



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Mariana Alvares Penha**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM  
ESCORE DERMATOSCÓPICO DE GRAVIDADE DA  
ALOPECIA DE PADRÃO FEMININO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Amante Miot

**Botucatu**

**2018**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**

**FACULDADE DE MEDICINA - CAMPUS DE BOTUCATU**

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM ESCORE  
DERMATOSCÓPICO DE GRAVIDADE DA ALOPECIA  
DE PADRÃO FEMININO**

Mestranda: Mariana Alvares Penha

Orientador: Prof. Dr. Hélio Amante Miot

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina de Botucatu, Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de Mestre  
em Medicina.

Botucatu

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Penha, Mariana Alvares.

Desenvolvimento e validação de um escore dermatoscópico de gravidade da alopecia de padrão feminino / Mariana Alvares Penha. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Helio Amante Miot

Capes: 40101029

1. Calvície. 2. Dermatologia. 3. Dermoscopia. 4. Doenças - Diagnostico.

Palavras-chave: Alopecia; Dermatologia; Dermoscopia; Gravidade do paciente; Índice de gravidade de doença.

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA .....	5
AGRADECIMENTOS ESPECIAIS .....	6
AGRADECIMENTOS.....	7
LISTA DE ABREVIATURAS / SIGLAS .....	9
RESUMO .....	11
ABSTRACT .....	12
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
1.1 Alopecia de padrão feminino.....	13
1.2 Dermatoscopia da Alopecia de Padrão Feminino.....	17
1.3 Índices de gravidade da Alopecia de Padrão Feminino.....	22
2. OBJETIVOS .....	30
3. MANUSCRITO.....	31
4. CONCLUSÕES.....	50
5. APÊNDICES .....	51
6. ANEXOS .....	56

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, por ser meu guia e iluminar toda minha trajetória.

Aos meus pais, Alfredo e Luciana, professores dedicados, que sempre foram meus exemplos, aconselhando e apoiando toda minha formação.

A minha irmã, Juliana, que, mesmo à distância, sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis.

A todos familiares que sempre me incentivaram durante todo o período, especialmente meus avós, Irineu e Cândia, que acompanharam todas minhas conquistas, desde a adolescência.

Ao Daniel, pessoa com quem decidi partilhar a vida, por respeitar e incentivar todas minhas decisões. Pelo carinho e paciência que sempre tem comigo.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador, Prof. Hélio Amante Miot, por sempre me incentivar a produzir mais e mostrar o quanto sou capaz. Pelas horas dedicadas ao nosso trabalho e pela paciência em me ensinar cada dia mais. Exemplo de médico, dermatologista e pesquisador.

Aos professores, Luciana Patrícia Fernandes Abbade e Juliano Vilaverde Schmitt, por contribuírem grandemente com observações e sugestões em nosso trabalho.

Aos dermatologistas, Paulo Müller Ramos e Vinicius de Souza, pelo empenho e dedicação, desde as ideias iniciais do projeto até a coleta de dados e escrita do artigo.

A todos, serei eternamente grata, vocês foram fundamentais na minha formação.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos voluntários que participaram do estudo, pela confiança que depositaram em mim.

Aos colegas da residência, pela convivência, companhia e por deixarem meus dias mais alegres. Vocês são pessoas maravilhosas, que tive o prazer de conhecer.

As amigas do internato, por todos os encontros e momentos de descontração; pela torcida em cada etapa concluída.

Ao Departamento de Dermatologia e à Faculdade de Medicina de Botucatu, pelo acolhimento e pelas oportunidades de crescimento profissional que têm me proporcionado.

À FUNADERSP pelo financiamento do projeto.

Trabalho desenvolvido no ambulatório de Dermatologia

**HC-UNESP**

Projeto financiado pelo Fundo de Apoio a Dermatologia de São Paulo

**(FUNADERSP)**

## LISTA DE ABREVIATURAS / SIGLAS

ACO – anticoncepção  
APF – alopecia de padrão feminino  
ArborifFR – vasos arboriformes frontais  
ArborifOcc – vasos arboriformes occipitais  
AtriQFR – atriquia focal frontal  
AtriQOcc – atriquia focal occipital  
BASP – *basic and specific*  
CEP – Comitê de Ética em Pesquisa  
cm – centímetro  
CNS – MS – Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde  
CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa  
CTRL - controles  
DuploFR – folículo com 2 fios frontal  
DuploOcc – folículo com 2 fios occipital  
DuploPorUnicofr – folículos com fios duplos por fios únicos frontais  
EDGAPF – escore dermatoscópico de gravidade da alopecia de padrão feminino  
FavoFr – rede em favo de mel frontal  
FavoOcc – rede em favo de mel occipital  
FDA - *Food and Drug Administration*  
FMB-Unesp – Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
FPA – *Female Pattern Alopecia*  
FUNADERSP - Fundo de Apoio a Dermatologia Sebastião de Almeida Prado Sampaio  
GPAC – gestação, paridade, aborto, cesárea  
HaloBcFr – halo branco peripilar frontal  
HaloBcOcc – halo branco peripilar occipital  
HC – FMB – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu  
HC - Unesp – Hospital das Clínicas da - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
HE – hematoxilina e eosina  
ICC – coeficiente de correlação intraclasse  
IMC – índice de massa corporal  
kg/m<sup>2</sup> - quilograma / metro<sup>2</sup>  
MAP – Mariana Alvares Penha  
mg – miligrama  
MinitatFr – fios miniaturizados frontais  
MinitatFrOcc – fios miniaturizados frontais por occipitais  
MinitatOcc – fios miniaturizados occipitais  
MinitatPorTermFr – fios miniaturizados por fios terminais frontais  
mm – milímetro  
MultFR – folículos com mais de um fio, frontal  
MultiploPorUnicoFr – folículo com mais de um fio por folículo com fio único frontal  
MultOcc – folículos com mais de um fio, occipital  
n – número  
p – p-valor do teste estatístico  
p25 – percentil 25  
p75 – percentil 75

PercMinFR – percentual de fios miniaturizados frontais  
PeripilarFrOcc – sinal peripilar frontal + occipital  
PLS – *partial least squares*  
PtoAmFr – ponto amarelo frontal  
PtoAmOcc – ponto amarelo occipital  
SinPeripFr – sinal peripilar frontal  
SinPerOcc – sinal peripilar occipital  
TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido  
TerminFr – fios terminais frontais  
TerminOcc – fios terminais occipitais  
TotalFR – total de folículos frontais  
TriploFR – folículo com 3 fios frontal  
TriploOcc – folículo com 3 fios occipital  
UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”  
UnicoFR – folículo com fio único frontal  
UnicoFrOcc – folículos com fios únicos frontais por occipitais  
UnicoOcc – folículo com fio único occipital  
UV – ultravioleta  
VIF - *variance inflation factor*  
VIP – *variable importance in projection*

## RESUMO

**Fundamentos:** Alopecia de padrão feminino (APF) é doença crônica frequente, que inflige prejuízo à qualidade de vida e cujos tratamentos levam a melhoras tênues, com difícil percepção clínica a curto prazo. Apesar da prevalência e impacto na qualidade de vida, não há métodos de avaliação objetivos e sensíveis para estimar sua gravidade.

**Objetivos:** Desenvolver um escore dermatoscópico de gravidade da APF.

**Métodos:** Estudo transversal, envolvendo 76 mulheres com APF e 12 controles. Além de dados clínico-demográficos, capturaram-se fotos dermatoscópicas padronizadas de 1 cm<sup>2</sup> do couro cabeludo (frontal e occipital) para avaliar os principais achados da APF. As variáveis foram selecionadas por técnicas multivariadas e seus pesos definidos por modelo linear generalizado. Vinte participantes foram retestadas. A validação externa e sensibilidade à mudança (responsividade) foram avaliados a partir das estimativas dos escores de dez pacientes com APF sob uso oral de minoxidil 1mg, por seis meses.

**Resultado:** Entre as portadoras de APF, 8 (11%) apresentavam classificação de Sinclair grau 1, 40 (53%) 2, 19 (25%) 3, 9 (12%) 4 e 5. Foram aferidos 22 achados dermatoscópicos que compuseram 32 variáveis. À exploração multivariada, as variáveis que resultaram contribuição significativa para o escore foram: número de fios terminais, número de fios miniaturizados, sinal peripilar, rede pigmentada, halo branco, ponto amarelo; todos achados oriundos da avaliação frontal. O modelo final apresentou correlação ( $\rho$ ) de 0,89 com a ordenação clínica da gravidade da doença. O reteste resultou coeficiente de correlação intraclassa (ICC) 0,98 ( $p < 0,01$ ).

**Conclusão:** Um escore objetivo e reprodutível de gravidade de APF foi criado e validado, permitindo seu uso como desfecho em ensaios terapêuticos.

**Palavras-chave:** Dermatoscopia, Alopecia, Gravidade do paciente, Índice de gravidade de doença, Dermatologia.

## ABSTRACT

**Background:** Female pattern alopecia (FPA) is a frequent chronic disease, which causes impaired quality of life and whose treatments lead to discreet improvements, with difficult clinical perception in the short term. Despite the prevalence and impact on quality of life, there are not objective and sensitive assessment methods to estimate its severity.

**Objective:** To develop a dermoscopic severity score of FPA.

**Methods:** A cross-sectional study, involving 76 women with FPA and 12 controls. In addition to clinical-demographic data, standardized 1 cm<sup>2</sup> dermoscopic photos of the scalp (frontal and occipital) were taken to evaluate the main findings of FPA. The variables were selected by multivariate analysis and their scores defined by generalized linear model. Twenty participants were retested. External validation and evaluation of responsiveness scores were based on the measurement of 10 patients showed improvement using oral minoxidil (1mg/d) for 6 months.

**Results:** Among the participants with FPA, 8 patients (11%) presented the Sinclair classification grade 1, 40 (53%) 2, 19 (25%) 3, 9 (12%) 4 and 5. Twenty-two dermoscopic findings constituted 32 variables. At the multivariate exploration, the variables that were considered significant for the score were: total terminal hairs, total miniaturized hairs, brown peripilar signs, scalp honeycomb pigmentation, white peripilar sign, yellow dots; all findings from the frontal evaluation. The final model presented (rho) of 0.89 with the clinical order. The retests resulted in an intraclass correlation coefficient (ICC) of 0.98 (p <0.01).

**Conclusion:** An objective and reproducible severity score of FPA was created and validated, allowing its use as an outcome in therapeutic trials.

**Keywords:** *Dermoscopy, Alopecia, Patient Acuity, Severity of Illness Index, Dermatology.*

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Alopecia de padrão feminino

Inicialmente, o termo alopecia difusa na mulher foi usado para nomear a queda de cabelo feminina, não cicatricial, de padrão difuso. Após a descoberta da participação hormonal na fisiopatologia da calvície de padrão masculino, nomeada alopecia androgenética, o termo alopecia androgenética feminina foi o mais utilizado. Alguns estudos mostraram que a queda de cabelo feminina não possui as mesmas apresentações clínicas e respostas hormonais, além de a sua fisiopatologia ainda não ser totalmente explicada pelos fatores genéticos e hormonais encontrados na calvície masculina. Dessa forma, o termo alopecia de padrão feminino (APF) tornou-se o mais adequado. (1)

Queda de cabelo figura entre as principais queixas nas consultas dermatológicas. Alopecia de padrão feminino (APF) é a principal causa de queda de cabelo feminino, sua prevalência é de 3% na terceira década de vida e de 32% na nona década, com prevalência global de 19%, conforme um estudo norte-americano de 2001.(2,3)

A APF é definida como alopecia difusa não cicatricial, decorrente da progressiva miniaturização de folículos pilosos e posterior diminuição do número de fios, principalmente nas regiões central, frontal e parietal do couro cabeludo.(4) Uma revisão de 2015 mostrou vários estudos epidemiológicos da APF em cada faixa etária, enfatizando um aumento da prevalência com a idade e na população caucasóide (Tabela 1).(1)

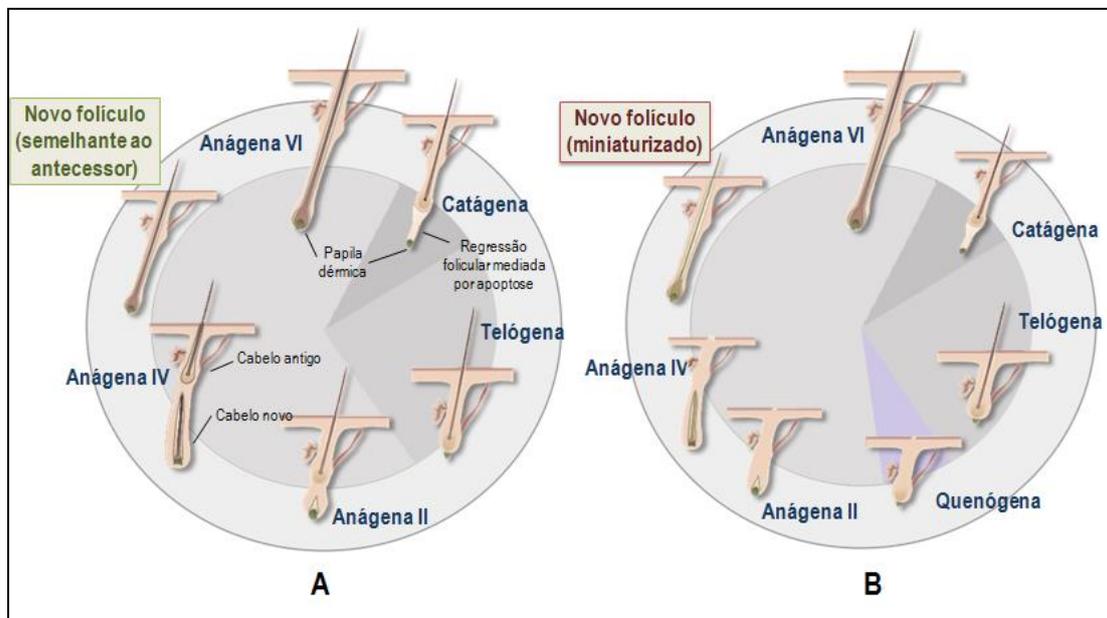
**Tabela 1.** Estudos epidemiológicos de diferentes grupos populacionais que mostram a prevalência da APF em cada faixa etária (Fonte: Ramos, 2015).

Estudo	País	N	Grupos etários*					
			20-29#	30-39#	40-49#	50-59#	60-69#	>69#
Norwood, 2001	EUA	1008	3	17	16	23	25	29
Birch, 2001	Inglaterra	377	3	10	5	14	33	38
Gan, 2005	Austrália	717	12	17	25	28	41	56
Wang, 2010	China	8446	1	2	5	8	10	12
Pai, 2001	Coreia do Sul	4601	-	2	4	7	12	25
Su, 2013	Taiwan	26226	-	6	10	12	13	15

\* idade em anos; # percentual de APF aproximado dos pacientes do estudo em cada faixa etária.

A APF apresenta resposta inconstante ao tratamento, comprometendo a imagem corporal e afetando a autoestima, infligindo grande impacto na qualidade de vida.(5) Portanto, o aprimoramento no diagnóstico e na avaliação da gravidade individual possui alta relevância científica.

Os folículos pilosos possuem um ciclo biológico composto por três fases: fase anágena, de crescimento, que pode durar de 2-8 anos; fase catágena, de regressão, com duração de 2-3 semanas; e a fase telógena, de repouso, com cerca de três meses. Na APF ocorre um encurtamento da fase anágena e também um intervalo maior entre o fim da fase telógena e o início da nova fase anágena. Esse período de repouso (Figura 1), no qual o folículo se encontra vazio é conhecido como fase quenógena.(6,7)



**Figura 1.** Representação esquemática do ciclo folicular normal (esquerda) e na alopecia de padrão feminino (Fonte: Ramos, 2015).

Alterações hormonais ligadas ao hiperandrogenismo são fatores de risco para APF, assim como ocorrem na calvície masculina. A diidrotestosterona tem um papel importante, acarretando a miniaturização do folículo piloso e a alteração do tempo de duração da fase anágena, bem como a testosterona, porém, esta última possui um peso menor. Entretanto, a maior parte das mulheres com APF não apresentam alterações hormonais, ou sinais de hiperandrogenismo, tampouco expressão diferencial de 5alfa redutase nos folículos, levando a hipótese que outros fatores estejam associados ao seu desenvolvimento. A microinflamação também faz parte da

fisiopatologia da APF, desencadeando a miniaturização dos fios, juntamente com o componente hormonal. Por fim, muitos genes são estudados para justificar o aparecimento da APF. Entretanto, não há estudos que comprovem quais genes são realmente essenciais para a ocorrência da doença. Dessa forma, o padrão poligênico e a relação com fatores ambientais/externos se sobressaem. (8–10)

A APF se manifesta como uma redução da espessura dos fios e diminuição da densidade capilar, reduzindo o volume global do cabelo (Figura 2). Existem três padrões de apresentação: (i) Rarefação difusa da região biparietal superior e vértice preservando a linha de implantação anterior, (ii) Rarefação da região bitemporal superior e vértice com acentuação frontal (padrão árvore de natal), (iii) Rarefação com recesso bitemporal, clássica na calvície masculina.(11)



**Figura 2.** Exemplos de alopecia de padrão feminino: Estágio inicial (subclínico), intermediário e avançado (imagens dos autores).

O processo diagnóstico na APF depende da investigação de diferentes elementos: história clínica da paciente, quando iniciou a queda de cabelo, medicações em uso e presença de outras comorbidades clínicas ou cirúrgicas; antecedentes familiares; avaliação clínica do couro cabeludo e dos fios, densidade, espessura e presença de inflamação. Alguns exames laboratoriais também podem ser solicitados, quando há dúvida diagnóstica e para constatar possíveis alterações hormonais que podem contribuir com a APF.(11)

Os achados dermatoscópicos encontrados na APF são de grande valia no auxílio diagnóstico e na avaliação da gravidade da doença, com a vantagem de ser um método não invasivo.(12)

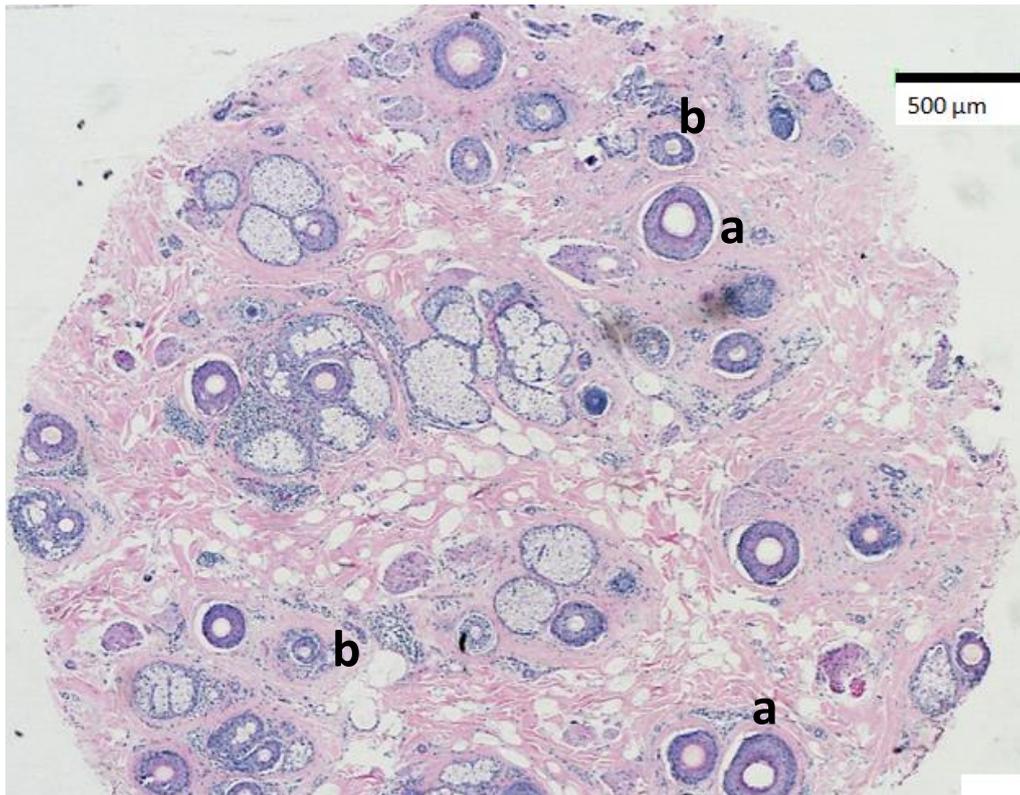
As principais características tricoscópicas encontradas na APF são: diversidade da espessura dos fios com aumento do número de fios miniaturizados (principalmente na região frontoparietal), diminuição do número de fios por unidade folicular, sinal peripilar, com área marrom-clara, discretamente atrófica (infiltração linfocítica perifolicular), pontos amarelos (óstios de folículos vazios) e rede pigmentada (penetração da luz UV no couro cabeludo).(13–15) Esses aspectos serão discutidos em detalhes, adiante.

Quando comparado com o tricograma, a técnica dermatoscópica mostrou-se mais eficaz e precisa no diagnóstico da APF. Um estudo de 2012 mostrou que nos casos mais leves de APF o tricograma apresentou acurácia diagnóstica de 62% e a tricoscopia demonstrou anisotriquia, ou seja, heterogeneidade da espessura dos fios, superior a 20% em 72% dos casos. Nos casos mais avançados da doença, a anisotriquia estava presente em 100% dos casos enquanto o tricograma foi diagnóstico em 84%.(16)

Quando há associação de APF e eflúvio telógeno, a tricoscopia é uma ferramenta diagnóstica útil, uma vez que a anisotriquia é visualizada, além do tricograma com predomínio de fios telógenos.(16) Ademais, a tricoscopia permite diagnóstico mais precoce da APF, levando à instituição do tratamento com maior possibilidade de resposta e menor prejuízo.

Apesar do grande auxílio dos instrumentos menos invasivos, a biópsia do couro cabeludo pode ser necessária para definição diagnóstica. O ideal é que se realizem duas biópsias para permitir análise em corte longitudinal e transversal dos folículos. No corte transversal, o achado característico é o aumento da proporção de fios miniaturizados e de telógenos (Figura 3). A inflamação linfocitária perifolicular também pode ser visualizada.(17) No corte longitudinal, uma faixa de tecido conectivo residual pode ser encontrada sob os folículos miniaturizados, na derme profunda.(1,11)

A terapêutica da APF é restrita, de resposta lenta e resultados inconstantes. O único tratamento aprovado pelo FDA é a loção de minoxidil 2% tópica, porém, existem outros tratamentos ainda *off-label*, como: loção de minoxidil 5%, finasterida, dutasterida, espironolactona, ciproterona, cetoconazol shampoo. Novas terapêuticas estão sendo propostas como: microagulhamento, mesoterapia e laser de baixa potência.(18–20) Mais estudos são necessários para mostrar a eficácia e segurança do uso dessas drogas e procedimentos na APF.



**Figura 3.** Exame histopatológico de APF (HE, 40x). Corte transversal evidenciando grande variabilidade no diâmetro dos folículos: a. folículos terminais; b. folículos miniaturizados (Adaptado de: Ramos, 2015).

## 1.2 Dermatoscopia da Alopecia de Padrão Feminino

A dermatoscopia do couro cabeludo normal apresenta folículos com vários fios na mesma unidade folicular, com cores e espessura uniformes (Figura 4). Também pode apresentar vasos arboriformes e, em fototipos altos, pontos brancos e rede em favo de mel.(15,21)



**Figura 4.** Dermatoscopia do couro cabeludo normal. Uniformidade da espessura dos fios (isotriquia) e presença de 2-3 fios por folículo. (Imagem dos autores)

Em um estudo feito na China, achados da tricoscopia em pacientes com APF foram comparados ao grupo controle, mostrando maior relevância na visualização de heterogeneidade na espessura dos fios, hiper e hipopigmentação peripilar, pigmentação em favo de mel e atriquia focal (Tabela 2). (22)

**TABELA 2.** Achados dermatoscópicos na Alopecia de Padrão Feminino comparado a um grupo controle (Adaptado de Hu et al., 2015).

	<b>Pacientes com APF N=200</b>	<b>Controles N = 50</b>	<b>P</b>
<b>Anisotriquia &gt;10%</b>	200 (100.0)	0 (0.0)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Sinal peripilar</b>	89 (44.5)	0 (0.0)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Halo branco peripilar</b>	30 (15.0)	0 (0.0)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Ponto amarelo</b>	48 (24.0)	3 (6.0)	<b>0.01</b>
<b>Ponto branco</b>	44 (22.0)	4 (8.0)	<b>0.02</b>
<b>Pigmentação em favo de mel</b>	61 (30.5)	1 (2.0)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Atriquia focal</b>	113 (56.5)	0 (0.0)	<b>&lt;0.01</b>
<b>Descamação</b>	95 (47.5)	14 (28.0)	<b>0.01</b>
<b>Vasos arboriformes</b>	32 (16.0)	6 (12.0)	0.66

O achado tricoscópico mais relevante da APF é a anisotriquia (Figura 5), ou seja, em uma mesma região do couro cabeludo é possível encontrar fios de vários diâmetros. Na APF observa-se a heterogeneidade dos diâmetros capilares na região frontoparietal e se a proporção de fios mais finos é maior que 20%, o diagnóstico de APF é muito sugestivo; já a região occipital apresenta achados de couro cabeludo normal.(12,23,24)



**Figura 5.** Dermatoscopia da alopecia de padrão feminino. Fios miniaturizados (\*) evidenciando intensa anisotriquia; fios únicos por folículo (@); sinal peripilar (#) e ponto amarelo (+). (Imagem dos autores)

A diminuição do número de fios por folículos (Figura 5) também é um achado característico da APF. A região frontal e parietal, além de apresentar miniaturização dos fios, possui maior quantidade de unidades foliculares com somente um fio. Esta alteração já pode ser encontrada nos casos iniciais de APF, sendo um sinal precoce relevante para diagnóstico e início de tratamento. A região occipital mantém o padrão de fios duplos e triplos.(25)

O sinal peripilar (Figura 5) é outro achado valorizado na APF, principalmente nos casos iniciais. Quando correlacionado com a histopatologia, encontra-se infiltrado linfocitário peripilar,

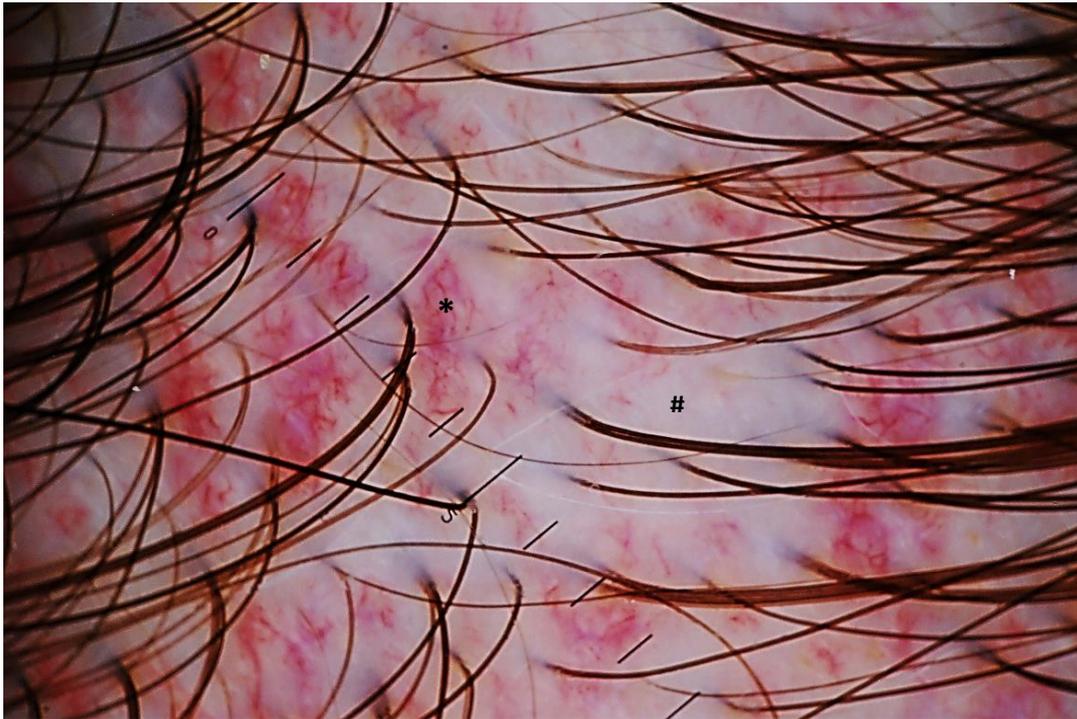
sugerindo processo inflamatório local. Estudo de 2009 mostrou que em asiáticos esse achado é incomum, sendo mais prevalente na população caucasóide.(23)

Outros achados tricoscópicos possíveis da APF são: rede pigmentar, halo branco peripilar (Figura 6), ponto amarelo (Figura 5), ponto branco, vasos arboriformes e atriquia focal (Figura 7).(13,14,26,27)



**Figura 6.** Dermatoscopia da alopecia de padrão feminino. Rede pigmentar em favo de mel (\*), halo branco peripilar (#) e anisotriquia. (Imagem dos autores)

Alguns estudos analisaram a ocorrência dos achados tricoscópicos com a gravidade da doença e constataram que o sinal peripilar é uma característica dermatoscópica precoce e o halo branco peripilar, ponto amarelo, rede favo de mel, ponto branco e atriquia são sinais de doença mais avançada.(14,22,24,28,29)



**Figura 7.** Dermatoscopia da alopecia de padrão feminino. Vasos arbotiformes (\*), anisotriquia e áreas de atriquia focal (#). (Imagem dos autores)

Rakowska e colaboradores propuseram o diagnóstico da APF (Quadro 1) por meio da presença de dois critérios maiores, ou por um maior e dois menores. (30) Esse método possui 98% de especificidade no diagnóstico da APF. Ainda, quando considerado apenas a variável anisotriquia maior que 20% a sensibilidade atinge 100%.(16)

A diferenciação dermatoscópica de fios velus e miniaturizados pode infligir dificuldade, especialmente, em pacientes com cabelos claros. Já que, à dermatoscopia, velus são mais curtos e mais claros que os fios miniaturizados. Na APF, em especial, pode haver fios miniaturizados curtos que são indistinguíveis de velus à dermatoscopia.(31)

**Quadro 1.** Critérios tricoscópicos diagnósticos da APF (Fonte: Rakowska, 2009)

<b>Critérios maiores</b>
1. Mais que 4 pontos amarelos em 4 imagens da região frontal. (Aumento 70xx)
2. Fios mais finos, miniaturizados, na região frontal, comparados com a occipital.
3. Mais que 10% de fios finos na área frontal.
<b>Critérios menores</b>
1. Maior quantidade de fios únicos na unidade pilosebácea, na região frontal.
2. Fios velus.
3. Descoloração perifolicular.

Diagnóstico: 2 critérios maiores ou 1 maior e 2 menores

### 1.3 Índices de Gravidade da Alopecia de Padrão Feminino

Foram descritas algumas classificações clínicas da gravidade da APF. A classificação de Ludwig foi a primeira a caracterizar o padrão de queda de cabelo feminina. Ela é dividida em três estágios (Quadro 2 e Figura 8).(32)

Existem algumas dificuldades no seu uso, uma vez que os casos iniciais de APF não se enquadram a escala e o estágio III, com cabelos praticamente ausentes, é muito raro na prática clínica. Além disso, é um método pouco útil na avaliação de melhora terapêutica, pois raramente o tratamento consegue regredir uma etapa completa da classificação.

**Quadro 2.** Descrição dos estágios da escala de gravidade de Ludwig.

<b>Escala de Ludwig</b>
Estágio I: Cabelos finos perceptíveis no topo da cabeça, com início de 1 a 3 cm atrás da risca frontal do couro cabeludo
Estágio II: Rarefação capilar pronunciada no topo da cabeça englobando a área do estágio 1.
Estágio III: Ausência de cabelos na mesma região do estágio 1 e 2. Os cabelos da risca frontal do couro cabeludo continuam presentes.



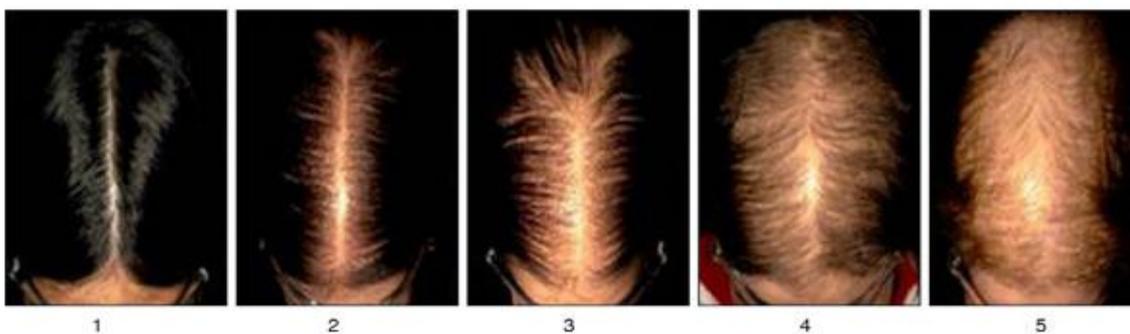
**Figura 8.** Classificação da gravidade de alopecia de padrão feminino segundo Ludwig. Estágios: I, II e III (Fonte: Ludwig, 1977).

Em 2004, Sinclair e colaboradores incluíram uma forma normal e subdividiram a classificação de Ludwig I e II em outras duas classificações cada, além de excluir o Ludwig III, resultando em cinco categorias de gravidade (Quadro 3 e Figura 9).(33,34)

A classificação de Sinclair é uma escala que apresenta maior número de estágios de gravidade da doença e por isso é mais utilizada para avaliação da melhora terapêutica.(34) Entretanto, ainda apresenta estágios difíceis de serem transpostos com a terapêutica, ao menos em curto prazo. Ademais, no estágio 1, caracterizado como paciente normal, é possível encontrar achado tricoscópico de APF, como um quadro subclínico. Dessa forma, é necessária uma avaliação detalhada, não somente clínica, para realizar diagnóstico da APF e instituir tratamento precoce.

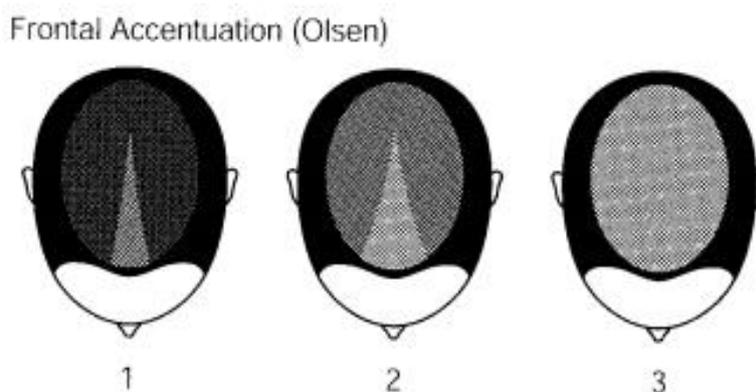
**Quadro 3.** Descrição dos estágios da escala de Sinclair.

<b>Classificação Sinclair</b>
Estágio 1: Normal.
Estágio 2: Alargamento da risca central.
Estágio 3: Alargamento da risca com translucência dos pelos na borda.
Estágio 4: Desenvolvimento de uma área calva na porção anterior da risca.
Estágio 5: Perda avançada de cabelo.



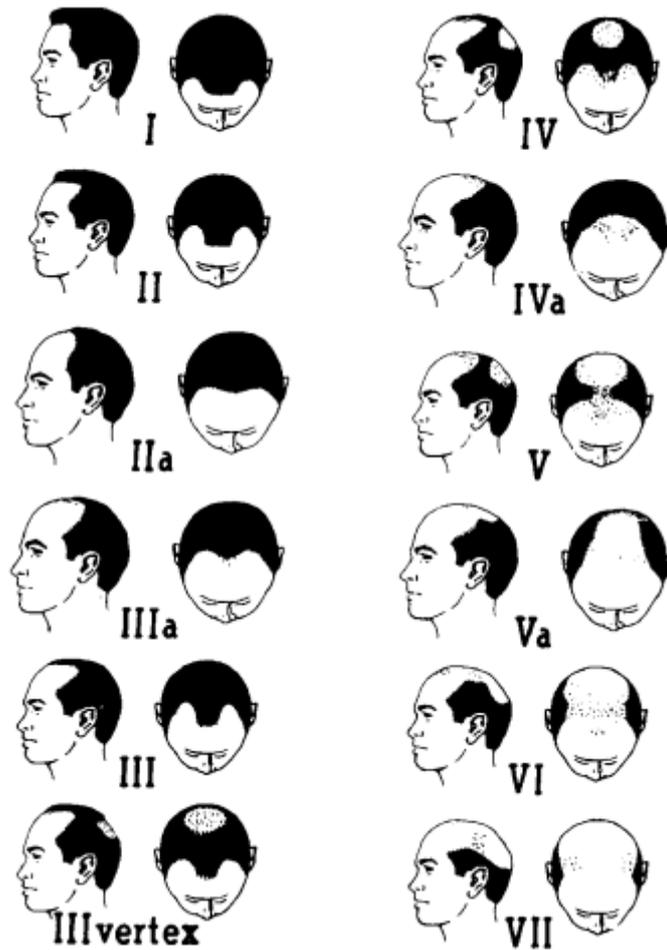
**Figura 9.** Classificação da gravidade de alopecia de padrão feminino segundo Sinclair. Estágios: 1 a 5 (Fonte: Biondo, 2004).

A classificação de Olsen é dividida em 3 estágios (Figura 10). Caracteriza-se por rarefação capilar difusa progressiva e acentuação da linha central, formando um triângulo com sua base na linha de implantação anterior (padrão em árvore de natal) (35)



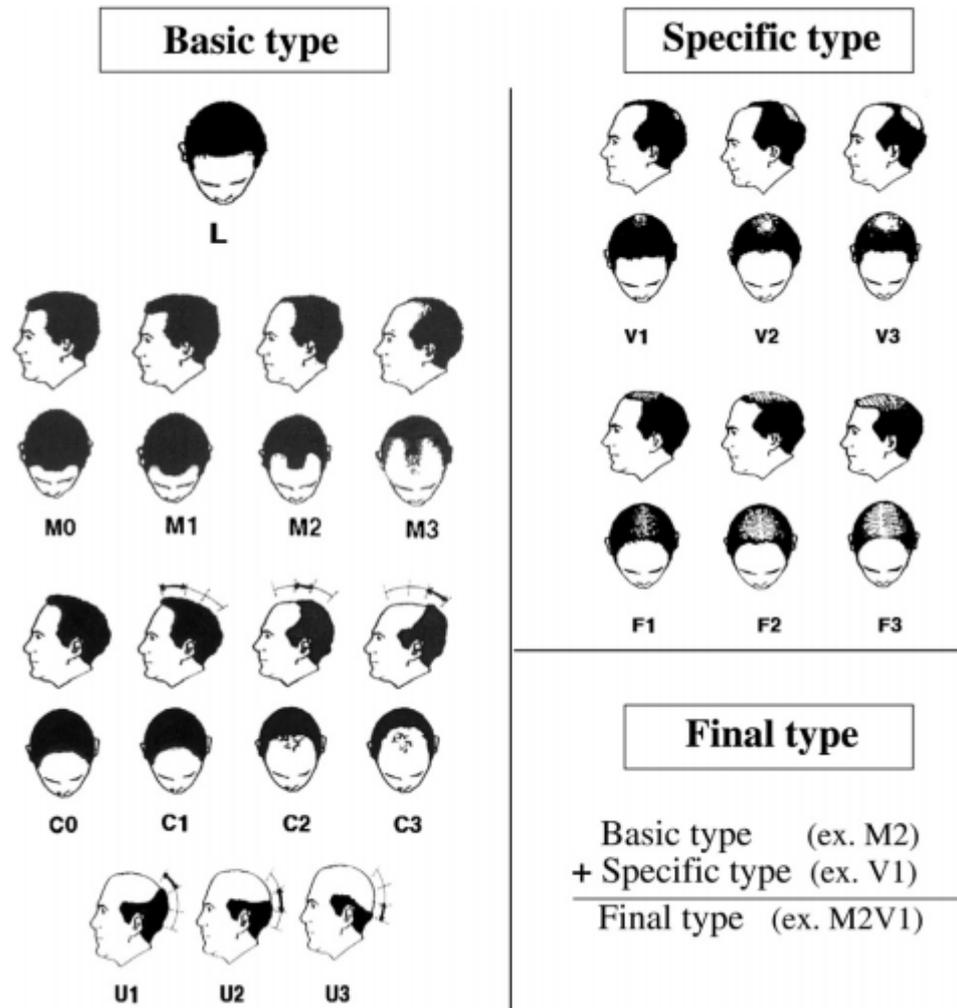
**Figura 10.** Classificação da gravidade de alopecia de padrão feminino segundo Olsen. (Fonte: Olsen, 2003).

A classificação de Hamilton – Norwood (Figura 11) é utilizada para graduar a alopecia de padrão masculino, entretanto algumas mulheres podem apresentar padrão semelhante.(2)



**Figura 11.** Classificação de Hamilton-Norwood modificada. (Fonte: Olsen, 2001).

Em 2007, foi descrita a classificação BASP (*basic and specific*). O quadro clínico da APF é caracterizado quanto aos formatos básicos (padrão da linha de implantação capilar: linear (L), recesso bitemporal (M), recesso central (C), posterior ao vértex (U)) e características específicas (densidade do cabelo na região frontal e vértex). A graduação é feita com a combinação dos dois critérios (Figura 12). (36)



**Figura 12.** Classificação BASP de alopecias. (Fonte: Lee, 2007)

Com base na existência de múltiplas classificações da APF, Harries e colaboradores propuseram um novo escore de gravidade da APF, para realização de diagnóstico precoce e melhor monitorização dos casos tratados. O escore utiliza a escala de queda de cabelo de Sinclair, teste de tração, escala de Sinclair de densidade capilar, diversidade de diâmetro dos fios (menor ou maior que 20%), análise de folículos únicos e triplos da região occipital e frontal. A escala resultante sugere doença improvável, precoce ou avançada.(37) O modelo foi proposto por especialistas mas ainda não foi testado em pacientes, e encontra-se em processo de validação (Quadro 4).

**Quadro 4.** Escore de gravidade da APF (Adaptado de Harries et al., 2015)

Critérios diagnósticos	Escore								
	0	1	2	3	4	5	6	8	10
<b>Escala de queda de cabelo do Sinclair ou teste de tração</b>	Escala de queda de cabelo do Sinclair 1-4 ou teste de tração negativo		Escala de queda de cabelo do Sinclair 5-6 ou teste de tração positivo						
<b>Escala de densidade capilar do Sinclair</b>	Sinclair 1				Sinclair 2		Sinclair 3	Sinclair 4	Sinclair 5
<b>Tricoscopia: Diversidade do diâmetro dos fios</b>	< 20% de cabelos mais finos					>20% de cabelos mais finos			
<b>Tricoscopia: Fio triplo/ fio único por unidade folicular</b>	Não há diferença entre área frontal e occipital	>25% fio único ou >25% de redução de fio triplo entre área frontal e occipital	> 50% fio único	> 75% de fio único					
<b>Total Escore (0-20)</b> 0-4 APF improvável 5-9 APF inicial ≥10 APF estabelecida									

A padronização das documentações fotográficas panorâmicas (globais) do couro cabeludo é difícil, pouco reprodutível, sensível à luz ou flash e dependente da cor e comprimento do cabelo. Além disso, as classificações clínicas têm categorias estanques cuja modificação com o tratamento não é observada de forma rápida, aludindo à necessidade de se dispor de um instrumento objetivo e sensível a mudanças sutis do volume e densidade dos cabelos.(38)

Alguns estudos mostraram elementos tricoscópicos relacionados com a gravidade da APF, porém, não foi desenvolvido, até o momento, um escore validado com esses parâmetros. O que, potencialmente, traria objetividade e sensibilidade à mudança, favorecendo o monitoramento e agilizando a análise de desfechos em ensaios clínicos.

## Referências:

1. Ramos PM, Miot HA. Female pattern hair loss: A clinical and pathophysiological review. *An Bras Dermatol*. 2015;90(4):529–43.
2. Norwood OT. Incidence of female androgenetic alopecia (female pattern alopecia). *Dermatologic Surg*. 2001;27(1):53–4.
3. Shapiro J. Hair Loss in Women. *N Engl J Med*. 2007;357:1620–30.
4. Olsen EA. Female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45(3):S70–80.
5. Schmitt JV, Ribeiro CF, Souza FHM, Siqueira EBD, Bebbler FRL. Hair loss perception and symptoms of depression in female outpatients attending a general dermatology clinic. *An Bras Dermatol*. 2012;87(3):412–7.
6. Epstein FH, Paus R, Cotsarelis G. The Biology of Hair Follicles. *N Engl J Med*. 1999;341(7):491–7.
7. Rebora A, Guarrera M. Kenogen. A new phase of the hair cycle? *Dermatology*. 2002;205:108–10.
8. Kaufman KD. Androgens and alopecia. *Mol Cell Endocrinol*. 2002;198:89–95.
9. Mahé YF, Michelet JF, Billoni N, Jarrousse F, Buan B, Commo S, et al. Androgenetic alopecia and microinflammation. *Int J Dermatol*. 2000;39:576–84.
10. Bergfeld WF. Androgenetic alopecia: An autosomal dominant disorder. *Am J Med*. 1995;98:95S–98S.
11. Blume-Peytavi U, Blumeyer A, Tosti A, Finner A, Marmol V, Trakatelli M, et al. S1 guideline for diagnostic evaluation in androgenetic alopecia in men, women and adolescents. *Br J Dermatol*. 2011;164:5–15.
12. Bhamla SA, Dhurat RS, Saraogi PP. Is trichoscopy a reliable tool to diagnose early female pattern hair loss? *Int J Trichology* 2013;5(3):121–5.
13. Ramos LD, Santili MCN, Bezerra FC, Ruiz MFMA, Petri V, Patriarca MT. Dermoscopic findings in female androgenetic alopecia. *An Bras Dermatol*. 2012;87(5):691–4.
14. Kibar M, Aktan Ş, Bilgin M. Scalp Dermatoscopic Findings in Androgenetic Alopecia and Their Relations with Disease Severity. *Ann Dermatol*. 2014;26(4):478–84.
15. Miteva M, Tosti A. Hair and scalp dermatoscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(5):1040–8.
16. Galliker N, Trüeb R. Value of trichoscopy versus trichogram for diagnosis of female androgenetic alopecia. *Int J Trichology*. 2012;4(1):19–22.
17. Ramos PM, Brianezi G, Martins ACP, da Silva MG, Marques MEA, Miot HA. Apoptosis in follicles of individuals with female pattern hair loss is associated with perifollicular microinflammation. *Int J Cosmet Sci*. 2016;38(6):651–4.
18. Kelly Y, Blanco A, Tosti A. Androgenetic Alopecia: An Update of Treatment Options. *Drugs*. 2016;76(14):1349–64.
19. Adil A, Godwin M. The effectiveness of treatments for androgenetic alopecia: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(1):136–141.e5.
20. van Zuuren EJ, Fedorowicz Z, Schoones J. Interventions for female pattern hair loss (Review). *Cochrane Libr*. 2016;(5).
21. Rakowska A. Trichoscopy (hair and scalp videodermoscopy) in the healthy female. Method standardization and norms for measurable parameters. *J Dermatol Case Rep*. 2009;3(1):14–9.
22. Hu R, Xu F, Han Y, Sheng Y, Qi S, Miao Y, et al. Trichoscopic findings of androgenetic alopecia and their association with disease severity. *J Dermatol*. 2015;42(6):602–7.
23. Inui S, Nakajima T, Itami S. Scalp dermoscopy of androgenetic alopecia in Asian people. *J Dermatol*. 2009;36(2):82–5.
24. Jain N, Doshi B, Khopkar U. Trichoscopy in alopecias: Diagnosis simplified. *Int J Trichol*. 2013;5:170–8.
25. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A, Slowinska M. Trichoscopy update 2011. *J Dermatol Case Rep*. 2011;5(4):82–8.
26. Lacarrubba F, Micali G, Tosti A. Scalp dermoscopy or trichoscopy. *Curr Probl Dermatology*. 2015;47:21–32.
27. Mubki T, Rudnicka L, Olszewska M, Shapiro J. Evaluation and diagnosis of the hair loss patient: part II. Trichoscopic and laboratory evaluations. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(3):431.e1–431.e11.
28. Elghblawi E. Frontier in hair loss and trichoscopy : A review. *J Surg Dermatol*. 2016;1(2):80–96.
29. Zhang X, Zhao Y, Zhang B, Caulloo S, Cai Z, Yang J. Female pattern hair loss: Clinico-laboratory findings

- and trichoscopy depending on disease severity. *Int J Trichology*. 2012;4(1):23-8.
30. Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E, Olszewska M, Rudnicka L. Dermoscopy in female androgenic alopecia: Method standardization and diagnostic criteria. *Int J Trichology*. 2009;1(2):123-30.
  31. Herskovitz I, de Sousa IC VD, Tosti A. Vellus hairs in the frontal scalp in early female pattern hair loss. *Int J Trichology*. 2013;5(3):118–20.
  32. Ludwig E. Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *Br J Dermatol*. 1977;97(3):247–54.
  33. 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(2):189–99.
  34. Biondo S, Goble D, Sinclair R. Women who present with female pattern hair loss tend to underestimate the severity of their hair loss. *Br J Dermatol*. 2004;150(4):750–2.
  35. Olsen EA. Current and novel methods for assessing efficacy of hair growth promoters in pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(2 Suppl.):253–62.
  36. Lee WS, Ro BI, Hong SP, Bak H, Sim WY, Kim DW, et al. A new classification of pattern hair loss that is universal for men and women: Basic and specific (BASP) classification. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(1):37–46.
  37. Harries M, Tosti A, Bergfeld W, Blume-Peytavi U, Shapiro J, Lutz G, et al. Towards a consensus on how to diagnose and quantify female pattern hair loss - The “Female Pattern Hair Loss Severity Index (FPHL-SI).” *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2016;30(4):667–76.
  38. Kaliyadan F, Nambiar A, Vijayaraghavan S. Androgenetic alopecia: An update. *Indian J Dermatology, Venereol Leprol*. 2013;79(5):613-25.

## **2. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

- Desenvolver e validar um escore dermatoscópico de gravidade da APF.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Quantificar a prevalência das alterações dermatoscópicas na APF.
- Correlacionar a presença dos achados dermatoscópicos com a gravidade clínica da APF.
- Avaliar a estabilidade temporal do escore de gravidade criado.

### 3. MANUSCRITO

**Publicação (formato):** Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology

**Seção:** Artigo original

**Título:** Desenvolvimento e validação de um escore dermatoscópico de gravidade da alopecia de padrão feminino.

**Running head:** Escore dermatoscópico da alopecia de padrão feminino.

**Counting:** words = 2670 ; tables = 3; figures = 8

**Autores:** MA Penha<sup>1</sup>, PM Ramos<sup>1</sup>, V Souza<sup>1</sup>, HA Miot<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Dermatologia e Radioterapia, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

**Autor correspondente:**

Hélio Amante Miot

Departamento de Dermatologia e Radioterapia

Faculdade de Medicina de Botucatu - Unesp

Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n

Rubião Júnior, Botucatu/SP, Brasil, 18618-970

E-mail: [heliomiot@fmb.unesp.br](mailto:heliomiot@fmb.unesp.br)

**Financiamento:** FUNADERSP

**Conflito de interesse:** Nenhum.

## RESUMO

**Fundamentos:** Alopecia de padrão feminino (APF) é doença crônica frequente, que inflige prejuízo à qualidade de vida e cujos tratamentos levam a melhoras tênues, com difícil percepção clínica a curto prazo. Apesar da prevalência e impacto na qualidade de vida, não há métodos de avaliação objetivos e sensíveis para estimar sua gravidade.

**Objetivos:** Desenvolver um escore dermatoscópico de gravidade da APF.

**Métodos:** Estudo transversal, envolvendo 76 mulheres com APF e 12 controles. Além de dados clínico-demográficos, capturaram-se fotos dermatoscópicas padronizadas de 1 cm<sup>2</sup> do couro cabeludo (frontal e occipital) para avaliar os principais achados da APF. As variáveis foram selecionadas por técnicas multivariadas e seus pesos definidos por modelo linear generalizado. Vinte participantes foram retestadas. Validação externa e avaliação de responsividade do escore foram realizadas com base na medida de 10 pacientes que mostraram melhora com uso de minoxidil oral 1mg/d por 6 meses.

**Resultado:** Entre as portadoras de APF, 8 (11%) apresentavam classificação de Sinclair grau 1, 40 (53%) 2, 19 (25%) 3, 9 (12%) 4 e 5. Foram aferidos 22 achados dermatoscópicos que compuseram 32 variáveis. À exploração multivariada, as variáveis que resultaram contribuição significativa para o escore foram: número de fios terminais, número de fios miniaturizados, sinal peripilar, rede pigmentada, halo branco, ponto amarelo; todos achados oriundos da avaliação frontal. O modelo final apresentou correlação ( $\rho$ ) de 0,89 com a ordenação clínica da gravidade da doença. O reteste resultou coeficiente de correlação intraclassa (ICC) 0,98 ( $p < 0,01$ ).

**Conclusão:** Um escore objetivo e reprodutível de gravidade de APF foi criado e validado, permitindo seu uso como desfecho em ensaios terapêuticos.

**Palavras-chave:** Dermatoscopia, Alopecia, Gravidade do paciente, Índice de gravidade de doença, Dermatologia.

## Introdução

Alopecia de padrão feminino (APF) decorre da progressiva miniaturização de folículos pilosos e posterior diminuição na sua densidade, principalmente nas regiões central, frontal e parietal do couro cabeludo. Apresenta caráter crônico e resposta inconstante ao tratamento, comprometendo a imagem corporal e autoestima, que impactam na qualidade de vida. APF afeta principalmente mulheres caucasoides, adultas com aumento da prevalência em função da idade.(1,2)

A redução da espessura dos fios e diminuição da densidade capilar reduzem o volume global dos cabelos, constituindo-se a principal manifestação clínica da doença. Existem algumas classificações clínicas da APF, como Ludwig, Sinclair, Olsen, Hamilton-Norwood, BASP (*basic and specific*), porém, que não quantificam, com precisão, a gravidade da APF.(3–7)

Harries e colaboradores estabeleceram, em consenso, um escore de gravidade da APF visando realização de diagnóstico precoce e melhor monitorização dos casos tratados. Os autores o compuseram a partir de critérios clínicos e dermatoscópicos: escala de queda de cabelo de Sinclair, teste de tração, escala de Sinclair de densidade capilar, diversidade de diâmetro dos fios (menor ou maior que 20%), além da análise de folículos únicos e triplos das regiões occipital e frontal. A escala resultante sugere doença improvável, precoce ou avançada. Entretanto, este escore ainda não foi testado ou validado clinicamente.(8)

Os achados dermatoscópicos encontrados na APF auxiliam seu diagnóstico, com a vantagem de ser um método não invasivo, rápido e de baixo custo. As principais características dermatoscópicas encontradas na APF são a anisotriquia (heterogeneidade da espessura dos fios), com aumento do número de fios miniaturizados (principalmente na região frontoparietal); diminuição do número de fios por unidade folicular; sinal peripilar; pontos amarelos, vasos arboriformes, atriquia focal e rede pigmentada. Acredita-se que os achados dermatoscópicos possam caracterizar diferentes fases da doença. (9–21)

Há a necessidade de se dispor de um instrumento não invasivo, objetivo e sensível a mudanças sutis do volume e densidade dos cabelos, especialmente, para monitorização dos desfechos em ensaios clínico, uma vez que a padronização das documentações fotográficas no couro cabeludo é pouco reprodutível, a classificação clínica dispõe de categorias estanques cuja modificação com o tratamento não é percebida de forma rápida. Ainda, a contagem da densidade folicular com diferencial entre fios terminais e miniaturizados depende da raspagem de área do

couro cabeludo, e, por fim, o estudo histopatológico é invasivo e de maior custo para realização diagnóstica.(8)

Este trabalho objetivou desenvolver e validar um escore dermatoscópico de gravidade da APF (EDGAPF).

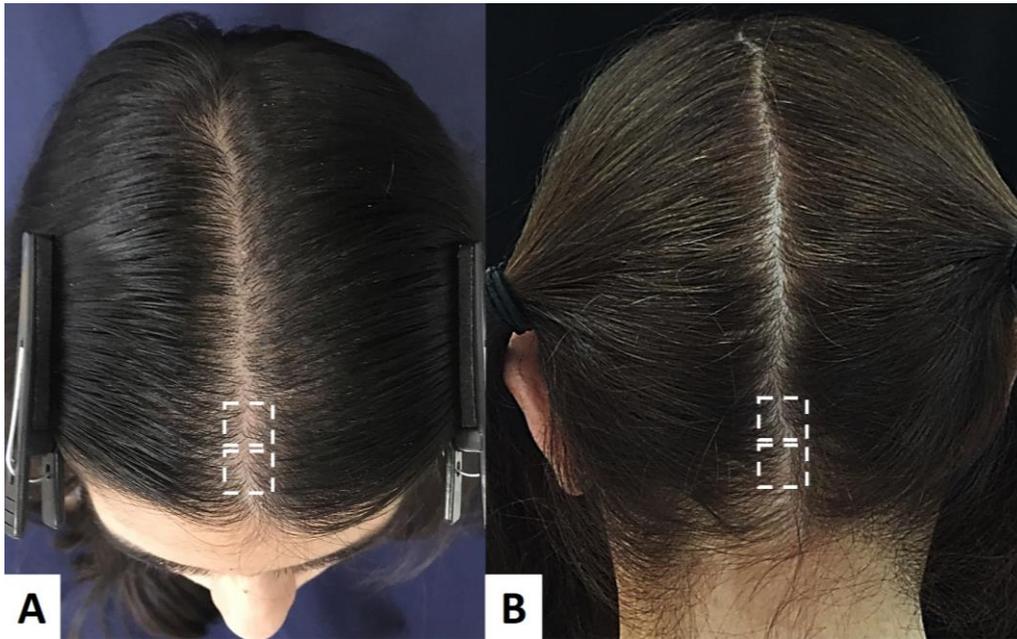
### **Material e Métodos**

Estudo transversal, conduzido entre fevereiro 2017 e maio de 2018. Foram elegíveis mulheres em diferentes estágios de APF (em tratamento ou não) e controles, esclarecidas e concordantes em participar da pesquisa, durante sua permanência no HC-Unesp (Botucatu-SP, Brasil) para consulta, trabalho ou internação.

O diagnóstico de APF se baseou na presença de 20% ou mais fios miniaturizados ao exame dermatoscópico da região frontal.(19,22,23) Não foram incluídas mulheres de fototipo V-VI, pela dificuldade da avaliação dermatoscópica de alterações do couro cabeludo; com grande quantidade de cabelos brancos (não tingidos), pela possível confusão com alopecia senil e diferenciação com fios velus; com outros tipos de alopecia ou outras dermatoses do couro cabeludo.

O projeto foi aprovado pela comissão de ética em pesquisa institucional (no. 1.682.465) e as entrevistas ocorreram após consentimento dos participantes (Anexos 1 e 2).

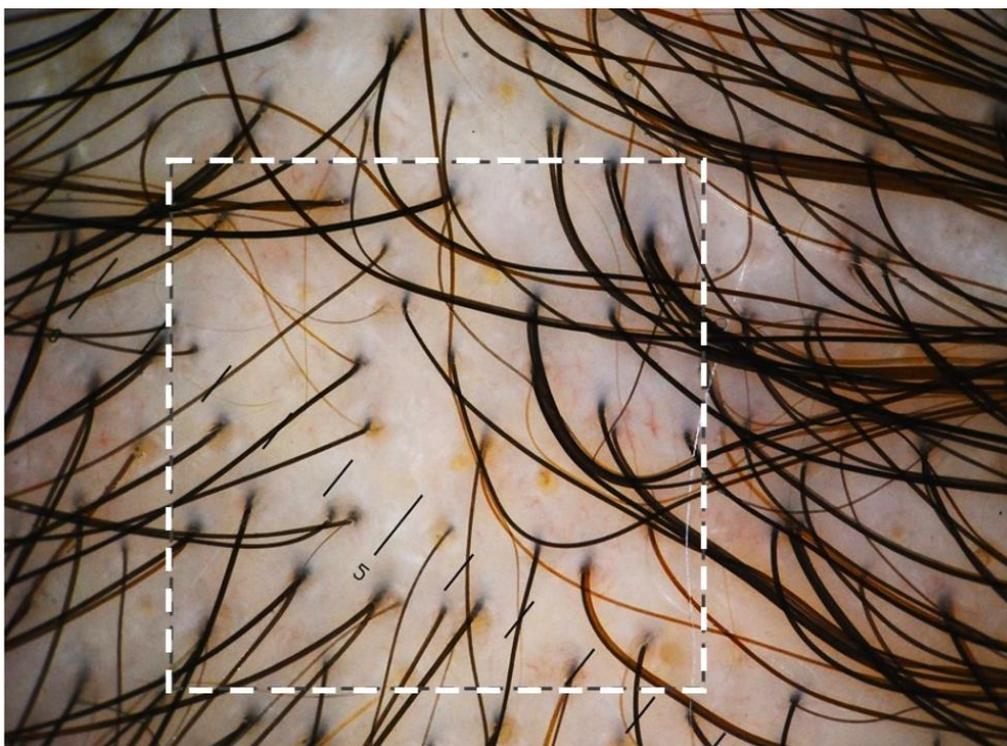
Além do questionário clínico-demográfico (Anexo 3), foi realizada foto clínica a 90° da região do vértex de cada participante e quatro fotos dermatoscópicas (Delta 20, Heine, Alemanha acoplado a Nikon D80, com gel de contato) de áreas padronizadas do couro cabeludo: frontal central a 2 cm e 3 cm do início da implantação; e occipital central a 2 cm e 3 cm antes do final da implantação dos cabelos (Figura 1).



**Figura 1.** Representação das áreas amostradas para o estudo. (Imagem dos autores)

As imagens clínicas foram avaliadas, cegamente, por três dermatologistas experientes quanto à classificação de Sinclair de densidade capilar (1 a 5) e submetidas à ordenação quanto à gravidade das alopecias.

Após uma fase de treinamento com avaliação consensual dos achados dermatoscópicos por três dermatologistas experientes, as imagens dermatoscópicas (aumento de 10x) foram avaliadas, pelo pesquisador principal (MAP), e registrados os achados dos fios que apresentam o óstio folicular dentro da área referente a 0,5cm<sup>2</sup> de cada foto frontal e occipital. Os achados dermatoscópicos de cada área foram somados, resultando em uma análise de 1cm<sup>2</sup> da região frontal e 1cm<sup>2</sup> da região occipital do couro cabeludo (Figura 2).



**Figura 2.** Área central de 0.5 cm<sup>2</sup> padronizada para a contagem dos elementos dermatoscópicos do estudo. (Imagem dos autores)

Os achados dermatoscópicos dos 352 campos avaliados foram descritos de acordo com a gravidade da alopecia (Sinclair 1 a 5). Cada variável foi comparada, bivariadamente, quanto aos graus de alopecia, e as correlações entre as variáveis foram exploradas a fim de identificar agrupamentos de comportamento semelhante. Posteriormente, as variáveis dermatoscópicas foram avaliadas conjuntamente para a estimativa do escore de gravidade a partir de um modelo de PLS (*partial least squares*), foram mantidas no modelo final, uma variável pertencente a cada agrupamento, com o maior escore VIP (importância da variável na projeção).<sup>(24)</sup>

Os pesos de cada variável no escore final foram estimados a partir de um modelo linear generalizado com distribuição de probabilidade normal e função de ligação identidade. Foram mantidas apenas as variáveis que resultaram em  $p \leq 0,05$ , multivariado. O ajuste do modelo foi avaliado pelo valor de  $R^2$ , cujo desempenho esperado deve ser  $>0,70$ . O diagnóstico de colinearidade das variáveis foi avaliado pelo fator de inflacionamento da variância (VIF), sendo considerado não colinear se  $<2,5$ . A autocorrelação dos resíduos foi avaliada pelo teste de Durbin-

Watson, com valor desejado entre 1,5 e 2,5. A normalidade dos resíduos padronizados foi avaliada pelo diagrama de quantis (Q-Q plot).(25)

Dados categóricos e ordinais foram representados pelos percentuais. Variáveis quantitativas foram avaliadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk e representadas como médias e desvio-padrão ou mediana e quartis (p25-p75), se indicado.(26)

O comportamento das variáveis dermatoscópicas foi comparado bivariadamente quanto à gravidade clínica (escala de Sinclair) pelo teste de Jonckheere-Terpstra. As correlações bivariadas entre as variáveis foram exploradas pelo teste de Spearman e representadas por mapa térmico, com agrupamentos das variáveis de acordo com o método de Ward.(27)

A confiabilidade da escala foi avaliada a partir do coeficiente de correlação intraclasse (ICC) para concordância absoluta (misto de duas vias) a partir de duas imagens adjacentes de 0,5cm<sup>2</sup>. Espera-se que um instrumento consistente para aplicação clínica atinja um ICC maior que 0,90.(26,28)

Para avaliação de estabilidade temporal do EDGAPF criado, foram selecionados 20 participantes para refotografarem o couro cabeludo em um intervalo de tempo de até 30 dias. A reprodutibilidade dos escores foi estimada pelo ICC para concordância absoluta (misto de duas vias) e avaliada pelo diagrama de Bland-Altman.(26)

A validação externa e análise de responsividade do EDGAPF foi realizada a partir da avaliação de 10 pacientes com APF que participaram de ensaio clínico com minoxidil oral 1mg/d por seis meses (Registro de ensaio clínico REBEC: <http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-6c26hx/v1/>) e apresentaram melhora clínica e na contagem de fios. Os EDGAPF anteriores e após seis meses de tratamento foram comparados pelo teste t de Student para amostras dependentes.

Os dados foram analisados nos softwares IBM SPSS 25.0; Statistica v10 e R. Foi considerado significativo  $p \leq 0,05$ , bicaudal.

O dimensionamento amostral se baseou na estimativa máxima de sete variáveis compondo o modelo final, de acordo com a fórmula de Freeman ( $N=10*k+10$ ), necessitando de até 80 participantes, incluindo controles, visando a maximização discriminatória do instrumento.(29)

## Resultados

Avaliaram-se 88 mulheres: 76 com APF e 12 controles (<20% de fios miniaturizados frontais). Os principais dados clínicos e demográficos da amostra estão dispostos na Tabela 1, em destaque, 78% das mulheres com APF classificavam-se como estágios de Sinclair 2 e 3.

**Tabela 1.** Principais dados clínicos e demográficos das participantes do estudo (n=88).

Variáveis	Resultados
Idade (anos)*	47 (14,7)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	27,3 (5,2)
<b>Escolaridade**</b>	
Sem estudo	2 (2%)
Ensino fundamental	17 (19%)
Ensino médio	24 (27%)
Ensino superior	45 (51%)
<b>Fototipo (Fitzpatrick)**</b>	
I	7 (8%)
II	32 (36%)
III	37 (41%)
IV	13 (15%)
<b>Ascendência (referida)**</b>	
Europeia	75 (85%)
Africana	13 (15%)
Asiática	3 (3%)
Indígena	5 (6%)
Outra	2 (2%)
<b>Gestações#</b>	2 (0-3)
<b>Anticoncepcional oral**</b>	22 (25%)
<b>Menopausa**</b>	36 (41%)
<b>Idade de menarca (anos)*</b>	12,3 (1,5)
<b>Tabagismo**</b>	5 (6%)
<b>Escala de gravidade (Sinclair)**, a</b>	
1	8 (11%)
2	40 (53%)
3	19 (25%)
4	7 (9%)
5	2 (3%)

\* Média (desvio-padrão); \*\* n (%); # Mediana (p25-p75); <sup>a</sup> somente entre os casos de APF (n=76); IMC: Índice de massa corporal.

Foram aferidos 22 achados dermatoscópicos que compuseram 32 variáveis. Seu comportamento nos grupos está disposto na tabela 2. A maior parte das variáveis apresentou comportamento gradativamente progressivo, em função da classificação de gravidade ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Valores medianos das variáveis dermatoscópicas de acordo com os graus de gravidade clínica da APF e controles avaliados no estudo (n=88).

Variável	CTRL	Sinclair					p-valor*
		1	2	3	4	5	
PtoAmFr	0	0	2	3	17	16	<b>0,00</b>
PtoAmOcc	0	0	0	0	0	1	0,13
SinPeripFr	7	7	14	11	17	8	<b>0,03</b>
SinPerOcc	3	2	5	7	15	13	<b>0,00</b>
HaloBcFR	0	0	0	1	0	0	<b>0,00</b>
HaloBcOcc	0	0	0	0	0	0	0,26
AtriQFR	0	0	2	4	11	47	<b>0,00</b>
AtriQOcc	0	0	0	0	0	0	0,12
FavoFr	0	0	0	1	0	1	<b>0,00</b>
FavoOcc	0	0	0	0	0	0	0,11
ArborifFR	0	0	0	0	0	1	0,66
ArborifOcc	0	0	0	0	2	2	<b>0,02</b>
TriploFR	2	2	1	0	0	0	<b>0,00</b>
TriploOcc	7	7	3	1	3	2	<b>0,00</b>
DuploFR	28	20	18	11	7	2	<b>0,00</b>
DuploOcc	29	33	25	28	22	16	<b>0,00</b>
UnicoFR	72	83	61	65	69	32	0,30
UnicoOcc	17	23	27	38	30	28	<b>0,00</b>
TerminFR	106	103	78	55	42	12	<b>0,00</b>
TerminOcc	94	89	78	76	72	43	<b>0,00</b>
MiniatFr	15	27	30	37	42	23	<b>0,00</b>
MiniatOcc	11	14	15	20	13	22	<b>0,00</b>
MiniatFrOcc <sup>1</sup>	2,33	3,33	3,31	3,12	4,13	1,83	<b>0,02</b>
UnicoFrOcc <sup>1</sup>	2,67	3,33	2,19	1,57	2,30	1,15	<b>0,00</b>
DuploPorUnicoFr <sup>1</sup>	0,39	0,24	0,30	0,15	0,10	0,04	<b>0,00</b>
TotalFR	93	104	83	75	76	33	<b>0,00</b>
MultFR	29	22	19	11	7	2	<b>0,00</b>
MultOcc	38	37	30	29	26	18	<b>0,00</b>
PercMinFR <sup>1</sup>	0,12	0,20	0,30	0,41	0,51	0,60	<b>0,00</b>
MiniatPorTermFr <sup>1</sup>	0,13	0,26	0,41	0,68	0,98	1,95	<b>0,00</b>
MultiploPorUnicoFr <sup>1</sup>	0,44	0,27	0,31	0,16	0,10	0,04	<b>0,00</b>
PeripilarFrOcc	12	11	21	20	33	20	<b>0,00</b>

\* Teste de Jonckheere-Terpstra. <sup>1</sup>Resultado da relação entre duas variáveis primárias.

Legenda: CTRL – controles / PtoAmFr – ponto amarelo frontal / PtoAmOcc – ponto amarelo occipital / SinPeripFr – sinal peripilar frontal / SinPerOcc – sinal peripilar occipital / HaloBcFr – halo branco peripilar frontal / HaloBcOcc – halo branco peripilar occipital / AtriQFR – atriquia focal frontal / AtriQOcc – atriquia focal occipital / FavoFr – rede favo de mel frontal / FavoOcc – rede favo de mel occipital / ArborifFR – vasos arboriformes frontais / ArborifOcc – vasos arboriformes occipitais / TriploFR – folículo com 3 fios frontal / TriploOcc – folículo com 3 fios occipital / DuploFR – folículo com 2 fios frontal / DuploOcc – folículo com 2 fios occipital / UnicoFR – folículo com fio único frontal / UnicoOcc – folículo com fio único occipital / TerminFr – fios terminais frontais / TerminOcc – fios terminais occipitais / MiniatFr – fios miniaturizados frontais / MiniatOcc – fios miniaturizados occipitais / MiniatFrOcc – fios miniaturizados frontais por occipitais / UnicoFrOcc – folículos com fios únicos frontais por occipitais / DuploPorUnicoFr – folículos com fios duplos por fios únicos frontais / TotalFR – total de folículos frontais / MultFR – folículos com mais de um fio, frontal / MultOcc – folículos com mais de um fio, occipital / PercMinFR – percentual de fios miniaturizados frontais / MiniatPorTermFr – fios miniaturizados por fios terminais frontais / MultiploPorUnicoFr – folículo com mais de um fio por folículo com fio único frontal / PeripilarFrOcc – sinal peripilar frontal + occipital

As correlações entre as variáveis do estudo estão dispostas no mapa térmico da figura 3, correlações positivas são marcadas em castanho e as negativas, em azul. Identificaram-se nove agrupamentos de variáveis com comportamento semelhante pela técnica de clusters (Ward).

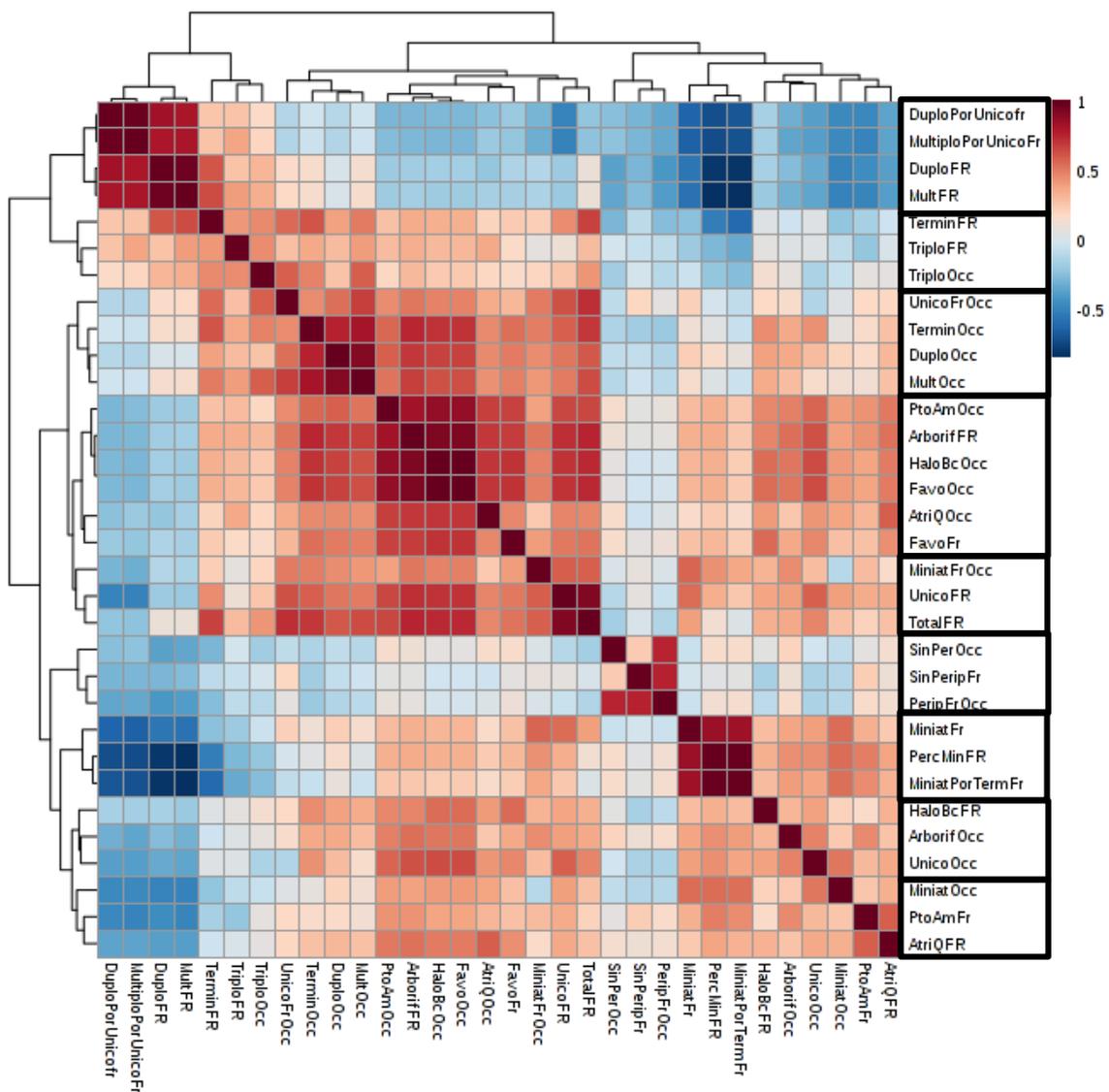


Figura 3. Mapa térmico das correlações (rho de Spearman) dos padrões de comportamento das 32 variáveis do estudo (n=88).

A exploração multivariada (PLS – *Partial Least Squares*), utilizando dois componentes (eigenvalue >1), identificou as contribuições das variáveis quanto à explicação de 72,5% da variabilidade de todo o modelo. Os escores de indicadores VIP estão dispostos no apêndice 2.

As variáveis com maior VIP, dentro dos nove agrupamentos identificados compuseram o modelo final (Quadro 1), e foram excluídas as que não se mostraram significativas ( $p > 0,05$ ). Os pesos para as variáveis do modelo final foram estimados por modelo linear generalizado. Quanto maior a estimativa do EDGAPF, mais grave a APF. Ao final das multiplicações dos pesos por cada variável, foi somado 1000 ao escore para que o valor não resulte negativo, e torne mais intuitivo o instrumento.

Foram excluídas as variáveis, “Total frontal”, “Múltiplo frontal” e “Terminal occipital” por não apresentarem significância multivariada ( $p > 0,1$ ), apesar da alta pontuação VIP para seu agrupamento. As variáveis do modelo final não demonstraram colinearidade ( $VIF < 1,7$ ), o teste de Durbin-Watson resultou 1,89, o ajuste  $R^2$  foi de 0,76, e os resíduos padronizados apresentaram comportamento normal (Apêndice 3).

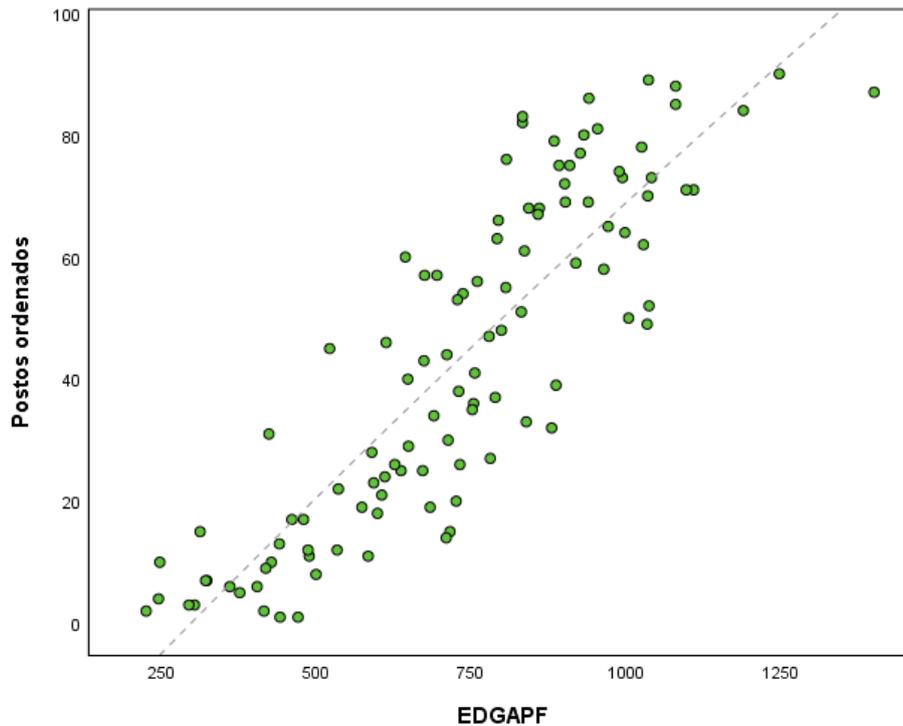
**Quadro 1.** Escala dermatoscópica de gravidade de alopecia de padrão feminino, baseada na soma dos achados de duas imagens de 0,5 cm<sup>2</sup> da região frontal (2 e 3 cm da margem capilar). A soma dos produtos das variáveis com os pesos deve ser acrescida de 1000 a fim do escore não resultar em valor negativo.

Variável	Fator de multiplicação	Total
Halos brancos frontais	x 5	
Rede em favo de mel frontal*	x 124	
Pontos amarelos frontais	x 5	
Sinais peripilares frontais	x 3	
Número de fios miniaturizados frontais	x 2	
Número de fios terminais frontais	x -6	
<b>SOMA</b>		

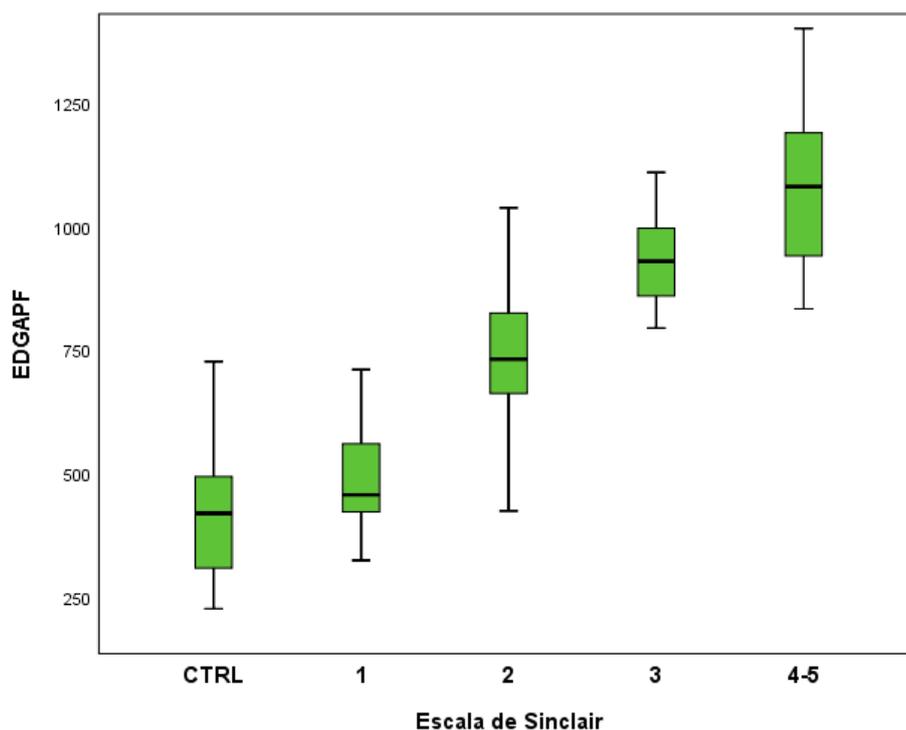
\* 1=sim, 0=não

Em exemplo, em um registro dermatoscópico de duas regiões frontais, que somem dois halos brancos, presença de rede pigmentar, quatro pontos amarelos, dois sinais peripilares, 35 fios miniaturizados e 40 fios terminais, resultaria em um EDGAPF:  $5 \cdot 2 + 124 \cdot 1 + 5 \cdot 4 + 3 \cdot 2 + 2 \cdot 35 - 6 \cdot 40 + 1000 = 990$ .

O modelo final apresentou alta correlação ( $\rho=0,89$  IC95% 0,84-0,92;  $p<0,01$ ) com a ordenação dos casos (Figura 4) e com a classificação Sinclair (Figura 5) ( $\rho=0,87$  IC95% 0,81-0,91;  $p<0,01$ ).



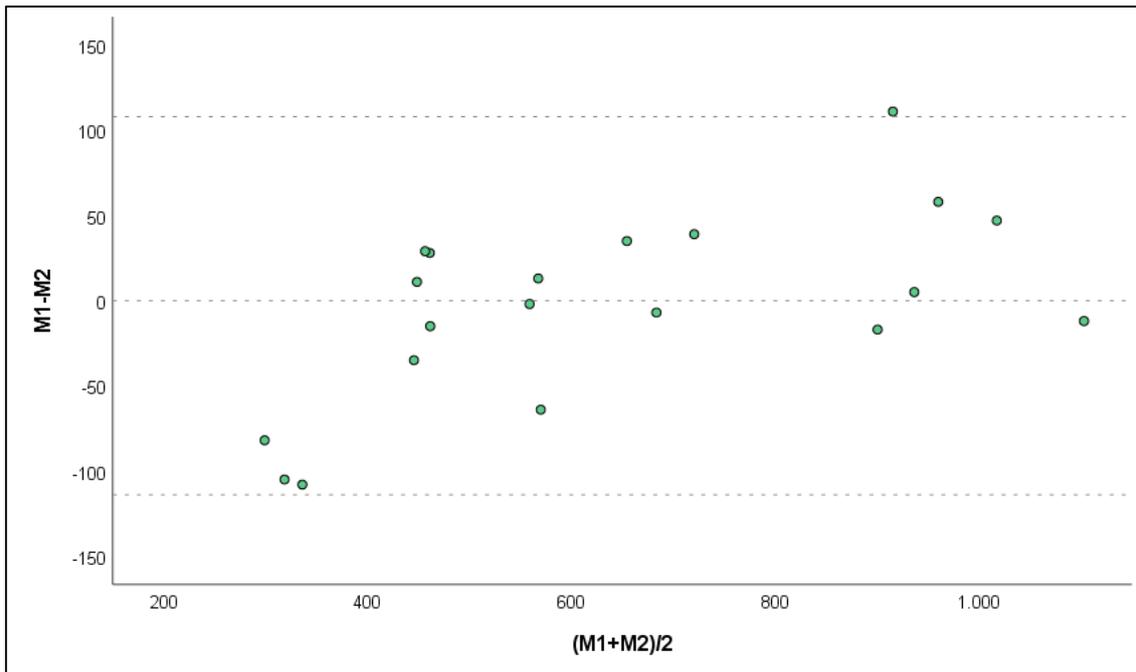
**Figura 4.** Diagrama de dispersão da correlação entre o escore dermatoscópico de gravidade da alopecia de padrão feminino e os postos de gravidade clínica (n=88).



**Figura 5.** Valores do escore dermatoscópico de gravidade da alopecia de padrão feminino de acordo com os graus da escala clínica de Sinclair (n=88).

Os escores estimados a partir da soma dos achados dermatoscópicos de duas imagens adjacentes de 0,5 cm<sup>2</sup> das 88 participantes, apresentou ICC de 0,88 (IC 95% 0,83-0,91) para as medidas únicas, e 0,94 (IC 95% 0,90-0,96), para as medidas médias (p<0,01), substanciando a superioridade do uso de dois campos frontais (1 cm<sup>2</sup>) para a estimativa da gravidade da APF.

O reteste com 20 pacientes, resultou em alta concordância ICC 0,98 (IC 95% 0,94-0,99; p<0,01) (Figura 6).



M1-M2: Diferença entre a Medida 1 e Medida 2  
 (M1+M2)/2: Média das medidas

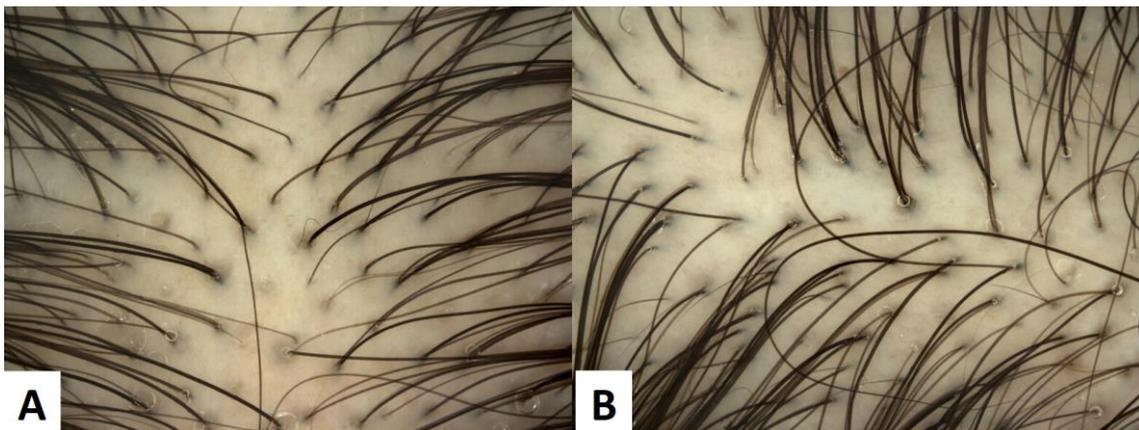
**Figura 6.** Diagrama de Bland-Altman dos valores da escala dermatoscópica de gravidade de APF: teste e reteste de APF (n=20).

A validação externa e sensibilidade à mudança (responsividade) foram avaliados a partir das estimativas dos EDGAPF de dez pacientes com APF sob uso oral de minoxidil 1mg, por seis meses. Todos os casos resultaram em redução do EDGAPF, as médias (desvios-padrões) dos escores prévios e após seis meses foram de: 1019 (116) e 961 (104) ( $p < 0,01$ ).

Em exemplo, paciente com APF sob uso oral de minoxidil 1mg por seis meses que apresentou leve melhora clínica que não modificou sua classificação na escala de Sinclair. Houve repercussão dermatoscópica discreta, porém, perceptível ao EDGAPF (Figuras 7 e 8).



**Figura 7.** Alopecia de padrão feminino. Fotografia panorâmica global: A. Antes do tratamento; B. Após seis meses de minoxidil oral 1mg/dia, evidenciando discreta melhora clínica.



**Figura 8.** Alopecia de padrão feminino. Fotografia dermatoscópica da região frontal: A. Antes do tratamento (score = 1073); B. Após seis meses de minoxidil oral 1mg/dia (score = 972).

## Discussão

O estudo resultou no desenvolvimento de um EDGAPF, composto pelas variáveis: número de fios terminais, número de fios miniaturizados, contagem de halos brancos perifoliculares, de sinais peripilares, pontos amarelos e presença de rede pigmentar em favo de mel. Todas oriundas da região frontal e de fácil identificação dermatoscópica.

A anisotriquia é a principal característica da APF, e tanto a quantidade de fios terminais quanto de fios miniaturizados na região frontal são elementos alterados precocemente, sendo sensíveis a alterações clínicas discretas, uma vez que nas mulheres com APF a fase anágena do

ciclo folicular é mais curta e a fase quenógena torna-se evidente. Os fios terminais dão lugar a fios miniaturizados que aumentam em número com a progressão da enfermidade.(1,30,31)

A redução do número de fios por folículo é bastante característica nas formas precoces de APF. Neste estudo, variáveis ligadas à politriquia (p.ex. “múltiplo frontal”) foram excluídas do modelo final por não incrementarem desempenho ao EDGAPF, uma vez que seus efeitos são superpostos pelo comportamento das contagens dos fios terminais e miniaturizados frontais.

Nas formas mais graves de APF, há uma redução simultânea das densidades de fios terminais e miniaturizados, interferindo com a linearidade da estimativa do modelo, que, nesses casos, depende da identificação de outras variáveis manifestas no couro cabeludo para o adequado comportamento do escore.

A rede em favo de mel na região frontal é um sinal de cronicidade da APF, uma vez que ocorre pela proliferação melanocítica decorrente da incidência direta da radiação UV no couro cabeludo.(9,11,20,32)

O halo branco peripilar frontal, em outros estudos, foi encontrado em graus mais avançados de APF e os autores correlacionaram sua existência com fibrose perifolicular e atrofia do couro cabeludo, sendo considerado um preditor de mau prognóstico. Esta estrutura torna-se mais evidente em couros cabeludo pigmentados, ou em meio às alterações pigmentares, como rede pigmentar em favo de mel (9,20).

Pontos amarelos caracterizam uma abertura folicular na qual não há mais o pelo terminal, entretanto, a glândula sebácea se mantém funcional. Dessa forma, a área folicular fica preenchida de queratina e sebo, formando, então, o ponto amarelo. É mais frequente na alopecia areata, mas também é encontrado na APF, em uma quantidade variável, especialmente, na doença mais avançada.(12,15,20,33)

O sinal peripilar representa maior atividade clínica da APF e se relaciona com a presença de inflamação do couro cabeludo. Há relato de associação de maior intensidade da APF quando está relacionado a fio único.(11) Do ponto de vista histopatológico, o sinal peripilar é caracterizado por infiltrado linfocítico perifolicular que se associa à apoptose folicular na APF.(30) A quantificação do sinal peripilar contribui na explicação da gravidade da APF em casos não tão avançados (p.ex. Sinclair 1-2), onde ainda há maior densidade de folículos.

A dermatoscopia do couro cabeludo, além de permitir avaliar a gravidade da APF de forma objetiva, possibilita o diagnóstico precoce, uma vez que várias pacientes classificadas como Sinclair 1 (cl clinicamente normais) possuem achados iniciais de uma forma leve de APF. Nesses casos, a instituição do tratamento precoce pode alterar o prognóstico da doença.(1)

O EDGAPF criado no presente estudo além de analisar características foliculares (fios miniaturizados e terminais), também avalia achados do couro cabeludo, como rede em favo de mel, sinal peripilar, ponto amarelo e halo branco pilar. O escore consensual proposto em 2015 por Harries e colaboradores usa achados foliculares (fios miniaturizados, únicos e triplos), além da escala de queda de cabelo e de densidade capilar de Sinclair, dando origem a um modelo, que ainda necessita de teste clínico e validação, assim como estabelecer a precisão quanto à sensibilidade à mudança e reprodutibilidade.(8)

As escalas clínicas de APF são baseadas no aspecto global do padrão de rarefação dos cabelos e da aparência do couro cabeludo. Como o volume capilar depende, majoritariamente, da densidade dos folículos e da espessura dos fios, as variáveis mais fortemente ligadas a essa correlação, se baseiam em características das estruturas foliculares. Nossa escala privilegiou esses elementos, entretanto, incluiu aspectos do couro cabeludo e ligados à fibrose/inflamação folicular, que podem revelar indícios de atividade subjacente, além da fase da APF.

As limitações do presente estudo se referem a elementos que reduzem a generalização dos achados, como: a modesta amostragem de participantes Sinclair 4 e 5 para compor o escore, o que é um reflexo da menor prevalência clínica dessas gravidades; a exclusão de participantes de fototipos elevados devido à dificuldade de avaliação dermatoscópica do couro cabeludo; assim como foram excluídas participantes com predominância de cabelos brancos, não somente pela dificuldade de contagem dos fios e estruturas, mas pela possibilidade de associação com alopecia senil e caracterização de pelos tipo velus. Foi usado o aumento do dermatoscópio, de 10 vezes, para análise dos achados dermatoscópicos, facilitando a reprodução do escore por aparelhos largamente disponíveis entre dermatologistas, entretanto algumas estruturas podem ser mais aparentes se avaliadas por imagens com aumento de 70 vezes.

O desempenho do EDGAPF desenvolvido pode depender do treinamento do avaliador e ser sensível a mudanças como as causadas pelo eflúvio telógeno, que ocorrem de forma intermitente durante o seguimento, ou ainda por outras alopecias concomitantes à APF. A amostragem de áreas maiores do campo dermatoscópico pode levar a maior representatividade das medidas, entretanto, a grande sobreposição de fios que ocorre nos casos leves de APF indica a amostragem de mais regiões para o reconhecimento de alterações do couro cabeludo (p.ex. sinal peripilar, pontos amarelos e brancos), em detrimento do aumento da área do campo dermatoscópico.

Finalmente, o estudo foi voltado ao desenvolvimento de um escore dermatoscópico da gravidade de APF. A avaliação de homens com alopecia androgenética será conduzida posteriormente.

Um EDGAPF foi criado e validado, por meio dos achados dermatoscópicos encontrados em diferentes graus da doença. Dessa forma, é possível avaliar a gravidade e o seguimento da APF de forma objetiva, cega e reprodutível, permitindo seu uso como desfecho em ensaios terapêuticos. Ademais, a inclusão de diferentes variáveis dermatoscópicas, permite a percepção do efeito de tratamentos sob diferentes aspectos fisiopatológicos da APF, não somente na densidade de fios.

**Agradecimentos:** Ao departamento de Dermatologia e Radioterapia da Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, que apoiou e permitiu que o estudo ocorresse. A FUNADERSP que financiou o trabalho.

#### Referências:

1. Ramos PM, Miot HA. Female pattern hair loss: A clinical and pathophysiological review. *An Bras Dermatol*. 2015;90(4):529–43.
2. Shimizu GKM, Wedy GF, Schaefer LV, Ramos PM, Miot HA. Translation to Portuguese language (Brazil), transcultural adaptation and validation of the quality of life questionnaire in female pattern alopecia (WAA-QoL-BP). *An Bras Dermatol*. 2018;93(5):701-6
3. Ludwig E. Classification of the types of androgenetic alopecia (common baldness) occurring in the female sex. *Br J Dermatol*. 1977;97(3):247–54.
4. Olsen EA. Current and novel methods for assessing efficacy of hair growth promoters in pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol*. 2003;48(2 Suppl.):253–62.
5. Biondo S, Goble D, Sinclair R. Women who present with female pattern hair loss tend to underestimate the severity of their hair loss. *Br J Dermatol*. 2004;150(4):750–2.
6. Norwood OT. Incidence of female androgenetic alopecia (female pattern alopecia). *Dermatologic Surg*. 2001;27(1):53–4.
7. Lee WS, Ro BI, Hong SP, Bak H, Sim WY, Kim DW, et al. A new classification of pattern hair loss that is universal for men and women: Basic and specific (BASP) classification. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(1):37–46.
8. Harries M, Tosti A, Bergfeld W, Blume-Peytavi U, Shapiro J, Lutz G, et al. Towards a consensus on how to diagnose and quantify female pattern hair loss - The “Female Pattern Hair Loss Severity Index (FPHL-SI).” *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2016;30(4):667–76.
9. Zhang X, Zhao Y, Zhang B, Caulloo S, Cai Z, Yang J. Female pattern hair loss: Clinico-laboratory findings and trichoscopy depending on disease severity. *Int J Trichology*. 2012;4(1):23-8.
10. Rakowska A. Trichoscopy (hair and scalp videodermoscopy) in the healthy female. Method standardization and norms for measurable parameters. *J Dermatol Case Rep*. 2009;3(1):14–9.
11. Kibar M, Aktan Ş, Bilgin M. Scalp Dermatoscopic Findings in Androgenetic Alopecia and Their Relations with Disease Severity. *Ann Dermatol*. 2014;26(4):478-84.
12. Miteva M, Tosti A. Hair and scalp dermatoscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67(5):1040–8.
13. Olsen EA, Whiting DA. Focal Atrichia: a diagnostic clue in female pattern hair loss. *J Am Acad Dermatol*. 2017 (ahead of print).
14. Inui S. Trichoscopy for common hair loss diseases: Algorithmic method for diagnosis. *J Dermatol*. 2011;38(1):71–5.
15. Jain N, Doshi B, Khopkar U. Trichoscopy in alopecias: Diagnosis simplified. *Int J Trichol*. 2013;5:170-8.
16. Galliker N, Trüeb R. Value of trichoscopy versus trichogram for diagnosis of female androgenetic alopecia. *Int J Trichology*. 2012;4(1):19-22.
17. Rudnicka L, Olszewska M, Rakowska A, Slowinska M. Trichoscopy update 2011. *J Dermatol Case Rep*. 2011;5(4):82–8.

18. Lacarrubba F, Micali G, Tosti A. Scalp dermoscopy or trichoscopy. *Curr Probl Dermatol*. 2015;47:21–32.
19. Bhamla SA, Dhurat RS, Saraogi PP. Is trichoscopy a reliable tool to diagnose early female pattern hair loss? *Int J Trichology* 2013;5(3):121–5.
20. Hu R, Xu F, Han Y, Sheng Y, Qi S, Miao Y, et al. Trichoscopic findings of androgenetic alopecia and their association with disease severity. *J Dermatol*. 2015;42(6):602–7.
21. Rakowska A, Slowinska M, Kowalska-Oledzka E, Olszewska M, Rudnicka L. Dermoscopy in female androgenic alopecia: Method standardization and diagnostic criteria. *Int J Trichology*. 2009;1(2):123-30.
22. de Lacharrière O, Deloche C, Misciali C, Piraccini BM, Vincenzi C, Bastien P, et al. Hair diameter diversity: A clinical sign reflecting the follicle miniaturization. *Arch Dermatol*. 2001;137(5):641–6.
23. Kaliyadan F, Nambiar A, Vijayaraghavan S. Androgenetic alopecia: An update. *Indian J Dermatology, Venereol Leprol*. 2013;79(5):613-25.
24. Song W, Wang H, Maguire P, Nibouche O. Nearest clusters based partial least squares discriminant analysis for the classification of spectral data. *Anal Chim Acta*. 2018;1009:27–38.
25. Kutner MH, Nachtsheim C, Neter J. *Applied linear regression models*: McGraw-Hill/Irwin; 2004.
26. Miot HA. Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras*. 2016;15(2):89–92.
27. Miot, HA. Análise de correlação em estudos clínicos e experimentais. *J Vasc Bras* 2018; (ahead of print).
28. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. 2016;15(2):155–63.
29. Katz MH. *Multivariable analysis: a practical guide for clinicians and public health researchers*: Cambridge university press; 2011
30. Ramos PM, Brianezi G, Martins ACP, da Silva MG, Marques MEA, Miot HA. Apoptosis in follicles of individuals with female pattern hair loss is associated with perifollicular microinflammation. *Int J Cosmet Sci*. 2016;38(6):651–4.
31. Rebora A, Guarrera M. Kenogen. A new phase of the hair cycle? *Dermatology*. 2002;205:108–10.
32. Ramos LD, Santili MCN, Bezerra FC, Ruiz MFMA, Petri V, Patriarca MT. Dermoscopic findings in female androgenetic alopecia. *An Bras Dermatol*. 2012;87(5):691–4.
33. Mubki T, Rudnicka L, Olszewska M, Shapiro J. Evaluation and diagnosis of the hair loss patient: part II. Trichoscopic and laboratory evaluations. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71(3):431.e1-431.e11

#### **4. CONCLUSÕES**

Um escore dermatoscópico de gravidade de APF foi desenvolvido e validado, por meio dos achados tricoscópicos encontrados em cada graduação da doença.

Descreveu-se o comportamento de diferentes variáveis dermatoscópicas em relação aos estágios de APF.

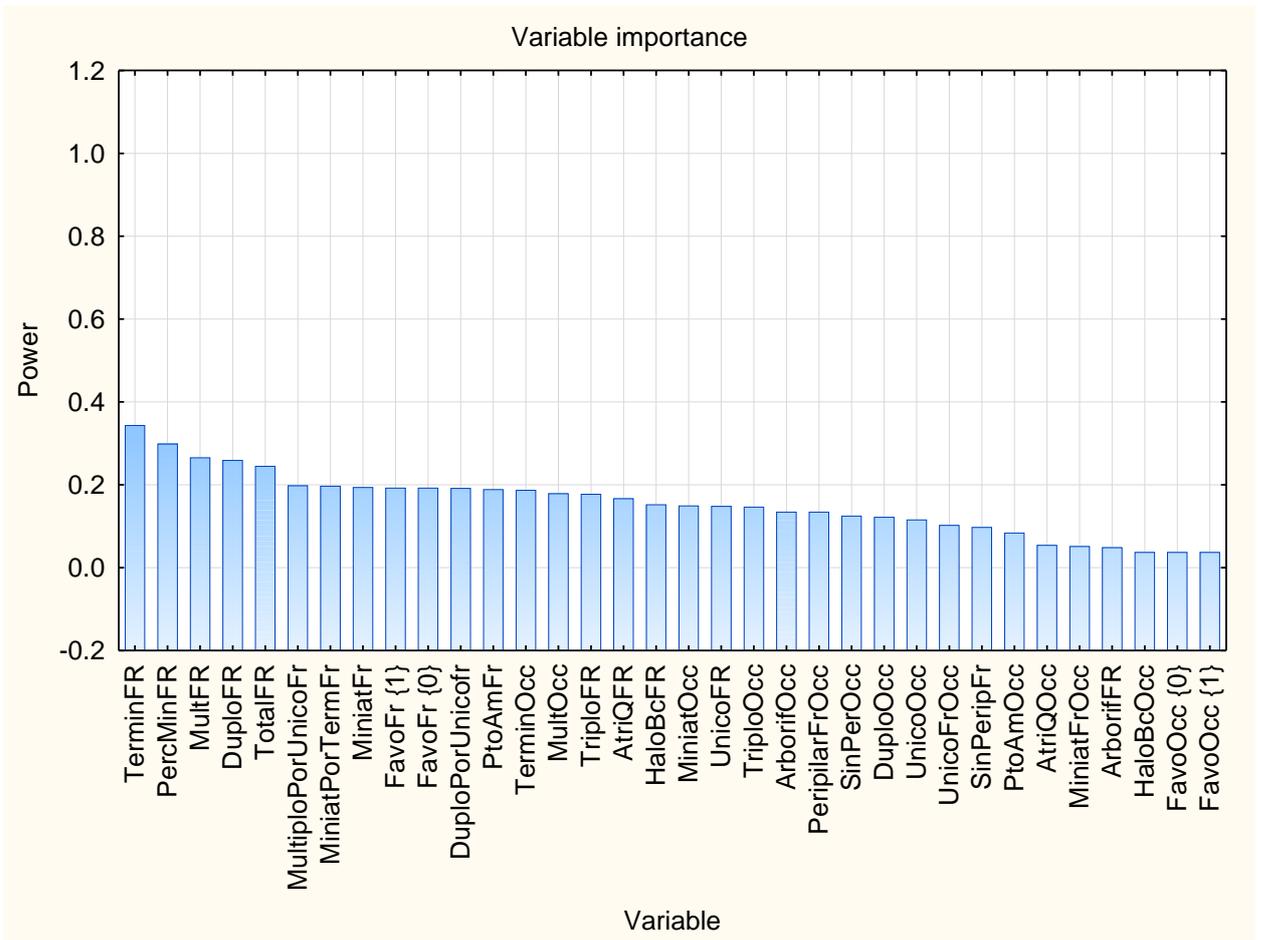
O escore desenvolvido mostrou sensibilidade à mudança da gravidade clínica e adequada estabilidade temporal.

## 5. APÊNDICES

**Apêndice 1.** Valores medianos e quartis das variáveis tricoscópicas de acordo com os graus de gravidade clínica (n=88).

	CONTROLE			1			2			3			4-5		
	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75	Mediana	P25	P75
PtoAmFr	0	0	3	1	0	5	3	1	6	2	0	6	17	5	26
PtoAmOcc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SinPeripFr	8	4	16	13	4	19	14	9	21	11	8	16	17	12	35
SinPerOcc	4	0	13	3	0	6	5	2	11	7	4	14	15	9	18
HaloBcFR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	6	0	0	7
HaloBcOcc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AtriQFR	0	0	4	0	0	2	1	0	4	4	1	9	11	1	19
AtriQOcc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
FavoFr	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	0	2	0	0	2
FavoOcc	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ArborifFR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ArborifOcc	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	2	2
TriploFR	1	0	4	2	1	4	0	0	2	0	0	1	0	0	0
TriploOcc	7	5	13	6	4	8	3	2	6	1	0	2	3	1	4
DuploFR	23	13	32	21	15	28	16	13	24	10	6	16	7	3	11
DuploOcc	27	25	32	32	25	35	25	22	31	28	19	31	22	15	31
UnicoFR	73	45	84	69	55	88	59	50	76	65	54	69	69	52	81
UnicoOcc	22	14	29	21	17	25	27	21	39	39	31	50	30	14	38
TerminFR	101	93	123	101	90	109	75	61	83	55	37	68	42	17	55
TerminOcc	88	85	96	88	78	97	74	66	87	76	66	86	72	58	90
MiniatFr	13	9	17	25	17	28	32	24	37	38	25	44	42	28	44
MiniatOcc	11	5	14	13	11	16	15	12	22	20	17	28	13	10	22
MiniatFrOcc	2,18	1,89	3,05	3,76	2,63	4,50	3,31	2,74	4,82	3,18	2,35	4,00	4,13	3,69	7,23
UnicoFrOcc	4,85	4,33	11,43	6,88	4,77	8,30	4,23	2,72	6,13	3,03	2,46	3,95	4,41	2,69	9,05
DuploPorUnicoFr	0,64	0,31	1,38	0,55	0,38	0,79	0,54	0,37	0,87	0,30	0,21	0,50	0,20	0,12	0,32
TotalFR	92	76	112	93	77	114	83	68	92	75	63	83	76	66	85
MultFR	26	14	33	22	17	32	17	14	25	10	6	17	7	3	11
MultOcc	36	33	40	37	35	40	30	24	36	29	20	36	26	19	34
PercMinFR	0,23	0,18	0,28	0,37	0,32	0,43	0,59	0,48	0,74	0,81	0,58	0,94	1,03	0,82	1,23
MiniatPorTermFr	0,13	0,10	0,16	0,24	0,20	0,28	0,41	0,32	0,60	0,69	0,41	0,89	0,98	0,69	1,65
MultiploPorUnicoFr	0,35	0,18	0,74	0,35	0,19	0,44	0,30	0,19	0,43	0,15	0,10	0,27	0,10	0,06	0,16
PeripilarFrOcc	12	7	25	13	7	25	21	15	31	20	10	28	33	26	44

**Apêndice 2.** Ordenação das variáveis quanto a sua importância para o desenvolvimento do score. VIP (importância da variável na projeção) calculado a partir de modelo PLS (*Partial Least Squares*) com dois componentes.



### Apêndice 3. Modelo linear generalizado para estimativa dos escores.

Informações do modelo	
Variável dependente	PostosCOMreteste
Distribuição de probabilidade	Normal
Função de ligação	Identidade

Informações variáveis contínuas						
		N	Mínimo	Máximo	Média	Erro Desvio
Variável dependente	PostosCOMreteste	107	1,00	90,00	43,0280	27,16354
Covariável	PtoAmFr	107	0	31	3,88	5,728
	HaloBcFR	107	0	43	2,58	7,289
	SinPeripFr	107	0	49	13,64	10,267
	TotalFR	107	20	154	83,64	20,773
	FavoFr	107	0	1	0,38	0,488
	TerminFR	107	9	140	74,52	30,353
	MiniatFr	107	5	76	29,40	12,572

Qualidade de ajustamento <sup>a</sup>			
	Valor	gl	Valor/df
Desvio	19065,799	100	190,658
Desvio dimensionado	107,000	100	
Qui-quadrado de Pearson	19065,799	100	190,658
Qui-quadrado de Pearson dimensionado	107,000	100	
Verossimilhança de log <sup>b</sup>	-429,107		
Critério de Informações de Akaike (AIC)	874,215		
AIC corrigido de amostra finita (AICC)	875,684		
Critério de informações Bayesiano (BIC)	895,597		
AIC consistente (CAIC)	903,597		

Variável Dependente: PostosCOMreteste

Modelo: (Intercepto), HaloBcFR, FavoFr, MiniatFr, TerminFR, SinPeripFr, PtoAmFr

Teste de Omnibus <sup>a</sup>		
Qui-quadrado de razão		
de verossimilhança	gl	Sig.
151,035	6	0,000

**Estimativas de Parâmetro**

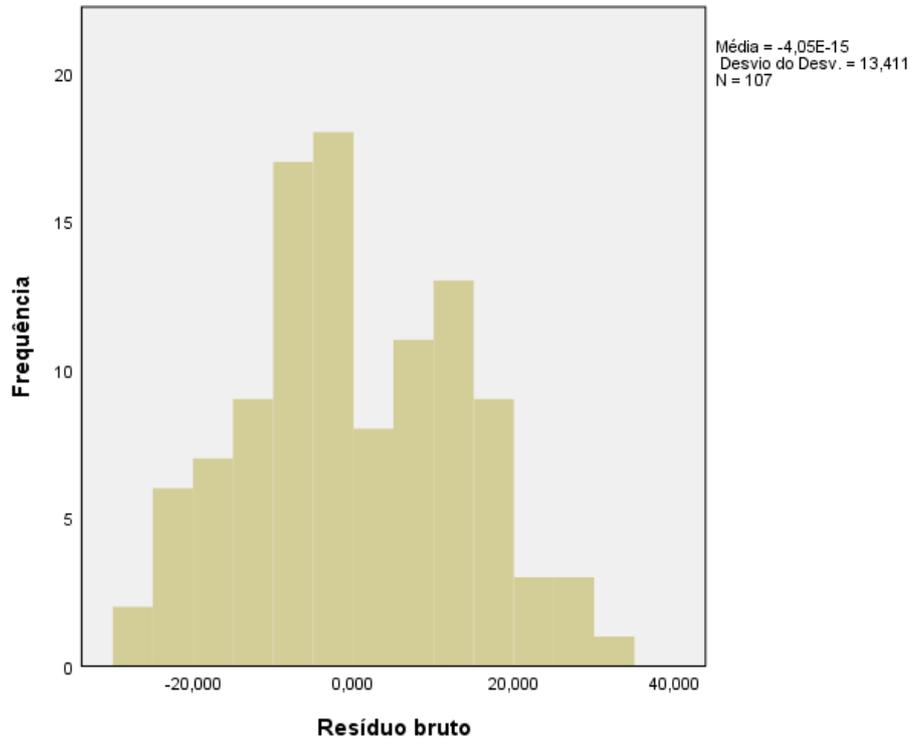
Parâmetro	B	Erro Padrão	95% Intervalo de Confiança de Wald		Teste de hipótese		
			Inferior	Superior	Qui-quadrado de Wald	gl	Sig.
(Intercepto)	67,585	7,1608	53,550	81,620	89,080	1	0,000
HaloBcFR	0,495	0,1985	0,106	0,884	6,219	1	0,000
FavoFr	12,430	2,9349	6,678	18,182	17,938	1	0,000
MiniatFr	0,200	0,1252	-0,045	0,445	2,555	1	0,000
TerminFR	-0,572	0,0550	-0,680	-0,464	108,226	1	0,000
SinPeripFr	0,302	0,1338	0,040	0,564	5,100	1	0,017
PtoAmFr	0,527	0,2576	0,022	1,032	4,178	1	0,041
(Escala)	178,185 <sup>a</sup>	24,3610	136,300	232,941			

Variável Dependente: PostosCOMreteste

Modelo: (Intercepto), HaloBcFR, FavoFr, MiniatFr, TerminFR, SinPeripFr, PtoAmFr

a. Estimativa de máxima verossimilhança.

### Distribuição dos resíduos do modelo

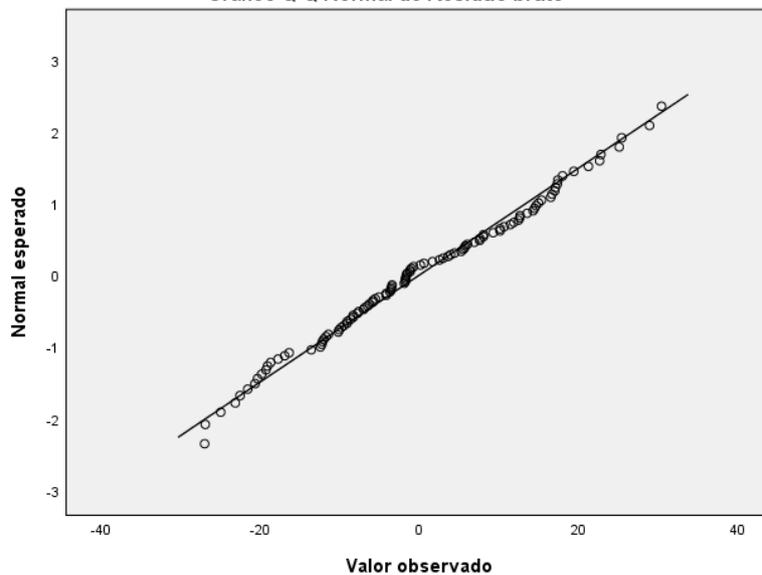


### Testes de Normalidade

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Estatística	df	Sig.	Estatística	df	Sig.
Resíduo bruto	0,074	107	0,194	0,985	107	0,298

a. Correlação de Significância de Lilliefors

### Gráfico Q-Q Normal de Resíduo bruto



## 6. ANEXOS

### **Anexo 1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** (TERMINOLOGIA OBRIGATORIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 466/12-CNS-MS)

Você foi convidada a participar de uma pesquisa chamada “DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM ESCORE DERMATOSCÓPICO DE GRAVIDADE DA ALOPECIA DE PADRÃO FEMININO” que pretende avaliar achados dermatoscópicos no couro cabeludo em pacientes com alopecia do padrão feminino (APF); desenvolvida pela Dra. Mariana Penha e Prof. Hélio Miot, médicos do Departamento de Dermatologia da Unesp.

A pesquisa consta da realização de um questionário aplicado pelo investigador com duração de 5 minutos, contendo algumas perguntas sobre você, seus hábitos e doenças, garantindo que seu nome e outros dados não sejam divulgados.

Após, será necessário tirar fotos de diferentes regiões do seu couro cabeludo.

Com a análise desses dados, será possível avaliar: a frequência dos achados microscópicos em pacientes com APF e descrever características clínicas e epidemiológicas relevantes para a doença em estudo.

Espera-se que, com esses achados seja possível desenvolver um escore de avaliação da gravidade de APF, o que facilitará a avaliação dos tratamentos.

Você receberá uma via deste termo, e outra via será mantida em arquivo pelo pesquisador por cinco anos.

Caso você não queira participar da pesquisa, é seu direito e não terá nenhuma desvantagem se o fizer. Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Caso você precise de orientação, ou esclarecimentos, deve procurar o responsável pela pesquisa, Dra. Mariana Alvares Penha, no departamento de dermatologia da Unesp Botucatu, fone (14) 3882-4922.

#### **CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA**

Nome do entrevistado:

Assinatura:

Data:..... / ..... / .....

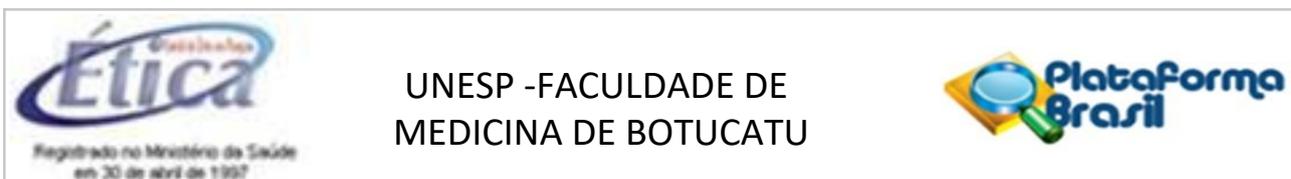
Prof. Hélio Amante Miot  
Assinatura

Mariana Alvares Penha  
Assinatura

Prof. Hélio Amante Miot  
R. Manoel Fernandes Cardoso, 790, casa 4  
Botucatu – SP  
Telefone: 38134727  
E-mail: [heliomiot@fmb.unesp.br](mailto:heliomiot@fmb.unesp.br)

Mariana Álvares Penha  
R. Dr. Ranimiro Lotufo, 593, apto 43 C  
Botucatu – SP  
Telefone: (14) 981416460  
E-mail: [marianapenha@hotmail.com](mailto:marianapenha@hotmail.com)

## Anexo 2. Aprovação no CEP



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM ESCORE DERMATOSCÓPICO DE GRAVIDADE DA ALOPECIA DE PADRÃO FEMININO

**Pesquisador:** Mariana Alvares Penha **Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 57371316.9.0000.5411

**Instituição Proponente:** Departamento de Dermatologia e Radioterapia

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER Número do Parecer:** 1.682.465

#### **Apresentação do Projeto:**

A Alopecia de Padrão Feminino (APF) é frequente e faz parte das principais queixas em uma consulta dermatológica, levando a grande impacto na qualidade de vida das pacientes, além dos tratamentos apresentarem resposta inconstante e lenta. Apesar da alta prevalência e do comprometimento da qualidade de vida, não há métodos de avaliação clínicos e dermatoscópicos objetivos e sensíveis para a estimativa da gravidade da APF, ou do seguimento em ensaios clínicos. Dessa forma, essa pesquisa tem como objetivo desenvolver um escore dermatoscópico de gravidade da APF, podendo assim avaliar de forma objetiva e quantificar a gravidade da APF. Além disso, será possível quantificar a prevalência das alterações dermatoscópicas na APF, avaliar a reprodutibilidade desses achados dermatoscópicos em diferentes pontos do couro cabeludo e constatar características clínicas e epidemiológicas da APF em pacientes e trabalhadoras do HC-Unesp. Será conduzido um estudo de investigação clínica, tipo transversal, em mulheres com APF. Serão elegíveis para o estudo mulheres em diferentes estágios de APF (Sinclair 1-5), pacientes ou trabalhadoras do HC-FMB, no período de 2016 e 2017. Serão excluídos indivíduos de fototipo VI-VII, pacientes com outros tipos de alopecia, outras dermatoses do couro cabeludo e o gênero masculino. Será aplicado um questionário constituído por dados demográficos e clínicos e serão realizadas fotos dermatoscópicas do couro cabeludo, para análise de achados compatíveis com

APF, de cerca de 15 indivíduos de cada estágio da classificação Sinclair, totalizando uma amostra de 75 pacientes. As fotos, de 8 áreas padronizadas distintas do couro cabeludo, contendo região frontal, vértex, temporal e occipital, serão capturadas empregando álcool gel 70% como meio de contato. Também haverá uma foto clínica inicial feita a 90º da região do vértex de cada participante. As imagens clínicas serão avaliadas, cegamente, por três dermatologistas experientes quanto à classificação de Sinclair (1 a 5). Para avaliação de estabilidade temporal do escore criado, serão selecionados 30 pacientes para refotografar o couro cabeludo entre 7 a 14 dias após as fotos iniciais. Haverá uma comparação entre o escore das fotos iniciais e o escore das fotos capturadas posteriormente por meio de avaliação dos achados dermatoscópicos visualizados em ambas etapas. Espera-se correlacionar os achados dermatoscópicos encontrados com cada estágio de gravidade da APF, e organizar tais dados em um escore para uma análise objetiva e reprodutível da gravidade da doença.

**Objetivo da Pesquisa:**

O presente estudo objetiva desenvolver e validar um escore dermatoscópico de gravidade da APF (Alopécia de Padrão Feminino).

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os pesquisadores apontam que não há benefícios e riscos aos participantes.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de um estudo de investigação clínica, tipo transversal, com o objetivo de desenvolver e validar um escore dermatoscópico de gravidade da APF (Alopécia de Padrão Feminino). Serão elegíveis para o estudo mulheres em diferentes estágios de APF (Sinclair 1-5), pacientes ou trabalhadoras do HC-FMB, no período de 2016 e 2017. Serão excluídos indivíduos de fototipo V-VI, pacientes com outros tipos de alopecia, outras dermatoses do couro cabeludo e o gênero masculino. Para sua realização, será aplicado um questionário constituído por dados demográficos e clínicos e serão realizadas fotos dermatoscópicas do couro cabeludo, para análise de achados compatíveis com APF, de cerca de 15 indivíduos de cada estágio da classificação Sinclair, totalizando uma amostra de 75 pacientes. Serão selecionados 30 pacientes para refotografar o couro cabeludo entre 7 a 14 dias após as fotos iniciais. Espera-se, com este estudo, correlacionar os achados

dermatoscópicos encontrados com cada estágio de gravidade da APF, e organizar tais dados em um escore para uma análise objetiva da gravidade da doença.

O referente estudo conta com um cronograma adequado para sua execução (início da coleta em outubro de 2016) e espera-se, com seus resultados, criar uma padronização real e objetiva de avaliação desses pacientes, facilitando o seguimento dos casos quanto à resposta terapêutica.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os pesquisadores apresentaram todos os documentos obrigatórios:

- Folha de rosto devidamente preenchida e assinada;
- Projeto de pesquisa;
- Termo de anuência da instituição;
- TCLE elaborado de acordo com as recomendações propostas pelo Órgão Colegiado em reunião de 01 de agosto de 2016: em forma de convite, com linguagem clara e adequada, contendo informações pertinentes sobre o projeto, sobre os pesquisadores responsáveis e sobre a participação voluntária.

**Recomendações:**

Ao final do estudo, enviar "Relatório Final" ao CEP.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Após o atendimento de forma favorável às pendências apontadas, sou de parecer favorável a aprovação do projeto proposto, sem necessidade de envio à CONEP.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião EXTRAORDINÁRIA do CEP de 17 de Agosto de 2016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP, no entanto, solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado para análise o respectivo "Relatório Final de Atividades", o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

OBS: LEMBRAMOS QUE A PRESENTE PESQUISA SOMENTE PODERÁ SER INICIADO APÓS DIA 17/08/2016 – DATA DA APROVAÇÃO DO CEP.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_726974.pdf	06/08/2016 12:40:34		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	06/08/2016 12:40:21	Mariana Alvares Penha	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_de_pesquisa_CEP.pdf	27/06/2016 18:06:22	Mariana Alvares Penha	Aceito
Outros	Documento_Anuencia_Institucional_MarianaAlvaresPenha.pdf	26/06/2016 22:28:08	Mariana Alvares Penha	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto_Mariana_Alvares_Penha.pdf	26/06/2016 22:23:50	Mariana Alvares Penha	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BOTUCATU, 17 de Agosto de 2016

---

**Assinado por:**  
**SILVANA ANDREA MOLINA LIMA**  
**(Coordenador)**

### Anexo 3. Protocolo do estudo

#### DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM ESCORE DERMATOSCÓPICO DE GRAVIDADE DA ALOPECIA DE PADRÃO FEMININO

Responsáveis: Dr. Hélio A. Miot, Dra. Mariana A. Penha

Teste  Reteste

Iniciais: \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Ano de nascimento: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_

Escolaridade:  Fundamental  Médio  Superior

Fototipo:  I  II  III  IV  V  VI

Ascendência:  Europeia  Africana  Asiática  Indígena

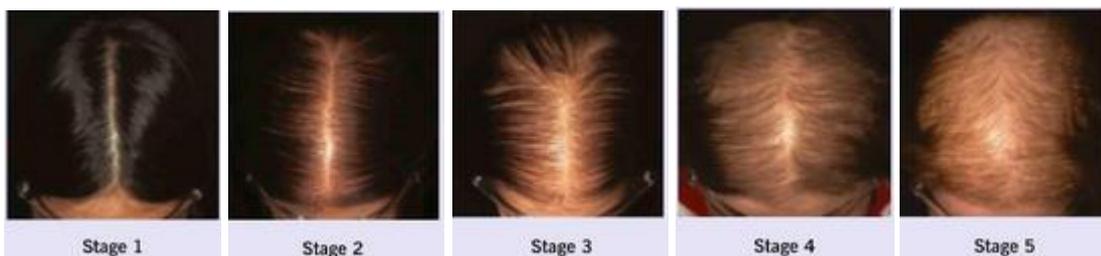
G \_ P \_ A \_ C \_ Menarca: \_\_\_\_\_ ACO:  Sim  Não Menopausa:  Sim  Não

Ferritina: \_\_\_\_\_ Vitamina D: \_\_\_\_\_ Tabagismo (anos/maço): \_\_\_\_\_

Comorbidades: \_\_\_\_\_

Medicações uso regular: \_\_\_\_\_

Sinclair:  1  2  3  4  5



#### ACHADOS DERMATOSCÓPICOS:

FOTO 1 (Frontal central – 2cm do início da implantação) - N° \_\_\_\_\_

- Presença de fio único por folículo: \_\_\_\_\_
- Presença de halo acastanhado de >1mm perifolicular: \_\_\_\_\_
- Atriquia focal: \_\_\_\_\_
- Hiperpigmentação (rede em favo de mel): \_\_\_\_\_
- Halo esbranquiçado (hipopigmentação) perifolicular: \_\_\_\_\_
- Pontos amarelos: \_\_\_\_\_
- Pontos brancos: \_\_\_\_\_
- Descamação do couro cabeludo:  S  N Vasos arboriformes:  S  N
- Quantos pelos terminais: \_\_\_\_\_
- Quantos pelos miniaturizados: \_\_\_\_\_

FOTO 2 (Frontal central – 1cm após foto 1) - N° \_\_\_\_\_

- Presença de fio único por folículo: \_\_\_\_\_
- Presença de halo acastanhado de >1mm perifolicular: \_\_\_\_\_
- Atriquia focal: \_\_\_\_\_
- Hiperpigmentação (rede em favo de mel): \_\_\_\_\_
- Halo esbranquiçado (hipopigmentação) perifolicular: \_\_\_\_\_

- Pontos amarelos: \_\_\_\_\_
- Pontos brancos: \_\_\_\_\_
- Descamação do couro cabeludo:  S  N                      Vasos arboriformes:  S  N
- Quantos pelos terminais: \_\_\_\_\_
- Quantos pelos miniaturizados: \_\_\_\_\_

**FOTO 3 (occipital central – 2 cm após a implantação do cabelo) - N° \_\_\_\_\_**

- Presença de fio único por folículo: \_\_\_\_\_
- Presença de halo acastanhado de >1mm perifolicular: \_\_\_\_\_
- Atriquia focal: \_\_\_\_\_
- Hiperpigmentação (rede em favo de mel): \_\_\_\_\_
- Halo esbranquiçado (hipopigmentação) perifolicular: \_\_\_\_\_
- Pontos amarelos: \_\_\_\_\_
- Pontos brancos: \_\_\_\_\_
- Descamação do couro cabeludo:  S  N                      Vasos arboriformes:  S  N
- Quantos pelos terminais: \_\_\_\_\_
- Quantos pelos miniaturizados: \_\_\_\_\_

**FOTO 4 (occipital central – 1cm acima da foto 3) - N° \_\_\_\_\_**

- Presença de fio único por folículo: \_\_\_\_\_
- Presença de halo acastanhado de >1mm perifolicular: \_\_\_\_\_
- Atriquia focal: \_\_\_\_\_
- Hiperpigmentação (rede em favo de mel): \_\_\_\_\_
- Halo esbranquiçado (hipopigmentação) perifolicular: \_\_\_\_\_
- Pontos amarelos: \_\_\_\_\_
- Pontos brancos: \_\_\_\_\_
- Descamação do couro cabeludo:  S  N                      Vasos arboriformes:  S  N
- Quantos pelos terminais: \_\_\_\_\_
- Quantos pelos miniaturizados: \_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_