinas, como hipotireoidismo, hipertireoidismo, hipopituitarismo, hipoparatiroidismo e desordens que causam aumento de hormônios andrógenos (síndrome do ovário policístico, síndrome SAHA, hiperplasia adrenal congênita, síndrome de Cushing e tumores virilizantes). Essas alopecias geralmente se apresentam como alopecia difusa ou de padrão androgenético masculino.^{17,232-240}

2.2.6. Alopecia por drogas

A matriz dos cabelos é vulnerável ao meio ambiente. As medicações podem ocasionar queda dos cabelos de várias formas, inclusive tornando difícil o diagnóstico diferencial com a alopecia areata difusa (incógnita). Alguns medicamentos têm uma tendência maior de causar a alopecia, como os psicotrópicos.

As medicações podem demorar alguns meses para ocasionar a queda dos cabelos, como é o caso do eflúvio telógeno, ou então a queda é iniciada logo após a introdução do fármaco, como o eflúvio anágeno. Isso acontece pois a matriz do folículo é mitoticamente muito ativa e, portanto, susceptível a fármacos citostáticos.

O uso crônico de algumas medicações como a amiodarona podem ocasionar uma queda dos cabelos constante, discreta e diária, que a longo prazo pode produzir uma alopecia total. Alguns medicamentos como o captopril podem levar a uma diminuição do zinco, causando uma alopecia nutricional. Os retinoides podem ocasionar uma queda telógena devido à sua propriedade de acelerar a velocidade de crescimento dos cabelos. Com isso, o ciclo dos cabelos se torna mais curto, com finalização mais rápida do ciclo. Eles também podem ocasionar um eflúvio telógeno.

Medicações tópicas também podem ocasionar alterações dos cabelos. O minoxidil, por exemplo, pode desencadear um eflúvio telógeno, e xampus à base de sulfeto de selênio estão associados à queda dos cabelos anágenos distróficos e à alopecia difusa.^{241,242} Existem relatos de que colírios à base de timolol, bataxolol e levobunolol podem causar alopecia.

O L-triptofano, encontrado em polivitamínicos e suplementos alimentares, bem como em medicações para insônia, tensão pré-menstrual, síndromes reumatológicas e alterações psiquiátricas, também pode ocasionar alopecia.

A alopecia induzida por drogas quase sempre é reversível dentro de 1 a 3 meses após a suspensão da terapia. O cabelo novo geralmente é despigmentado e, ocasionalmente, mais crespo.

Na literatura^{92,243} encontramos muitas medicações que podem ocasionar alopecia e que estão relacionadas no quadro 4:

Quadro 4 - Medicações associadas à alopecia

Acebutolol	Auranofina	Cisplatina
Acetaminofeno	Azatioprina	Citalopram
Acetoexamida	Balsalazida	Citarabina
Aciclovir	Bendroflumetiazida	Clofibrato
Ácido acetilsalicílico	Benzfetamina	Clomifeno
Ácido 5-aminossalicílico	Betaxolol	Clomipramina
Ácido bórico	Bexaroteno	Clonazepan
Ácido nalidíxico	Bevacizumabe	Clonidina
Ácido nicotínico	Bezafibrato	Clorambucil
Ácido valproico	Bicalutamida	Cloranfenicol
Acitretina	Bismuto	Clordiazepóxido
Adrenalina	Bisoprolol	Cloroquina
Albendazol	Bleomicina	Clortiazida
Aldesleuquim	Brinzolamida	Clorotrianisene
Alitretinoína	Bromocriptina	Clorpropamida
Alopurinol	Bronfenac	Clortalidona
Altretamina	Bupropiona	Colchicina
Amantadina	Buspirona	Condroitina
Ametopterina	Bussulfano	Contraceptivos orais
Amilorida	Capecitabina	Corticosteroides
Aminofilina	Captopril	Cumarina
Aminossalicilato de sódio	Carbamazepina	Dacarbazina
Aminoglutetimida	Carbegolina	Dactinomicina/Actinomicina
Amiodarona	Carbidopa-levodopa	Dalteparina
Amitriptilina	Carbimazole	Danazol
Amlodipina	Carboplatina	Daunorrubicina
Amonafida	Carmustina	Delavirdine
Amoxapina	Carteolol	Desipramine
Anagrelida	Carvedilol	Dexfenfluramina
Anastrozol	Cefixima	Diazóxido
Androstenediona	Celecoxib	Diclofenaco
Anfepramona	Cerivastina	Dicumarol
Anfotericina B	Cetirizina	Didanosina
Anisindiona	Cetoconazol	Dietilestilbestrol
Anlodipina	Cetoprofeno	Dietilpropiona
Aprepitante	Cetriximabe	Diiflunisal
Aripiprazol	Cevimelina	Digoxina
Arsênico	Ciclobenzaprina	Diltiazem
Asparaginase	Ciclofosfamida	Disopiramida
Astemizol	Ciclosporina	Divalproex
Atazanavir	Cidofovir	Dixirazina
Atenolol	Cimetidina	Docetaxel
Atorvastatina	Ciprofibrato	Donepezil

Dopamina	Filgrastima	Indometacina
Doxazosina	Finasterida	Infliximabe
Doxepina	Flecainida	Interferon
Doxorrubicina	Floxuridina	Ipratrópio
Duloxetina	Fluconazol	Irinotecano
Efavirenz	Fludarabina	Isoniazida
Eflornitina	Fluoracil	Isosfamida
Eletriptan	Fluorobutirofenona	Isotretinoína
Enalapril	Fluoxetina	Itraconazol
Epinefrina	Fluoximesterona	Labetalol
Esmolol	Flurbiprofeno	Lamivudina
Espironolactona	Fluvastatina	Lamotrigina
Etambutol	Fluvoxamina	Lansoprazol
Etidronato	Formestano	L-asparagina
Etionamida	Foscarnet	Leflunomide
Etodolac	Fosfestrol	Lenograstima
Etofibrato	Gabapentina	Letrozol
Etoposida	Ganciclovir	Leucovorina
Etossuximida	Gencitabina	Leuprolida
Etretinato	Genfibrozila	Levamisol
Exemestano	Gentamicina	Levobetaxolol
Epirubicina	Gestodeno	Levobunolol
Epoetina alfa	Gestrinona	Levodopa
Erva de São João	Glatirâmer	Levofolinato
Escitalopram	Glibenclamida	Levonorgestrel
Esparfloxacina	Goserelina	Levotiroxina
Estanozolol	Granisetrona	Liotironina
Estradiol	Greparfloxacina	Lisinopril
Estramustina	Guanetidina	Lítio
Estrogênios conjugados	Guanfacine	Lomustina
Famotidina	Haloperidol	Loperamida
Fator estimulante de colônias de granulócitos	Halotano	Loratadina
Felbamato	Heparina	Lorazepam
Femproporex	Hidroclortiazida	Lormetazepam
Fenfluramina	Hidromorfona	Losartana
Fenindiona	Hidroxicloroquina	Lovastatina
Fenitoína	Hidroxiureia	Loxapina
Fenofibrato	Ibuprofeno	L-triptofano
Fenoprocumona	Idarrubicina	Maprotilina
Fenopropeno	Ifosfamida	Mebendazol
Fensuximida	Imatinibe	Meclofenamato
Fentermina	Imipramina	Mecloretamina
	Indinavir	Medroxiprogesterona

Mefenitoína	Nitrofurantoína	Rabeprazol
Mefloquina	Noretindrona/Noretisterona	Ramipril
Melfalano	Nortriptilina	Ranitidina
Memantine	Octreotida	Ribavirina
Mercaptopurina	Olanzapina	Rifampicina
Mesalazina	Omeprazol	Riluzol
Mesoridazina	Ondansetrona	Risperidona
Metformina	Oxaliplatina	Ritonavir
Metildopa	Oxaprosina	Rivastigmina
Metilfenidato	Oxcarbazepina	Rofecoxibe
Metiltestosterona	Paclitaxel	Ropinirole
Metiltiouracil	Pantoprazol	Sais de ouro
Metimazol	Paracetamol	Saquinavir
Metissergida	Parametadiona	Selegilina
Metoprolol	Paroxetina	Sertralina
Metotrexato	Pegfilgrastima	Sinvastatina
Metsuximida	Pembutolol	Sotalol
Mexiletina	Penicilamina	Sulfadoxina+pirimetamina
Micofenolato	Penicilina	Sulfassalazina
Minociclina	Pentosan	Sulfato de selênio
Minoxidil	Pentostatina	Sulfisoxazole
Misoprostol	Perclorato de sódio	Sulindac
Mitomicina	Pergolida	Tacrina
Mitotano	Pindolol	Tacrolimo
Mitoxantrona	Pirbuterol	Talidomida
Moclobemida	Piridostigmina	Tamoxifeno
Moexipril	Pirimetamina	Teniposida
Mofetil	Piroxicam	Terbinafina
Nabumetona	Pravastatina	Terfenadina
Nadolol	Prazepano	Testosterona
Nafarelina	Prazosina	Tiagabina
Naltrexona	Probenecida	Tianfenicol
Nandrolona	Procarbazina	Timolol
Naproxeno	Progestina	Tinzaparina
Naratriptano	Proguanil	Tiocianato de potássio
Nefazodona	Propafenona	Tioguanina
Neomicina	Propranolol	Tiopronina
Niclosamida	Propiltiuracil	Tioridazina
Nifedipina	Protriptilina	Tiotepa
Nilutamida	Quazepan	Tiotixeno
Nimodipina	Quinacrina	Tiouracil
Nisoldipino	Quinapril	Tizanidina
Nitisinona	Quinidina	Tocainida

Tolcapona	Triptorrelina	Vincristina
Topiramato	Trofosfamida	Vindesina
Topotecano	Urofolitrofina	Vinorelbina
Toremifeno	Ursodiol	Vitamina A
Trandolapril	Vacina antraz	Voriconazol
Tranilcipromina	Vacina para hepatite B	Zalcitabina
Trazodona	Valdecoxibe	Zaleplona
Tretinoína	Varfarina	Zidovudina
Triazolam	Vasopressina	Ziparazidona
Trimetadiona	Venlafaxina	Ziprasidona
Trimipramina	Verapamil	Zonisamida
Triparanol	Vimblastina	Zotepina

Além dessas medicações, algumas outras situações podem causar alopecia:

- Intoxicação com plantas: *Abrus precatorius*, *Leucaena glauca*, *Lecythis* e outras
- Arsênio usado na lavoura como pesticida
- Dímeros do cloropreno usado na manufatura da borracha
- Chumbo usado em tintas
- Mercuriais usados em cosméticos e antissépticos
- Tálcio usado em raticidas
- Iodo e iodetos.

2.2.7. Alopecia de tração

A alopecia de tração é decorrente do excesso de tração exercida cronicamente no cabelo em penteados, como rabos de cavalo, trancinhas e em técnicas de alisamento. É mais comum na raça negra e afeta a região anterior frontotemporal (alopecia em padrão). A tração induz uma foliculite inflamatória que pode ser subclínica, apresentando apenas uma alopecia progressiva, inicialmente reversível, mas que pode se tornar permanente.²⁴⁴ Geralmente os pacientes observam um encurtamento progressivo dos fios, principalmente nas margens das regiões temporais, podendo se observar fios pseudovelos no local. Se houver interrupção da tração no início do processo, ocorrerá recuperação dos fios. Porém,

se a tração se mantiver por um longo período, ela poderá danificar os vasos das papilas foliculares e causar uma perda permanente dos cabelos, levando a uma fibrose no local.

Achados histológicos¹⁵

Na fase **inicial**:

Aumento do número de folículos catágenos e telógenos.

Na fase **crônica persistente**:

Atrofia folicular com rarefação dos folículos terminais e eventualmente fibrose perifolicular ou substituindo os folículos.

Diagnóstico diferencial:

Nas fases tardias, deve ser diferenciada de alopecia androgenética, eflúvio telógeno crônico e alopecia areata.

2.2.8. Alopecias secundárias ao uso de procedimentos cosméticos

Alguns tipos de manipulações químicas (descoloração, tintura e alisamento) ou físicas (fricção de acessórios de cabelos, lavagem e secagem) dos fios de cabelos podem causar alterações progressivas nas hastes. Essas alterações levam a uma perda da elasticidade e força dos fios, degeneração cortical, perda da integridade estrutural e conseqüentemente quebra. Uma pesquisa evidenciou alterações em alguns aminoácidos das hastes nos cabelos com alisamento permanente, o que poderia acarretar diminuição da força dos fios.²⁴⁵ Outro estudo evidenciou alterações nas cutículas, com escamas irregulares e levantadas após a descoloração dos cabelos, com leve diminuição da força e do alongamento.²⁴⁶ Outro trabalho analisou o uso do secador nos cabelos, mostrando elevação e fendas nas cutículas após a secagem, principalmente quando foram utilizadas altas temperaturas e pequenas distâncias entre o secador e os cabelos, porém não houve alteração do córtex.²⁴⁷

Como foi visto, vários procedimentos acarretam o enfraquecimento dos fios. Quando eles são feitos de forma incorreta, devido ao uso inadequado do produto, diluição errada ou tempo superior ao recomendado, podem acarretar um prejuízo ainda maior aos fios, com

grande possibilidade de queda ou quebra deles. Além disso, é importante lembrar que muitas vezes são feitos vários procedimentos nos cabelos sem o intervalo necessário, aumentando muito a fragilidade do fio.

A queda dos cabelos devido aos procedimentos cosméticos pode ser dividida em 3 grupos:²⁴⁸⁻²⁵⁰

- A- Manipulação mecânica agressiva: pode causar a queda dos cabelos devido à tração do fio ou pelo dano cuticular.
- B- Exposição ao calor excessivo ou *bubble hair*: ocorre quando o cabelo úmido é exposto ao calor localizado, devido à formação de vapor e queratina hidrolizada, com fratura da fibra.
- C- Procedimentos químicos permanentes: esses tratamentos causam alterações nas fibras dos cabelos. Se for ultrapassado o tempo de contato, utilizadas concentrações muito altas ou calor local, todos esses processos são capazes de causar quebra ou até dissolver as fibras.

2.2.9. Eflúvio anágeno

O eflúvio anágeno, também chamado de eflúvio anágeno distrófico, é um tipo de perda de cabelo resultante da queda de grande número de fios na fase anágena. Ele é causado por diferentes etiologias que causam dano direto às células matriciais do bulbo que se dividem rapidamente. Essa parada abrupta da atividade mitótica deixa a porção proximal do fio queratinizado parcialmente enfraquecida, causando o estreitamento e a quebra do fio, que ao desprendimento apresenta-se como um cone na parte proximal e sem bainha. As causas são: drogas antineoplásicas (quimioterápicos), radioterapia, exposição ocupacional a toxinas e AA. Esse eflúvio é volumoso e ocorre dentro de dias (até poucas semanas) após o evento causador.

Na grande maioria das vezes a alopecia causada por quimioterápicos é temporária e reversível. Quando a medicação é removida, o crescimento do fio anágeno é retomado. A radioterapia pode causar alopecia temporária ou permanente.²⁵¹

2.2.10. Síndrome do anágeno frouxo

A síndrome do anágeno frouxo pode ser familiar ou esporádica. Ela é caracterizada pela extração fácil de fios anágenos quando estes são tracionados. Essa síndrome ocorre predominantemente na infância, geralmente sendo diagnosticada após os 2 anos de idade, e desaparece posteriormente na vida adulta. Os cabelos são relativamente esparsos e não crescem muito. Eles podem se apresentar com pontas irregulares, secos, sem brilho e com variação na textura. O diagnóstico é feito pelos seguintes métodos: prova de tração suave, com saída de mais de 10 fios anágenos e tricograma, com mais de 80% dos fios extraídos na fase anágena e sem bainha. Histologicamente já foram descritas algumas alterações que sustentam a hipótese da causa dessa síndrome ser alguma anormalidade na bainha do folículo, afetando a ancoragem do fio anágeno: diminuição da coesão das células da bainha externa, fenda entre a bainha interna e o fio de cabelo, queratinização prematura e degeneração da bainha interna. O tratamento consiste nos cuidados dos cabelos, evitando traumas e trações. A densidade e o comprimento dos cabelos tendem a aumentar gradualmente com a idade.²⁵¹

2.2.11. Tricotilomania (Tricomalácia de Miescher)

Decorre do ato compulsivo de arrancar os cabelos do couro cabeludo e até das sobrancelhas, dos cílios e do púbis. O couro cabeludo, região frontoparietal, é a região mais acometida, provavelmente por ter acesso fácil.²⁵² Nas formas mais leves, observam-se pequenas áreas de alopecias não cicatriciais. Os casos mais graves podem acometer o couro cabeludo inteiro, com fios de diferentes tamanhos e raros fios nas margens.

Achados histológicos¹⁵

Na fase **inicial**:

- 1- Hastes pilosas fraturadas e distorcidas (tricomalácia);
- 2- Moldes melânicos intrafoliculares (se o indivíduo tiver cabelos escuros);
- 3- Dilatação infundibular com rolhas córneas;
- 4- Distorção do bulbo;
- 5- Melanina na papila conjuntiva;
- 6- Eventualmente, focos de hemorragia intra e perifolicular;
- 7- Aumento do número de folículos catágenos e telógenos;

8- Infiltrado linfoide perifolicular.

Na fase **crônica persistente**:

Atrofia folicular com rarefação dos folículos terminais e fibrose, substituindo os folículos tardiamente.

Diagnóstico diferencial:

Distingue-se da alopecia areata: pelo aumento do número de folículos telógenos (quadro 5); na AA há células linfoides no bulbo folicular e faltam as alterações foliculares e das hastes (tricomalácia e moldes). Raramente na alopecia areata pode ser observada tricomalácia na fase aguda.

Quadro-5 Número de folículos, sexo e idade dos indivíduos nas mais frequentes formas de alopecia não cicatricial (cortes transversais, *punch 4*)¹⁴

Diagnóstico	Idade média	Sexo (M:F)	Folículos terminais	Folículos velos
Normal	43	1,4:1	35	5
AAG	40	1,1:1	23	12
ETC	44	1:38	35	4
AA	32	1:1,7	14	13
Tricotilomania/tração	22	1:5	32	7

2.3. MICROVASCULARIZAÇÃO E PROLIFERAÇÃO DAS CÉLULAS EPITELIAIS DO FOLÍCULO PILOSO

É possível que a redução do fluxo sanguíneo para o folículo piloso, estimulando a transformação precoce do folículo anágeno em telógeno, cause a queda excessiva dos fios. Para que o ciclo do crescimento folicular ocorra de forma adequada, acontece a indução da angiogênese para aumentar o aporte nutricional, necessário para o folículo durante a fase anágena, onde há uma divisão celular rápida.²⁵³ O folículo piloso é rodeado por vasos que provavelmente crescem do plexo vascular da derme profunda no período de crescimento do cabelo.²⁵⁴ Essa modulação da vascularização da pele e perfusão já foram observadas previamente durante o ciclo dos folículos pilosos e em algumas doenças caracterizadas pela

queda dos fios.²⁵⁵ Já foi demonstrado que a fase anágena possui propriedades angiogênicas em modelos de angiogênese experimentais *in vivo*.^{253,256}

O fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) é uma molécula específica do endotélio celular que se liga ao c-fit ou ao receptor tirosina kinase KDR, expressos exclusivamente nas células endoteliais. Ele induz a proliferação das células endoteliais, o aumento da permeabilidade vascular e o aumento da coagulação mediada pelas células endoteliais por meio da promoção da ativação da tromboplastina e do aumento da expressão do fator de von Willebrand nas superfícies das células endoteliais.²⁵⁷

Estudos têm demonstrado que o VEGF é o fator de angiogênese de maior importância para a vascularização da pele.²⁵⁶ Um suprimento adequado de sangue é pré-requisito para o crescimento normal e diferenciação das células e parece ser fundamental para as mudanças no ciclo dos folículos pilosos. A diminuição do VEGF, como ocorre na AA, sugere que ele tem um papel crítico nas alopecias.²⁵⁷

A diminuição da vascularização pode ter um papel importante na patogênese de doenças caracterizadas pela queda dos cabelos, incluindo a AAG onde a calvície cursa com miniaturização dos folículos geneticamente predispostos.

Um estudo²⁵⁷ realizado em pacientes com AA e AAG evidenciou que o VEGF praticamente desaparecia dos folículos pilosos na AA e diminuía na AAG. Nas amostras dos pacientes-controle, o VEGF se concentrava nas camadas superiores e médias do epitélio folicular, em contraste com a basal, que apresentava pouca evidência da reação imuno-histoquímica. Os pacientes com AA mostravam diminuição da expressão do VEGF nas camadas superiores e médias e ausência na camada basal do epitélio folicular. Nos pacientes com AAG evidenciou-se uma diminuição menor do VEGF. Observou-se também uma diminuição do VEGF nas glândulas pilosebáceas e sudoríparas nos pacientes com AA, em comparação com os pacientes-controle. Esses dados sugerem que a redução na produção do VEGF pelos folículos pilosos pode levar a uma perda do suporte vascular para as áreas afetadas. Essa hipótese é embasada por achados de que a perda dos vasos é a primeira mudança na alopecia, e a revascularização precede a repilação.

Outro estudo²⁵⁸ evidenciou que as propriedades angiogênicas nos couros cabeludos normais e alterados estão relacionadas ao fato de o epitélio folicular ser avascular. O VEGF atua de uma forma parácrina, estimulando a angiogênese da pele. Essa análise está em

concordância com as observações de que na AA os folículos entram na fase telógena ou catágena tardia prematuramente²⁵⁸, e associado a isso, eles têm uma expressão diminuída do VEGF.^{253,256}

Alguns autores têm postulado que a diminuição da vascularização talvez seja o motivo dos folículos entrarem na fase catágena, embora essa hipótese não tenha sido confirmada.²⁵⁹

Uma pesquisa²⁵⁹ realizada em amostras de couro cabeludo normal mostrou que as células da papila dérmica não só expressam, mas também sintetizam o VEGF, e que ele provavelmente é o responsável pelo processo de vascularização e suprimento sanguíneo necessário para o crescimento dos folículos.

O antígeno nuclear Ki-67 é expresso em todas as fases do ciclo celular, exceto na G0, mostrando expressão máxima durante a fase S. Ele é utilizado para examinar a proliferação de células, como as endoteliais, nos tecidos.

O CD31 atualmente é considerado um dos marcadores mais específicos para células endoteliais. Trata-se de uma proteína transmembrana de junção da célula endotelial, que detecta artérias, capilares e vênulas.²⁶⁰

Uma pesquisa realizada em ratos²⁶¹ para investigação dos folículos pilosos na fase anágena utilizou o Ki-67 e o CD31 para a análise da proliferação de células endoteliais (PEC). Nesse estudo pode ser observado que o PEC aumentou significativamente da fase anágena II até a fase anágena V. Ele foi observado principalmente na porção média da derme, associado aos vasos cutâneos ascendentes longos. O valor do PEC decresceu nas fases anágena tardia e catágena recente, diminuindo até a fase telógena, sugerindo que a parada da proliferação celular endotelial é um marcador prévio da regressão do folículo.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi estudar os achados clínicos e laboratoriais do ETC, com vistas à caracterização da entidade e investigação dos possíveis mecanismos etiopatogênicos, comparativamente com a AAGFi e um grupo controle.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Artigos publicados

- Artigo I – Investigar, nas pacientes com diagnóstico de ETC e AAGFi, comparativamente com aquelas sem alterações do couro cabeludo, as características histomorfométricas, a proliferação das células epiteliais e o papel da microvasculatura na patogênese destes processos por meio do exame imunohistoquímico com os marcadores VEGF, KI-67 e CD31 , na patogênese do ETC **(publicado na revista Clinical and Experimental Dermatology)**.
- Artigo II – Analisar os aspectos clínicos, laboratoriais e histológicos das pacientes com ETC, comparando-as com aquelas com AAGFi e avaliar a acurácia do método da lavagem para diferenciar essas duas entidades **(aceito para publicação na revista International Journal of Dermatology)**.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de estudo prospectivo. Foram escolhidas apenas pacientes do sexo feminino para a análise, pois, como é observado no consultório, a queixa desse tipo de queda de cabelo é muito mais frequente nas mulheres. Foram incluídas na pesquisa todas as pacientes adultas com queixa de queda excessiva de cabelos havia mais de 6 meses, sem alterações visíveis no couro cabeludo ou nos fios de cabelo, que foram atendidas pela pesquisadora nos primeiros 18 meses de investigação. Como controle, foram selecionadas pacientes em 2 grupos: (A) sem queixas e sem alterações clínicas da densidade, morfologia e distribuição dos cabelos; pacientes do sexo feminino que procuraram o serviço dermatológico com queixas de lesões no couro cabeludo, tais como nevos e ceratoses seborreicas, entre outras, que foram removidas cirurgicamente e as bordas coletadas e encaminhadas para análise histológica; (B) pacientes do sexo feminino com AAG diagnosticada clinicamente. Ao todo foram selecionadas 20 pacientes com ETC, 9 pacientes sem doenças do couro cabeludo ou dos cabelos e 17 pacientes com AAG.

Na primeira visita, todas as pacientes foram instruídas sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento informado respectivo à sua participação (anexo I). A seguir, preencheram as fichas protocolares (anexo II) e responderam a um questionário de avaliação de ansiedade: Escala de avaliação de ansiedade de Hamilton (Ham-A - Hamilton, 1969; tradução AMBAN, 1985) (anexo III). Após essa avaliação, as que preencheram todos os requisitos foram encaminhadas ao laboratório para coletar sangue para vários exames: hemograma, TSH, ferro sérico, ferritina, FAN, VDRL, glicemia de jejum, creatinina, ureia, TGO, TGP, coagulograma, dosagem sérica de zinco, vitamina B12, ácido fólico, magnésio e dosagens do 5º ao 10º dia do ciclo menstrual (para as pacientes que menstruavam, após a suspensão do anticoncepcional previamente por 1 mês) ou em qualquer data para as menopausadas de testosterona livre, DHEA, SDHEA, prolactina, FSH e LH. Esses exames foram coletados em jejum de 12 horas. As pacientes dos grupos do ETC e da AAG também foram orientadas a trazer na segunda visita todos os cabelos que caíssem na pia, no momento da lavagem dos fios, após permanecer cinco dias sem lavar os cabelos. Para tanto, o ralo foi protegido por uma gaze (realizada apenas uma coleta). Esses cabelos foram colocados em um saco plástico dado para a paciente nessa primeira consulta, etiquetados

com o nome e o dia da coleta e levados no retorno. Cada recipiente continha os cabelos de uma única lavagem.

Na segunda visita, as pacientes trouxeram os cabelos coletados e os resultados dos exames laboratoriais. O couro cabeludo foi fotografado em duas posições, vértice e temporal, utilizando sempre a mesma câmera, posição e iluminação.

Foram excluídas da pesquisa as pacientes com suspeita de ETC, mas que apresentaram alterações laboratoriais que poderiam justificar a queda dos cabelos, como anemia ou alteração da função tireoidiana. Além disso, foram excluídas as pacientes de ambos os grupos que apresentavam cabelos muito curtos, o que poderia dificultar a análise do tamanho dos fios no teste da lavagem.

Na hora da análise dos cabelos, quando houve dificuldade de contagem devido aos nós, foi pedida uma nova coleta de fios para a paciente.

Os cabelos foram contados e avaliados com relação ao comprimento, de acordo com o trabalho de Rebora e colaboradores.⁸⁴ Os fios foram divididos em 2 grupos: maiores que 3cm (cabelos terminais), ou iguais a ou menores que 3cm (cabelos pseudovelos telógenos). Os resultados foram avaliados da seguinte maneira: se pelo menos 10% dos cabelos fossem telógenos pseudovelos, independentemente do número total dos fios, o diagnóstico presumível seria de AAG; se menos de 10% dos fios medissem 3cm ou menos e 100 ou mais fios tivessem se desprendido, o diagnóstico seria de ETC; e se menos de 10% fossem pseudovelos telógenos e com contagem menor que 100 fios, provavelmente tratava-se de queda normal. Os fios foram contados pela mesma examinadora para os grupos com ETC e controle-AAG. Não foram coletados os fios das pacientes-controle, sem queixas de perda excessiva de cabelos ou sinais clínicos de rarefação capilar. Todos os dados da ficha protocolar foram planilhados e analisados por métodos estatísticos.

Após a contagem dos fios, na terceira visita, foi coletada uma biopsia do couro cabeludo das pacientes dos grupos ETC e AAG. Para a coleta da biopsia, as pacientes ficaram pelo menos 1 mês sem nenhum tipo de tratamento, tópico ou oral, para a queda dos cabelos. A coleta se deu em unidade ambulatorial tipo 3, na região do vértice, dois centímetros laterais à direita da linha que divide os cabelos, evitando, assim, uma cicatriz aparente. A anestesia foi local, utilizando-se a lidocaína a 2% sem vasoconstritor. Após a anestesia utilizou-se um *punch* número 6 inserido de forma paralela ao crescimento do pelo até a gália, seccionando-

se a porção inferior com tesoura íris curva, para conferir aspecto cilíndrico à amostra. O material foi removido com a pinça anatômica e em seguida foi feita uma sutura utilizando-se o porta agulha e o fio de mononylon número 4. A paciente foi orientada a lavar o local da biopsia com água e sabão e retornar ao consultório em 2 semanas para retirada do ponto. Embora a maioria dos trabalhos relacionados à queda de cabelos padronizem o *punch* 4 para biopsia do couro cabeludo, optamos pelo número 6. Isso porque num *punch* 4 em corte transversal observam-se de 12 a 14 unidades foliculares, enquanto num *punch* 6, de 22 a 30.^{3,12,14}

Após a biopsia, o fragmento foi colocado imediatamente em um recipiente com formol tamponado a 10%, evitando-se assim a autólise do material. Foi escolhido o formol tamponado a 10% devido ao seu pH ser 7,2, preservando as características bioquímicas dos tecidos. O frasco recebeu uma etiqueta com o número de registro da paciente, o dia e o horário da biopsia.

Nas pacientes do grupo-controle, sem doenças, foram coletadas amostras segundo o mesmo protocolo, porém o fragmento foi obtido da borda de uma lesão benigna do couro cabeludo, de qualquer localização, na hora da cirurgia eletiva. Todas as cirurgias foram realizadas pela mesma pesquisadora.

Após os fragmentos permanecerem 24 horas no formol tamponado a 10%, eles foram seccionados ao meio, de forma paralela à epiderme, 1mm abaixo desta. As superfícies de corte foram tingidas com nanquim para a orientação técnica da inclusão visando cortes transversais (horizontais). A seguir, as amostras passaram por 3 banhos de alcoóis e 3 de xilóis para desidratação e clarificação, respectivamente. Em seguida, o material passou por 2 banhos de parafina para sua embebição. Toda a parte de preparo dos fragmentos foi realizada pela mesma colaboradora.

O material embocado foi encaminhado para cortes seriados, dispostos sequencialmente na lâmina. Os seguintes aspectos foram estudados: 1- as unidades foliculares (número total e densidade por mm^2), 2- os folículos (número total, densidade por mm^2 e dos anágenos e não anágenos, a saber, catágenos e telógenos, relação terminais:velos); 3- as áreas dos folículos pilosos; 4- eventual infiltrado linfocitário nas unidades foliculares e localização peribulbar ou na espessura da bainha fibrosa perifolicular; 5- número de folículos terminais e não terminais; 6- número de bainhas perifoliculares livres.

Técnica de imuno-histoquímica:

A seguir, por meio da técnica de imuno-histoquímica, os cortes foram corados para a identificação dos seguintes marcadores: VEGF, KI-67 e CD31. Inicialmente a intenção era usar o VEGF, o CD34 e o Ki-67, mas durante os testes feitos verificou-se que os cortes com CD34 não foram adequados, já que os dendrócitos de tipo 2 (CD34-positivos) se misturavam aos vasos (Figura 9) e atrapalhavam a análise. Dessa maneira, o CD34 foi substituído pelo CD31 (Figura 10).

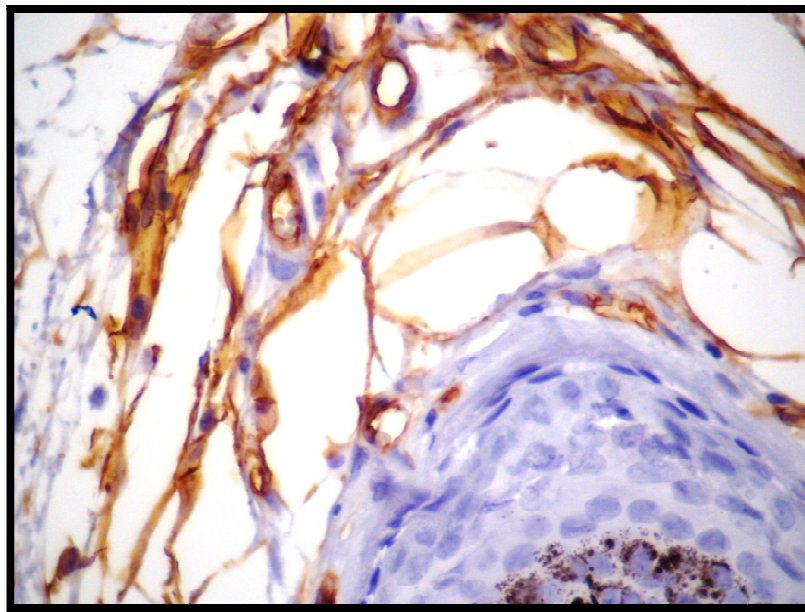


Figura 9: bainha fibrosa perifolicular: os pequenos vasos, imunomarcados pela diaminobenzidina, em marrom, para o anticorpo anti- CD34, se misturam aos dendrócitos de tipo 2, o que os torna menos distintos, relativamente aos imunomarcados pelo CD31 (vistos na Fig. 10) (método da imunoperoxidase, aumento original x400)

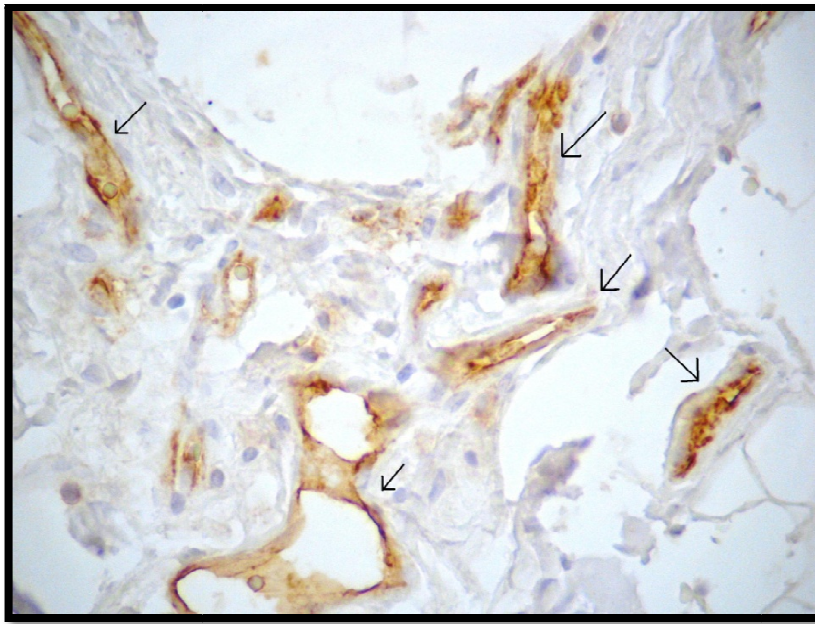


Figura 10: bainha fibrosa perifolicular: pequenos vasos imunomarcados pelo CD31, alguns deles apontados pelas setas (imunoperoxidase, com diaminobenzidina, aumento original x400)

Primeiro, as lâminas contendo os fragmentos foram desparafinizadas e reidratadas por meio de banhos de xilol e alcoóis em concentração decrescente. A seguir, todas as lâminas foram colocadas em recipientes com peróxido de hidrogênio a 3% em temperatura ambiente para o bloqueio das enzimas endógenas (bloqueio da peroxidase endógena para os marcadores Ki-67 e CD31 e da fosfatase alcalina para o marcador VEGF). Em seguida, foram realizadas as recuperações antigênicas por meio da desnaturação em calor úmido, por 30 minutos, a 96°C. Para os marcadores VEGF e CD31, foi utilizado o tampão de citrato e para o Ki-67, o tampão Tris-Edta. Para os 3 marcadores foi utilizado o método de detecção com polímero. Para cada marcador foi introduzido o seu respectivo anticorpo primário, em seguida as lâminas foram incubadas a 37°C, por 30 minutos, e depois “overnight” a 4°C. No dia seguinte foram utilizadas as reações de imunoperoxidase (marca Novolink) para os marcadores Ki-67 e CD31, com substrato cromógeno 3.3'- tetra-hidrocloro de diaminobenzidina (DAB); e fosfatase anti-fosfatase (marca Dakocytomation) para o marcador VEGF, com substrato cromógeno vermelho permanente. Foi utilizado o método de detecção da fosfatase anti-fosfatase para o VEGF, pois, a princípio, esse marcador seria analisado na região do bulbo, local onde há melanina, que é marrom, e com isso, se fosse utilizado o DAB (cora em marrom) poderia haver interferência na análise. Posteriormente,

pela leitura de alguns estudos, foi verificado que o melhor local para a análise de todos os marcadores seria a região entre a derme e o tecido celular subcutâneo, local das glândulas sebáceas e do músculo piloerector (região das unidades foliculares). Mas como já havíamos começado essa técnica, por uma questão de padronização, optamos por mantê-la.

Análise dos marcadores:

Cada marcador foi analisado de uma maneira que será descrita a seguir:

- VEGF: foi analisado pelo método digital Imagelab 2000. Foram obtidas 10 fotos aleatórias em um aumento de 100x com a mesma câmera, mesma intensidade de luz, pelo mesmo observador e em extensão “.tif”. A seguir foram analisadas pelo programa, apenas nos folículos terminais, a intensidade de coloração do citoplasma das células epiteliais da bainha folicular externa imunomarcadas pelo VEGF e a determinação da área total da bainha folicular externa (figura 11). Foi feita essa análise em cada foto e, a seguir, foram somados todos os valores e divididos por 10, para encontrar uma média. Dividindo-se a intensidade de coloração pela área encontramos a densidade em pixel.



Figura 11: unidade folicular na zona ceratógena em corte imunocorado pelo VEGF: observam-se 5 folículos pilosos (asteriscos) em que o citoplasma de diversas células epiteliais da bainha externa folicular expressa o marcador (técnica da imuno-histoquímica, método da fosfatase alcalina/anti-fosfatase alcalina, revelação com o vermelho permanente, aumento original x100)

- Ki-67: foi analisado pelo método digital Imagelab 2000. Foram obtidas 10 fotos aleatórias em um aumento de 100x com a mesma câmera pelo mesmo observador. A seguir foram contados apenas nos folículos terminais todos os núcleos corados de células epiteliais da bainha externa de cada folículo e foi determinada, com o auxílio do programa, a área da bainha externa folicular correspondente (figura 12). Somados os valores de cada foto e dividindo-se por 10, foi encontrada a média aritmética. Dividindo-se o número total de núcleos corados pela área total, encontramos a densidade de células positivas por micrômetro quadrado da área da bainha externa folicular na região das unidades foliculares.

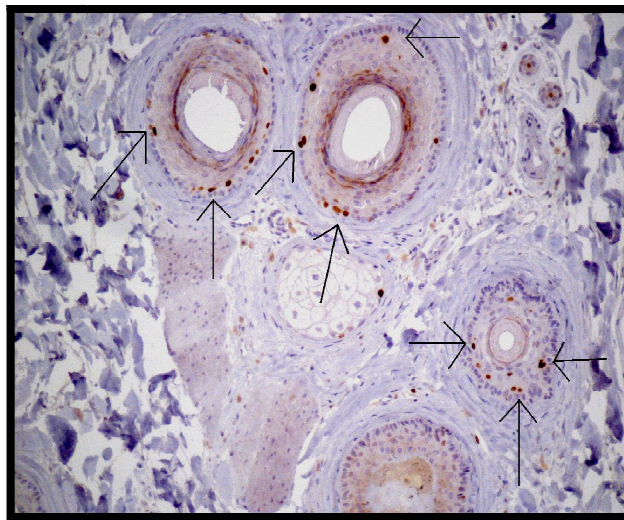


Figura 12: unidade folicular na zona ceratógena em corte imunomarcado pelo MIB1/ Ki-67: observam-se 4 folículos pilosos em que os núcleos (parte deles apontada pelas setas) de diversas células epiteliais da bainha externa apresentam-se corados pela diaminobenzidina (método da imunoperoxidase, aumento original x400)

- CD31: foi analisado com o auxílio da gráticula de Chalkley. A gráticula de Chalkley é constituída de um círculo com 25 pontos. Ela é acoplada à ocular do microscópio. Em cada corte foram escolhidos 10 *hot spots* (um em cada unidade folicular distinta) ou seja, as áreas com maior densidade vascular (figura 13). Essa escolha foi feita por 2 observadoras em conjunto, pois dependendo da unidade folicular, havia mais de uma região que poderia ser considerada como “*hot spot*”. A gráticula foi posicionada sobre cada “*hot spot*” em aumento de 400x. A seguir, girou-se a

gráticula até encontrar a posição em que um número máximo de pontos se encostasse à parede dos vasos ou células endoteliais coradas (figura 14).

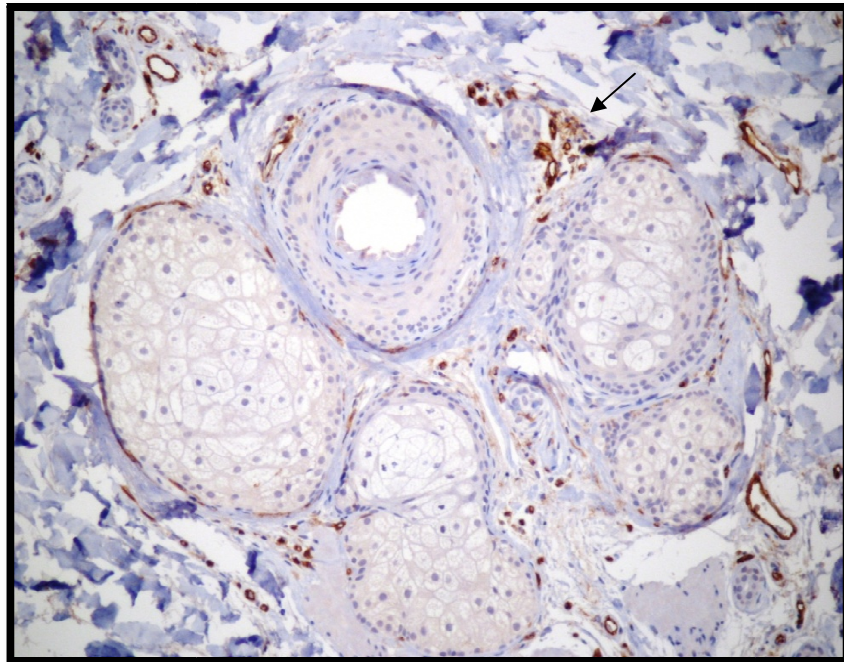


Figura 13: unidade folicular contendo um único folículo piloso terminal, glândulas sebáceas e feixes de músculo eretor do pelo. A seta indica qual área nessa unidade contém o maior número de vasos (*hot spot*), sendo que o DAB (diaminobenzidina) é o revelador, que cora os vasos em marrom (Imuno-histoquímica para CD31, aumento original x100)

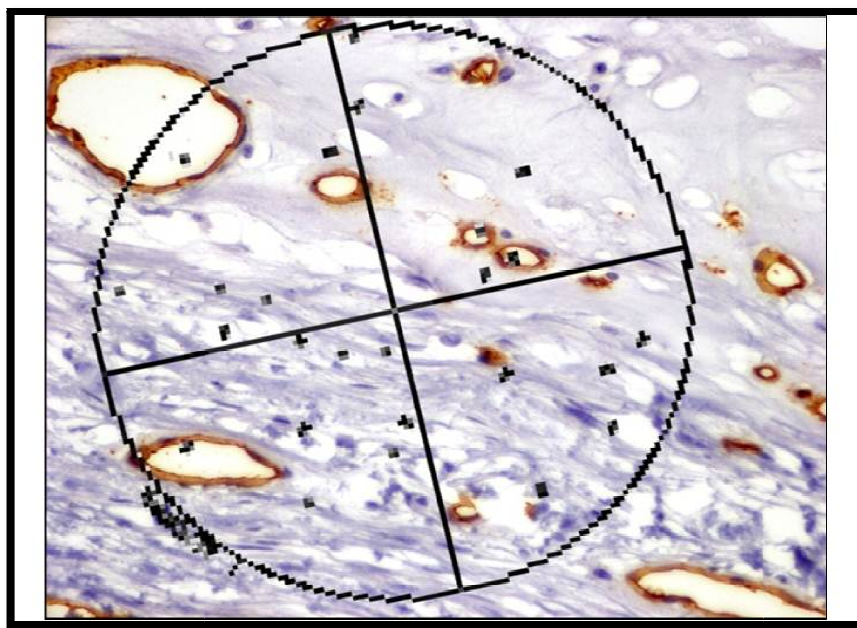


Figura 14: análise da microdensidade vascular pelo método de Chalkley- nesta imagem 4 pontos são contados, a saber, os que coincidiram com a parede (mas não o lume) do vaso ou se encostaram a uma célula endotelial marcada (Imuno-histoquímica para CD31, aumento original x400)

Todos os dados foram analisados utilizando-se o *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versão 17.0 para Windows XP. Os valores de $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Todas as variáveis examinadas mostraram uma boa aproximação da distribuição normal, confirmando o uso dos testes paramétricos. Foram aplicados os seguintes testes: teste de correlação de Pearson, teste t de Student, teste de chi-quadrado, teste de Bonferroni-ANOVA e teste de Mann-Whitney.

5. CAPÍTULOS

Esta tese de doutorado está estruturada conforme Formato Alternativo, normatizado pela Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, 2008), sob o parecer PG nº 1985/96.

1.1. CAPÍTULO I

Chronic telogen effluvium and female pattern hair loss are separate and distinct forms of alopecia: a histomorphometric and immunohistochemical analysis

C. Bittencourt,¹ D. A. Ferraro,¹ T. C. B. Soares,¹ A. M. Moraes² and M. L. Cintra¹

Departments of ¹Pathology and ²Dermatology, Unicamp, Campinas, São Paulo, Brazil

doi:10.1111/ced.12406

Summary

Background. Chronic telogen effluvium (CTE), a poorly understood condition, can be confused with or may be a prodrome to female pattern hair loss (FPHL). The pathogenesis of both is related to follicle cycle shortening and possibly to blood supply changes.

Aim. To analyze a number of histomorphometric and immunohistochemical findings through vascular endothelial growth factor (VEGF), Ki-67, and CD31 immunostaining in scalp biopsies of 20 patients with CTE, 17 patients with mild FPHL and 9 controls.

Methods. Ki-67 index and VEGF optical density were analyzed at the follicular outer sheath using ImageJ software. CD31 microvessel density was assessed by a Chalkley grid.

Results. Significant follicle miniaturization and higher density of nonanagen follicles were found in FPHL, compared with patients with CTE and controls. Ki-67+ index correlated positively with FPHL histological features. The FPHL group showed the highest VEGF optical density, followed by the CTE and control groups. No differences were found in CD31 microvessel density between the three groups.

Conclusions. Histomorphometric results establish CTE as a distinct disorder, separate from FPHL from its outset. Its pathogenic mechanisms are also distinct. These findings support the proposed mechanism of 'immediate telogen release' for CTE, leading to cycle synchronization. For FPHL, accelerated anagen follicular mitotic rates and, thus, higher Ki-67 and VEGF values, would leave less time for differentiation, resulting in hair miniaturization.

Introduction

Chronic telogen effluvium (CTE), a poorly understood condition, is characterized by marked hair shedding for > 6 months, with no apparent scalp thinning.¹ No association with organic or nutritional disorder or

medication usage preceding the hair loss have been identified. Bi-temporal recession is frequently observed, hampering the differential diagnosis from incipient female pattern hair loss (FPHL).²

The pathogenesis of CTE is related to shorter duration of the follicular cycle.³ Cycle shortening also occurs in FPHL, but in that case follicle miniaturization follows, which has led some authors to suggest that CTE is merely a prodrome to FPHL.³ Defining the exact diagnosis is important for therapeutic tests.⁴ It has been suggested⁵ that reduced synthesis of vascular endothelial growth factor (VEGF) by hair follicles might lead to loss of vascular support and follicular atrophy. Immunohistochemistry using VEGF, Ki-67⁶

Correspondence: Maria Leticia Cintra, Pathology Department, Medical School Universidade Estadual de Campinas Rua Tessália Vieira de Camargo, 126 Cidade Universitária "Zeferino Vaz", Campinas, 13083-887, SP Brazil

E-mail: marialet@fcm.unicamp.br

Conflict of interest: the authors declare that they have no conflicts of interest.

Accepted for publication 16 February 2014

and CD31⁶ can be used to study angiogenic stimulus, follicular cell proliferation activity and microvasculature in these two types of alopecia.

To gain insight into the morphological and pathogenic differences between CTE and FPHL, we analysed a number of histomorphometric features and the immunohistochemical staining patterns of VEGF, Ki-67 and CD31 in 20 CTE, 17 mild FPHL and 9 control specimens.

Methods

The study was approved by the institutional review board, and all patients signed an informed consent form.

Patients

This was a prospective study that enrolled 37 female adult patients seeking medical care for hair loss. The subjects were divided into two groups: patients with a clinical profile of CTE and those with mild FPHL (Fig. 1a). The control group was composed of female patients who presented for excision of benign scalp lesions.

Exclusion criteria were: any known illness (all groups), abnormal laboratory results ($n = 4$) (CTE), and any clinical hair changes (control group). The inclusion period was 18 months, by which time 20 patients with CTE, 17 patients with FPHL, and 9 controls had been enrolled. The patients underwent physical examination and answered a clinical questionnaire. Laboratory tests

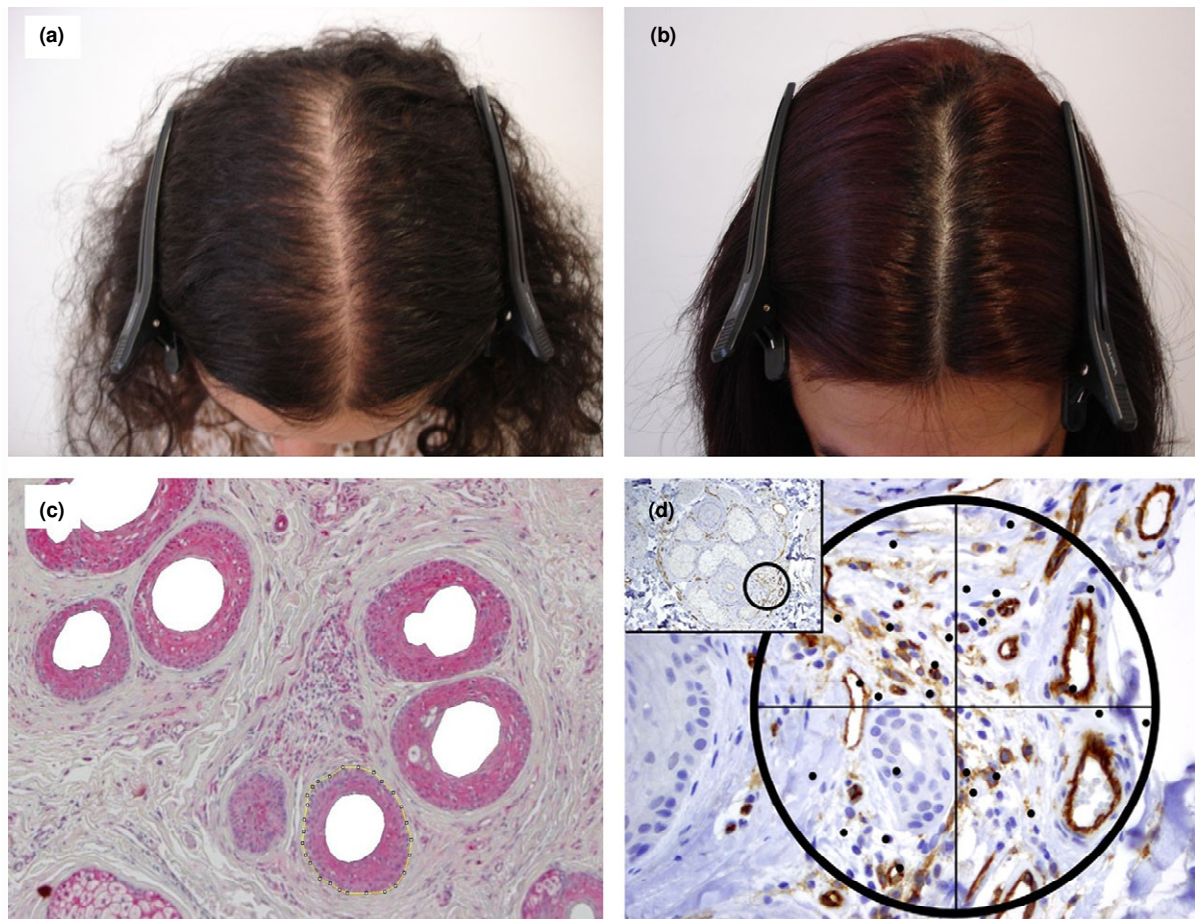


Figure 1 (a) Patient with mild female pattern hair loss, showing frontoparietal hair rarefaction. (b) Patient with chronic telogen effluvium, with a full head of hair. (c) Two follicular units with three terminal follicles in each. The cytoplasm of outer sheath cells stained with an antibody against vascular endothelial growth factor. The follicular outer sheath area was manually segmented (dotted yellow line), and the lumen and inner follicular sheath were excluded (blank filled) for area and optical density measurements (stained with alkaline phosphatase/anti-alkaline phosphatase and visualized with Permanent Red; original magnification $\times 100$). (d) A hot spot within a follicular unit (inset); eight recorded Chalkley eyepiece grid points, coinciding with a CD31+ vessel wall or immunostained cell. (Stained with immunoperoxidase and visualized with DAB; original magnification $\times 400$ (inset $\times 40$)).

Table 1 Immunohistochemical technique.

Primary antibodies	Dilution	Epitope retrieval: steamer and:	Reaction/polymer	Chromogen
VEGF, A-20*	1 : 300	Citrate buffer ph 6	Phosphatase anti-phosphatase†	Permanent red
CD31, JC70A,	1 : 30	Citrate buffer ph 6	Immunoperoxidase Novolink (Novocastra, Leica Biosystems)	DAB‡
Ki-67, mib1*	1 : 500	Tris-EDTA buffer ph 9	Immunoperoxidase Novolink	DAB‡

DAB, 3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride. *SantaCruz Biotechnologies., Inc, Santa Cruz, CA, USA; †Dako Cytomation, Carpinteria, CA, USA; ‡Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA.

were assessed after the patients had not been taking any medication for at least 1 month.

Assessment and sample collection

Standardized scalp photos were taken, and biopsies collected. The standard size punch for hair biopsies is 4.0 mm,⁷ but we used a 6 mm punch to obtain a larger volume of material from a single biopsy. In the initial phase of FPHL, diagnostic accuracy increases when more than one biopsy is analysed.⁸ A 6.0 mm punch biopsy covers a surface area of 27.34 mm² and contains approximately 23 follicular units (FU). The biopsy was taken from the scalp apex.

Processing

The specimens were fixed in 10% buffered formalin for 8 h and horizontally bisected.¹ Some sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E), and others were immunohistochemically targeted with VEGF, Ki-67 and CD31 (Table 1), using the standard polymeric method. Each antibody was initially tested with different pretreatments and dilutions to optimize the final staining protocol. Appropriate negative and positive controls were included in each test. All procedures were performed by the same technician.

H&E samples were analysed by blinded investigators to confirm the clinical diagnosis. The following parameters were studied: (i) total number of follicular units (FUs) per specimen and ratio of FU number to specimen area; (ii) number of hair follicles per FU and per specimen area; (iii) ratio of anagen to nonanagen (catagen, telogen and telogen germinative unity) follicles; (iv) ratio of terminal to nonterminal (intermediate and vellus) follicles as measured both at the FU and at the subcutaneous level; and (v) area density of follicular streamers (stelae) and ratio of stelae to follicle number at the subcutaneous level.

Image analysis

For VEGF-stained and Ki-67-stained specimens, 10 blindly and randomly selected images (2070 9 1548

resolution) were obtained at the level of FUs under a 910 objective, always by the same observer, with the same brightness intensity and saved in TIF format. A camera (DP72; Olympus, Miami, FL, USA), connected to a microscope (Axioplan 2; Zeiss, Gottingen, Niedersachsen, Germany) with DP2BSW software, was used. Images were analysed with the aid of ImageJ software (Java-based image processing program; Wayne Rasband, NIH, Bethesda, MD, USA).

For Ki-67 analysis, all immunostained nuclei at the outer sheath of terminal hair follicles, at the level of FUs were recorded, the corresponding segmented area (by excluding the inner sheath and lumen) was measured, and the ratio between the mean number of immunostained nuclei and the mean total follicular area per specimen was obtained (Fig. 1c).

For VEGF analysis, the outer sheath of terminal follicles was manually segmented (Fig. 1b), its area was measured, and the optical density (OD) of staining image pixels in a red–green–blue colour spectrum was obtained.

In this work, we sought to assess microvessel density through CD105 immunostaining, evaluating the degree of new blood vessel generation.⁹ To accomplish this, 10 of the 46 biopsies were randomly selected; only 5 specimens were found to be CD105-positive, with 1–3 stained vessels in the entire section. Thus, CD31 was used to assess microvessel density.⁶ Each section was scanned at low power view by two observers. The five areas displaying the highest number of immunostained microvessels (hotspots) were identified in different FUs (Fig. 1d, inset), then one 9400 field, corresponding to an area of 1.449 mm², was chosen within each hotspot. A 25-point Chalkley eyepiece grid (Leitz Orthoplan; Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany) was applied to each selected hotspot field (corresponding to a Chalkley grid area of 0.041 mm²). The grid was positioned so as to permit the immunostained microvessels to hit the maximum number of points. The final Chalkley count for an individual specimen was taken as the mean value of the five grid counts. The generally accepted criteria¹⁰ for determining a vessel profile were followed (Fig. 1d).

Variable	CTE (n = 20)	FPHL (n = 17)	Control (n = 9)
Age, years	41 (25–62)	44 (23–75)	47 (17–68)
White/nonwhite	18/2	14/3	5/4
Hair loss, years*	3.9 (0.75–15)	9.6 (1–30)	NE
Follicle : FU ratio†	2.7 (2.1–3.2)	1.9 (1.2–2.6)	2.5 (2.2–3.1)
Terminal : nonterminal ratio, mean	5.6	2.4	7.8
Terminal anagen follicles, mean	91%	88%	94%
Anagen : nonanagen ratio, mean	13.42	7.58	12.70
FU density	1.47 (0.9–2.4)	1.3 (0.7–1.7)	1.34 (0.7–2)
Ki-67 density	41.6 (1.8–121.8)	35.8 (0.4–101.2)	34.4 (11.7–80.4)
CD31 microvessel density	3.6 (2.6–5.7)	3.8 (2.5–5.2)	3.8 (2.5–6)
VEGF OD	3.8 (1.9–7.9)	4.5 (2.8–8)	3.1 (2.4–5.7)

Table 2 Clinical and histomorphometric data.

CTE, chronic telogen effluvium; FPHL, female pattern hair loss; FU, follicular units; NE, not evaluated; OD, optical density. Data are mean (range) unless otherwise indicated.

*Duration of hair loss prior to the first medical visit; Ratio of number of follicles to number of follicular units; †density of follicular units per specimen area.

Statistical analysis

SPSS software (version 17.0 for Windows XP; SPSS Inc., Chicago, IL, USA), was used. $P < 0.05$ was considered statistically significant. Pearson correlation, Student *t*-test, χ^2 test (or Fisher exact test), ANOVA with Bonferroni correction¹¹ and Mann–Whitney *U*-test were used.

Results

Table 2 lists the general clinical and histomorphometric data. There were no significant differences in age or ethnicity between the three groups.

At follow-up 18–36 months after enrolment, no apparent hair density decrease was seen in the CTE group. The analysis of several histomorphometric results reflecting follicle miniaturization revealed significant differences between the FPHL group and the CTE and control groups. The FPHL group had lower follicular density both per FU and per specimen area, lower density of terminal follicles, and higher density of follicular streamers. However, there were no differences between the CTE and control groups. For patients with FPHL, the duration of disease progression was positively correlated with greater density of nonanagen follicles, telogen germinal units and stela, and lower density of follicles at the FU level. There were also no differences in FU density or in the ratio of anagen to telogen follicles between the three groups.

No differences were found in Ki-67 index between the three groups. However, a positive correlation was found between Ki-67 index and density of nonanagen terminal follicles and telogen germinal units.

Significant differences were found in VEGF OD between the three groups, with FPHL specimens having the highest VEGF values (number of cases with red–green–blue colour spectrum OD > 0.3), followed by CTE and then control specimens (Fisher exact test; $P < 0.01$); average OD values were 4.5, 3.8 and 3.1, respectively. In addition, a positive correlation was found between VEGF values and density of both telogen germinal units and stela. Conversely, a negative correlation was found between VEGF values and terminal follicle density. Within the FPHL group, a positive relationship was also found between disease duration and VEGF OD ($P = 0.02$).

Finally, a positive correlation was found between CD31 microvessel density and density of both vellus follicles and nonanagen terminal follicles. However, no differences were found in CD31 values between the three groups.

Discussion

CTE is an idiopathic condition of telogen hair shedding lasting for > 6 months. The term was proposed by Whiting,¹ who studied 355 patients with CTE and compared their histopathological findings with those of controls ($n = 22$) and patients with FPHL ($n = 412$). Whiting found a mean ratio of terminal to vellus follicles of 9, 1.9 and 7 for the CTE, FPHL and control groups respectively, and an anagen percentage of 89%, 83.2%, and 93.5%, respectively. In the current study, all of our findings were recorded as a ratio or density for statistical analysis. Thus, our results can be compared with those of Whiting, despite the different biopsy sizes (6 mm in the current study vs. 4 mm in that of

Whiting study). The sole important difference between the two studies was found in the ratio of terminal to nonterminal follicles in the CTE group (9 vs. 5.6). This may be accounted for by the method by which we recorded the values. To differentiate small intermediate follicles from vellus follicles is a subjective procedure, so instead of counting terminal and vellus follicles, we recorded the number of terminal and nonterminal follicles.

In early FPHL, hair shedding may be diffuse and episodic,^{12,13} making the differentiation from CTE difficult. In addition, CTE and FPHL share the same range for age of onset. In line with this, we found no significant differences in age between the two groups. However, none of our patients with CTE presented any signs of FPHL during the follow-up period, and several had sought medical care only after many years of hair shedding. Thus, the histomorphometric results favour CTE as a condition separate from FPHL.

CTE might be due to hair cycle synchronization, shortening of the anagen phase or premature teloptosis.¹⁴ Headington¹⁵ proposed five mechanisms for telogen effluvium. Through 'immediate telogen release', hairs that under normal conditions would stay in telogen for 4–12 weeks instead cycle to anagen within a few days.¹⁵ The advance of teloptosis, whether related or not to shortening of the anagen phase, synchronizes the shedding and affects many follicles.¹⁶ In our study, histopathological examination of CTE specimens did not reveal increased catagen/telogen density, nor did the histomorphometric findings help to differentiate the CTE group from the control group. Our results concur with the proposed mechanism of 'immediate telogen release'.

It is believed that the functional mechanism of pattern alopecia is related to shortening of the anagen phase and progressive miniaturization of the hair follicles.^{17,18} Our histomorphometric results are in keeping with those data, as significant follicle miniaturization was found even in mild FPHL. Previous observations suggest that androgens play a role in FPHL.¹³ Follicle miniaturization would be due to dihydrotestosterone-induced acceleration of the mitotic rate of the matrix, leaving less time for differentiation.¹⁹ Indeed, a positive correlation was found between Ki-67 proliferative density and the typical histological FPHL findings. No significant differences in Ki-67 index were found between the three groups. In addition, although the mean ratio of anagen to nonanagen follicles was lower in FPHL (7.58) compared with CTE (13.42) and control (12.70) specimens (Table 2), the differences were not significant. In this work, strict selection criteria were applied, and only mild FPHL was included,

restricting our cohort and limiting the statistical significance of the results.

VEGF is reported to play a role in triggering angiogenesis and maintaining blood supply to anagen hair follicles.²⁰ Goldman et al.⁵ found reduced VEGF staining intensity in FPHL hair follicle cells. In our work, the control group specimens had the lowest VEGF values, followed by CTE and then FPHL. Additionally, within our FPHL specimens, duration of hair loss was positively correlated with density of vellus follicles or staelae and with VEGF OD. Comparing the results of Goldman et al.⁵ with those of the current study is difficult, because of differences in antibody type, section thickness, Ludwig patient grades and methods of VEGF staining evaluation. To avoid staining variation due to technical problems, the procedures in this prospective study were all standardized.

In a study of mice, Mecklenberg et al.⁶ suggested that endothelial cell proliferation arrest was a precocious marker of the telogen phase. In our study, no differences were found in CD31 microvessel density between the three groups, but CD31 values positively correlated with the density of nonterminal follicles, indicating higher microvessel density in FPHL.

Conclusion

Our results enable us to establish CTE as a distinct disorder, separate from FPHL from its onset. Within CTE specimens, the results support the proposed mechanism of 'immediate telogen release' for hair shedding, leading to cycle synchronization. In patients with FPHL, the accelerating rates of mitosis in anagen follicles and, thus, higher Ki-67 and VEGF values, would leave less time for differentiation, resulting in hair miniaturization.

Acknowledgements

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and São Paulo Research Foundation (FAPESP).

What's already known about this topic?

- CTE can be confused with or considered to be a prodrome of FPHL.
- Bi-temporal recession is frequent in CTE, while initial FPHL may manifest itself with episodic hair shedding.

- CTE and FPHL share the same age range of onset.
- The pathogenesis of both may be related to changes in follicle blood supply.
- Defining the exact diagnosis and knowing the pathogenesis of these conditions is important for therapeutic tests.

What does this study add?

- Our histomorphometric results establish CTE as a singular disease, distinct from initial FPHL.
- Its pathogenesis seems to be distinct.
- The results support the mechanism of immediate telogen release for CTE, leading to cycle synchronization
- Within FPHL, the dihydrotestosterone effect of accelerating anagen follicular mitotic rates and, thus, higher Ki-67 and VEGF findings, would leave less time for differentiation, resulting in hair miniaturization.

References

- Whiting DA. Chronic telogen effluvium: increased scalp hair shedding in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 899–906.
- Whiting DA. Chronic telogen effluvium. *Dermatol Clin* 1996; 14: 723–31.
- Gilmore S, Sinclair R. Chronic telogen effluvium is due to a reduction in the variance of anagen duration. *Australas J Dermatol* 2010; 51: 163–7.
- Rand S. Chronic telogen effluvium: potential complication for clinical trials in female androgenetic alopecia? *J Am Acad Dermatol* 1997; 37: 1021.
- Goldman CK, Tsai JC, Soroceanu L, Gillespie Y. Loss of vascular endothelial growth factor in human alopecia hair follicles. *J Invest Dermatol* 1995; 104(suppl 5): 18–20S.
- Mecklenburg L, Tobin DJ, Muller-Rover S et al. Active hair growth (anagen) is associated with angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 909–16.
- vertical versus transverse sections in the evaluation of alopecia biopsy specimens. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 267–72.
- Sinclair R, Jolley D, Mallari R, Magee J. The reliability of horizontally sectioned scalp biopsies in the diagnosis of chronic diffuse telogen hair loss in women. *J Am Acad Dermatol* 2004; 51: 189–99.
- Sanchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B et al. Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transformin growth factor- beta pathways. *J Biol Chem* 2002; 277: 43799–808.
- Vermeulen PB, Gasparini G, Fox SB et al. Quantification of angiogenesis in solid human tumours: an international consensus on the methodology and criteria
- Rosner BA. *Fundamentals of Biostatistics*, 4th edn. Belmont: Duxbury Press, 1995; 426.
- Birch MP, Lalla SC, Messenger AG. Female pattern hair loss. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 383–8.
- Sinclair RD, Dawber RP. Androgenetic alopecia in men and women. *Clin Dermatol* 2001; 19: 167–78.
- Trueb RM. Diffuse hair loss. In: *Hair Growth and Disorders* (Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trueb RM, eds). Berlin: Springer-Verlag, 2008; 264–5.
- Headington JT. Telogen effluvium. New concepts and review. *Arch Dermatol* 1993; 12: 356–63.
- Pierard-Franchimont C, Pierard GE. Teloptosis, a turning point in hair shedding biorhythms. *Dermatology* 2001; 203: 115–17.
- Olsen EA. Female pattern hair loss and its relationship to permanent/cicatricial alopecia: a new perspective. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2005; 10: 217–21.
- Messenger AG, Sinclair R. Follicular miniaturization in female pattern hair loss: clinicopathological correlations. *Br J Dermatol* 2006; 155: 926–30.
- Rebora A, Guarrera M. Teloptosis and kenogen: two new concepts in human trichology. *Arch Dermatol* 2004; 140: 619–20.
- Stenn KS, Fernandez LA, Tirrell SL. The angiogenic properties of the rat vibrissa hair follicle associate with the bulb. *J Invest Dermatol* 1988; 90: 409.

1.2. CAPÍTULO II

REPORT ORIGINAL ARTICLE

Noninvasive method distinguishes chronic telogen effluvium from mild female pattern hair loss: clinicopathological correlation

Running head: WASHING METHOD AND PATHOLOGICAL FINDINGS

Bittencourt C¹, MD, Teixeira F², PhD, Ferraro DA¹, MD, Soares TCB¹, PhD, Moraes AM³, PhD, Cintra ML¹, PhD

Departments of Pathology¹ and Dermatology³, Medical School, State University of Campinas, Brazil, and Dermatology Department², Ealing Hospital, London, UK.

Corresponding author:

Maria Leticia Cintra, Department of Pathology, Medical Sciences School, State University of Campinas (UNICAMP). Rua Tessália Vieira de Camargo, 126.

Cidade Universitária Zeferino Vaz

Campinas, São Paulo, Brazil. . Zip Code 13083-887. Tel/FAX: +55 19 32893897

E-mail: marialet@fcm.unicamp.br

Manuscript word count (excluding abstract and references): 3203

Table count: 1

Figure/ graphs count: 3

There is no conflict of interest.

Abstract

Background: The distinction between chronic telogen effluvium (CTE) and female pattern hair loss (FPHL) is important because their different prognosis and treatment. Noninvasive methods have been described to be useful in differentiating FPHL from CTE. This prospective study investigated the use of the washing method to differentiate CTE from mild FPHL.

Methods: Twenty CTE and seventeen FPHL patients were recruited and followed for eighteen months. The diagnosis was established through clinical, laboratory and histological studies. The patients were asked to abstain from washing their hair for five days, and then shampoo and collect all hair shed in the process. Hair shafts were then counted and divided into two groups: up to three cm in length or longer.

Results: In CTE group, the mean hair count was high (438) and in all cases less than 10% were short. In FPHL patients, the mean count was not as high (215) and in only one patient short hairs comprised less than 10% of the total. The greater the number of long hairs, the higher was the density of terminal follicles seen histologically. The CTE group presented a greater number of patients with serum iron values below 70 mcg/dL. Ferritin levels ranged from 6.98 to 128.33, average of 66.65 (CTE) and 16.5 to 304.8, average of 114.97 ng/mL (FPHL), but no significant differences were found.

Conclusion: The washing test can be useful to avoid biopsy procedures. Iron serum levels is possibly an additional parameter that may improve CTE diagnosis if combined with earlier test.

Key words: Alopecia; washing method; differential diagnosis; morphometry; nutritional deficiency.

Introduction

Chronic telogen effluvium (CTE) is a poorly understood condition, affecting predominantly women and characterized by diffuse shedding of hair for more than six months.¹ There is considerable loss, but the patients appear to have a full head of hair, as it takes at least a reduction of 25% for thinning to be evident.² Even when daily shedding is twice normal (about 200 hair shafts), new hair is continuously produced, canceling the deficit.²

Clinical and laboratory examinations have failed to find any organic cause, nutritional disorder, medications or triggers preceding hair loss.³ The pathogenesis of CTE is unknown, and diagnosis is made after exclusion of other causes of diffuse telogen shedding, such as anemia, nutritional deficiency, changes in thyroid, kidney and liver function and use of drugs associated with hair loss.⁴

The most important CTE differential diagnosis is incipient female pattern hair loss (FPHL).⁴ Both share the same age range of onset and, as in initial FPHL, hair shedding in CTE can be diffuse and episodic.^{5,6} Their differentiation may be difficult¹ and it has been suggested that CTE precedes FPHL.⁴ However, a long follow-up study showed that four of five patients with chronic hair loss did not progress to FPHL.⁷ In case of doubt, a biopsy can be performed to confirm the diagnosis of CTE, so that the patient can be reassured that the lost hairs will be replaced by new ones.¹

A noninvasive method can be used to differentiate CTE from FPHL⁸: the patient collects all hair shed at the time of hair washing after a period of five days without shampooing. In addition to counting the hairs, a measurement of their length is performed to estimate the percentage of short hairs (≤ 3 cm). When these represent

more than 10% of all collected shafts,⁹ the diagnosis of FPHL is considered. If the number of collected hairs is 100 or more, and their length is above 3 cm in more than 90%, CTE diagnosis should be considered.¹⁰ This method has not been correlated with histological and laboratory findings.

We assessed the accuracy of the washing method to differentiate between CTE and mild FPHL in two groups of patients, whose diagnoses were established through clinical, laboratory and histological analyses.

Material and methods

A prospective study recruited adult female patients who sought medical care for hair loss. The subjects were divided into two groups: a) patients with a clinical picture of CTE, that complained of excessive daily hair shedding for more than six months, but had no apparent reduction in the scalp hair volume or hair shaft abnormalities, and b) patients with clinical features of incipient FPHL (Figs. 1a,b). Approval from the institutional review board was obtained before initiation of data collection. The exclusion criteria were: for CTE, abnormal laboratory results associated with hair loss, such as anemia or thyroid function changes (except for increased TSH without a reduction of free T4 levels); for both groups, any kind of known illnesses. Patients who had their hair cut very short and those who did not comply with all agreed standardized procedures or failed to keep the follow-up visits were excluded. Eighteen months later, we stopped recruiting; by then, there were twenty CTE- and seventeen FPHL- patients. On the first visit, all patients signed an informed consent form, agreeing to undergo all study procedures; they answered a clinical questionnaire and were submitted to physical examination. The questionnaire included personal and family history, time of onset, presence of trichodynia, addictions, medications and surgeries. The presence of bitemporal recession, fronto-

parietal hair rarefaction, hirsutism, acne (face, trunk) and nail changes were recorded during physical examination. The hair pull test was performed (delicate traction of a small bundle of twenty-five to fifty hair shafts). Normally, only one or two hair shafts are dislodged; in telogen effluvium, this can increase to ten to fifteen hairs.¹¹ All patients were kept without any topical or systemic medication, including contraceptives, for at least three months before any procedure (except by two patients with CTE who remained only one month without medication). The following tests were performed, in all patients, before the second visit: CBC, renal, liver and thyroid function tests, serum iron, ferritin, ANA, VDRL, fasting glucose, coagulation profile, zinc, vitamin B12, folic acid, magnesium, free testosterone, DHEA, DHEAS, prolactin, FSH and LH (fifth to tenth day of the menstrual cycle for menstruating patients; any date for post-menopausal patients). For the statistical analysis, the results of serum iron and ferritin were divided into two groups (≥ 70 and < 70).¹²

To evaluate the hair density during follow-up, scalp photos were taken on the first visit, by the same researcher (CB), at the vertex, right and left temporal aspects, using the same camera, incidence angle, brightness and illumination.¹³ Patients were then instructed to refrain from shampooing for five days and then wash their hair at home, in their bathroom sink, as they always did, taking care to plug the drain with gauze. They used shampoo and conditioner, and collected, in an envelope, all hairs floating in the water or caught in the gauze, even those very short and almost transparent. All patients participating in the study lived in the districts of the same metropolitan region. The water from these districts is similarly treated and goes through the same quality control. Each envelope contained the yield of a single hair wash. The hairs were counted and evaluated with respect to length, always by the

same examiner (CB). If the sample was tangled, a fresh collection was requested. In these cases, the patients brought the new sample up to one month later and this was counted in approximately one week. The hair shafts were divided into two groups: > 3 cm and ≤ 3 cm. According to the original description of the method,⁷ the finding of at least 10% of short hairs (≤ 3 cm), regardless of their total number, should point to the diagnosis is FPHL, whereas a yield of 100 or more shafts, with short hairs making up less than 10% of the total suggest the diagnosis of CTE. If 10% or more hairs are 3 cm or shorter and at least 100 hairs are shed, the probable diagnosis is FPHL associated with CTE^{14,15}. In normal individuals, fewer than 10% of hairs measure less than 3 cm, and the yield is less than 100.

On the second visit, when the patients brought the envelopes and the results of the blood tests, a scalp biopsy was taken. A 6 mm punch was inserted at the scalp vertex as far down as the galea; the lower portion was then sectioned with a curved iris scissor to obtain a cylindrical sample. The specimen was submerged in 10% buffered formalin for 8 hours. Although the standard size of a punch scalp biopsy is 4.0 mm¹⁶, a 6 mm punch was used to obtain more ample material in a single biopsy. In the initial phase of FPHL, diagnostic accuracy increases when multiple biopsies are analyzed.¹⁷ A 6.0 mm punch biopsy covers a surface area of 27.34 square mm, with approximately 23 follicular units. The same researcher (CB) performed all biopsies. The specimens were horizontally bisected 1 mm below the epidermis, embedded in paraffin, cut in 4 μ m sections and stained with HE. Horizontal cuts are useful for morphometric analysis of hair follicles.¹⁸ All sections were randomly and blindly analyzed by the dermatopathologist (MLC), who recorded, as we previously reported:¹⁹ 1) total number of follicular units (FU) per specimen and per area ratio; 2) total number of hair follicles per FUs and per specimen area; 3) relative

proportion of follicles in anagen and non-anagen phases (catagen and telogen/telogen germinal unit); 4) relative proportion of terminal and non-terminal (intermediate and pseudovellus) follicles at the FU level and subcutaneous tissue. Instead of counting terminal and vellus follicles, we recorded the terminal and non-terminal follicles number, because to differentiate small intermediate follicles from vellus follicles is a subjective procedure; 5) relative proportion of follicular streamers (stelaе) both within follicular units and subcutaneous tissue.

Data were analyzed with the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 17.0 for Windows XP; P values of <0.05 were considered statistically significant. All examined variables showed a good approximation to the normal distribution, thus confirming the use of parametric tests. Pearson correlation, Student t, Chi square (or Fisher's exact), ANOVA-Bonferroni and Mann-Whitney tests were applied.

Results

Table 1 shows general clinical, laboratory and histomorphometric data.

There were no significant differences between the groups with respect to age, race and hair type (straight or curly). Again, no differences were detected regarding drug use (such as contraceptives), surgical procedures preceding hair loss, nutritional deficiency, personal or family history of autoimmune diseases or family history of either atopic eczema or FPHL.

The time elapsed between the onset of hair loss and the initial consultation was significantly higher in patients with FPHL.

Bitemporal recession was found in both groups [50% of CTE (Fig. 1d) and 35% of FPHL cases]. In the follow-up period, no worsening was seen in patients with CTE.

All FPHL patients started treatment after biopsy result and, at the end of the 18-month follow-up period, no worsening of hair thinning was observed by photographic comparison.

No differences were either found between the groups regarding trichodynia, found in 20% of CTE and 23% of FPHL patients.

Among all blood tests performed, only serum iron levels were significantly different between the two groups: the CTE group presented a greater number of patients with values below seventy. It was also found that the higher the serum iron levels, regardless of the patient group, the lower was the density of telogen germinal units in the scalp sample (Pearson correlation for continuous variables; $P= 0.017$).

In the CTE group, the mean hair count was 438; in all cases, less than 10% of the hairs were short. A positive hair pull test was found in four patients (20%). Blood tests were abnormal in five patients (25%): low levels of zinc ($N = 3$), positive ANA ($N=1$), and compensated hypothyroidism (increased TSH and normal free T4 levels) ($N=1$).

In the FPHL group, the mean hair count was 215 and in sixteen cases, the number of short was over 10%. Blood tests were abnormal in ten patients (58%): positive ANA ($N=2$), microcytic anemia ($N=1$), type 2 diabetes mellitus ($N=1$), compensated hypothyroidism ($N=3$), increased serum ferritin ($N=2$) (238.8 and 304.8) and mild liver enzyme abnormalities ($N=1$).

Hair counting was raised in both groups (Graph 1a), but significantly more in CTE (Fig. 1c) (Mann-Whitney test, $P=0.001$). However, no statistical difference was found between the groups in relation to the relative proportion of non-anagen (either considering vellus or terminal) follicles on histological evaluation (Graph 1b).

Histomorphometric analysis showed marked differences between the groups

regarding follicular miniaturization¹⁹: FPHL samples had lower follicular density both per follicular unit and per specimen area; lower terminal follicles density and higher values for the follicular streamers density. The mean terminal-to-non terminal follicles ratio was 5.6 (CTE) and 2.4 (FPHL). Comparing the washing test results and the histological examination, it was found that the higher the percentage of long hairs (>3 cm), the higher was the density of terminal follicles (Graph 2), regardless of patient group (Pearson correlation for continuous variables, P= 0.042). Analyzing all CTE and FPHL patients, positive correlation was found between age and the number of short hairs: the greater the age, the greater the number of miniaturized hairs.

Comment

Chronic telogen effluvium is often confused with female pattern hair loss; this distinction is important because prognosis and treatment of these two conditions are different.^{6,20,21} A biopsy can differentiate them, as it reveals a normal histological picture in CTE and miniaturization/lower terminal to vellus hair ratio in FPHL.^{5,6} However, since scalp biopsy is an invasive method, it should be reserved for women with a clinical fronto-parietal thinning grade 1 or 2.¹⁷ Noninvasive methods have been described as useful in differentiating FPHL from CTE. Guarrera et al.²² compared three noninvasive and easy to perform methods that quantify shed telogen hairs: pull test, daily count and wash test. Two hundred and thirty-four women complaining of hair loss were retrospectively studied. In 89 of them, no hair thinning could be seen clinically. According to the study, the pull test has low sensitivity and is possibly useful only in acute TE. Daily count is a troublesome procedure. They concluded that the washing technique is probably the best; more than 100 hairs collected after abstaining from shampooing for 5-days must be

considered abnormal.^{8,22} The main limitations are: broken hairs may be counted twice; the amount of shampoo and water used, and the duration and strength of the scalp massage may affect the results.

The present, prospective study aimed to investigate how accurate is the washing method to differentiate between CTE and mild FPHL, whose diagnoses were supported by blood tests and histopathological analysis.

It was previously found⁸ that hair thickness usually accompanies its length. Hairs that were ≥ 5 cm long had a mean/ SD diameter of 69.6/9.4 μm and those ≤ 3 cm had 38.5/ 4.1 μm diameter, regardless of the clinical diagnoses (CTE or FPHL). Therefore, we chose not to measure the hair thickness, but its length, which is a faster and more practical procedure.

The groups were uniform regarding age, race and results of the clinical questionnaire. Nevertheless, the time elapsed from when the patients first noticed hair loss until the first medical consultation was significantly higher in patients with FPHL, showing that even after years, the degree of thinning in FPHL can remain slight. Such behavior further hinders differentiation between the two processes.

Shedding in the CTE group was high (mean count: 438) and, in all cases, the percentage of short hairs was less than ten. Due to synchronization of the hair cycle, the number of hairs shed in CTE is greater than in FPHL, while miniaturized hairs are not characteristic of the disorder.²²

In FPHL patients, the mean hair count was 215 and in only one patient was the number of vellus hairs under ten percent. Quantitation of vellus hair can be difficult, as they are tiny, hard to see and easily lost. When the results of the washing method conflict with those from the histology, a new collection must be performed. We could not find studies in the literature addressing the reproducibility of the hair

wash test. In our experience, we believe this is a reproducible method, because the procedure is very simple and good reliability was found in both groups for the test results, as previously reported by Guarrera et al¹⁵.

We found that the higher the percentage of long hairs (>3cm), the higher the terminal follicle density on histological examination. Although hair-counting results were abnormally high in both CTE and FPHL patients, no statistical difference was found between the groups with respect to the relative proportion of non-anagen follicles on the histological examination. This is in accordance with the proposed mechanism of "immediate telogen release" for CTE.¹⁹

A positive hair pull test was found in only twenty percent of CTE and in twelve percent of FPHL patients. The test evaluates the number of hairs that can be extracted by gentle traction.²³ It can be positive all over the head in active CTE, with release of more than twenty percent of pulled hairs. Individual variation between physicians can be significant and this hinders standardization; inconsistent pulling force over the whole bundle generates irregularity in the traction from one hair to another. It is also difficult to approximate the number of hairs seized, thereby altering the result.²⁴ Moreover, a negative test does not exclude the diagnosis.³ Patients customarily wash their hair before medical appointments, which may cause a false-negative result.

Other clinical criteria, that have been described as useful to differentiate the entities, were not found, in this study, to be helpful.

There was no difference between CTE and FPHL patients regarding the presence or intensity of bitemporal recession in our study; fifty percent of CTE patients presented mild bitemporal recession, but no detectable hair thinning was perceived in the follow-up period. Bitemporal recession, at times severe, is evident in CTE

patients, but hair thinning is usually light or absent and there is no widening of the midline parting.¹¹ Thirty-five percent of the FPHL patients showed bitemporal recession. It was at one time regarded as a marker for female virilization, but a study with 564 healthy women showed this to be a normal finding in 13% of premenopausal and 37% of post-menopausal women.⁶ Our patients showed no clinical signs of virilization, nor abnormal hormone blood levels.

No differences were found between CTE and FPHL groups with respect to trichodynia, reported by 20% of CTE and 23% of FPHL patients. Trichodynia, manifesting as pain and a stinging sensation on the scalp, has been reported to be more common in CTE than in FPHL patients.²⁵ The symptom has been reported in up to 33% of patients with diffuse alopecia and significantly associated with anxiety, but not with nutritional deficiency.²⁵ No correlation was observed between the presence of trichodynia and other studied variables, including iron and ferritin levels.

Blood test results were abnormal in a quarter of patients with CTE (lower zinc level, positive ANA and compensated hypothyroidism) and 58% of FPHL (positive ANA, microcytic anemia, type 2 diabetes mellitus, compensated hypothyroidism, increased serum ferritin, and mild liver enzyme abnormalities). Thus, it may be important to investigate other concomitant disorders that, if untreated, could impair the results of treatments for FPHL.

Although only one FPHL and no CTE patients presented anemia through CBC, serum iron but not ferritin levels displayed significant differences between the groups. The CTE group presented a greater number of patients with values below 70. Additionally, the higher the serum iron levels, regardless of patient group, the lower the density of telogen germinal units. Literature concerning iron deficiency is

controversial. It is possible that iron deficiency could both cause CTE and adversely affect the results of treatment for FPHL. Rasheed et al. found an association between low serum ferritin and hair loss in females with CTE and FPHL.²⁶ Deloche et al²⁷ studied the relationship of hair loss and serum ferritin levels; they found that a low iron store (ferritin <40µg/L) represented a risk factor for hair loss in non-menopausal women. However, iron deficiency is common in women of childbearing age, and no difference in ferritin levels was seen between patients with FPHL or CTE, and control subjects.²⁸ So far, the effect of iron supplementation as an adjuvant measurement in FPHL treatment has not been determined. Screening blood tests for nutritional deficits, although not a routine part of the management of hair loss, may be beneficial.

In patients of both groups, a positive correlation was found between age and the number of short hairs. Aging of hair follicles seems to affect hair growth.²⁹

In conclusion, the washing test was found to be a useful tool in the differential diagnosis of CTE and mild FPHL obviating the need for a biopsy.

However low iron levels in serum seems to be an additional parameter of significance and may improve the CTE diagnosis if combined with earlier test.

The patients were satisfied that their concerns were carefully investigated, and were pleased to collect the hairs, even twice when necessary.

Acknowledgement

This study was supported by a grant from the São Paulo Research Foundation (FAPESP). We are grateful to Adilson A. Piazza and Ana C. Piazza for technical assistance.

References

1. Whiting DA. Chronic telogen effluvium. *Dermatol Clin* 1996; **14**: 723-31.
2. Kligman AM. Pathologic Dynamics of Human Hair Loss. I. Telogens effluvium. *Arch Dermatol* 1961; **83**: 175-98.
3. Whiting DA. Chronic telogen effluvium: increased scalp hair shedding in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol* 1996; **35**: 899-906.
4. Gilmore S, Sinclair R. Chronic telogen effluvium is due to a reduction in the variance of anagen duration. *Australas J Dermatol* 2010; **51**: 163-7.
5. Birch MP, Lalla SC, Messenger AG. Female pattern hair loss. *Clin Exp Dermatol* 2002; **27**: 383-8.
6. Sinclair RD, Dawber RP. Androgenetic alopecia in men and women. *Clin Dermatol* 2001; **19**:167-78.
7. Sinclair R. Chronic telogen effluvium: a study of 5 patients over 7 years. *J Am Acad Dermatol* 2005; **52** (suppl 1): S12-6.
8. Poli QR, Mei E, De Palma S et al. Nuovi test in diagnostica dermo-tricologica ambulatoriale: valutazioni preliminari e loro impiego nel defluvio androgenetico. *Dermatol Ambul* 2003;1138-44. In: Rebora A, Guarrera M, Baldari M, Vecchio F. Distinguishing androgenetic alopecia from chronic telogen effluvium when associated in the same patient. *Arch Dermatol* 2005; **141**: 1243-5.
9. Caserio RJ. Diagnostic techniques for hair disorders, III: clinical hair manipulations and clinical findings. *Cutis* 1987; **40**: 442-8.
10. Rushton DH. Management of hair loss in women. *Dermatol Clin* 1993; **11**: 47-53.
11. Harrison S, Bergfeld W. Diffuse hair loss: its triggers and management. *Cleve Clin J Med* 2009; **76**: 361-7.

12. Rushton DH. Nutritional factors and hair loss. *Clin Exp Dermatol* 2002; **27**: 396-404.
13. Leyden J, Dunlap F, Miller B et al. Finasteride in the treatment of men with frontal male pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol* 1999; **40** (6 Pt 1): 930–7.
14. Rebora A, Guarrera M, Baldari M, Vecchio F. Distinguishing androgenetic alopecia from chronic telogen effluvium when associated in the same patient. *Arch Dermatol* 2005; **141**: 1243-5.
15. Guarrera M, Cardo PP, Rebora A. Assessing the reliability of the Modified Wash Test. *G Ital Dermatol Venereol* 2011; **146**: 289-94.
16. Elston DM, Ferringer T, Dalton S et al. A comparison of vertical versus transverse sections in the evaluation of alopecia biopsy specimens. *J Am Acad Dermatol* 2005; **53**:267-72.
17. Sinclair R, Jolley D, Mallari R, Magee J. The reliability of horizontally sectioned scalp biopsies in the diagnosis of chronic diffuse telogen hair loss in women. *J Am Acad Dermatol* 2004; **51**:189-99.
18. Bathish N, Ben Izhak O, Shemer A, Bergman R. A study of serial vertical sectioning of scalp biopsies to increase the histological diagnostic yield in alopecias. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2010; **2**: 709-15.
19. Bittencourt C, Ferraro DA, Soares TC et al. Chronic telogen effluvium and female pattern hair loss are separate and distinct forms of alopecia: a histomorphometric and immunohistochemical analysis. *Clin Exp Dermatol* 2014; **39**: 868-73.
20. Rebora A. Telogen effluvium. *Dermatology* 1997; **195**: 209-12.
21. Rand S. Chronic telogen effluvium: potential complication for clinical trials in female androgenetic alopecia? *J Am Acad Dermatol* 1997; **37**: 1021.

22. Guarrera M, Semino MT, Rebora A. Quantitating hair loss in women: a critical approach. *Dermatology* 1997; **194**: 12-6.
23. Rebora A. Pathogenesis of androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 2004; **50**: 777-9.
24. Dhurat R, Saraogi P. Hair evaluation methods: merits and demerits. *Int J Trichology* 2009; **1**: 108-19.
25. Durusoy C, Ozenli Y, Adiguzel A et al. The role of psychological factors and serum zinc, folate and vitamin B12 levels in the aetiology of trichodynia: a case-control study. *Clin Exp Dermatol* 2009; **34**: 789-92.
26. Rasheed H, Mahgoub D, Hegazy R et al. Serum ferritin and vitamin D in female hair loss: do they play a role? *Skin Pharmacol Physiol* 2013; **26**: 101-7.
27. Deloche C, Bastien P, Chadoutaud S et al. Low iron stores: a risk factor for excessive hair loss in non-menopausal women. *Eur J Dermatol* 2007; **17**: 507-12.
28. Olsen EA, Reed KB, Cacchio PB, Caudill L. Iron deficiency in female pattern hair loss, chronic telogen effluvium, and control groups. *J Am Acad Dermatol* 2010; **63**: 991-9.
29. Chen W, Yang CC, Todorova A et al. Hair loss in elderly women. *Eur J Dermatol* 2010; **20**: 145-51.

Table 1. Patients' clinical, laboratorial and histomorphometric data

Variable	CTE (n= 20)	FPHL (n= 17)	Statistical results
Age in years, mean (range)	41 (25-62)	44 (23-75)	NS
Race, Caucasian/ non Caucasian	18/ 2	14/ 3	NS
Pruritus: number (%)	7 (35)	8 (47)	NS
Hair loss in years, mean (range)	3.9 (0.75-15)	9.6 (1-30)	P=0.016*
Washing method counting: mean (range)	438 (156- 1239)	215 (59- 623)	P=0.001*
Hair shafts \leq 3 cm (%): mean (range)	5 (2-7)	27 (7-59)	P=0.005*
Serum iron level: mean (range)	79 (47-134)	87 (59-117)	P=0.012**
Non anagen: mean (range)	0.19 (0.02- 0.46)	0.23 (0.03- 0.44)	NS***

CTE= chronic telogen effluvium. FPHL: female pattern hair loss; NS= non-significant; * Mann-Whitney non-parametric test; ** chi-square test; values tested in two groups: equal to or greater than 70 and less than 70; Non anagen = Non anagen follicles relative proportion on histopathological view ; *** ANOVA/ Bonferroni test, P= 0.78

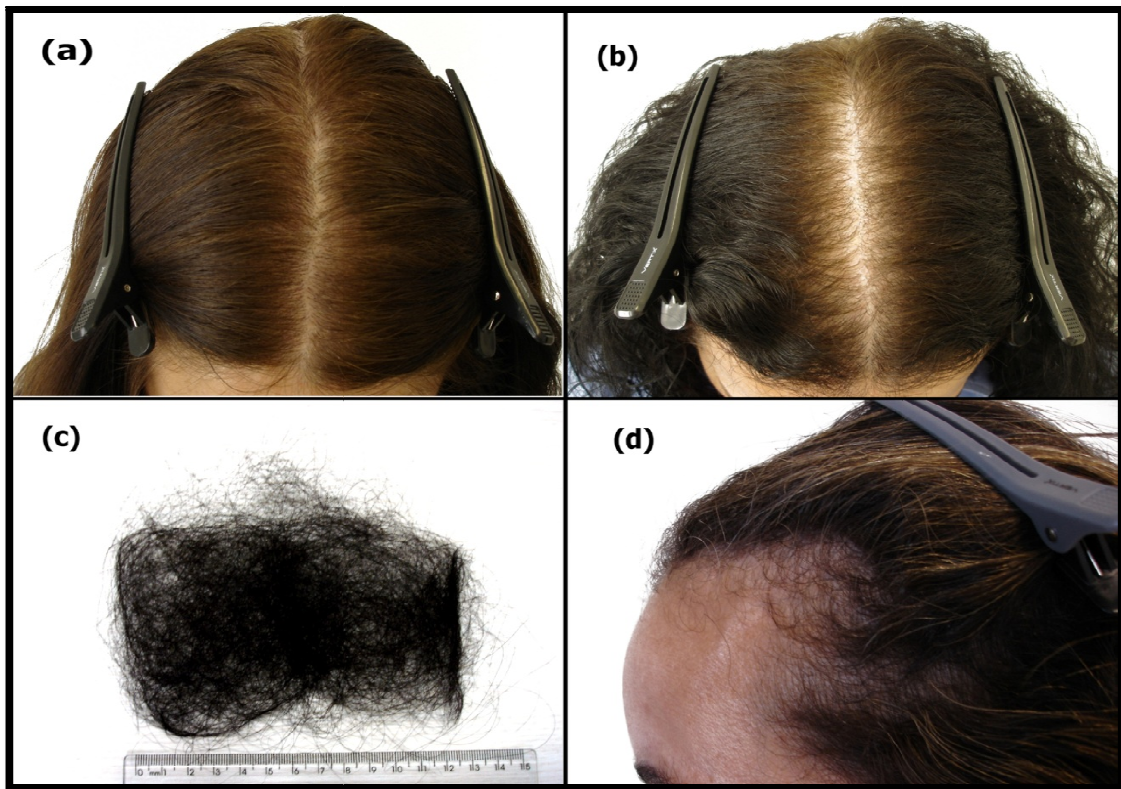
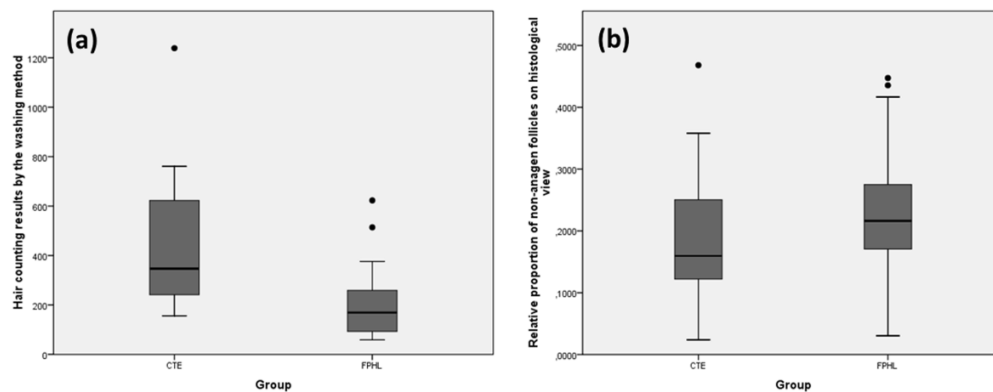


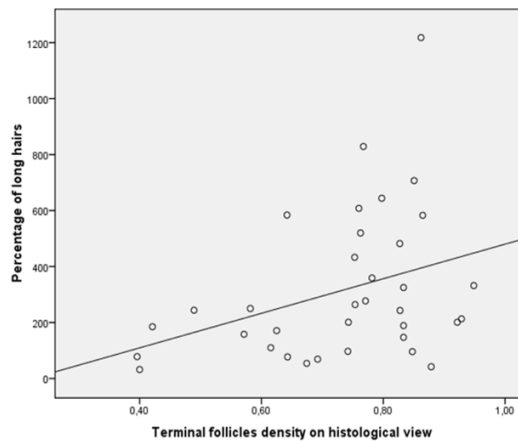
Fig. 1: (a) Chronic telogen effluvium (CTE): full head of hair; (b) Mild female pattern hair loss: incipient widening of the midline part; (c) CTE: 1239 collected hairs after a five-day period without shampooing; (d) CTE: fronto-temporal recession.

Graph 1 - Hair counting results by the washing method in CTE and FPHL (a); relative proportion of non-anagen follicles on histological view (b).



Graph 1: (a) Hair counting results by the washing method in CTE and FPHL were abnormally high and values were significantly higher in CTE patients. (b) No statistical difference was found between the groups in relation to the relative proportion of non-anagen follicles.

Graph 2 – Percentage of long hairs (> 3cm) in CTE and FPHL (washing method counting); terminal follicles density on histological view.



Graph 2: The higher the percentage of long hairs through the washing method, the higher the terminal follicles density on histological view, when considering all patients, regardless of the group to which they belonged.

6. DISCUSSÃO

As alopecias são afecções que provocam queda dos cabelos ou pelos do corpo. Elas podem causar um grande desconforto para os pacientes, principalmente quando acometem o couro cabeludo. Isso ocorre porque os cabelos têm uma importante função psicológica e a ausência deles frequentemente leva a uma diminuição da autoestima. Como foi visto anteriormente, vários estudos mostram que os cabelos interferem na qualidade de vida das pessoas e a perda deles causa angústia, preocupação e falta de satisfação com a aparência.

O ETC foi descrito em 1996 por Whiting⁷⁷, que observou que em várias pacientes com queda difusa dos cabelos não havia nenhuma causa orgânica, medicamentosa, nutricional ou gatilhos precedendo o quadro. Ele é caracterizado por uma queda generalizada dos cabelos de forma abrupta, principalmente em mulheres de meia-idade que antes da queda diziam ter cabelos grossos e abundantes, com ou sem um fator desencadeante identificado e com duração acima de 6 meses. Geralmente ele tem um curso flutuante que dura vários anos. Pode haver queda de grandes quantidades de cabelo obstruindo os ralos do banheiro nos dias de lavagem.

A contagem dos fios pelo método da lavagem variou de 156 a 1239, com média de 438, sendo que em todos os casos o número de fios menores que 3cm foi inferior a 10% do total, confirmando os dados da literatura. O número de cabelos que caem no ETC é maior que na AAG, enquanto que a miniaturização não é característica do primeiro.⁸⁷ Das 20 pacientes com ETC estudadas, 10 apresentavam recesso bitemporal anterior, como é descrito na literatura, a maioria discreto, mas nenhuma tinha afinamento dos fios detectável. O recesso bitemporal anterior, às vezes intenso, é evidente nos pacientes com ETC, mas o afinamento dos fios é geralmente discreto ou ausente, e não há alargamento da linha média.²⁶² A prova de tração foi positiva em 4 pacientes (20%). Esse método avalia o número de fios que são extraídos do couro cabeludo com uma tração suave. Ele pode ser positivo na fase ativa do ETC em toda a extensão do couro cabeludo, com desprendimento acima de 20% dos cabelos tracionados. Porém, o teste pode variar de acordo com o examinador, a padronização e a mudança da força na tração. Além disso, pode ocorrer um falso negativo se houver lavagem dos cabelos previamente. Provavelmente isso pode ter ocorrido nesta

investigação, pois apenas 20% das pacientes apresentaram positividade. Um resultado negativo não exclui o diagnóstico.⁸⁶

No grupo da AAG a contagem dos fios de cabelo pelo método da lavagem variou de 59 a 623, com média de 215. Em 16 casos houve um número de queda de fios menores ou iguais a 3cm superior a 10%, o que é compatível com os dados da literatura, que descreve que pacientes com AAG têm perda de fios pequenos e finos, próprios do processo de miniaturização. Quando os fios têm até 3cm de comprimento são chamados de fios pseudovelos e se representarem mais de 10% do total de fios⁸⁵, pode-se considerar que o paciente tem AAG. Apenas uma paciente apresentou queda de fios menores ou iguais a 3cm inferior a 10%. O cuidado na coleta, como no fechamento do ralo, é um fator que interfere no resultado, e muitas vezes os fios curtos, também delgados, são quase imperceptíveis, podendo se perder na hora da coleta. A prova de tração foi positiva em 12% das pacientes. O recesso bitemporal anterior estava presente em 35% das pacientes. Acreditava-se que ele era um marcador de virilização feminina, mas um estudo que incluiu 564 mulheres saudáveis mostrou que é um achado normal em 13% das mulheres pré-menopausa e em 37% das pós-menopausadas.²⁶³ Nossas pacientes não evidenciaram nenhum sinal clínico de virilização ou alterações laboratoriais nos exames hormonais.

O ETC é usualmente confundido com a AAGFi; sua distinção é muito importante pois o prognóstico e o tratamento dessas condições são muito diferentes.^{90,263,264} A biopsia pode diferenciá-los, mas como ela é um método invasivo, podem ser utilizados alguns métodos mais simples para fazer a distinção, como o método da lavagem dos cabelos, que se mostrou eficaz nesse estudo.

Como foi visto no trabalho de Reborá e colaboradores⁸⁴, a espessura dos fios acompanha, na sua grande maioria, o tamanho deles. Os fios com 5cm ou mais de comprimento tinham um diâmetro médio de 69.6+/-9.4 μm , e os fios com 3cm ou menos tinham um diâmetro de 38.5 +/- 4.1 μm . Fios curtos demonstraram serem os mais finos, independentemente do diagnóstico clínico. Sendo assim, optamos por não mensurar a espessura dos fios, privilegiando a análise do seu comprimento.

Nós observamos que quanto maior a densidade de fios longos no método da lavagem, maior a densidade de folículos terminais no exame histológico. Embora a contagem de cabelos pelo método da lavagem tenha sido alta no grupo do ETC e da AAG, não houve

diferença estatística entre os grupos com relação à proporção de folículos não anágenos (velos ou terminais) no exame histológico. Talvez isso tenha ocorrido pelo fato de os folículos catágenos terem sido contados junto com os telógenos. Durante o estudo observou-se que as pacientes ficaram satisfeitas com esse cuidado na análise dos fios, mesmo quando foram solicitadas a repetir o método da lavagem.

Não foi encontrada diferença entre os grupos do ETC e da AAG com relação à tricodínia. Ela foi observada em 20% do ETC e em 23% da AAG. A tricodínia é uma sensação de agulhada ou dor no couro cabeludo, e de acordo com a literatura, é mais comum nos pacientes com ETC que nos com AAG.⁷⁹ Um estudo mostrou que em 33% dos pacientes com alopecia difusa que se queixavam de tricodínia, esse sintoma estava associado à ansiedade e não à deficiência nutricional.⁷⁹

A análise laboratorial evidenciou alterações em 25% das pacientes do ETC: três apresentavam níveis baixos de zinco, uma tinha FAN positivo e uma delas, hipotireoidismo controlado. Foram encontradas anormalidades laboratoriais em 58% das pacientes do grupo da AAG: duas apresentaram FAN positivo; uma tinha anemia microcítica, uma tinha diabetes melitus tipo 2, três apresentavam hipotireoidismo controlado, duas evidenciaram aumento de ferritina (238,8 e 304,8ng/mL) e uma tinha alteração discreta de enzimas hepáticas. Isso mostra a importância de investigar outras doenças concomitantes nesse grupo. Se elas não forem tratadas, podem prejudicar os resultados do tratamento da alopecia. Embora apenas uma paciente do grupo da AAG e nenhuma do grupo do ETC tenha apresentado anemia devido à deficiência de ferro, os níveis de ferro sérico mostraram diferenças estatísticas entre os grupos. O grupo do ETC apresentou um número maior de pacientes com níveis de ferro sérico abaixo de 70 µg/dL (microgramas/dL) quando comparado com os grupos da AAG e do controle. Porém, não foi encontrada diferença entre os grupos quanto aos valores de ferritina. A literatura é controversa no que diz respeito à deficiência de ferro. É possível que a deficiência de ferro possa causar o ETC e afete o tratamento na AAG. Rasheed e colaboradores encontraram uma associação entre o nível baixo de ferritina e a queda de cabelo em mulheres com ETC e AAG.²⁶⁵ Entretanto, a deficiência de ferro tem sido reportada como sendo comum em mulheres, sem aumento de casos nas mulheres com ETC e AAG quando comparadas ao grupo-controle.²⁶⁶ A avaliação laboratorial no intuito de corrigir deficiências nutricionais, embora não seja uma rotina para as pacientes com AAG, talvez seja benéfica no tratamento da alopecia.

No início da AAG, a queda de cabelo pode ser difusa e episódica, sendo muitas vezes difícil diferenciá-la do ETC. Além disso, o ETC e a AAG podem se iniciar na mesma idade. No nosso trabalho, não houve diferença significativa quanto à idade nos grupos. Além disso, nenhuma das pacientes com ETC desenvolveu sinais de AAG durante o período de acompanhamento.

Com relação ao nível de ansiedade das pacientes, analisado pela escala de avaliação de ansiedade de Hamilton (Ham-A - Hamilton, 1969; tradução AMBAN, 1985), não houve diferença estatística entre os grupos. Tanto as pacientes com ETC quanto as com AAG e controle apresentaram, na sua maioria, grau de ansiedade leve. Uma das supostas causas do ETC, assim como do ET agudo, seria o estresse e a ansiedade, que atuariam como um gatilho para a queda dos cabelos. Isso não se confirmou nesta pesquisa.

Whiting⁷⁷ analisou 355 pacientes com ETC e comparou os achados histopatológicos com o grupo controle (N=22) e o grupo AAG (N=412). O autor encontrou uma relação de folículos terminais/velos de 9 no ETC, 1,9 no grupo AAG e 7 no controle, e uma porcentagem de anágenos de 89 (ETC), 83,2 (AAG) e 93,5 (controle). Para a análise estatística, todos os nossos achados foram registrados em razão ou densidade. Sendo assim, nossos resultados podem ser comparados com os de Whiting, apesar da diferença do tamanho das biopsias (em nosso trabalho foi utilizado *punch* de 6mm; no de Whiting, de 4mm). A única diferença importante entre os resultados de Whiting e os nossos foi a relação entre folículos terminais e não terminais no grupo ETC (9 versus 5,6). Isso pode ser explicado pelo modo como nós registramos os valores. Diferenciar os folículos intermediários pequenos dos velos é um procedimento subjetivo. Então, em vez de contar os folículos terminais e velos, nós registramos o número de folículos terminais e não terminais.

A análise dos nossos resultados histomorfométricos com relação à miniaturização dos folículos revelou diferenças significativas entre o grupo da AAG quando comparado ao do ETC e ao do controle sem doenças. Densidade folicular menor por unidade folicular e por área, menor densidade de folículos terminais e maior densidade de bainhas fibrosas perifoliculares vazias foram encontradas no grupo da AAG. Entretanto, não houve diferença entre os grupos do ETC e do controle. Assim, os resultados histomorfométricos sugerem que o ETC seja uma entidade separada da AAG.

De acordo com Headington⁷⁶, são descritos cinco tipos funcionais de ET: 1- desprendimento imediato do fio anágeno, sendo que os folículos entram prematuramente em fase telógena; 2- prolongamento da fase anágena, atrasando o início da telógena, como, por exemplo, na gestação; 3- diminuição do tempo da fase anágena, causando um ET leve, mas persistente; 4- desprendimento imediato do telógeno; após o término da fase anágena, não há o intervalo normal de 4 a 6 semanas para o início da liberação dos fios; há uma abreviação do tempo da fase telógena e 5- atraso na liberação dos fios telógenos, que ocorre nos mamíferos que trocam os pelos após o inverno.

O exame histopatológico das pacientes com ETC não evidenciou um aumento da densidade catágena/telógena, e nem achados histomorfométricos que ajudassem a diferenciar o ETC do grupo controle. Nossos resultados contribuem com o mecanismo proposto de “liberação imediata do telógeno”.

A análise imuno-histoquímica não mostrou diferença entre os grupos com relação ao CD31. Foi observada uma correlação positiva entre a densidade proliferativa do Ki-67 e os achados típicos da histologia da AAG, mas sem diferença estatística entre os 3 grupos. Entretanto observou-se uma diferença estatística significativa com relação ao marcador VEGF: o grupo da AAG mostrou os maiores valores, seguido do ETC e do grupo controle, que apresentou os menores valores. Além disso, dentro do grupo da AAG, a duração da queda de cabelos foi correlacionada positivamente com a densidade de folículos pseudovelos, bainhas fibrosas perifoliculares vazias e com a densidade da expressão do VEGF. Esses resultados talvez possam ser explicados lembrando-se que o possível mecanismo funcional da AAG esteja relacionado com o encurtamento da fase anágena e uma miniaturização progressiva dos folículos pilosos. Os folículos miniaturizados poderiam ocorrer pela indução da aceleração da taxa mitótica da matriz pela dihidrotestosterona, deixando menos tempo para a diferenciação. Isso poderia justificar o aumento do Ki-67 e do VEGF.

O VEGF tem um papel na ativação da angiogênese e na manutenção do suprimento sanguíneo nos folículos anágenos.²⁵⁶ Goldman e colaboradores²⁵⁷ observaram uma redução da expressão do VEGF nas células dos folículos pilosos de pacientes com AAG. Comparar nossos resultados com os de Goldman e colaboradores²⁵⁷ é difícil por causa da diferença de tipos de anticorpos, espessura das secções, grau de alopecia de Ludwig das pacientes que eles estudaram e os métodos de avaliação da densidade do VEGF. No intuito de evitar

variações nas colorações devido aos problemas da técnica, os procedimentos nesse estudo prospectivo foram todos padronizados.

Após o término da pesquisa, todas as pacientes receberam as explicações sobre os resultados. Observou-se que elas ficaram muito mais tranquilas com relação à queda de seus cabelos.

7. CONCLUSÃO

O ETC é uma desordem única, distinta da AAG desde o início.

O nível de ansiedade das pacientes com ETC não é diferente daquele das pacientes com AAG ou do grupo controle.

O método da lavagem é eficaz para distinguir o ETC da AAGFi e pode evitar a biopsia.

Em pacientes com alopecia, a taxa do ferro sérico deve ser avaliada, pois a sua suplementação pode minimizar a queda de cabelos em ambos os grupos.

Na AAG, os resultados se alinham ao mecanismo patogênico vigente de aceleração do ciclo, evidenciada pelos elevados valores de Ki-67 e VEGF, com menor tempo para a maturação folicular e consequente miniaturização progressiva.

Os grupos da AAG e do controle não apresentam diferenças quanto às características da microvasculatura estudada. Portanto, aparentemente, as modificações da microvasculatura folicular não participam do mecanismo etiopatogênico do ETC.

O ETC provavelmente decorre da sincronização do ciclo folicular por encurtamento da teloptose, associada ou não a uma diminuição da fase anágena.

REFERÊNCIAS

- 1- Budd D, Himmelberger D, Rhodes T, Cash TE, Girman CJ. The effects of hair loss in European men: a survey in four countries. *Eur J Dermatol* 2000 Mar;10(2):122-7.
- 2- van der Donk J, Passchier J, Knecht-Junk C, van der Wegen-Keijser MH, Nieboer C, Stolz E, Verhage F. Psychological characteristics of women with androgenetic alopecia: a controlled study. *Br J Dermatol* 1991 Sep;125(3):248-52.
- 3- Headington JT. Transverse microscopic anatomy of the human scalp. A basis for a morphometric approach to disorders of the hair follicle. *Arch Dermatol* 1984 Apr;120(4):449-56.
- 4- Severs GA, Griffin T, Werner-Wasik M. Cicatricial alopecia secondary to radiation therapy: case report and review of the literature. *Cutis* 2008 Feb;81(2):147-53.
- 5- Choudhry, R., Hodgins, MB, Van der Kwast TH, Brinkmann AO, Boersma WJ. Localization of androgen receptors in human skin by immunohistochemistry: implications for the hormonal regulation of hair growth, sebaceous glands and sweat glands. *J Endocrinol* 1992 Jun;133(3):467-75.
- 6- Randall VA, Thornton MJ, Hamada K, Messenger AG. Mechanism of androgen action in cultured dermal papilla cells derived from human hair follicles with varying responses to androgens in vivo. *J Invest Dermatol* 1992 Jun; 98(6 Suppl):86S-91S.
- 7- Ioannides G. Alopecia: a pathologist's view. *Int J Dermatol* 1982 Jul-Aug;21(6):316-28.
- 8- Caserio RJ. Diagnostic techniques for hair disorders. Part II: Microscopic examination of hair bulbs, tips, and casts. *Cutis* 1987 Oct;40(4):321-5.
- 9- Frishberg DP, Sperling LC, Guthrie VM. Transverse scalp sections: a proposed method for laboratory processing. *J Am Acad Dermatol* 1996 Aug;35(2 Pt 1):220-2.
- 10- Templeton SF, Santa Cruz DJ, Solomon AR. Alopecia: histologic diagnosis by transverse sections. *Semin Diagn Pathol* 1996 Feb;13(1):2-18.
- 11- Aslani FS, Dastgheib L, Banihashemi BM. Hair counts in scalp biopsy of males and females with androgenetic alopecia compared with normal subjects. *J Cutan Pathol* 2009 Jul;36(7):734-9.

- 12- Sinclair R, Jolley D, Mallari R, Magee J. The reliability of horizontally sectioned scalp biopsies in the diagnosis of chronic diffuse telogen hair loss in women. *J Am Acad Dermatol* 2004 Aug;51(2):189-99.
- 13- Gibson LE, Muller SA, Leiferman KM, Peters MS. Follicular mucinosis: clinical and histopathologic study. *J Am Acad Dermatol* 1989 Mar;20(3):441-6.
- 14- Whiting DA. Diagnostic and predictive value of horizontal sections of scalp biopsy specimens in male pattern androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1993 May;28(5 Pt 1):755-63.
- 15- Eudy G, Solomon AR. The histopathology of noncicatricial alopecia. *Semin Cutan Med Surg* 2006 Mar;25(1):35-40.
- 16- Gallego Arbeláez N, Hernández Martín A, Torrelo Fernández A. Loose anagen hair syndrome. *An Pediatr (Barc)* 2009 Nov;71(5):465-6.
- 17- Bakos L, Bakos RM, Azulay RD. Afecções dos Pêlos. In: Azulay RD, Azulay DR, Azulay-Abulafia L. Afecções dos pelos. In: *Dermatologia Azulay*. 5. ed Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A; 2008. p.671-8.
- 18- Stefanato CM. Histopathology of alopecia: a clinicopathology approach to diagnosis. *Histopathology*, 2010 Jan; 56(1):24-38.
- 19- Olsen EA, Bergfeld WF, Cotsarelis G, Price VH, Shapiro J, Sinclair R, et al. Summary of North American Hair Research Society (NAHRS) – sponsored Workshop on Cicatricial Alopecia, Duke University Medical Center, February 10 and 11, 2001. *J Am Acad Dermatol* 2003 Jan;48(1):103-10.
- 20- Finner AM, Otberg N, Shapiro J. Secondary cicatricial and other permanent alopecias. *Dermatol Ther* 2008 Jul-Aug;21(4):279-94.
- 21- Borovicka JH, Thomas L, Prince C, Mehregan DR. Scarring alopecia: clinical and pathologic study of 54 African-American women. *Int J Dermatol* 2009 Aug;48(8):840-5.
- 22- Tosti A, Piraccini BM, Vincenzi C, Misciali C. Permanent alopecia after busulfan chemotherapy. *Br J Dermatol* 2005 May;152(5):1056-8.

- 23- Burrows NP, Grant JW, Crisp AJ, Roberts SOB. Scarring alopecia following gold therapy. *Acta Derm Venereol* 1994 Nov;74(6):486.
- 24- McElwee KJ. Etiology of cicatricial alopecias: a basic science point of view. *Dermatol Ther* 2008 Jul-Aug;21(4):212-20.
- 25- Somani N, Bergfeld WF. Cicatricial alopecia: classification and histopathology. *Dermatol Ther* 2008 Jul-Aug;21(4):221-37.
- 26- Assouly P, Reygagne P. Lichen planopilaris: update on diagnosis and treatment. *Semin Cutan Med Surg* 2009 Mar;28(1):3-10.
- 27- Kossard S. Postmenopausal frontal fibrosing alopecia. Scarring alopecia in a pattern distribution. *Arch Dermatol* 1994 Jun;130(6):770-4.
- 28- Moreno-Ramírez D, Camacho Martínez F. Frontal fibrosing alopecia: a survey in 16 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2005 Nov;19(6):700-5.
- 29- Walling HW, Sontheimer RD. Cutaneous lupus erythematosus. *Am J Clin Dermatol* 2009;10(6):365-81.
- 30- Ross EK, Tan E, Shapiro J. Update on primary cicatricial alopecias. *J Am Acad Dermatol* 2005 Jul;53(1):1-37.
- 31- Wilson CL, Burge SM, Dean D, Dawber RP. Scarring alopecia in discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1992 Apr;126(4):307-14.
- 32- Callen JP. Chronic cutaneous lupus erythematosus. Clinical, laboratory, therapeutic, and prognostic examination of 62 patients. *Arch Dermatol* 1982 Jun;118(6):412-6.
- 33- George PM, Tunnessen WW Jr. Childhood discoid lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1993 May;129(5):613-7.
- 34- Yell JA, Mbuagbaw J, Burge SM. Cutaneous manifestation of systemic lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1996 Sep;135(3):355-62.
- 35- Tan E, Martinka M, Ball N, Shapiro J. Primary cicatricial alopecias: Clinicopathology of 112 cases. *J Am Acad Dermatol* 2004 Jan;50(1):25-32.
- 36- Hordinsky M. Cicatricial alopecia: discoid lupus erythematosus. *Dermatol Ther* 2008 Jul-Aug;21(4):245-8.

- 37- Onayemi O, Soyinka F. Squamous cell carcinoma of the scalp following a chemical burn and chronic discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1996 Aug; 135(2):342-3.
- 38- Holm AL, Bowers KE, McMeekin TO, Gaspari AA. Chronic cutaneous lupus erythematosus treated with thalidomide. *Arch Dermatol* 1993 Dec;129(12):1548-50.
- 39- Ee HL, Ng PP, Tan SH, Goh CL. Squamous cell carcinoma developing in two Chinese patients with chronic discoid lupus erythematosus: the need for continued surveillance. *Clin Exp Dermatol* 2006 Jul;31(4):542-4.
- 40- McCauliffe DP. Cutaneous lupus erythematosus. *Semin Cutan Med Surg* 2001 Mar;20(1):14-26.
- 41- Ruzicka T, Goerz G. Dapsone in the treatment of lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 1981 Jan;104(1):53-6.
- 42- Housman TS, Jorizzo JL, McCarty MA, Grummer SE, Fleischer AB Jr, Sutej PG. Low-dose thalidomide therapy for refractory cutaneous lesions of lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 2003 Jan;139(1):50-4.
- 43- Goyal S, Nousari HC. Treatment of resistant discoid lupus erythematosus of the palms and soles with mycophenolate mofetil. *J Am Acad Dermatol* 2001 Jul;45(1):142-4.
- 44- Goldstein E, Carey W. Discoid lupus erythematosus: successful treatment with oral methotrexate. *Arch Dermatol* 1994 Jul;130(7):938-9.
- 45- Tsokos GC, Caughman SW, Klippel JH. Successful treatment of generalized discoid skin lesions with azathioprine. Its use in a patient with systemic lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 1985 Oct;121(10):1323-5.
- 46- Walker SL, Kirby B, Chalmers RJ. The effect of topical tacrolimus on severe recalcitrant chronic discoid lupus erythematosus. *Br J Dermatol* 2002 Aug;147(2):405-6.
- 47- Gerdson R, Wenzel J, Uerlich M, Bieber T, Petrow W. Successful treatment of chronic discoid lupus erythematosus of the scalp with imiquimod. *Dermatology* 2002;205(4):416-8.
- 48- Edwards KR, Burke WA. Treatment of localized discoid lupus erythematosus with tararotene. *J Am Acad Dermatol* 1999 Dec;41(6):1049-50.

- 49- Dalziel K, Going G, Cartwright PH, Marks R, Beveridge GW, Rowell NR. Treatment of chronic discoid lupus erythematosus with an oral gold compound (auranofin). *Br J Dermatol* 1986 Aug;115(2):211-6.
- 50- Martinez J, de Misa RF, Torreio A, Ledo A. Low-dose intralesional interferon alfa for discoid lupus erythematosus. *J Am Acad Dermatol* 1992 Mar;26(3 Pt 2):494-6.
- 51- Bonta MD, Tannous ZS, Demierre MF, Gonzalez E, Harris NL, Duncan LM. Rapidly progressing mycosis fungoides presenting as follicular mucinosis. *J Am Acad Dermatol* 2000 Oct;43(4):635-40.
- 52- Hempstead RW, Ackerman AB. Follicular mucinosis. A reaction pattern in follicular epithelium. *Am J Dermatopathol* 1985 Jun;7(3):245-57.
- 53- Nickoloff BJ, Wood C. Benign idiopathic versus mycosis fungoides-associated follicular mucinosis. *Pediatr Dermatol* 1985 Mar;2(3):201-6.
- 54- Sperling LC, Skelton HG 3rd, Smith KJ, Sau P, Friedman K. Follicular degeneration syndrome in men. *Arch Dermatol* 1994 Jun;130(6):763-9.
- 55- Sperling LC, Sau P. The follicular degeneration syndrome in black patients. 'Hot comb alopecia' revisited and revised. *Arch Dermatol* 1992 Jan;128(1):68-74.
- 56- Gathers RC, Lim HW. Central centrifugal cicatricial alopecia: past, present, and future. *J Am Acad Dermatol* 2009 Apr;60(4):660-8.
- 57- Nnoruka EN. Hair Loss: is there a relationship with hair care practices in Nigeria? *Int J Dermatol* 2005 Oct;44(Suppl 1):13-7.
- 58- Gathers RC, Lim HW. Central centrifugal cicatricial alopecia: past, present , and future. *J Am Acad Dermatol* 2009 Apr;60(4):660-8.
- 59- Vañó-Galván S, Molina-Ruiz AM, Fernández-Crehuet P, Rodrigues-Barata AR, Arias-Santiago S, Serrano-Falcón C, Martorell-Calatayud A, Barco D, Pérez B, Serrano S, Requena L, Grimalt R, Paoli J, Jaén P, Camacho FM. Folliculitis decalvans: a multicentre review of 82 patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015 Feb 12 Cited in Pubmed; PMID 25682915.

- 60- Scheinfeld NS. A case of dissecting cellulitis and a review of the literature. *Dermatol Online J.* 2003 Feb;9(1):8.
- 61- Greenblatt DT, Sheth N, Teixeira F. Dissecting cellulitis of the scalp responding to oral quinolones. *Clin Exp Dermatol* 2008 Jan;33(1):99-100.
- 62- Curry SS, Gaither DH, King LE Jr. Squamous cell carcinoma arising in dissecting perifolliculitis of the scalp. A case report and review of secondary squamous cell carcinomas. *J Am Acad Dermatol* 1981 Jun;4(6):673-8.
- 63- Mihić LL, Tomas D, Situm M, Krolo I, Sebetić K, Sjerobabski-Masnec I, Barišić F. Perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens in a caucasian: diagnostic and therapeutic challenge. *Acta Dermatovenerol Croat* 2011;19(2):98-102.
- 64- Kobayashi H, Aiba S, Tagami H. Successful treatment of dissecting cellulitis and acne conglobata with oral zinc. *Br J Dermatol* 1999 Dec;141(6):1137-8.
- 65- Onderdijk AJ, Boer J. Successful treatment of dissecting cellulitis with ciprofloxacin. *Clin Exp Dermatol* 2010 Jun;35(4):440.
- 66- Jacobs F, Metzler G, Kubiak J, Röcken M, Schaller M. New approach in combined therapy of perifolliculitis capitis abscedens et suffodiens. *Acta Derm Venereol* 2011 Oct;91(6):726-7.
- 67- Boyd AS, Binhlam JQ. Use of an 800-nm pulsed-diode laser in the treatment of recalcitrant dissecting cellulitis of the scalp. *Arch Dermatol* 2002 Oct;138(10):1291-3.
- 68- Chinnaiyan P, Tena LB, Brenner MJ, Welsh JS. Modern external beam radiation therapy for refractory dissecting cellulitis of the scalp. *Br J Dermatol* 2005 Apr; 152(4):777-9.
- 69- Burkhart CG, Burkhart CN. Acne keloidalis in lichen simplex chronicus with fibrotic keloidal scarring. *J Am Acad Dermatol* 1998 Oct; 39(4 Pt 1):661.
- 70- Dinehart SM, Tanner L, Mallory SB, Herzberg AJ. Acne keloidais in women. *Cutis* 1989 Sep;44(3):250-2.
- 71- Khumalo NP, Gumedze F, Lehloenya R. Folliculitis keloidalis nuchae is associated with the risk for bleeding from haircuts. *Int J Dermatol* 2011 Oct;50(10):1212-6.

- 72- Alexis A, Heath CR, Halder RM. Folliculitis keloidalis nuchae and pseudofolliculitis barbae: are prevention and effective treatment within reach? *Dermatol Clin* 2014 Apr;32(2):183-91.
- 73- Price VH. The medical treatment of cicatricial alopecia. *Semin Cutan Med Surg* 2006 Mar;25(1):56-9.
- 74- Mirmirani P, Willey A, Headington JT, Stenn K, McCalmont TH, Price VH. Primary cicatricial alopecia: histopathologic findings do not distinguish clinical variants. *J Am Acad Dermatol* 2005 Apr;52(4):637-43.
- 75- Kligman AM. Pathologic dynamics of human hair loss. I. Telogen effluvium. *Arch Dermatol* 1961 Feb; 83:175-98.
- 76- Headington JT. Telogen effluvium New concepts and review. *Arch Dermatol* 1993 Mar;129(3):356-63.
- 77- Whiting DA. Chronic telogen effluvium: increased scalp hair shedding in middle-aged women. *J Am Acad Dermatol* 1996 Dec;35(6):899-906.
- 78- Sinclair R. Chronic telogen effluvium: a study of 5 patients over 7 years. *J Am Acad Dermatol* 2005 Feb; 52(2 Suppl 1):12-6.
- 79- Durusoy C, Ozenli Y, Adiguzel A, Budakoglu IY, Tugal O, Arikan S, Uslu A, Gulec AT. The role of psychological factors and serum zinc, folate and vitamin B12 levels in the aetiology of trichodynia: a case-control study. *Clin Exp Dermatol* 2009 Oct;34(7):789-92.
- 80- Whiting DA. Chronic telogen effluvium. *Dermatol Clin* 1996 Oct;14(4):723-31.
- 81- Smith KJ, Skelton HG, DeRusso D, Sperling L, Yeager J, Wagner KF, Angritt P. Clinical and histopathologic features of hair loss in patients with HIV-1 infection. *J Am Acad Dermatol* 1996 Jan;34(1):63-8.
- 82- Horenstein VD, Williams LE, Brady AR, Abee CR, Horenstein MG. Age-related diffuse chronic telogen effluvium- type alopecia in female squirrel monkeys (*Saimiri boliviensis boliviensis*). *Comp Med* 2005 Apr;55(2):169-74.
- 83- Gilmore S, Sinclair R. Chronic telogen effluvium is due to a reduction in the variance of anagen duration. *Australas J Dermatol* 2010 Aug;51(3):163-7.

- 84- Rebora A, Guarrera M, Baldari M, Vecchio F. Distinguishing androgenetic alopecia from chronic telogen effluvium when associated in the same patient. *Arch Dermatol* 2005 Oct;141(10):1243-5.
- 85- Constatin C, de Viragh PA. Quantification of miniaturized hairs in the trichogram : a valuable adjunct to the diagnosis of androgenetic alopecia. *Free communications. Dermatology* 1999;199:96.
- 86- Caserio RJ. Diagnostic techniques for hair disorders Part III: clinical hair manipulations and clinical findings. *Cutis* 1987 Nov;40:442-8
- 87- Guarrera M, Semino MT, Rebora A. Quantitating hair loss in women: a critical approach. *Dermatology* 1997;194(1):12-6.
- 88- Rebora A. Pathogenesis of Androgenetic Alopecia. *J Am Acad Dermatol* 2004 May;50(5):777-9.
- 89- Sinclair R. Chronic telogen effluvium or early androgenetic alopecia? *Int J Dermatol* 2004 Nov;43(11):842-3.
- 90- Rand S. Chronic telogen effluvium: potential complication for clinical trials in female androgenetic alopecia? *J Am Acad Dermatol* 1997 Dec;37(6):1021.
- 91- Messenger AG. Hair through the female life cycle. *Br J Dermatol* 2011 Dec;165(Suppl 3):2-6.
- 92- Pereira JM. Alopecia Androgénica (Calvície) na mulher – O que é. Como pesquisar. Como tratar. Rio de Janeiro: Di Livros Ltda; 2007.
- 93- Hamilton JB. Effect of castration in adolescent and young adult males upon further changes in the proportions of bare and hairy scalp. *J Clin Endocrinol Metab* 1960 Oct;20:1309-18.
- 94- Imperato-McGinley J, Guerrero L, Gautier T, Peterson RE. Steroid 5alpha-reductase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *Science* 1974 Dec;186(4170):1213-5.

- 95- Rushton DH, Ramsay ID, James KC, Norris MJ, Gilkes JJ. Biochemical and trichological characterization of diffuse alopecia in women. *Br J Dermatol* 1990 Aug;123(2):187-97.
- 96- Shum KW, Cullen DR, Messenger AG. Hair loss in women with hyperandrogenism: four cases responding to finasteride. *J Am Acad Dermatol* 2002 Nov;47(5):733-9.
- 97- Vexiau P, Chaspoux C, Boudou P, Fiet J, Abramovici Y, Rueda MJ, Hardy N, Reygagne P. Role of androgens in female-pattern androgenetic alopecia, either alone or associated with other symptoms of hyperandrogenism. *Arch Dermatol Res* 2000 Dec; 292(12):598-604.
- 98- Futterweit W, Dunaif A, Yeh HC, Kingsley P. The prevalence of hyperandrogenism in 109 consecutive female patients with diffuse alopecia. *J Am Acad Dermatol* 1988 Nov;19(5 Pt 1):831-6.
- 99- Sawaya ME, Price VH. Different levels of 5alpha-reductase type I and II, aromatase and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia. *J Invest Dermatol* 1997 Sep;109(3):296-300.
- 100- Ellis JA, Stebbing M, Harrap SB. Polymorphism of the androgen receptor gene is associated with male pattern baldness. *J Invest Dermatol* 2001 Mar;116(3):452-5.
- 101- Kuster W, Happle R. The inheritance of common baldness: two B or not two B? *J Am Acad Dermatol* 1984 Nov;11(5 Pt 1):921-6.
- 102- Rathnayake D, Sinclair R. Male androgenetic alopecia. *Expert Opin Pharmacother* 2010 Jun;11(8):1295-304.
- 103- Olsen EA. Female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol* 2001 Sep;45(3 Suppl):70-80.
- 104- Birch MP, Lalla SC, Messenger AG. Female pattern hair loss. *Clin Exp Dermatol* 2002 Jul; 27(5):383-88.
- 105- Ludwig E. Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *Br J Dermatol* 1977 Sep;97(3):247-54.

- 106- Venning VA, Dawber RPR. Patterned androgenetic alopecia in women. *J Am Acad Dermatol* 1988 May;18(5):1073-7.
- 107- Olsen EA. The midline part: an important physical clue to the clinical diagnosis of androgenetic alopecia in women. *J Am Acad Dermatol* 1999 Jan;40(1):106-9.
- 108- Rushton H, James KC, Mortimer CH. The unit area trichogram in the assessment of androgen-dependent alopecia. *Br J Dermatol* 1983 Oct;109(4):429-37.
- 109- Rebora A, Guarrera M. Kenogen. A new phase of hair cycle? *Dermatology* 2002; 205(2):108-10.
- 110- Messenger AG, Sinclair R. Follicular miniaturization in female pattern hair loss: clinicopathological correlations. *Br J Dermatol* 2006 Nov;155(5):926-30.
- 111- Whiting DA, Waldstreicher J, Sanchez M, Kaufman KD. Measuring reversal of hair miniaturization in androgenetic alopecia by follicular counts in horizontal sections of serial scalp biopsies: result of finasteride 1mg treatment of men and postmenopausal women. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999 Dec;4(3):282-4.
- 112- Norwood OT. Incidence of female androgenetic alopecia (female pattern alopecia). *Dermatol Surg* 2001 Jan;27(1):53-4.
- 113- Birch MP, Messenger JF, Messenger AG. Hair density, hair diameter and the prevalence of female pattern hair loss. *Br J Dermatol* 2001 Feb;144(2):297-304.
- 114- Sinclair R, Chapman A, Magee J. The lack of significant changes in scalp hair follicle density with advancing age. *Br J Dermatol* 2005 Apr;152(4):646-9.
- 115- Sinclair R, Wewerinke M, Jolley D. Treatment of female pattern hair loss with oral antiandrogens. *Br J Dermatol* 2005 Mar;152(2):466-73.
- 116- Jacob JP, Szupunar CA, Warner ML. Use of topical minoxidil therapy for androgenetic alopecia in women. *Int J Dermatol* 1993 Oct;32(10):758-62.
- 117- Vexiau P, Chaspoux C, Boudou P, Fiet J, Jouanique C, Hardy N, Reygagne P. Effects of minoxidil 2% vs. cyproterone acetate treatment on female androgenetic alopecia: a controlled 12-month randomized trial. *Br J Dermatol* 2002 Jun;146(6):992-9.

- 118- Price VH, Roberts JL, Hordinsky M, Olsen EA, Savin R, Bergfeld W, Fiedler V, Lucky A, Whiting DA, Pappas F, Culbertson J, Kotey P, Meehan A, Waldstreicher J. Lack of efficacy of finasteride in postmenopausal women with androgenetic alopecia. *J Am Acad Dermatol* 2000 Nov;43(5 Pt 1):768-76.
- 119- Thai KE, Sinclair RD. Finasteride for female androgenetic alopecia. *Br J Dermatol* 2002 Oct;147(4):812-3.
- 120- Messenger AG. The control of hair growth: an overview. *J Invest Dermatol* 1993 Jul;101(1 Suppl):4S-9S.
- 121- Sharma VK, Dawn G, Kumar B. Profile of alopecia areata in Northern India. *Int J Dermatol* 1996 Jan; 35(1):22-7.
- 122- Tan E, Tay YK, Goh CL, Chin Giam Y. The pattern and profile of alopecia areata in Singapore – a study of 219 Asians. *Int J Dermatol* 2002 Nov; 41(11): 748-53.
- 123- Safavi K. Prevalence of alopecia areata in the First National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Dermatol* 1992 May; 128(5):702.
- 124- Safavi KH, Muller AS, Suman VJ, Moshell AN, Melton LJ 3rd. Incidence of alopecia areata in Omsted County, Minnesota, 1975 through 1989. *Mayo Clin Proc* 1995 Jul; 70(7):628-33.
- 125- Olsen E, Hordinsky M, McDonald-Hull S, Price V, Roberts J, Shapiro J, Stenn K. Alopecia areata investigational assessment guidelines. National Alopecia Areata Foundation. *J Am Acad Dermatol*. 1999 Feb;40(2 Pt 1):242-6.
- 126- Olsen E, Hordinsky M, Price VH, Roberts JL, Shapiro J, Canfield D, Duvic M, King LE Jr, McMichael AJ, Randall VA, Turner ML, Sperling L, Whiting DA, Norris D. Alopecia areata investigational assessment guidelines-Part II. National Alopecia Areata Foundation. *J Am Acad Dermatol* 2004 Sep; 51(3): 440-7.
- 127- Price HV. Alopecia areata: clinical aspects. *J Invest Dermatol* 1991 May;96(51):68S.
- 128- Muralidhar S, Sharma VK, Kaur S. Ophiasis inversus: a rare pattern of alopecia areata. *Pediatr Dermatol* 1998 Jul-Aug;15(4):326-7.

- 129- Sato-Kawamura M, Aiba S, Tagami H. Acute diffuse and total alopecia of the female scalp. A new subtype of diffuse alopecia areata that has a favorable prognosis. *Dermatology* 2002; 205(4):367-73.
- 130- Peereboom-Wynia JDR, Koerten HK, Van Joost TH, Stolz E. Scanning electron microscopy comparing exclamation mark hairs in alopecia areata with normal hair fibers, mechanically broken by traction. *Clin Exp Dermatol* 1989 Jan;14(1):47-50.
- 131- Cline DJ. Changes in hair color. *Dermatol Clin* 1988 Apr;6(2):295-303.
- 132- Tosti A, Fanti PA, Morelli R, Bardazzi F. Trachyonychia associated with alopecia areata: a clinical and pathological study. *J Am Acad Dermatol* 1991 Aug;25(2 Pt 1):266-70.
- 133- Sharma VK, Dawn G, Kumar B. Profile of alopecia areata in Northern India. *Int J Dermatol* 1996 Jan;35(1):22-7.
- 134- Gandhi V, Baruah MC, Bhattacharaya SN. Nail changes in alopecia areata: incidence and pattern. *Indian J Dermatol Venerol Leprol* 2003 Mar-Apr;69(2):114-5.
- 135- Kasumagic-Halilovic E, Prohic A. Nail changes in alopecia areata: frequency and clinical presentation. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009 Feb;23(2):240-1.
- 136- Shellow WV, Edwards JE, Koo JY. Profile of alopecia areata: a questionnaire analysis of patient and family. *Int J Dermatol* 1992 Mar;31(3):186-9.
- 137- Puavilai S, Puavilai G, Charuwichitratana S, Sakuntabhai A, Sriprachya-Anunt S. Prevalence of thyroid diseases in patients with alopecia areata. *Int J Dermatol* 1994 Sep;33(9):632-3.
- 138- Milgraum SS, Mitchell AJ, Bacon GE, Rasmussen JE. Alopecia areata, endocrine function, and autoantibodies in patients 16 years of age or younger. *J Am Acad Dermatol* 1987 Jul;17(1):57-61.
- 139- Goh C, Finkel M, Christos PJ, Sinha AA. Profile of 513 patients with alopecia areata: associations of disease subtypes with atopy, autoimmune disease and positive family history. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006 Oct;20(9):1055-60.
- 140- Pandhi D, Singal A, Gupta R, Das G. Ocular alterations in patients of alopecia areata. *J Dermatol* 2009 May;36(5):262-8.

- 141- Walker SA, Rothman S. A statistical study and consideration of endocrine influences. *J Invest Dermatol* 1950 Jun;14(6):403-13.
- 142- Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis. *J Am Acad Dermatol* 2010 Feb;62(2):177-90.
- 143- Zlotogorski A, Panteleyev AA, Aita VM, Christiano AM. Clinical and molecular diagnostic criteria of congenital atrichia with papular lesions. *J Invest Dermatol* 2002 May; 118(5):887-90.
- 144- Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E, Olszewska M, Czuwara J, Rudnicka L. Alopecia areata incognita: true or false? *J Am Acad Dermatol* 2009 Jan;60(1):162-3.
- 145- Baadsgaard O, Lindskov R, Clemmensen OJ. In situ lymphocyte subsets in alopecia areata before and during treatment with a contact allergen. *Clin Exp Dermatol* 1987 Jul;12(4):260-4.
- 146- Bodemer C, Peuchmaur M, Fraitag S, Chatenoud L, Brousse N, De Prost Y. Role of cytotoxic T cells in chronic alopecia areata. *J Invest Dermatol* 2000 Jan;114(1):112-6.
- 147- Welsh EA, Clark HH, Epstein SZ, Reveille JD, Duvic M. Human leukocyte antigen-DQB1*03 alleles are associated with alopecia areata. *J Invest Dermatol* 1994 Dec; 103(6):758-63.
- 148- Frentz G, Thomsen K, Jakobsen BK, Svejgaard A. HLA-DR4 in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1986 Jan;14(1):129-30.
- 149- Duvic M, Hordinsky MK, Fiedler VC, O'Brien WR, Young R, Reveille JD. HLA-D locus associations in alopecia areata. DRw52a may confer disease resistance. *Arch Dermatol* 1991 Jan;127(1):64-8.
- 150- de Andrade M, Jackow CM, Dahm N, Hordinsky M, Reveille JD, Duvic M. Alopecia areata in families: association with the HLA locus. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999 Dec;4(3):220-3.

- 151- Colombe BW, Lou CD, Price VH. The genetic basis of alopecia areata: HLA associations with patchy alopecia areata versus alopecia totalis and alopecia universalis. *J Investig Dermatol Symp Proc* 1999 Dec;4(3):216-9.
- 152- Martinez-Mir A, Zlotogorski A, Gordon D, Petukhova L, Mo J, Gilliam TC, Londono D, Haynes C, Ott J, Hordinsky M, Nanova K, Norris D, Price V, Duvic M, Christiano AM. Genomewide scan for linkage reveals evidence of several susceptibility loci for alopecia areata. *Am J Hum Genet* 2007 Feb;80(2):316-28.
- 153- Gilhar A, Landau M, Assy B, Shalaginov R, Serafimovich S, Kalish RS. Mediation of alopecia areata by cooperation between CD4+ and CD8+ T lymphocytes: transfer to human scalp explants on Prkdc (scid) mice. *Arch Dermatol* 2002 Jul;138(7):916-22.
- 154- McElwee KJ, Silva K, Boggess D, Bechtold L, King LE Jr, Sundberg JP. Alopecia areata in C3H/HeJ mice involves leukocyte-mediated root sheath disruption in advance of overt hair loss. *Vet Pathol* 2003 Nov;40(6):643-50.
- 155- Nutbrown M, Macdonald Hull SP, Baker TG, Cunliffe WJ, Randall VA. Ultrastructural abnormalities in the dermal papillae of both lesional and clinically normal follicles from alopecia areata scalps. *Br J Dermatol* 1996 Aug;135(2):204-10.
- 156- Alsaleh QA, Nanda A, al-Hasawi F, el-Kashlan M. Concurrent appearance of alopecia areata in siblings. *Pediatr Dermatol* 1995 Sep; 12(3):285-6.
- 157- Scerri L, Pace JL. Identical twins with identical alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1992 Nov;27(5 Pt 1):766-7.
- 158- McElwee K, Freyschmidt-Paul P, Ziegler A, Happlae R, Hoffmann R. Genetic susceptibility and severity of alopecia areata in human and animal models. *Eur J Dermatol* 2001 Jan-Feb;11(1):11-6.
- 159- Rodriguez TA, Duvic M. Onset of alopecia areata after Epstein-Barr virus infections mononucleosis. *J Am Acad Dermatol* 2008 Jul;59(1):137-9.
- 160- Ikeda T. Produced alopecia areata based on the focal infection theory and mental motive theory. *Dermatologica* 1967;134(1):1-11.
- 161- Brauner GJ, Goodheart HP. Dermatologic care behind bars. *J Am Acad Dermatol* 1988 May;18(5 Pt 1): 1066-73.

- 162- Gupta MA, Gupta AK, Watteel GN. Stress and alopecia areata: a psychodermatologic study. *Acta Derm Venereol* 1997 Jul;77(4):296-8.
- 163- Guleç AT, Tanriverdi N, Duru C, Saray Y, Akçali C. The role of psychological factors in alopecia areata and the impact of the disease on the quality of life. *Int J Dermatol* 2004 May;43(5):352-6.
- 164- Ruiz-Doblado S, Carrizosa A, García-Hernández MJ. Alopecia areata: psychiatric comorbidity and adjustment to illness. *Int J Dermatol* 2003 Jun;42(6):434-7.
- 165- Brajac I, Tkalcic M, Dragojevic DM, Gruber F. Roles of stress, stress perception and trait-anxiety in the onset and course of alopecia areata. *J Dermatol* 2003 Dec;30(12):871-8.
- 166- Paus R, Nickoloff BJ, Ito T. A "hairy" privilege. *Trends Immunol* 2005 Jan;26(1):32-40.
- 167- Botchkareva NV, Ahluwalia G, Shander D. Apoptosis in the hair follicle. *J Invest Dermatol* 2006 Feb;126(2):258-64.
- 168- Weedon D, Strutton G. Apoptosis as the mechanism of the involution of hair follicles in catagen transformation. *Acta Derm Venereol* 1981;61(4):335-9.
- 169- Lindner G, Botchkarev VA, Botchkareva NV, Ling G, van der Veen C, Paus R. Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen). *Am J Pathol* 1997 Dec;151(6):1601-17.
- 170- Parakkal PF. Role of macrophages in collagen resorption during hair growth cycle. *J Ultrastruct Res* 1969 Nov;29(3):210-7.
- 171- Tobin DJ, Sundberg JP, King LE Jr, Boggess D, Bystryn JC. Autoantibodies to hair follicles in C3H/HeJ mice with alopecia areata-like hair loss. *J Invest Dermatol* 1997 Sep;109(3):329-33.
- 172- Tobin DJ, Orentreich N, Fenton DA, Bystryn JC. Antibodies to hair follicles in alopecia areata. *J Invest Dermatol* 1994 May;102(5):721-4.
- 173- Abell E, Munro DD. Intralesional treatment of alopecia areata with triamcinolone acetonide by injector. *Br J Dermatol* 1973 Jan;88(1):55-9.

174- Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update Part II. Treatment. *J Am Acad Dermatol* 2010 Feb;62(2):191-202.

175- Sohn KC, Jang S, Choi DK, Lee YS, Yoon TJ, Jeon EK, Kim KH, Seo YJ, Lee JH, Park JK, Kim CD. Effect of thioredoxin reductase 1 on glucocorticoid receptor activity in human outer root sheath cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007 May;356(3):810-5.

176- Mancuso G, Balducci A, Casadio C, Farina P, Staffa M, Valenti L, Milani M. Efficacy of betamethasone valerate foam formulation in comparison with betamethasone dipropionate lotion in the treatment of mild-to-moderate alopecia areata: a multicenter, prospective, randomized, controlled, investigator-blinded trial. *Int J Dermatol* 2003 Jul;42(7):572-5.

177- Tosti A, Piraccini BM, Pazzaglia M, Vincenzi C. Clobetasol propionate 0,05% under occlusion in the treatment of alopecia totalis/universalis. *J Am Acad Dermatol* 2003 Jul;49(1):96-8.

178- Pascher F, Kurtin S, Andrade R. Assay of 0,2 percent fluocinolone acetonide cream for alopecia areata and totalis. Efficacy and side effects including histologic study of the ensuing localized acneform response. *Dermatologica* 1970;141(3):193-202.

179- Wester RC, Maibach HI, Guy RH, Novak E. Minoxidil stimulates cutaneous blood flow in human balding scalps: pharmacodynamics measured by laser Doppler velocimetry and photopulse plethysmography. *J Invest Dermatol* 1984 May;82(5):515-7.

180- Lachgar S, Charveron M, Gall Y, Bonafe JL. Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla. *Br J Dermatol* 1998 Mar;138(3):407-11.

181- Uno H, Cappas A, Brigham P. Action of topical minoxidil in the bald stump-tailed macaque. *J Am Acad Dermatol* 1987 Mar;16(3 Pt 2):657-68.

182- Buhl AE, Waldon DJ, Conrad SJ, Mulholland MJ, Shull KL, Kubicek MF, Johnson GA, Brunden MN, Stefanski KJ, Stehle RG, Gadwood RC, Kamdar BV, Thomasco LM, Schostarez HJ, Schwartz TM, Diani AR. Potassium channel conductance: a mechanism affecting hair growth both in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol* 1992 Mar;98(3):315-9.

- 183- Fiedler-Weiss VC. Topical minoxidil solution (1% and 5%) in the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1987 Mar;16(3 Pt 2):745-8.
- 184- Olsen EA, Dunlap FE, Funicella T, Koperski JA, Swinehart JM, Tschien EH, Trancik RJ. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men. *J Am Acad Dermatol* 2002 Sep;47(3):377-85.
- 185- Lucky AW, Piacquadio DJ, Ditre CM, Dunlap F, Kantor I, Pandya AG, Savin RC, Tharp MD. A randomized, placebo-controlled trial of 5% and 2% topical minoxidil solutions in the treatment of female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol* 2004 Apr;50(4):541-53.
- 186- Fiedler-Weiss VC, Buys CM. Evaluation of anthralin in the treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol* 1987 Nov;123(11):1491-3.
- 187- Schmoeckel C, Weissmann I, Plewig G, Braun-Falco O. Treatment of alopecia areata by anthralin-induced dermatitis. *Arch Dermatol* 1979 Oct;115(10):1254-5.
- 188- Fiedler VC, Wendrow A, Szpunar GJ, Metzler C, DeVillez RL. Treatment-resistant alopecia areata. Response to combination therapy with minoxidil plus anthralin. *Arch Dermatol* 1990 Jun;126(6):756-9.
- 189- Wiseman MC, Shapiro J, MacDonald N, Lui H. Predictive model for immunotherapy of alopecia areata with diphencyprone. *Arch Dermatol* 2001 Aug;137(8):1063-8.
- 190- Henderson CA, Ilichshyn A. Vitiligo complicating diphencyprone sensitization therapy for alopecia universalis. *Br J Dermatol* 1995 Sep;133(3):496-7.
- 191- Alam M, Gross EA, Savin RC. Severe urticarial reaction to diphenylcyclopropenone therapy for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 1999 Jan;40(1):110-2.
- 192- Kar BR, Handa S, Dogra S, Kumar B. Placebo-controlled oral pulse prednisolone therapy in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2005 Feb;52(2):287-90.
- 193- Winter RJ, Kern F, Blizzard RM. Prednisone therapy for alopecia areata. A follow-up report. *Arch Dermatol* 1976 Nov;112(11):1549-52.

- 194- Olsen EA, Carson SC, Turney EA. Systemic steroids with or without 2% topical minoxidil in the treatment of alopecia areata. *Arch Dermatol* 1992 Nov;128(11):1467-73.
- 195- Burton JL, Shuster S. Large doses of glucocorticoid in the treatment of alopecia areata. *Acta Derm Venereol* 1975;55(6):493-6.
- 196- Friedli A, Labarthe MP, Engelhardt E, Feldmann R, Salomon D, Saurat JH. Pulse methylprednisolone therapy for severe alopecia areata: an open prospective study of 45 patients. *J Am Acad Dermatol* 1998 Oct;39(4 Pt 1):597-602.
- 197- Sharma VK, Gupta S. Twice weekly 5 mg dexamethasone oral pulse in the treatment of extensive alopecia areata. *J Dermatol* 1999 Sep;26(9):562-5.
- 198- Toth GG, van de Meer JB, Jonkman MF. Dexametasona pulse therapy in pemphigus. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2002 Nov;16(6):607-11.
- 199- Healy E, Rogers S. PUVA treatment for alopecia areata-does it work? A retrospective review of 102 cases. *Br J Dermatol* 1993 Jul;129(1):42-4.
- 200- Taylor CR, Hawk JL. PUVA treatment of alopecia areata partialis, totalis and universalis: audit of 10 years' experience at St John's Institute of Dermatology. *Br J Dermatol* 1995 Dec;133(6):914-8.
- 201- Zakaria W, Passeron T, Ostovari N, Lacour JP, Ortonne JP. 308-nm excimer laser therapy in alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2004 Nov;51(5):837-8.
- 202- Al-Mutairi N. 308-nm excimer laser for the treatment of alopecia areata. *Dermatol Surg* 2007 Dec;33(12):1483-7.
- 203- Shapiro J, Lui H, Tron V, Ho V. Systemic cyclosporine and low-dose prednisone in the treatment of chronic severe alopecia areata: a clinical and immunopathologic evaluation. *J Am Acad Dermatol* 1997 Jan;36(1):114-7.
- 204- Dyll-Smith D. Alopecia areata in a renal transplant recipient on cyclosporine. *Australas J Dermatol* 1996 Nov;37(4):226-7.
- 205- Davies MG, Bowers PW. Alopecia areata arising in patients receiving cyclosporine immunosuppression. *Br J Dermatol* 1995 May;132(5):835-6.

- 206- Phillips MA, Graves JE, Nunley JR. Alopecia areata presenting in 2 kidney-pancreas transplant recipients taking cyclosporine. *J Am Acad Dermatol* 2005 Nov;53(5 Suppl 1):S252-5.
- 207- Joly P. The use of methotrexate alone or in combination with low doses of oral corticosteroids in the treatment of alopecia totalis or universalis. *J Am Acad Dermatol* 2006 Oct;55(4):632-6.
- 208- Posten W, Swan J. Recurrence of alopecia in a patient receiving etanercept injections. *Arch Dermatol* 2005 Jun;141(6):759-60.
- 209- Fabre C, Dereure O. Worsening alopecia areata and de novo occurrence of multiple halo nevi in a patient receiving infliximab. *Dermatology* 2008;216(2):185-6.
- 210- Etefagh L, Nedorost S, Mirmirani P. Alopecia areata in a patient using infliximab: new insights into the role of tumor necrosis factor on human hair follicles. *Arch Dermatol* 2004 Aug;140(8):1012.
- 211- Strober BE, Siu K, Alexis AF, Kim G, Washenik K, Sinha A, Shupack JL. Etanercept does not effectively treat moderate to severe alopecia areata: an open-label study. *J Am Acad Dermatol* 2005 Jun;52(6):1082-4.
- 212- Pelivani N, Hassan AS, Braathen LR, Hunger RE, Yawalkar N. Alopecia areata universalis elicited during treatment with adalimumab. *Dermatology* 2008;216(4):320-3.
- 213- Garcia Bartels N, Lee HH, Worm M, Burmester GR, Sterry W, Blume-Peytavi U. Development of alopecia areata universalis in a patient receiving adalimumab. *Arch Dermatol* 2006 Dec;142(12):1654-5.
- 214- Price VH, Hordinsky MK, Olsen EA, Roberts JL, Siegfried EC, Rafal ES, Korman NJ, Altrabulsi B, Leung HM, Garovoy MR, Caro I, Whiting DA. Subcutaneous afalizumab is not effective in the treatment of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2008 Mar;58(3):395-402.
- 215- Chaves Y, Duarte G, Ben-Said B, Tebib J, Berard F, Nicolas JF. Alopecia areata universalis during treatment of rheumatoid arthritis with anti-TNG-alpha antibody (adalimumab). *Dermatology* 2008;217(4):380.

- 216- Aghaei S. An uncontrolled, open label study of sulfasalazine in severe alopecia areata. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2008 Nov-Dec;74(6):611-3.
- 217- Sasaki S, Hozumi Y, Kondo S. Influence of prostaglandin F₂alpha and its analogues on hair regrowth and follicular melanogenesis in a murine model. *Exp Dermatol* 2005 May;14(5):323-8.
- 218- Ross EK, Bolduc C, Lui H, Shapiro J. Lack of efficacy of topical latanoprost in the treatment of eyebrow alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2005 Dec;53(6):1095-6.
- 219- Park SW, Kim JW, Wang HY. Topical tacrolimus (FK506): treatment failure in four cases of alopecia areata universalis. *Acta Derm Venereol* 2002;82(5):387-8.
- 220- Feldmann KA, Kunte C, Wollenberg A, Wolfe H. Is topical tacrolimus effective in alopecia areata universalis? *Br J Dermatol* 2002 Nov;147(5):1031-2.
- 221- Thiers BH. Topical tacrolimus: treatment failure in a patient with alopecia areata. *Arch Dermatol* 2000 Jan;136(1):124.
- 222- Rigopoulos D, Gregoriou S, Korfitis C, Gintzou C, Vergou T, Katrinaki A, Kalogeromitros D. Lack of response of alopecia areata to pimecrolimus cream. *Clin Exp Dermatol* 2007 Jul;32(4):456-7.
- 223- Talpur R, Vu J, Bassett R, Stevens V, Duvic M. Phase I/II randomized bilateral half-head comparison of topical bexarotene 1% gel for alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2009 Oct;61(4):592.e1-9.
- 224- Hordinsky M, Ericson M. Autoimmunity: alopecia areata. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2004 Jan;9(1):73-8.
- 225- Ehsani AH, Toosi S, Seirafi H, Akhyani M, Hosseini M, Azadi R, Noormohamadpour P, Ghanadan A. Capsaicin vs. clobetasol for the treatment of localized alopecia areata. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009 Dec;23(12):1451-3.
- 226- Yoo KH, Kim MN, Kim BJ, Kim CW. Treatment of alopecia areata with fractional photothermolysis laser. *Int J Dermatol* 2010 Jul;49(7):845-7.
- 227- Cipriani R, Perini GI, Rampinelli S. Paroxetine in alopecia areata. *Int J Dermatol* 2001 Sep;40(9):600-1.

- 228- Willemsen R, Vanderlinden J, Deconinck A, Roseeuw D. Hypnotherapeutic management of alopecia areata. *J Am Acad Dermatol* 2006 Aug;55(2):233-7.
- 229- Madani S, Shapiro J. Alopecia Areata Update. *J Am Acad Dermatol* 2000 Apr; 42(4):549-66.
- 230- Whiting DA. Histopathologic features of alopecia areata. *Arch Dermatol* 2003 Dec;139(12):1555-9.
- 231- Ghersetich I, Campanile G, Lotti T. Alopecia areata: immunohistochemistry and ultrastructure of infiltrate and identification of adhesion molecule receptors. *Int J Dermatol* 1996 Jan;35(1):28-33.
- 232- Camacho-Martínez FM. Hair loss in women. *Semin Cutan Med Surg* 2009 Mar;28(1):19-32.
- 233- Olszewka M, Warszawik O, Rakowka A, Slowinska M, Rudnicka L. Methods of hair loss evaluation in patients with endocrine disorders. *Endokrynol Pol* 2010 Jul-Aug;61(4):406-11.
- 234- Jabbour SA. Skin manifestations of hormone-secreting tumors. *Dermatol Ther* 2010 Nov-Dec;23(6):643-50.
- 235- Jabbour AS. Cutaneous manifestations of endocrine disorders: a guide for dermatologists. *Am J Clin Dermatol* 2003;4(5):315-31.
- 236- Freinkel RK, Freinkel N. Hair growth and alopecia in hypothyroidism. *Arch Dermatol* 1972 Sep;106(3):349-52.
- 237- Camacho FA. SAHA syndrome: female androgenetic alopecia and hirsutism. *Exp Dermatol* 1999 Aug;8(4):304-5.
- 238- Mendola M, Dolci A, Piscopello L, Tomei G, Bauer D, Corbetta S, Ambrosi B. Rare case of cushing's disease due to double ACTH-producing adenoma, one located in the pituitary gland and one into the stalk. *Hormones (Athens)* 2014 Oct-Dec;13(4):574-8.
- 239- Gonzalez ME, Cantatore-Francis J, Orlow SJ. Androgenetic alopecia in the paediatric population: a retrospective review of 57 patients. *Br J Dermatol* 2010 Aug;163(2):378-85.

- 240- Carmina E, Rosato F, Janni A, Rizzo M, Longo RA. Relative prevalence of different androgen excess disorders in 950 women referred because of clinical hyperandrogenism. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Jan;91(1):2-6.
- 241- Archer VE, Luell E. Effect of selenium sulfide suspension on hair roots. *J Invest Dermatol* 1960 Aug;35:65-7.
- 242- Grover RW. Diffuse hair loss associated with selenium (selsun) sulfide shampoo. *J Am Med Assoc* 1956 Apr;160(16):1397-8.
- 243- Litt JZ. Erupções medicamentosas: manual de referência incluindo interações medicamentosas. 11. ed. Barueri: Manole Ltda; 2006.
- 244- Khumalo NP, Callender VD. African Hair. In: Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trueb RM. *Hair Growth and Disorders*. Berlin: Springer-Verlag; 2008. p. 492-3.
- 245- Khumalo NP, Stone J, Gumedze F, McGrath E, Ngwanya MR, Berker D. 'Relaxers' damage hair: evidence from amino acid analysis. *J Am Acad Dermatol* 2010 Mar;62(3):402-8.
- 246- Jeong MS, Lee CM, Jeong WJ, Kim SJ, Lee KY. Significant damage of the skin and hair following hair bleaching. *J Dermatol* 2010 Oct;37(10):882-7.
- 247- Lee Y, Kim YD, Hyun HJ, Pi LQ, Jin X, Lee WS. Hair shaft damage from heat and drying time of hair dryer. *Ann Dermatol* 2011 Nov;23(4):455-62.
- 248- Tosti A, Gray J. Assessment of hair and scalp disorders. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2007 Dec;12(2):23-7.
- 249- Gummer CL. Hair shaft effects from cosmetics and styling. *Exp Dermatol* 1999 Aug;8(4):317.
- 250- Gummer CL. Cosmetics and hair loss. *Clin Exp Dermatol* 2002 Jul;27(5):418-21.
- 251- Trueb RM. Diffuse hair loss. In: Blume-Peytavi U, Tosti A, Whiting DA, Trueb RM. *Hair Growth and Disorders*. Berlin: Springer-Verlag; 2008. p. 261-4.
- 252- Ankad BS, Naidu MV, Beergouder SL, Sujana L. Trichoscopy in trichotillomania: a useful diagnostic tool. *Int J Trichology* 2014 Oct;6(4):160-3.

- 253- Yano K, Brown LF, Detmar M. Control of hair growth and follicle size by VEGF-mediated angiogenesis. *J Clin Invest* 2001 Feb;107(4):409-17.
- 254- Ellis RA, Moretti G. Vascular patterns associated with catagen hair follicles in the human scalp. *Ann NY Acad Sci* 1959 Nov;83:448-57.
- 255- Cormia FE, Ernyey A. Circulatory changes in alopecia. *Arch Dermatol* 1961;84:779-89.
- 256- Stenn KS, Fernandez LA, Tirrell SJ. The angiogenic properties of the rat vibrissa hair follicle associate with the bulb. *J Invest Dermatol* 1988 Mar;90(3):409-11.
- 257- Goldman CK, Tsai JC, Soroceanu L, Gillespie GY. Loss of vascular endothelial growth factor in human alopecia hair follicles. *J Invest Dermatol* 1995 May;104(5 suppl):18S-20S.
- 258- Messenger AG, Slater DN, Bleehen SS. Alopecia areata: alterations in the hair growth cycle and correlation with the follicular pathology. *Br J Dermatol* 1986 Mar;114(3):337-47.
- 259- Kozłowska U, Blume-Peytavi U, Kodelja V, Sommer C, Goerdts S, Majewski S, Jablonska S, Orfanos CE. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in various compartments of the human hair follicle. *Arch Dermatol Res* 1998 Dec;290(12):661-8.
- 260- Pusztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem* 2006 Apr;54(4):385-95.
- 261- Mecklenburg L, Tobin DJ, Muller-Rover S, Handjiski B, Wendt G, Peters EMJ, Pohl S, Moll I, Paus R. Active hair growth (anagen) is associated with angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2000 May;114(5):909-16.
- 262- Harrison S, Bergfeld W. Diffuse hair loss: its triggers and management. *Cleve Clin J Med* 2009 Jun;76(6):361-7.
- 263- Sinclair RD, Dawber RP. Androgenetic alopecia in men and women. *Clin Dermatol* 2001 Mar-Apr;19(2):167-78.
- 264- Rebora A. Telogen effluvium. *Dermatology* 1997;195(3):209-12.

265- Rasheed H, Mahgoub D, Hegazy R, El-Komy M, Abdel Hay R, Hamid MA, Hamdy E. Serum ferritin and vitamin D in female hair loss: do they play a role? *Skin Pharmacol Physiol* 2013;26(2):101-7.

266- Olsen EA, Reed KB, Cacchio PB, Caudill L. Iron deficiency in female pattern hair loss, chronic telogen effluvium, and control groups. *J Am Acad Dermatol* 2010 Dec;63(6):991-9.

ANEXOS

ANEXO I

Instituição
Comitê de Ética em Pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa Eflúvio telógeno crônico: análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-histoquímica. Você foi selecionado pois apresenta queda excessiva de cabelos há mais de 6 meses sem alterações à inspeção, e sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou a instituição. Os objetivos deste estudo são analisar as possíveis causas dessa queda dos cabelos. Sua participação nesta pesquisa consistirá em: responder a um questionário, coletar sangue uma vez para análise laboratorial e se submeter a uma biopsia do couro cabeludo para a investigação. Os desconfortos previsíveis com sua participação estão relacionados apenas à biopsia, sendo uma pequena dor no local da anestesia, sangramento mínimo e uma pequena cicatriz que ficará inaparente, coberta pelos cabelos. Os benefícios relacionados com sua participação são descobrir as prováveis causas dessa queda dos cabelos e com isso ajudar a tratar você e muitas outras pessoas com o mesmo problema. A sua identidade será guardada. As informações obtidas por meio desta pesquisa serão publicadas e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Todos os materiais serão identificados apenas com as iniciais do paciente. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação agora ou a qualquer momento.

Caroline Bittencourt

Av. Andrade Neves, 784 – 4º andar – Cj 4B – CEP: 13013-161 Fone: (19) 3236-2439

Pesquisador principal

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação e concordo, voluntariamente, em participar.

Nome e assinatura do Sujeito da Pesquisa / Local e data

Comitê de Ética em Pesquisa.

Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 - Caixa Postal 6111 - CEP: 13083-887 - Campinas – SP

Fone: (19) 3521-8936 Fax: (19) 3521-7187 e-mail: cep@fcm.unicamp.br

Grupo - controle - AGA

Instituição
Comitê de Ética em Pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa Eflúvio telógeno crônico: análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-histoquímica. Você foi selecionado para ser incluído no grupo dos pacientes-controle – AGA, pois você apresenta alteração dos cabelos compatível com alopecia androgenética (AGA). A sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou a instituição. Os objetivos deste estudo são analisar as possíveis causas dessa queda dos cabelos. Sua participação nesta pesquisa consistirá em: coletar sangue uma vez para análise laboratorial e se submeter a uma biopsia do couro cabeludo para a análise e comparação com os pacientes do estudo.

Os desconfortos previsíveis com sua participação estão relacionados apenas à biopsia, sendo uma pequena dor no local da anestesia, sangramento mínimo e uma pequena cicatriz que ficará inaparente, coberta pelos cabelos. Os benefícios relacionados com sua participação são descobrir as prováveis causas dessa queda dos cabelos e com isso ajudar a tratar muitas pessoas com esse problema. A sua identidade será guardada.

As informações obtidas por meio desta pesquisa serão publicadas e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Todos os materiais serão identificados apenas com as iniciais do paciente. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação agora ou a qualquer momento.

Caroline Bittencourt

Av. Andrade Neves, 784 – 4º andar – Cj 4B – CEP: 13013-161 Fone: (19) 3236-2439

Pesquisador principal

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação e concordo, voluntariamente, em participar.

Nome e assinatura do Sujeito da Pesquisa / Local e data

Comitê de Ética em Pesquisa.

Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 - Caixa Postal 6111 - CEP: 13083-887 - Campinas – SP

Fone: (19) 3521-8936 Fax: (19) 3521-7187 e-mail: cep@fcm.unicamp.br

Grupo - controle

Instituição
Comitê de Ética em Pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa Eflúvio telógeno crônico: análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-histoquímica. Você foi selecionado para ser incluído no grupo dos pacientes-controle pois você não apresenta queda dos cabelos, mas tem uma lesão no couro cabeludo que será removida e com isso empregaremos apenas a borda da lesão para fazer o estudo. A sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou a instituição.

Os objetivos deste estudo são analisar as possíveis causas dessa queda dos cabelos. Sua participação nesta pesquisa consistirá em permitir que a borda da lesão que já será removida para a retirada da lesão em seu couro cabeludo seja analisada como parâmetro de normalidade neste estudo.

Os benefícios relacionados com sua participação são descobrir as prováveis causas dessa queda dos cabelos e com isso ajudar a tratar muitas pessoas com esse problema. A sua identidade será guardada.

As informações obtidas por meio desta pesquisa serão publicadas e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Todos os materiais serão identificados apenas com as iniciais do paciente. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação agora ou a qualquer momento.

Caroline Bittencourt

Av. Andrade Neves, 784 – 4º andar – Cj 4B – CEP: 13013-161 Fone: (19) 3236-2439

Pesquisador principal

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação, e concordo, voluntariamente, em participar.

Nome e assinatura do Sujeito da Pesquisa / Local e data

Comitê de Ética em Pesquisa.

Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126 - Caixa Postal 6111 - CEP: 13083-887 - Campinas – SP
Fone: (19) 3521-8936 Fax: (19) 3521-7187 e-mail: cep@fcm.unicamp.br

ANEXO II

FICHA DO PACIENTE

Data: ___/___/___

Paciente nº _____

Nome: _____

Sexo: feminino masculino .

Idade: _____ anos

Estado civil: casado solteiro separado viúvo .

Profissão: _____

Telefone: (_____) _____

Tabagismo Etilismo .Grupo racial: branco negro vermelho amarelo pardo .Cabelo: liso crespo fino grosso .Cor dos cabelos: pretos castanhos ruivos loiros grisalhos brancos .Procedimentos químicos: alisamento relaxamento coloração Há quanto tempo _____

Início dos sintomas de queda dos cabelos: há _____ meses/anos

Houve algum evento precipitante: não sim . Qual? _____“Rabo de cavalo”- houve diminuição: sim não .Tricodínia: sim não .Prurido: sim não .Piora em alguma estação do ano: não sim . Qual? _____

Menstruação: regular (ciclo de 27 a 32 dias) irregular .

Uso de anticoncepcional: sim não .

Troca de anticoncepcional: não sim . Há quanto tempo? _____

Menopausada: não sim . Há quanto tempo? _____

Medicações em uso VO: _____

Suplemento alimentar: _____

Medicações tópicas (minoxidil/xampu de selênio/outros): _____

Hábitos dietéticos: carnes verduras legumes carboidratos frutas .

Alguma restrição alimentar: não sim Qual? _____

Cirurgias: _____

Exames complementares:

- HMG:
- TSH
- Ferritina
- Ferro sérico
- FAN
- VDRL
- Glicemia de jejum
- Testosterona livre (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- DHEA (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- SDHEA (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- Prolactina (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- FSH (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- LH (coleta entre o 5º e o 10º dia do ciclo)
- Creatinina
- Ureia
- TGO
- TGP
- Coagulograma
- Dosagem de zinco
- Dosagem de vitamina B12
- Dosagem de ácido fólico
- Dosagem de magnésio

Exame clínico:Couro cabeludo:

- recesso bitemporal: _____
- rarefação capilar frontoparietal: _____
- prova tração: _____

Unhas:

Acne:

- face: _____
- tronco: _____

Hirsutismo:

Outras alterações de pele:

Queda de cabelo diária (sem lavagem por 5 dias): _____

$\leq 3\text{cm}$ _____ (mais que 10% - A.androg) $\geq 3\text{cm}$ _____ (mais que 100 fios - ETC)

Foto início (vértice + temporal): _____

Foto 1 ano (vértice + temporal): _____

Biopsia início: _____

ANEXO III

Escala de avaliação de ansiedade de Hamilton (Ham-A)

A *Escala de ansiedade de Hamilton* (Hamilton, 1969; tradução AMBAN, 1985) é composta de 14 (catorze) itens subdivididos em dois grupos, sete relacionados a sintomas de humor ansioso e sete relacionados a sintomas físicos de ansiedade. Cada item é avaliado segundo uma escala que varia de 0 a 4 de intensidade (0= ausente; 2= leve; 3 = média e 4 = máxima). A soma dos escores obtidos em cada item resulta em um escore total, que varia de 0 a 56. Esse instrumento deve ser aplicado por um avaliador.

Instruções: Escolha para cada item, segundo sua experiência, a nota que corresponde à intensidade do comportamento observado. As definições que acompanham o enunciado do item são exemplos para orientação. Todos os itens devem ser cotados seguindo o esquema:

- 0 = AUSENTE
- 1 = INTENSIDADE LEVE
- 2 = INTENSIDADE MÉDIA
- 3 = INTENSIDADE FORTE
- 4 = INTENSIDADE MÁXIMA

1. Humor Ansioso ()

Inquietação, temor do pior, apreensão quanto ao presente ou futuro, maus pressentimentos, irritabilidade, etc.

2. Tensão ()

Sensação de tensão, fadiga, reações de sobressalto, choro fácil, tremores, sensação de cansaço, incapacidade de relaxar, agitação, etc.

3. Medos ()

De escuro, de estranhos, de ficar só, de animais de grande porte, de trânsito, de multidões, etc.

4. Insônia ()

Dificuldade em adormecer, sono interrompido, sono insatisfatório, fadiga ao acordar, sonhos penosos, pesadelos, terror noturno, etc.

5. Dificuldades Intelectuais ()

Dificuldade de concentração, falhas de memória, etc.

6. Humor Deprimido ()

Perda de interesse, oscilação de humor, depressão, despertar precoce, etc.

7. Somatizações Motoras ()

Dores musculares, rigidez muscular, contrações espásticas, contrações involuntárias, ranger de dentes, voz insegura, etc.

Total Parcial []

8. Somatizações Sensoriais ()

Ondas de frio ou calor, sensação de fraqueza, visão borrada, sensação de picadas, formigamento, sensações auditivas de ruído, zumbidos, etc.

9. Sintomas Cardiovasculares ()

Taquicardia, palpitações, dores no peito, sensação de desmaio, sensação de extrassístoles, etc.

10. Sintomas Respiratórios ()

Pressão ou constrição no peito, dispneia, respiração suspirosa, sensação de sufocação, etc.

11. Sintomas Gastrintestinais ()

Deglutição difícil, aerofagia, dispepsia, sensação de plenitude, dor pré ou pós-prandial, pirose, meteorismo, náusea, vômitos, sensação de vazio gástrico, diarréia ou constipação, cólicas, etc.

12. Sintomas Geniturinários ()

Polaciúria, urgência de micção, amenorreia, menorragia, frigidez, ejaculação precoce, ereção incompleta, impotência, diminuição da libido, etc.

13. Sintomas Neurovegetativos ()

Boca seca, palidez, ruborização, tendência à sudação, tonturas, cefaleia de tensão, etc.

14. Comportamento Durante a Entrevista ()

Geral: tenso, pouco à vontade, inquieto, agitação das mãos (mexer, retorcer, cacoetes e tremores), franzir a testa, face tensa, etc.

Fisiológico: engolir a saliva, eructações, dilatação pupilar, sudação, respiração suspirosa, etc.

Total Geral []

ANEXO IV



UNICAMP

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 26/11/10
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 1044/2010 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto).
CAAE: 0818.0.146.000-10

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “EFLÚVIO TELÓGENO CRÔNICO: ANÁLISE CLÍNICA, LABORATORIAL, HISTOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Caroline Bittencourt

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 13/10/2010

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 26/11/11 (O formulário encontra-se no *site* acima).

II - OBJETIVOS

Estudar os achados clínicos, laboratoriais, histológicos e imuno-histoquímicos de pacientes adultos com queixa de queda excessiva de cabelos há mais de 6 meses e quadro clínico de eflúvio telógeno crônico.

III - SUMÁRIO

Trata-se de um estudo prospectivo. Serão incluídos todos os pacientes adultos com queda excessiva de cabelos há mais de 6 meses. Os pacientes do ambulatório de dermatologia do HC e de consultório particular do próprio pesquisador serão convidados a participar deste projeto. Será realizada uma biópsia do couro cabeludo dos pacientes na região do vértice, a 2 cm da linha mediana para evitar um sinal aparente. No primeiro dia de visita o paciente responderá a questionários de avaliação de ansiedade. Haverá participação de um grupo controle, com pacientes do consultório particular que apresentem queixas de lesões no couro cabeludo tais como: nevus e ceratose seborreicas, que serão removidas cirurgicamente. Esses pacientes não deverão apresentar alterações no fio de cabelo.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Após respostas às pendências, o projeto encontra-se adequadamente redigido e de acordo com a Resolução CNS/MS 196/96 e suas complementares, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas - SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

ANEXO V

**JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS**

Oct 03, 2015

This Agreement between Caroline Bittencourt ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.


License Number	3721591221493
License date	Oct 03, 2015
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Clinical and Experimental Dermatology
Licensed Content Title	Chronic telogen effluvium and female pattern hair loss are separate and distinct forms of alopecia: a histomorphometric and immunohistochemical analysis
Licensed Content Author	C. Bittencourt, D. A. Ferraro, T. C. B. Soares, A. M. Moraes, M. L. Cintra
Licensed Content Date	Aug 22, 2014
Pages	6
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	Author of this Wiley article
Format	Print and electronic
Portion	Full article
Will you be translating?	No
Title of your thesis / dissertation	Eflúvio telógeno crônico: análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-histoquímica
Expected completion date	Jan 2016
Expected size (number of pages)	171
Requestor Location	Caroline Bittencourt Rua Augusto César de Andrade, 1242 Campinas, Brazil 13092117 Attn: Caroline Bittencourt
Billing Type	Invoice
Billing Address	Caroline Bittencourt Rua Augusto César de Andrade

Campinas, Brazil 13092117
Attn: Caroline Bittencourt

Total 0.00 USD

[Terms and Conditions](#)

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking  in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your Rightslink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process This license, **and any content (PDF or image file) purchased as part of your order**, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this licence must be completed within two years of the date of the grant of this licence (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- For STM Signatory Publishers clearing permission under the terms of the **STM Permissions Guidelines** only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective

copyright owner. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.

- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto
- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.
- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.

- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or consent to any other or subsequent breach by such other party.
- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.
- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The [Creative Commons Attribution License \(CC-BY\)](#) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial \(CC-BY-NC\)License](#) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License](#) (CC-BY-NC-ND) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organisations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library
<http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated May 2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
 TERMS AND CONDITIONS
 Jan 14, 2016

This Agreement between Caroline Bittencourt ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

[License Number](#)

3787711323736

[License date](#)

Jan 14, 2016

[Licensed Content Publisher](#)

John Wiley and Sons

[Licensed Content Publication](#)

International Journal of Dermatology

[Licensed Content Title](#)

Non-invasive method distinguishes chronic telogen effluvium from mild female pattern hair loss: clinicopathological correlation

[Licensed Content Author](#)

Caroline Bittencourt, Fernanda Teixeira, Daniela A. Ferraro, Tania C.B. Soares, Aparecida M. Moraes, Maria L. Cintra

[Licensed Content Date](#)

Dec 29, 2015

[Pages](#)

1

[Type of use](#)

Dissertation/Thesis

[Requestor type](#)

Author of this Wiley article

[Format](#)

Print and electronic

[Portion](#)

Full article

[Will you be translating?](#)

No

[Title of your thesis / dissertation](#)

Eflúvio telógeno crônico: análise clínica, laboratorial, histológica e imuno-histoquímica

[Expected completion date](#)

Jan 2016

[Expected size \(number of pages\)](#)

171

[Requestor Location](#)

Caroline Augusto César de Andrade, Bittencourt 1242

Campinas, Brazil 13092117
 Attn: Caroline Bittencourt

[Billing Type](#)

Invoice

[Billing Address](#)

Caroline Augusto César de Andrade, Bittencourt 1242

Campinas,
Attn: Caroline Bittencourt

Brazil

13092117

Total

0.00 USD

[Terms and Conditions](#)

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your RightsLink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process. This license, **and any CONTENT (PDF or image file) purchased as part of your order**, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this license must be completed within two years of the date of the grant of this license (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective copyright owner. **For STM Signatory Publishers clearing permission under the terms of the [STM Permissions Guidelines](#) only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts**. You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.

- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto
- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.
- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.
- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this

Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or consent to any other or subsequent breach by such other party.

- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.
- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The [Creative Commons Attribution License \(CC-BY\)](#) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial \(CC-BY-NC\)License](#) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License](#) (CC-BY-NC-ND) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organizations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated September 2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.
