



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Daniel Fernandes Melo

**Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia
androgenética masculina**

Rio de Janeiro

2024

Daniel Fernandes Melo

**Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia
androgenética masculina**

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Baptista Barcaui
Coorientadora: Prof.^a Dra. Daniela Alves Pereira Antelo

Rio de Janeiro

2024

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CB/A

M528 Melo, Daniel Fernandes
Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia androgenética masculina / Daniel Fernandes Melo. – 2024.
73 f.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Baptista Barcaui.
Coorientadora: Prof.^a Dra. Daniela Alves Pereira Antelo.

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Toxinas Botulínicas - Uso terapêutico. 2. Alopecia - Terapia. 3. Dermatoses do Couro Cabeludo. 4. Saúde do Homem. I. Barcaui, Carlos Baptista. II. Antelo, Daniela Alves Pereira. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

CDU 616.594.1

Bibliotecário: Hugo da Costa Maia Bernardo - CRB-7/7426

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Daniel Fernandes Melo

**Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia
androgenética masculina**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências Médicas, da
Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 09 de dezembro de 2024.

Coorientadora: Prof.^a Dra. Daniela Alves Pereira Antelo
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Baptista Barcaui (Orientador)
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Márcia Regina Simas Torres Klein
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Flavia de Freire Cassia
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Elisa de Oliveira Barcaui
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Antônio Macedo D'Acri
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2024

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, base e razão principal da minha jornada. Que a concretização desta pesquisa seja mais uma razão para celebrarmos juntos em dias leves e felizes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho. Começo pelos meus pais, Nadia Liberato Fernandes e José Maximiano de Melo Junior, a quem devo a vida e a base de minha formação moral e acadêmica. Obrigado por sempre persistirem e colocarem minha educação muitas vezes à frente de seus próprios sonhos.

Agradeço à minha irmã Monique, grande exemplo de superação e reinvenção constante, pelo companheirismo e cumplicidade que só a amizade fraternal possui.

Agradeço à minha esposa Clarisse, companheira de mais de 25 anos de caminhada, que me presenteou com meus dois grandes mestres: Felipe e Livia, dando a mim a honra de chamá-los de filhos nesta vida.

Reforço também meu apreço aos colegas de trabalho, que sempre me inspiram com grandes ideias e sempre me levam a crer que o trabalho em conjunto supera em muito o individual. Nesse grande e valioso grupo, destaco o apoio dos amigos dermatologistas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) que compartilham comigo o amor pela tricologia.

Agradeço às queridas secretárias, que são grandes pilares para meu dia a dia profissional, Valeria Martins, Milena Dias e Dorimar Rufino pelo apoio dado durante todo o período de preparo deste material.

Expresso minha gratidão aos residentes, funcionários e professores da UERJ, esta casa da qual me orgulho de fazer parte. Um particular agradecimento à professora Luna Azulay, que abriu as portas para meus projetos da tricologia dentro da universidade.

Agradeço também aos coautores do trabalho, que compartilharam suas preciosas experiências em diversos campos do conhecimento com tanta dedicação e comprometimento. Professora Carla Jorge, estatística tão gabaritada quanto gentil, com sua disponibilidade permanente em se doar para o universo das pesquisas. Dr. Sidney Frattini, amigo de tantos anos, que dividiu sua experiência em inglês técnico para o constante aprimoramento do nosso trabalho. Prof. Dr. Carlos Baptista Barcaui, por aceitar prontamente me orientar, com perfil sempre ponderado e equilibrado e Prof.^a Dra. Daniela Ales Pereira Antelo que, com suas ideias inovadoras, me ajudou no aprimoramento do meu trabalho. Dra. Rita Cortez, amiga

dedicada à pesquisa, que mergulhou fundo nesse projeto com incansável disposição em me ajudar e André Donda, estudante comprometido à causa dessa pesquisa.

Por fim, e em todos os âmbitos, reforço meu estado constante de gratidão a Deus por ter me dado, ao longo dos anos, muito mais do que preciso e muito mais do que mereço.

RESUMO

MELO, Daniel Fernandes. **Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia androgenética masculina**. 2024. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

A alopecia androgenética (AAG) é a forma mais comum de alopecia em homens e que compromete autoestima e qualidade de vida dos pacientes. É uma condição crônica, progressiva, que cursa com declínio das atividades metabólicas do folículo piloso. Os pelos terminais são convertidos em pelos finos (velus). Atualmente, apenas minoxidil tópico e finasterida e dutasterida orais são aprovados para tratar AAG masculina. A alteração da atividade dos andrógenos e predisposição genética são fundamentais no desenvolvimento da doença. Os folículos pilosos ficam mais susceptíveis à conversão de testosterona em diidrotestosterona (DHT) no tecido periférico. O estresse oxidativo, micro inflamação perifolicular e insuficiência micro vascular foram apontados como contribuintes. O estresse oxidativo altera a morfologia, proliferação e apoptose de células da papila dérmica. A ativação de linfócitos T por estímulos exógenos como radiação UV, poluentes e alteração do microbioma, explica a micro inflamação. Sabe-se que as áreas calvas possuem certo grau de insuficiência micro vascular, com níveis de oxigênio mais baixos que as não calvas. A conversão de testosterona em DHT ocorre em ambiente de hipóxia e, por isso, maior aporte sanguíneo poderia ser benéfico no tratamento da AAG. A toxina botulínica (TB) é uma neurotoxina obtida através do *C. botulinum*, que inibe a contração muscular via bloqueio da acetilcolina e tem uso médico amplo estético e terapêutico: como na hiperidrose, no estrabismo e na neurologia. Na AAG, seu uso injetável promoveria relaxamento da musculatura do couro cabeludo, aumentando o fluxo sanguíneo, reduzindo TGF- β (pró-apoptótico), DHT tecidual e miniaturização folicular. O objetivo deste ensaio-clínico, triplo-cego, autocontrolado e randomizado, realizado na Dermatologia do HUPE, foi avaliar a eficácia da TB no tratamento da AAG masculina. Foram incluídos 13 homens, de 18 a 45 anos, portadores de AAG há menos de 10 anos, sem tratamento. Um lado do couro cabeludo recebeu 50UI de TB (5UI/ponto;10 pontos) no início do estudo e após 12 semanas. A área contralateral recebeu 10 punções intradérmicas e intramusculares de salina. As avaliações fotográficas foram feitas nas semanas: 0, 12 e 24. A eficácia da TB foi avaliada por tricoscopia, ferramenta de avaliação das doenças do couro cabeludo. A tecnologia de correspondência (*hair-to-hair matching technology* TrichoLAB®) assegurou a comparação entre as imagens no mesmo local. A densidade total, espessura dos pelos e o número de pelos novos foram comparados entre os dois lados do couro cabeludo, nas três consultas. Foi utilizado o teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas. O nível de significância estatística adotado foi de 5%. Em nosso estudo, a TB não promoveu crescimento capilar em homens com AAG após 12 ou 24 semanas. A densidade capilar frontal e no vértice diminuiu em ambos os lados (TB e placebo) e ocorreu um aumento da razão velus/terminal. Em conclusão, nosso estudo não encontrou qualquer benefício da TB injetável para AAG masculina a partir da utilização de uma tecnologia de contagem capilar precisa e objetiva.

Palavras-chave: alopecia androgenética; toxina botulínica; tricoscopia.

ABSTRACT

MELO, Daniel Fernandes. **Assessment of the therapeutic efficacy of botulinum toxin in male androgenetic alopecia**. 2024. 73 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Androgenetic alopecia (AGA) is the most common form of alopecia in men. It is a chronic, progressive condition that results in a decline in the metabolic activities of the hair follicle. Terminal hairs are converted to thin hairs (vellus). AGA can compromise the self-esteem and quality-of-life of affected individuals. Currently, only topical minoxidil and oral finasteride and dutasteride are approved to treat male AGA. Altered androgen activity and genetic predisposition are fundamental in the development of the disease. Hair follicles become more susceptible to the conversion of testosterone to dihydrotestosterone (DHT) in peripheral tissue. Oxidative stress, perifollicular microinflammation and microvascular insufficiency have been identified as triggers. Oxidative stress alters the morphology, proliferation and apoptosis of dermal papilla cells. Activation of T lymphocytes by exogenous stimuli such as UV radiation, pollutants and alteration of the microbiome explains microinflammation. It is known that bald areas have a certain degree of microvascular insufficiency, with lower oxygen levels than non-bald areas. The conversion of testosterone to DHT occurs in a hypoxic environment and, therefore, greater blood supply may be beneficial in the treatment of AGA. Botulinum toxin (BT) is a neurotoxin obtained from *C. botulinum*, which inhibits muscle contraction by blocking acetylcholine. It has wide medical, aesthetic and therapeutic uses such as in hyperhidrosis, strabismus and neurology. In AGA, its injectable use would promote relaxation of the scalp muscles, increased blood flow to the bald areas, reduction of TGF- β (pro-apoptotic) tissue DHT and follicular miniaturization. The objective of this study was to evaluate the efficacy of BT as a therapeutic option in male AGA. It was carried out in the dermatology department of HUPE. Thirteen men aged 18 to 45 years, with AGA for less than 10 years and without treatment, were included in the study. This was a triple-blind, self-controlled, randomized clinical trial. One side of the scalp received 50 IU of BT (5 IU/point; 10 points) at week zero and week 12. The contralateral area received 10 saline punctures. Clinical and trichoscopic photographs were taken at weeks 0, 12, and 24. The efficacy of BT was assessed by trichoscopy, a valuable tool in the evaluation of several scalp diseases. The matching technology (TrichoLAB® hair-to-hair matching technology) ensured that images were compared at the same exact site. Median comparisons were made between the sides of the scalp at the three visits and on each side over time, based on parameters of total density, hair thickness, and total new hair growth on both scalp sides. The nonparametric Wilcoxon test for paired samples was used. The estimated level of statistical significance was 5%. In our study, BT did not promote hair growth in men with AGA after 12 or 24 weeks. Frontal and vertex hair density decreased on both sides (BT and placebo) and an increase in the vellus/terminal ratio occurred. In conclusion, our study found no benefit of injectable BT for male AGA using an accurate and objective hair counting technology.

Keywords: androgenetic alopecia; botulinum toxin; trichoscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Bases teóricas do uso da TB na AAG	17
Figura 2 –	Classificação de Norwood-Hamilton	19
Figura 3 –	Profissional habilitada realizando tatuagem no couro cabeludo para padronizar os pontos de interesse para análise nas três avaliações dos pacientes	21
Figura 4 –	Exemplo de ângulos das fotos padronizadas feitas em cada um dos pacientes	22
Figura 5 –	Etapas técnicas das aplicações	23
Tabela 1 –	Demografia, epidemiologia e características clínicas dos participantes no início do estudo	29
Tabela 2 –	Principais resultados para os participantes do estudo (H2H)	31
Gráfico 1 –	Diagramas de Caixa (<i>Box Plots</i>) para densidade de fios terminais nos tempos T_0 , T_{12} e T_{24} para Toxina Botulínica e Placebo	32
Gráfico 2 –	Diagramas de Caixa (<i>Box Plots</i>) para densidade de cabelos nos tempos T_0 , T_{12} e T_{24} para Toxina Botulínica e Placebo	33
Gráfico 3 –	Diagramas de Caixa (<i>Box Plots</i>) para razão terminal/velus nos tempos T_0 , T_{12} e T_{24} para Toxina Botulínica e Placebo	34
Gráfico 4 –	Diagramas de Caixa (<i>Box Plots</i>) para espessura média acumulada nos tempos T_0 , T_{12} e T_{24} para Toxina Botulínica e Placebo	35
Figura 6 –	Comparação de fotografias clínicas globais do vértice	35
Figura 7 –	Exemplo de análise comparativa fio a fio de um paciente que recebeu TB na região frontotemporal	36
Figura 8 –	Imagem da anatomia do plano muscular da face e do couro cabeludo	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAG	Alopecia Androgenética
DHT	Diidrotestosterona
FMap	Mapa folicular
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
REBEC	Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos
TB	Toxina Botulínica
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β 1	Fator de Crescimento Transformador Beta 1
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UI	Unidades Internacionais

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
O ₂	Molécula de oxigênio
β	Beta
H2H	Hair to Hair
cm	Centímetro
mm	Milímetro
cm ²	Centímetros quadrados
UI	Unidade internacional
mL	Mililitro
±	Mais ou menos
Kg	Quilograma
m ²	Metro quadrado
>	Maior que
=	Igual

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	13
1	OBJETIVOS	18
1.1	Geral	18
1.2	Específicos	18
1.3	Hipótese	18
2	MÉTODOS	19
2.1	Pacientes	19
2.2	Desenho do estudo	20
2.3	Desfechos	24
2.4	Análise estatística e tamanho da amostra	25
2.5	Registro do estudo	26
2.6	Critérios de inclusão	26
2.7	Critérios de exclusão	26
2.8	Metodologia de análise de dados	27
2.9	Riscos e benefícios para os sujeitos da pesquisa	27
2.10	Orçamento	28
2.11	Aspectos éticos	28
3	RESULTADOS	29
4	DISCUSSÃO	36
5	LIMITAÇÕES	42
	CONCLUSÃO	43
	PERSPECTIVAS FUTURAS	44
	REFERÊNCIAS	45
	APÊNDICE A – Ficha de consulta	48
	APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	49
	APÊNDICE C – Formato Final do 1º Artigo Científico Submetido / Aprovado	51
	APÊNDICE D – Formato Final do 2º Artigo Científico Submetido / Aprovado	54

APÊNDICE E – Formato Final do 3º Artigo Científico Submetido / Aprovado	59
APÊNDICE F – Formato Final do 4º Artigo Científico Submetido / Aprovado	62
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – Aprovação CEP.....	64
ANEXO B – Termo de Compromisso TrichoLab®	65
ANEXO C – Comprovação da Submissão do 1º Artigo Científico	66
ANEXO D – Comprovação do Aceite do 1º Artigo Científico	67
ANEXO E – Comprovação da Submissão do 2º Artigo Científico	68
ANEXO F – Comprovação do Aceite do 2º Artigo Científico	69
ANEXO G – Comprovação da Submissão do 3º Artigo Científico	70
ANEXO H – Comprovação do Aceite do 3º Artigo Científico	71
ANEXO I – Comprovação da Submissão do 4º Artigo Científico	72
ANEXO J – Comprovação do Aceite do 4º Artigo Científico	73

INTRODUÇÃO

Revisão da literatura

A alopecia androgenética (AAG) é a forma mais comum de alopecia em ambos os sexos. É considerada uma condição crônica e progressiva, que cursa com o declínio das atividades metabólicas do folículo piloso, levando à sua miniaturização e ao encurtamento da fase anágena do ciclo capilar.(1-3) Os pelos terminais são convertidos em velus, que possuem hastes mais finas, mais curtas e menos pigmentadas. A AAG pode comprometer a autoestima e a qualidade de vida, gerando um relevante impacto psicossocial nos indivíduos afetados.(4-7)

A incidência e a prevalência da AAG variam de acordo com a idade, o sexo e a etnia. Os asiáticos e os afro-americanos são menos afetados que os caucasianos; os homens são mais acometidos que as mulheres e a doença pode começar logo após a puberdade, sendo em geral, tão mais exuberante quanto mais precoce for o seu início. Em linhas gerais, 30% dos homens são afetados pela AAG aos 30 anos, 50% aos 50 anos e quase a totalidade aos 80 anos de idade.(1,6)

A alteração da atividade dos andrógenos e a predisposição genética são elementos fundamentais no desenvolvimento da doença. Os folículos pilosos dos indivíduos predispostos ficam mais susceptíveis à alta conversão de testosterona em seu metabólito diidrotestosterona (DHT) no tecido periférico.(2,8,9) No entanto, embora essenciais, os fatores hormonais e genéticos falham em explicar por completo a etiopatogenia da AAG.

Estresse oxidativo, micro inflamação perifolicular e insuficiência microvascular têm sido apontados como contribuintes desse processo. O estresse oxidativo altera a morfologia, a proliferação e a apoptose de células da papila dérmica.(2) A ativação de linfócitos T por estímulos exógenos como radiação ultravioleta A, poluentes, fumo e alteração do microbioma do couro cabeludo, explicaria a micro inflamação tanto na AAG como em outras alopecias.(2) Sabe-se também que, na AAG, as áreas calvas possuem um certo grau de insuficiência microvascular, com níveis de oxigênio (O₂) mais baixos que as áreas não calvas. Isso se deve, em parte, ao suprimento arterial do vértex ser promovido pelos ramos das artérias troclear e supraorbitárias, que são os menores ramos da carótida interna. Conforme já foi previamente descrito, a

conversão de testosterona em DHT ocorre preferencialmente em meio pobre em O₂ e, por isso, o aumento do aporte sanguíneo reduziria a hipóxia local e poderia, assim, ser benéfico no tratamento da AAG.(1,10-12)

Notavelmente, a citocina Fator de Crescimento Transformador-beta 1 (TGF- β 1), conhecida por desencadear apoptose e fibrose, desempenha um papel fundamental no início da doença, TGF- β 1 tem ação importante na supressão do crescimento de células epiteliais foliculares. Assim, funciona como um pró-apoptótico com relevante papel no surgimento da AAG e, antagonizá-lo poderia ser um caminho na prevenção da progressão da doença.(13,14)

Atualmente, apenas o minoxidil tópico 5% e os inibidores da 5 alfa redutase orais (dutasterida e finasterida) são aprovados para o tratamento de AAG masculina.(15,16) Para que os resultados ocorram, as principais diretrizes reforçam que o uso dessas medicações deve ser contínuo e, preferencialmente, o tratamento feito em conjunto. A posologia recomendada para a aplicação do minoxidil é duas vezes ao dia e a solução alcoólica de seu veículo diminui a adesão ao tratamento.(16) A fidelização à finasterida ou dutasterida orais também fica reduzida no público masculino pelo risco de redução da libido e disfunção erétil, efeitos colaterais formalmente descritos em bula. Ademais, nem todos os pacientes que usam a terapia com minoxidil e inibidores de 5 alfa redutase apresentam melhora clínica.(16) Procedimentos injetáveis com minoxidil, dutasterida, finasterida, ativos botânicos e fatores de crescimento também são usados, mesmo fora de bula, como terapia adjuvante na alopecia androgenética e apresentam resultados variáveis. A falta de protocolos, padronização de técnicas e estudos robustos limitam muito a validação desses procedimentos na AAG.(17)

A toxina botulínica (TB) é uma neurotoxina obtida através da bactéria *Clostridium botulinum*, que inibe a contração muscular via bloqueio da acetilcolina.(18) Já demonstrou benefício no campo estético, na correção do estrabismo, no controle do blefaroespasma e em diversas condições neurológicas que cursam com espasticidade. A TB injetável também já foi estudada como uma opção de tratamento para a rosácea, especialmente por sua ação na modulação vascular. Ela atua inibindo a liberação de acetilcolina nas terminações nervosas, resultando em uma vasodilatação reduzida e, conseqüentemente, na diminuição do eritema e dos episódios de *flushing*, comuns na rosácea.(19,20) Estudos também sugerem que a toxina botulínica pode influenciar a atividade das glândulas

sebáceas, embora seu efeito direto sobre a produção sebácea ainda seja incerto.(21) A relação entre essa modulação sebácea e os andrógenos, hormônios conhecidos por estimular a produção de sebo, poderia fazer da TB uma substância capaz de atuar sobre outro fator da patogênese da rosácea.(18) No campo da tricologia, seu uso já foi relatado, em um relato de caso, com sucesso para o tratamento de alopecia causada pela radioterapia.(22) A justificativa do uso injetável intramuscular da TB na AAG seria a promoção do relaxamento da musculatura do couro cabeludo, reduzindo a pressão muscular sobre as artérias perfurantes e aumentando potencialmente o fluxo sanguíneo e a quantidade de O₂ para as áreas calvas. Por conseguinte, haveria redução de DHT tecidual pelo efeito conhecido como *wash out* e, conseqüentemente, menor miniaturização folicular, considerada a principal base fisiopatogênica da doença.(8,23,24) Como mecanismo adicional, recentemente, Shon et al.(25) sugeriram que a injeção intradérmica de TB possa ser uma possível opção de tratamento para AAG, já que inibe a secreção de TGF- β 1 dos folículos capilares, contribuindo assim para os efeitos acima mencionados.

Chen et al.(14) também mostraram que existe uma rigidez do couro cabeludo masculino significativamente maior no vértex dos homens afetados pela AAG quando comparada a outras áreas. Essa rigidez pode ter relação com a fibrose promovida pelos níveis aumentados de TGF- β 1 nos locais afetados pela doença. Conseqüentemente, a mitigação desses fatores poderia potencialmente interromper seu progresso.(14)

Uma revisão sistemática dos artigos que abordam o tema alopecias e TB mostrou nenhum ou poucos efeitos colaterais da aplicação no couro cabeludo, nenhum deles sistêmico. Os efeitos reportados nessa revisão foram cefaleia transitória e madarose, embora os relatos sejam raros e os estudos de baixo grau de evidência e com pouco tempo de seguimento dos pacientes.(4)

Apesar de possuir justificativa teórica e ser encorajadora em alguns trabalhos prévios, a TB como opção terapêutica para alopecias, na prática clínica, ainda precisa ser demonstrada por estudos experimentais de maior robustez.(2)

Justificativa

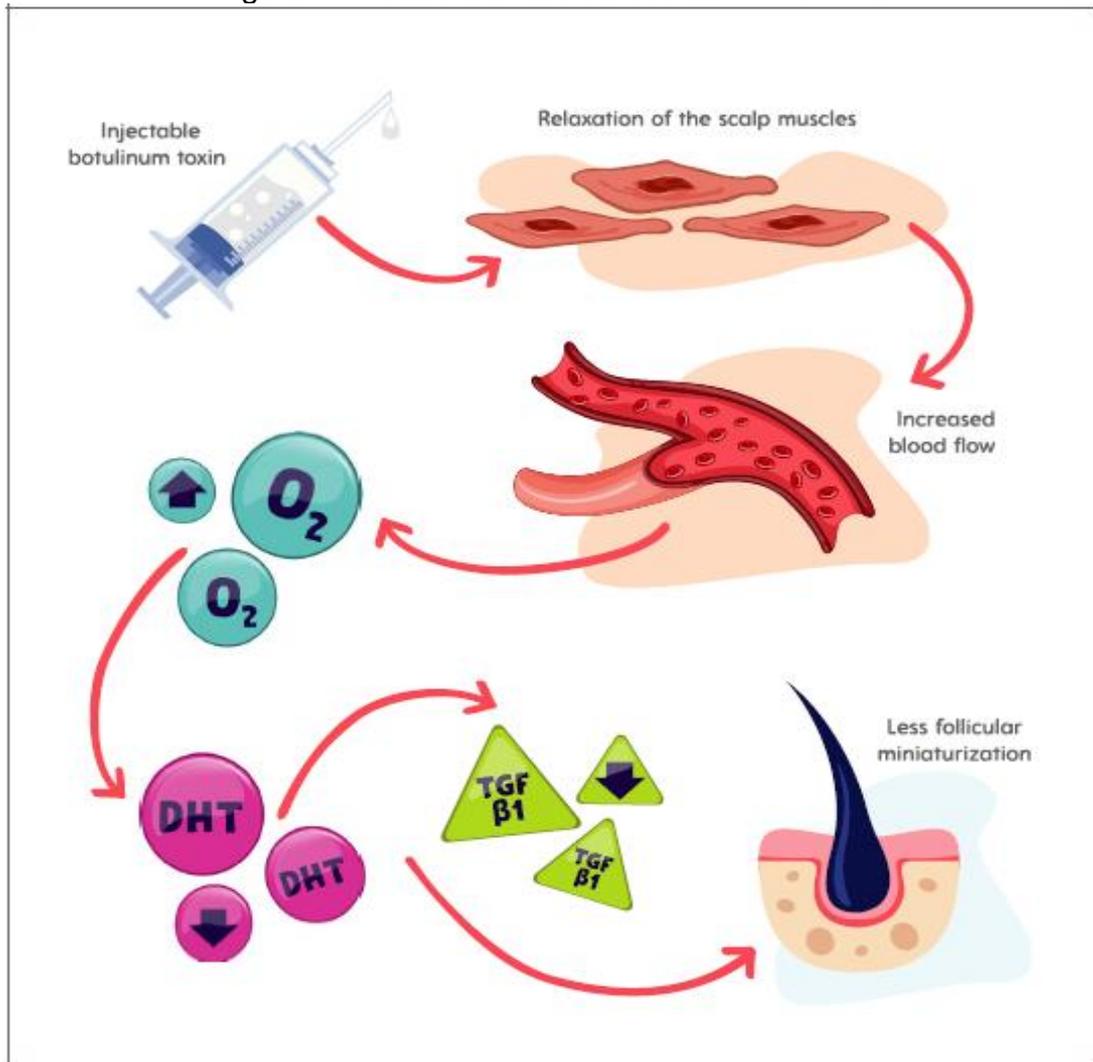
Em esforços para encontrar um tratamento eficiente para a AAG masculina, estudos recentes sugeriram a toxina botulínica (TB) injetável como uma terapia emergente.(4,8,9,24–28) O raciocínio por trás disso está em sua capacidade de induzir relaxamento dos músculos do couro cabeludo e potencialmente expandir os vasos penetrantes do couro cabeludo, aumentando o suprimento sanguíneo. Além disso, pode auxiliar na remoção local de DHT por meio do efeito de lavagem e diminuir seu impacto, atenuando, em última análise, a miniaturização folicular observada na AAG.(2,29-31) Além disso, a TB parece modular a atividade dos fibroblastos alterando suas vias apoptóticas, migratórias e fibróticas.(25,32)

A Figura 1, a seguir, ilustra as bases teóricas do uso injetável da toxina botulínica para o tratamento da AAG.(2)

Esses estudos, no entanto, muitas vezes falharam em fornecer medidas objetivas para comparação e acompanhamento adequados. Fotografias globais do couro cabeludo antes e depois e avaliações tricoscópicas regulares são ferramentas úteis, mas limitadas. Contagens manuais de cabelo são suscetíveis a erros, e questionários padronizados de qualidade de vida são intrinsecamente subjetivos.(5,33,34)

A tecnologia de correspondência de cabelo a cabelo (H2H)TM é uma nova técnica promissora para avaliar variações em unidades foliculares e número e espessura de hastes capilares. Ela cria um mapa folicular (FMap) a partir de imagens de tricoscopia digital que permite as tradicionais comparações oportunas com precisão muito maior e uma melhor análise do histórico capilar individual (34-36) e foi usada nesta pesquisa.

Figura 1 - Bases teóricas do uso da TB na AAG



Legenda: Toxina Botulínica (TB); Alopecia Androgénica (AAG); Diidrotestosterona (DHT); Fator de Crescimento Transformador Beta 1 (TGF-β1).

Nota: A TB injetável relaxaria a musculatura do couro cabeludo e aumentaria o fluxo sanguíneo dos vasos perfurantes. Isso, por sua vez, reduziria a hipóxia e, por conseguinte, as taxas de DHT e TGF-β1, reduzindo a miniaturização folicular.

Fonte: Melo et al.(2)

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia da toxina botulínica injetável no tratamento da alopecia androgenética masculina em um ensaio clínico randomizado, triplo-cego e controlado por placebo.

1.2 Objetivos específicos:

- a) identificar e descrever a resposta terapêutica após a aplicação injetável da toxina botulínica em um dos lados do vértice e recesso frontotemporal do couro cabeludo de homens com idade entre 18 e 45 anos portadores de alopecia androgenética nessa localização e com menos de 10 anos de evolução;
- b) comparar a densidade capilar, espessura dos fios e número absoluto de fios dos dois lados do vértice (tratado e não tratado);
- c) comparar as respostas em lados diferentes com fotografias globais e através de fotos tricoscópicas, usando a tecnologia de correspondência (hair-to-hair matching technology TrichoLAB®).

1.3 Hipótese

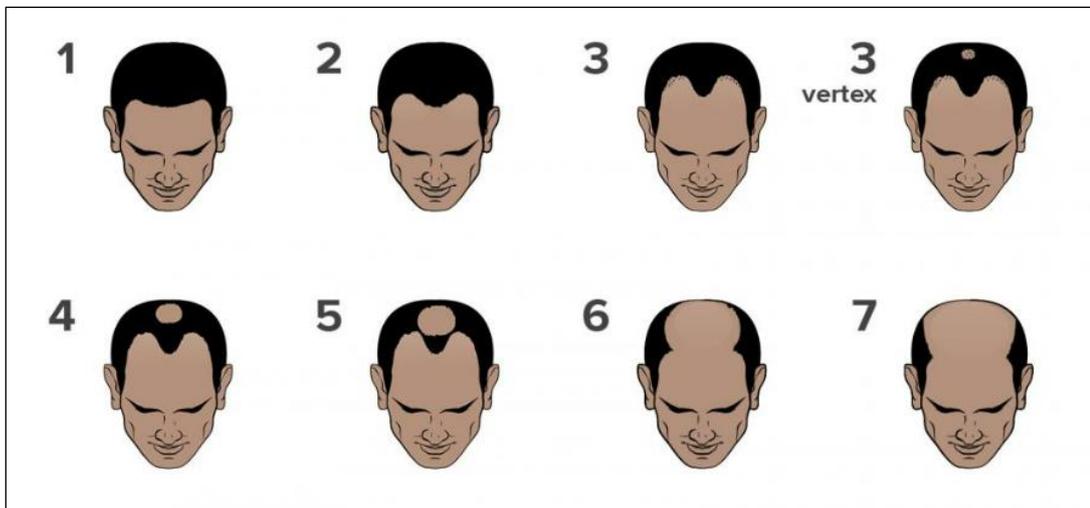
A aplicação da toxina botulínica injetável no vértice e recessos frontotemporais do couro cabeludo de pacientes portadores de alopecia androgenética masculina pode promover repilação parcial ou total da área calva.

2 MÉTODOS

2.1 Pacientes

Treze participantes do sexo masculino portadores de AAG, com classificação de Norwood-Hamilton entre os graus II-V, foram incluídos (Figura 2). Os participantes deveriam estar livres de tratamento por no mínimo 6 meses. Excluímos indivíduos com condições inflamatórias, infecciosas ou neoplásicas do couro cabeludo. Como AAG de longa duração ou idade mais avançada dos pacientes poderiam influenciar negativamente o resultado do tratamento, consideramos pacientes elegíveis entre 18 até 45 anos de idade e com duração da doença menor ou igual a 10 anos.

Figura 2 - Classificação de Norwood-Hamilton



Nota: Escala utilizada para definir os estágios da alopecia androgenética masculina.
Fonte: <https://mytransformation.com.au/what-is-the-norwood-scale/>

2.2 Desenho do estudo

Trata-se de um ensaio clínico triplo-cego, controlado, randomizado para avaliar a eficácia da TB injetável no tratamento da AAG masculina. Este é um estudo monocêntrico, que foi conduzido no Hospital Universitário Pedro Ernesto, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil, de junho de 2021 a junho de 2022.

Os pacientes foram avaliados em três visitas - semanas 0, 12 e 24. Todos forneceram consentimento informado por escrito antes de participar deste estudo. Durante a consulta inicial, utilizamos tinta de tatuagem temporária (*electric ink tattoo* - registro ANVISA nº 80485730003) para marcar oito pontos no couro cabeludo. Essas tatuagens têm uma duração de até 2 anos. Especificamente, aplicamos duas tatuagens em cada uma das quatro regiões do couro cabeludo, a seguir: recesso frontotemporal esquerdo, recesso frontotemporal direito, lado direito do vértice e lado esquerdo do vértice. As marcas em cada par de tatuagens estavam distantes 1 cm uma da outra. Essa pigmentação garantiu a precisão da análise tricoscópica de H2H realizada em visitas subsequentes. O procedimento seguiu padrões assépticos rigorosos. A Figura 3, ilustrada na página seguinte, mostra profissional habilitada tatuando um dos pacientes voluntários da pesquisa.

Figura 3 - Profissional habilitada realizando tatuagem no couro cabeludo para padronizar os pontos de interesse para análise nas três avaliações dos pacientes



Fonte: Acervo pessoal do autor.

Durante cada consulta, tiramos 8 fotografias clínicas globais, seguidas de tricoscopia com correspondência H2H, antes de administrar as injeções. As perspectivas capturadas incluíram os lados frontal, superior, direito e esquerdo em ângulos de 45° e 90°, juntamente com duas vistas posteriores (flexão posterior do pescoço e posição ortostática). Elas foram usadas para avaliar a resposta ao tratamento de forma comparativa e estão ilustradas na Figura 4.

A tricoscopia foi conduzida logo após, com o uso de uma câmera Fotofinder leviacam™, juntamente com o *software* TrichoLab® H2H-matching technology™. A câmera tinha dois círculos virtuais que se encaixam perfeitamente no par de tatuagens. Uma vez que a câmera foi posicionada sobre os pontos da tatuagem, o *software* capturou três imagens por zona do couro cabeludo, resultando em uma área de análise de 0,98 cm² por local. Uma vantagem dessa técnica é que não há necessidade de raspagem ou aparramento dos pelos.

Figura 4 - Exemplo de ângulos das fotos padronizadas feitas em cada um dos pacientes



Nota: Essas imagens foram feitas nas três visitas com finalidade comparativa.
Fonte: Acervo pessoal do autor.

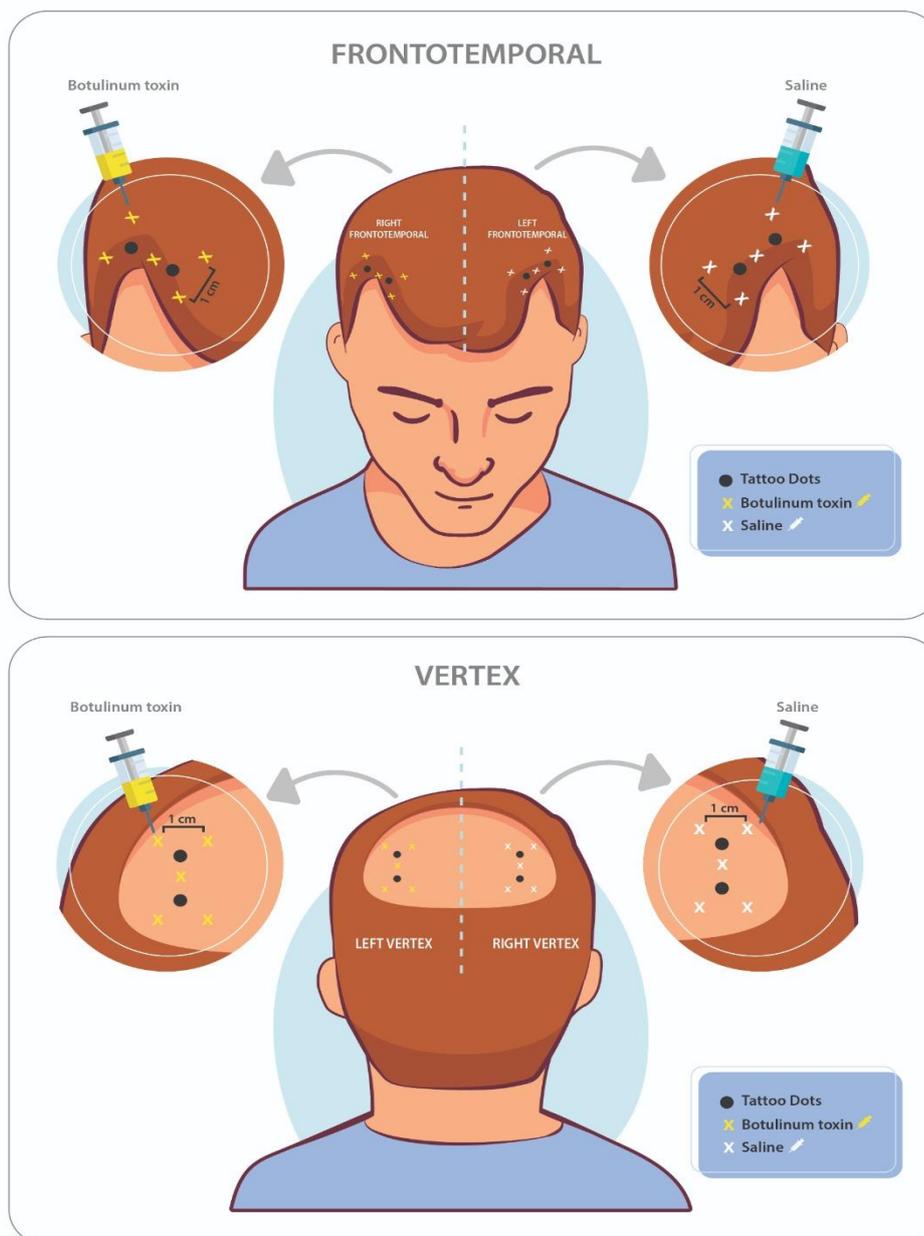
Todas as imagens tricoscópicas foram carregadas no sistema TrichoLab® para uma análise estatística de antes e depois. Essa avaliação pormenorizada conseguiu realizar uma comparação objetiva fio a fio de cabelo.

O frasco de 100UI de Toxina onabotulínica Botox® (Allergan/AbbVie) foi reconstituído com 2ml de Soro Fisiológico 0,9%. Uma metade do couro cabeludo (lado direito ou esquerdo, a depender da randomização) recebeu 50 UI de TB e a outra metade recebeu 1 mL de solução salina como controle. O lado do tratamento recebeu 10 injeções de 5 UI de TB igualmente distribuídas ao redor das tatuagens de cada zona, 25 UI no recesso frontotemporal e 25 UI no vértice ipsilateral, com 1 cm de distância.

No lado controle, as áreas correspondentes receberam um volume igual de solução salina a 0,9% e o mesmo número de injeções distribuídas exatamente da mesma forma. Foram utilizadas agulhas 30G de 4 mm inseridas a 45° nas duas

primeiras visitas (semanas 0 e 12). A região frontal recebeu injeções intramusculares e as injeções no vértice (onde não há musculatura local) foram aplicadas na derme profunda perto da gálea aponeurótica. A Figura 5 ilustra essas etapas técnicas.

Figura 5 – Etapas técnicas das aplicações



Nota: A imagem detalha como a toxina botulínica (TB) e a solução salina foram aplicadas na região frontotemporal e no vértice do couro cabeludo. Observe que as aplicações foram feitas ao redor das marcas de tatuagem e espaçadas o suficiente para que os locais de injeção não interferissem um no outro, considerando o halo de difusão da TB de no máximo 2cm. Os pacientes receberam TB ou solução salina de acordo com randomização prévia.

Fonte: o autor

Na visita de 24 semanas, apenas fotos clínicas e tricoscópicas foram tiradas. Os pacientes foram orientados sobre possíveis efeitos colaterais temporários leves, como dor local e hematoma após as injeções.

Este é um ensaio clínico pois se trata de um experimento controlado em voluntários humanos com finalidade de avaliar a eficácia de novas terapias. O estudo é dito autocontrolado, pois o próprio paciente funciona como controle de si mesmo. Isso significa que um lado do couro cabeludo recebeu toxina botulínica e outro lado recebeu placebo. Diz-se que este estudo é triplo-cego pois o paciente, o injetor e o avaliador das imagens não estão cientes de qual dos lados recebeu toxina botulínica ou solução salina 0,9%. Um assistente técnico preparou ambas as soluções de acordo com a randomização pré-estabelecida, e o aspecto transparente tanto do TB quanto da solução salina normal contribuiu para o cegamento.

Usamos randomização simples com o Microsoft Excel 2021© (função RAND()) para administrar TB em um lado do couro cabeludo e solução salina normal no lado contralateral.

Foram catalogados os dados clínicos e epidemiológicos em ficha própria (APÊNDICE A), para permitir posterior análise estatística. Todos os pacientes elegíveis para o estudo foram captados dos ambulatórios de dermatologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) (ambulatório geral, ambulatório de alopecias e ambulatório de cosmiaatria), assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – (APÊNDICE B) e tiveram um dos lados do vértice e do recesso frontotemporal ipsilateral do couro cabeludo escolhida para análise clínica e tricoscópica, seguida de aplicação da toxina botulínica ou placebo, após randomização.

2.3 Desfechos

O desfecho primário de interesse foi a mudança absoluta na densidade capilar terminal (diâmetro de 0,06 mm ou mais) por centímetro quadrado, no couro cabeludo frontal e vértice; da linha de base até a semana 24 (com detecção automática, processada pelo TrichoLab®).

Os desfechos secundários foram: a) mudança absoluta na densidade capilar total (por cm^2) no couro cabeludo frontal e do vértice; b) mudanças na proporção entre cabelos terminais e cabelos velus; c) mudanças na densidade cumulativa da espessura capilar (por mm/cm^2), da linha de base até a semana 24 (com detecção automática, processada no TrichoLab®).

2.4 Análise estatística e tamanho da amostra

Nossos dados descritivos abrangeram variáveis categóricas, ordinais e contínuas. Para variáveis categóricas e ordinais, utilizamos contagens absolutas e porcentagens, enquanto as variáveis contínuas foram representadas por médias, desvio padrão, medianas e intervalos interquartis, juntamente com valores mínimos e máximos.

Comparações longitudinais dos resultados dos pacientes entre a linha de base (T0) e a semana 24 usaram o teste t de *Student* pareado, com um intervalo de confiança de 95%. O $p < 0,05$ unilateral foi o nível escolhido de significância estatística.

Boxplots foram empregados para apresentar a distribuição de valores para pacientes na linha de base (T0), semana 12 e semana 24. Comparações das medianas foram realizadas com o teste de postos sinalizados de pares pareados de Wilcoxon, com significância denotada quando $p < 0,05$ (unicaudal) para os grupos originalmente atribuídos.

A análise de dados foi executada usando o software Stata/SE 12.1 para Windows e envolveu todos os 13 pacientes. No momento do planejamento do estudo, o maior estudo envolveu 10 participantes, e não encontramos literatura sobre as diferenças esperadas entre os grupos placebo e tratamento. Além disso, nosso estudo é um unicaudal pareado com foco em homens na mesma faixa etária, minimizando assim a variabilidade.

2.5 Registro do estudo

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas – Hospital Universitário Pedro Ernesto – Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ) (nº 33716520.2.0000.5259, número de aprovação 4.495.668). (ANEXO A).

O ensaio clínico também foi registrado no Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos (REBEC) no link a seguir: <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-5z2rr58>.

2.6 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo pacientes do sexo masculino, portadores de AAG, com acometimento do vértice e recessos frontotemporais, entre 18 e 45 anos de idade, classificação de Norwood-Hamilton graus II a IV e menos de 10 anos de evolução da doença. Indivíduos de todas as etnias e fototipos puderam participar do estudo, desde que de estivessem e acordo e assinassem o TCLE. Pacientes virgens de tratamento ou sem uso de medicação há no mínimo seis meses foram considerados elegíveis para a pesquisa.

2.7 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos fora da faixa etária definida para a pesquisa, com doença de evolução superior a 10 anos, classificação de Norwood-Hamilton grau V ou VI e as mulheres, por se tratar de um estudo direcionado ao público masculino. Foram também excluídos os pacientes portadores de outras condições inflamatórias, autoimunes, infecciosas ou tumorais concomitantes à AAG que afetassem o couro cabeludo. Pacientes com expectativas irreais com a pesquisa ou em vigência de tratamento para AAG não puderam ser candidatos elegíveis.

2.8 Metodologia de análise de dados

Para a análise dos dados foram feitas comparações de médias e medianas dos dados de repilação obtidos no estudo, comparações estas que ocorreram entre um lado do vértice e o contralateral em cada uma das três consultas (comparação de tratamentos em cada momento) e em cada lado ao longo do tempo (comparação da variação no tempo). O mesmo procedimento foi feito para comparação entre os recessos frontotemporais. Também foi feita comparação global entre o lado placebo e o que recebeu TB, levando em conta, em conjunto, as áreas do recesso frontotemporal e do lado do vértex. Os parâmetros avaliados foram densidade total, espessura dos pelos e total de novos pelos, no lado placebo e no lado contralateral. Foi utilizado, para amostras pareadas, o teste paramétrico t de *Student* e o teste não paramétrico de Wilcoxon. As análises descritivas incluíram ainda valores mínimos e máximos dos parâmetros. Para todos os testes realizados, o nível de significância estatística adotado foi de 5%.

2.9 Riscos e benefícios para os sujeitos da pesquisa

Não há desconforto ou risco com a tricoscopia. Na aplicação de toxina botulínica, leve dor ou desconforto passageiro com a injeção poderia ocorrer sendo geralmente bem tolerados. Pequenos nódulos inflamatórios, hemorragia focal, alergia e angioedema, embora raros, já foram relatados.

2.10 Orçamento

Os frascos de toxina botulínica (BOTOX®) utilizados na pesquisa foram doados pela indústria farmacêutica Allergan/AbbVie, sem qualquer vínculo com a pesquisa. Não houve custos para o HUPE ou para a UERJ.

Os custos da leitura da tecnologia de correspondência (hair-to-hair matching technology TrichoLab®), que assegurou a comparação entre as imagens em um mesmo local, foram arcados pela empresa TrichoLab®, sem qualquer vínculo com a pesquisa. Não houve custos para o HUPE ou para a UERJ, conforme termo de compromisso firmado (ANEXO B).

2.11 Aspectos éticos

Os pacientes foram esclarecidos sobre o objetivo do estudo, cabendo a eles a decisão de participar. O paciente incluído no projeto assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e pode se recusar a participar do estudo a qualquer momento, sem prejuízo ao seu atendimento no Hospital Universitário Pedro Ernesto. Não havia conflitos de interesses de qualquer um dos pesquisadores envolvidos no projeto, assim como não houve compensação financeira aos pacientes e/ou seus responsáveis.

3 RESULTADOS

Este ensaio clínico incluiu 13 homens com média e mediana de idade de $37,2 \pm 5,8$ e 38 ± 7 anos, respectivamente. As idades variaram de 25 a 44 anos. A Tabela 1 apresenta todos os achados demográficos, epidemiológicos e clínicos.

Tabela 1 – Demografia, epidemiologia e características clínicas dos participantes no início do estudo

Variáveis	Estatística/Categorias	Valores
Idade na entrada do estudo (anos)	Média (DP)	37,2 (5,8)
	Mediana (IIQ)	38 (7)
	Min; Max	25; 44
Duração da doença (anos)	Média (DP)	4,1 (1,7)
	Mediana (IIQ)	4 (2)
	Min; Max	2; 8
Fototipo de Fitzpatrick: n (%)	1	1 (7,7)
	2	1 (7,7)
	3	8 (61,5)
	4	3 (23,1)
Tipo de cabelo: n (%)	Caucasiano	10 (76,9)
	Africano	2 (15,4)
	Asiático	1 (7,7)
Classificação de Norwood-Hamilton: n (%)	2	1 (7,7)
	3	6 (46,2)
	4	3 (23,1)
	5	3 (23,1)
Comorbidades: n (%)	Sem comorbidade	10 (76,9)
	Asma	1 (7,7)
	Hipertensão	1 (7,7)
	Pre-diabetes	1 (7,7)
História familiar: n (%)		9 (69,2)
Índice de massa corporal (kg/m^2): n (%)	Normal (20-24,99)	6 (46,1)
	Sobrepeso (25-29,99)	5 (38,5)
	Obeso (>30)	2 (15,4)

Legenda: Desvio Padrão (DP); Intervalo Interquartilico (IIQ); Mínimo (Min); Máximo (Max).

Fonte: O autor, 2024.

A classificação de Norwood-Hamilton variou de grau II a V, e mais de dois terços (69,2%) dos pacientes tinham histórico familiar positivo de AAG. Todos os pacientes completaram o estudo de 24 semanas sem nenhuma desistência, exclusão ou efeitos colaterais relatados após o tratamento.

A Tabela 2, a seguir, apresenta os resultados completos. No lado da intervenção (TB), a região frontal do couro cabeludo teve uma mudança média de -13,8 ($\pm 36,1$) para o cabelo terminal e 2,7 ($\pm 17,3$) para a densidade total (unidades em cabelos/cm²). No vértice, esses números foram de -2,3 ($\pm 35,6$) para o terminal e 0,9 ($\pm 13,4$) para a densidade total do cabelo. No lado do placebo (solução salina), o couro cabeludo frontal teve uma mudança de -11,8 ($\pm 32,0$) para o cabelo terminal e 3,0 ($\pm 14,4$) para a densidade total do cabelo (unidades também em cabelos/cm²). No vértice, esses números foram de -20,7 ($\pm 32,3$) para o terminal e 7,9 ($\pm 13,1$) para a densidade total do cabelo.

Em relação à proporção de cabelos terminal/velus, os achados foram os seguintes: para o lado da intervenção (TB), a região frontal do couro cabeludo teve uma mudança média de -0,54 ($\pm 1,22$), enquanto o vértice -0,55 ($\pm 1,53$). Para o lado do placebo (solução salina), o couro cabeludo frontal teve uma mudança de -0,48 ($\pm 1,32$) e o vértice -0,73 ($\pm 1,04$).

Finalmente, as variações na densidade cumulativa da espessura do cabelo foram lado da intervenção (TB): -0,4 ($\pm 1,5$) no frontal e -0,7 ($\pm 1,3$) no vértice. Lado do placebo (solução salina): -0,4 ($\pm 1,4$) frontal e -0,4 ($\pm 1,3$) vértice.

Entre todos os resultados, o único resultado estatisticamente significativo foi uma mudança positiva na densidade total do cabelo para o lado do placebo na região do vértice ($p=0,025$). Nenhuma diferença entre os lados foi encontrada com base nos desfechos primários e secundários.

Além da análise principal dos desfechos primários e secundários exibidos na Tabela 2 e Gráficos 1 a 4 (Painel A a H) mostra a distribuição dos desfechos nas três visitas programadas. Nenhuma diferença na mediana pareada (T0 a T12; T0 a T24; T12 a T24) foi identificada ($p > 0,05$).

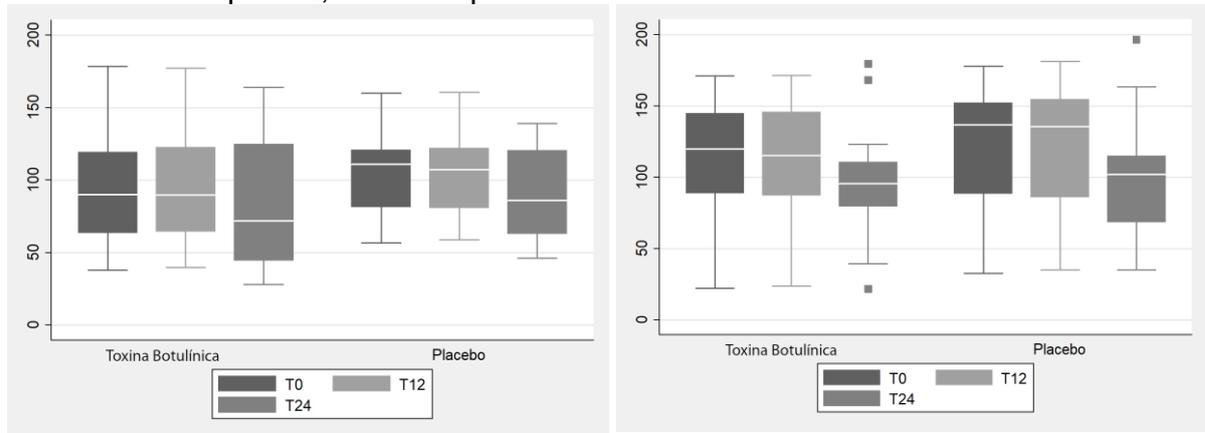
Tabela 2 – Principais resultados para os participantes do estudo (H2H)

		Toxina botulínica (n=13)			Placebo (n=13)			Diferença de variação (CI 95%)	p-valor**
		T ₀	T ₂₄	p- valor*	T ₀	T ₂₄	p- valor*		
Densidade de cabelos /cm², média (dc)									
--	Terminal	99,3 (45,5)	85,5 (48,5)	0,904	103,7 (30,6)	92,7 (31,7)			
Frontal	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-13,8 (36,1)		-	-11,0 (32,0)	-2,8 (-18,1; 12,5)	0,652	
	Total	216,0 (56,4)	218,8 (56,5)	0,290	216,3 (48,0)	219,2 (54,2)		0,235	
	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	2,7 (17,3)		-	3,0 (14,4)	0,3 (-11,9; 12,4)	0,576	
--	Terminal	118,2 (42,3)	95,9 (46,0)	0,979	119,4 (47,8)	98,7 (40,8)			
Vértice	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-22,3 (35,6)		-	-20,7 (32,3)	-1,6 (-19,5; 16,3)	0,848	
	Total	216,9 (40,0)	217,7 (39,7)	0,408	217,5 (40,7)	225,4 (49,2)		0,025	
	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	0,9 (13,4)		-	7,9 (13,1)	7,0 (-1,66; 15,7)	0,948	
Relação Terminal/Velus, média (dc)									
--	Terminal	1,49 (1,89)	0,95 (0,93)	0,933	1,33 (1,52)	0,85 (0,48)			
Frontal	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-0,54 (1,22)		-	-0,48 (1,32)	-0,07 (-0,33; 0,20)	0,704	
--	Terminal	1,80 (1,42)	1,25 (1,19)	0,890	1,92 (1,37)	1,18 (0,98)			
Vértice	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-0,55 (1,53)		-	-0,74 (1,04)	0,19 (-0,63; 1,01)	0,313	
Espessura média cumulativa [mm/cm²], média (dc)									
--	Terminal	12,7 (3,2)	12,3 (3,2)	0,818	12,9 (2,7)	12,6 (3,0)			
Frontal	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-0,4 (1,5)		-	-0,4 (1,4)	0,0 (-0,8; 0,9)	0,536	
--	Terminal	13,3 (2,3)	12,6 (2,3)	0,969	13,4 (2,6)	13,0 (2,6)			
Vértice	Variação (T ₂₄ – T ₀)	-	-0,7 (1,3)		-	-0,4 (1,3)	0,3 (-0,4; 1,0)	0,814	

Nota: todos os resultados foram analisados com detecção automática de pelos (mapa folicular) usando a tecnologia TrichoLAB® H2H-matches. Randomização simples realizada com Microsoft Excel 2021^a (função RAND()) para administrar TB em um lado do couro cabeludo e solução salina normal no lado contralateral; Densidade capilar terminal, diâmetro de 0,06 mm/cm² ou mais. *Teste t de Student para amostras pareadas: (T₀=T₂₄); teste unicaudal para média, para a hipótese alternativa (T₂₄) [média (T₂₄>T₀)]. **Teste t de Student para amostras pareadas para a hipótese alternativa: média (toxina botulínica [T₂₄-T₀])(placebo[T₂₄-T₀]).

Fonte: O autor, 2024.

Gráfico 1 – Diagramas de Caixa (*Box Plots*) para densidade de fios terminais nos tempos T₀, T₁₂ e T₂₄ para Toxina Botulínica e Placebo



A

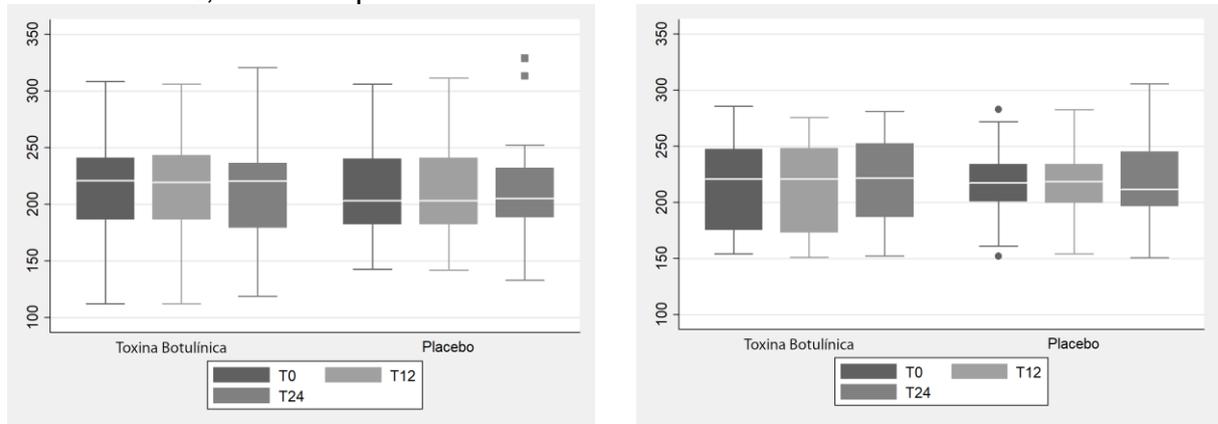
B

Legenda: A – Densidade de Fios Terminais (cm²), Região Frontal; B- Densidade de Fios Terminais (cm²), Vértice.

Nota: O diagrama de caixa indica os quartis inferior e superior da variável representada em uma escala. A mediana é representada por uma linha que subdivide a caixa, cujo comprimento representa o intervalo interquartil (IIQ). As linhas são desenhadas para abranger dados dentro de 1,5 IIQ do quartil mais próximo: uma linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil superior e para o maior valor desse intervalo, enquanto a outra linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil inferior e até o menor valor desse intervalo. Qualquer dado além das linhas (*outliers*) é mostrado individualmente. As comparações das medianas foram realizadas com o teste de postos sinalizados de Wilcoxon para os grupos originalmente designados. A análise dos dados e os gráficos foram realizados utilizando o software Stata/SE 12.1 para Windows.

Fonte: O autor, 2024.

Gráfico 2 – Diagramas de Caixa (*Box Plots*) para densidade de cabelos nos tempos T₀, T₁₂ e T₂₄ para Toxina Botulínica e Placebo



A

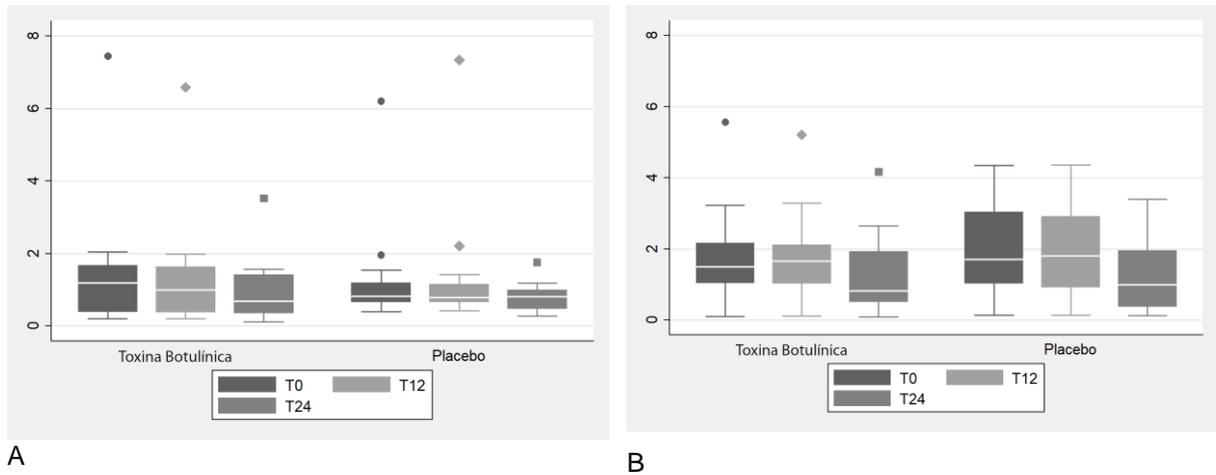
B

Legenda: A – Densidade de cabelos (cm²), Região Frontal; B- Densidade (cm²), Vértice.

Nota: O diagrama de caixa indica os quartis inferior e superior da variável representada em uma escala. A mediana é representada por uma linha que subdivide a caixa, cujo comprimento representa o intervalo interquartil (IIQ). As linhas são desenhadas para abranger dados dentro de 1,5 IIQ do quartil mais próximo: uma linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil superior e para o maior valor desse intervalo, enquanto a outra linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil inferior e até o menor valor desse intervalo. Qualquer dado além das linhas (*outliers*) é mostrado individualmente. As comparações das medianas foram realizadas com o teste de postos sinalizados de Wilcoxon para os grupos originalmente designados. A análise dos dados e os gráficos foram realizados utilizando o software Stata/SE 12.1 para Windows.

Fonte: O autor, 2024.

Gráfico 3 – Diagramas de Caixa (*Box Plots*) para razão terminal/velus nos tempos T₀, T₁₂ e T₂₄ para Toxina Botulínica e Placebo

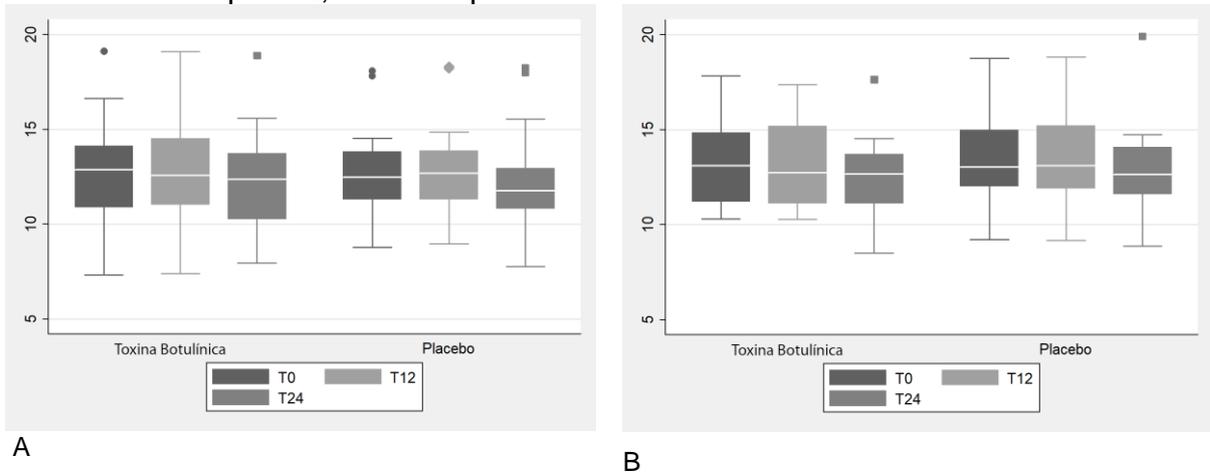


Legenda: A- Razão Terminal/Velus, Região Frontal; B- Razão Terminal/Velus, Vértice.

Nota: O diagrama de caixa indica os quartis inferior e superior da variável representada em uma escala. A mediana é representada por uma linha que subdivide a caixa, cujo comprimento representa o intervalo interquartil (IIQ). As linhas são desenhadas para abranger dados dentro de 1,5 IIQ do quartil mais próximo: uma linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil superior e para o maior valor desse intervalo, enquanto a outra linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil inferior e até o menor valor desse intervalo. Qualquer dado além das linhas (*outliers*) é mostrado individualmente. As comparações das medianas foram realizadas com o teste de postos sinalizados de Wilcoxon para os grupos originalmente designados. A análise dos dados e os gráficos foram realizados utilizando o software Stata/SE 12.1 para Windows.

Fonte: O autor, 2024.

Gráfico 4 – Diagramas de Caixa (*Box Plots*) para espessura média acumulada nos tempos T₀, T₁₂ e T₂₄ para Toxina Botulínica e Placebo

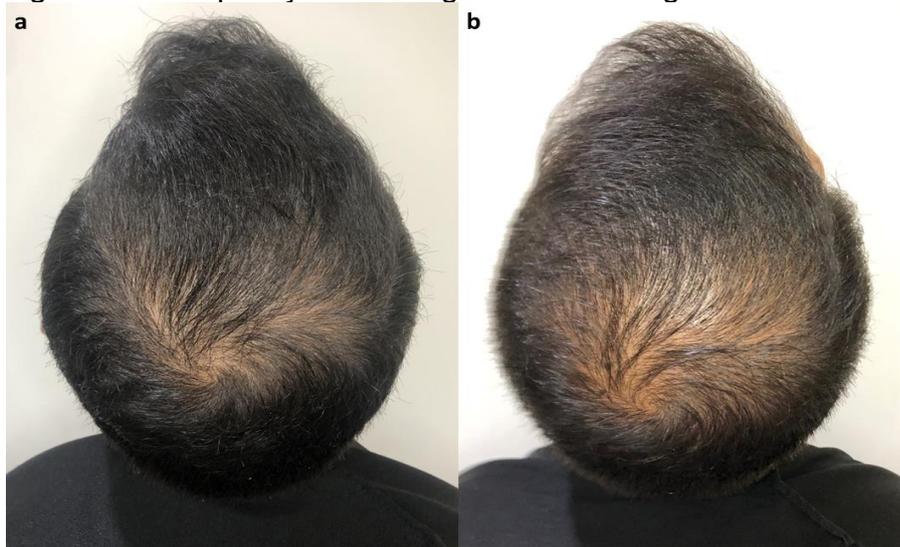


Legenda: A - Espessura Média Acumulada, Região Frontal; B - Espessura Média Acumulada, Vértice.
 Nota: O diagrama de caixa indica os quartis inferior e superior da variável representada em uma escala. A mediana é representada por uma linha que subdivide a caixa, cujo comprimento representa o intervalo interquartil (IIQ). As linhas são desenhadas para abranger dados dentro de 1,5 IIQ do quartil mais próximo: uma linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil superior e para o maior valor desse intervalo, enquanto a outra linha se estende para incluir todos os dados dentro de 1,5 IIQ do quartil inferior e até o menor valor desse intervalo. Qualquer dado além das linhas (*outliers*) é mostrado individualmente. As comparações das medianas foram realizadas com o teste de postos sinalizados de Wilcoxon para os grupos originalmente designados. A análise dos dados e os gráficos foram realizados utilizando o software Stata/SE 12.1 para Windows.

Fonte: O autor, 2024.

A Figura 6 mostra um comparativo fotográfico macroscópico de antes e depois de um mesmo paciente e a Figura 7 apresenta um exemplo de Follicular Map.

Figura 6 - Comparação de fotografias clínicas globais do vértice

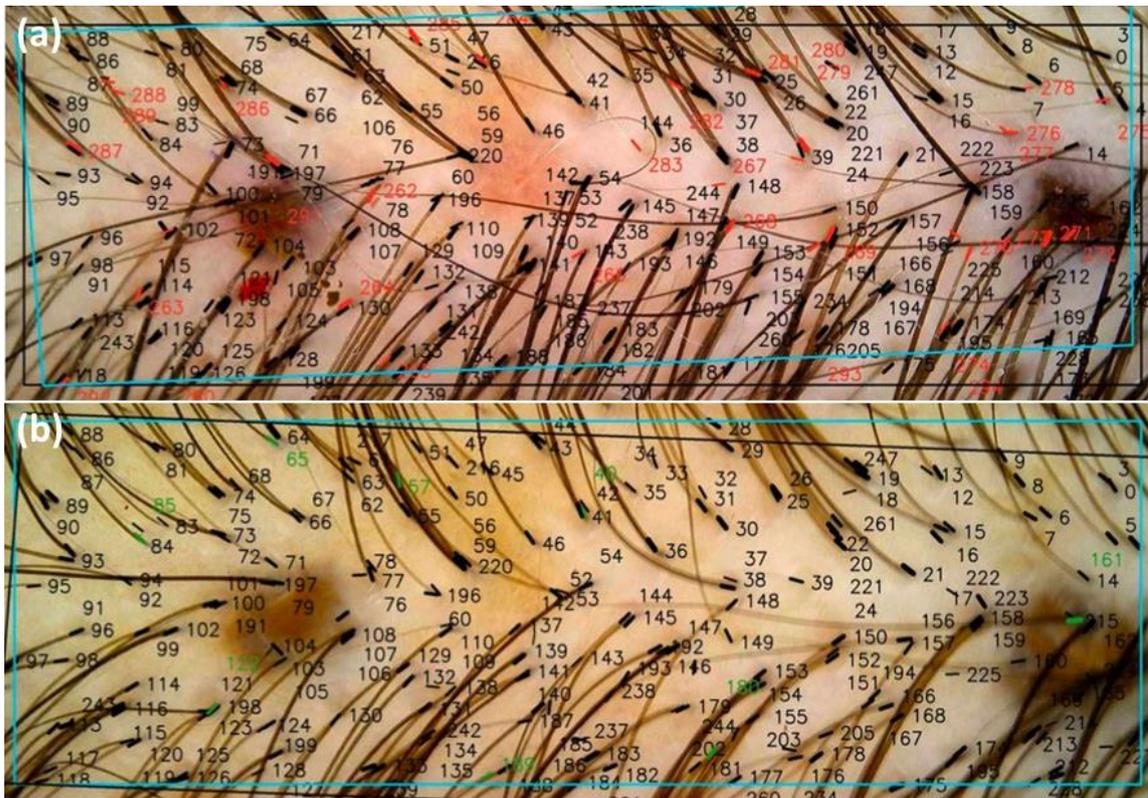


Legenda: Antes (a) e depois (b).

Nota: As fotos mostram a piora aparente da densidade capilar em um dos pacientes após 24 semanas de tratamento.

Fonte: Acervo pessoal do autor.

Figura 7 - Exemplo de análise comparativa fio a fio de um paciente que recebeu TB na região frontotemporal



Legenda: (a) antes; (b) depois.

Nota: De acordo com o mapa folicular (tecnologia H2H-matched), a espessura média do cabelo foi de 0,058 mm antes e 0,056 mm após 24 semanas. Houve uma redução no número de fios terminais (91 vs. 85) e uma diminuição na contagem total de fios, pois o número de fios perdidos foi de 33 (números vermelhos) vs. o número de novos fios foi de 8 (números verdes). Os círculos marrons representam as marcas de tatuagem, garantindo que a tricoscopia comparativa tenha como alvo exatamente a mesma área.

Fonte: imagem capturada pelo sistema da *TrichoLab* (hair to hair matching technology).

4 DISCUSSÃO

Em nosso estudo, a TB injetável não promoveu o recrescimento capilar em homens com AAG após 24 semanas. Não houve diferenças perceptíveis na densidade capilar terminal ou geral em comparação ao placebo, nem alterações na proporção entre os pelos terminais e velus. Além disso, não houve variações na espessura capilar cumulativa. A TB não conseguiu impedir a progressão da doença, provando ser ineficaz em mitigar a miniaturização folicular clinicamente manifestada como afinamento capilar. A densidade capilar terminal na parte frontal e no vértice do couro cabeludo diminuiu em ambos os lados e o aumento observado na proporção velus/terminal contradisse possíveis melhorias clínicas relatadas em estudos anteriores. A TB, no entanto, foi bem tolerada pelos pacientes e os relatos de efeitos colaterais foram insignificantes.

Até o momento, um número limitado de revisões sistemáticas produziu descobertas inconclusivas sobre a eficácia da TB para AAG, sem dúvida devido ao fraco nível de evidência da maioria dos estudos.(4,37-39) Essas revisões identificaram heterogeneidade significativa nas populações estudadas, protocolos de tratamento, além de falta de randomização e cegamento adequado.(37) Os poucos artigos que empregaram medidas objetivas, como contagem de cabelos antes e depois de intervenções, também apresentaram resultados conflitantes. (23,24)

Além disso, muitas avaliações basearam-se principalmente em exames clínicos e fotográficos simples, ocasionalmente complementados por uma avaliação subjetiva da satisfação do paciente por meio de questionários. Notavelmente, alguns artigos não incluíram avaliações de tricoscopia (8,9,24) e, quando realizadas, a falta de marcações de tatuagem dificultou comparações precisas no mesmo local. (23,25–28) Dados cruciais, como medições oportunas da densidade e espessura do cabelo, estavam frequentemente ausentes.(39) Muitos estudos não especificaram a marca de TB empregada e, a maioria teve um acompanhamento de menos de 6 meses, limitando assim nossa compreensão dos efeitos da TB na doença de longo prazo.(28,37) Resultados positivos anteriormente publicados devem, portanto, ser vistos com cautela, considerando as baixas pontuações de qualidade do escore Jadad desses ensaios.(4,37–39)

Entre todos os resultados do nosso estudo, o único resultado estatisticamente significativo foi uma mudança positiva na densidade total do cabelo para o lado do placebo na região do vértice ($p=0,025$). Esse resultado pode ser atribuído ao efeito placebo. O efeito placebo constitui um fenômeno multifacetado, sustentado por diversos mecanismos psicológicos e neurobiológicos. Esses mecanismos subjacentes que mediam as respostas ao placebo diferem de acordo com a condição clínica e os desfechos avaliados. No caso específico deste trabalho, os achados não são intuitivos e os mecanismos ainda não estão claros, contudo, não alteram as conclusões referentes à ausência de eficácia do tratamento.

As comparações de fotografias clínicas podem ser substancialmente influenciadas pela percepção de cortes e estilo de cabelo, coloração, lavagem e outros fatores psicossociais.(34) A contagem manual de fios consome tempo e está sujeita a erro humano.(40) A tricoscopia regular é ineficiente para uma análise objetiva se não for realizada comparativa e precisamente no mesmo local.(41) Nosso estudo usou uma avaliação precisa das mudanças na contagem, espessura e densidade do cabelo para monitorar o efeito terapêutico da TB.

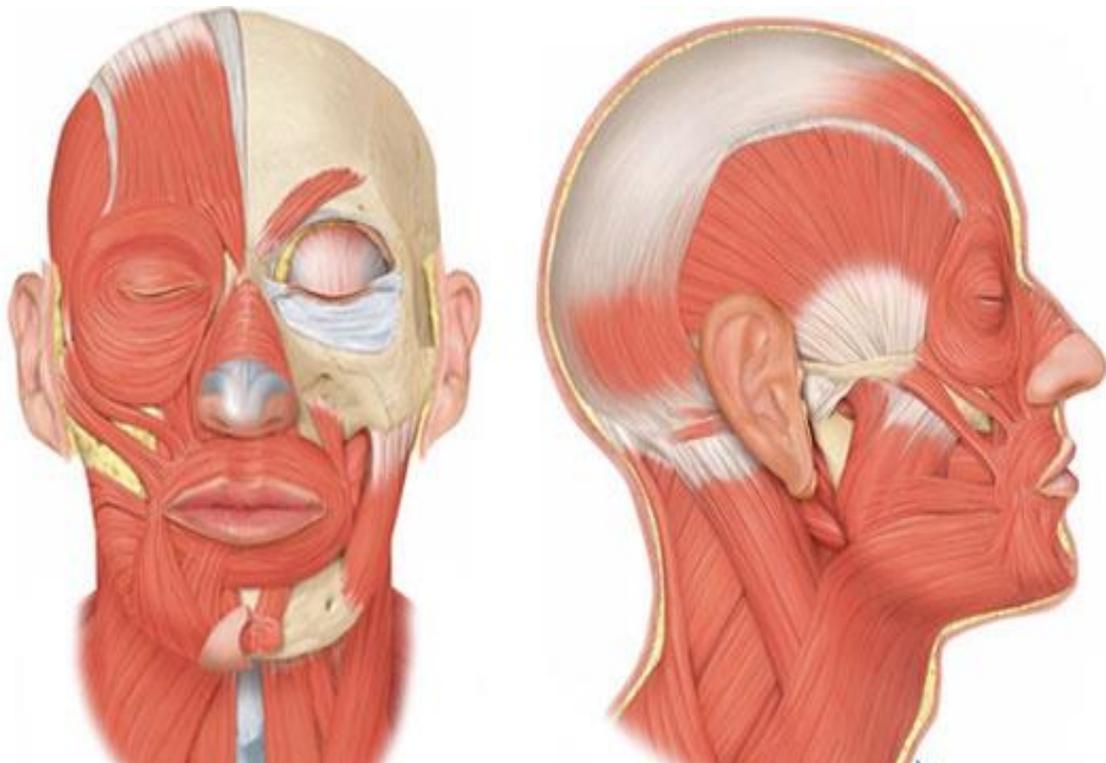
A tecnologia TrichoLab® H2H-matching™ gera um mapa do couro cabeludo (Follicular Map), baseado nas posições relativas dos folículos pilosos na tricoscopia.(35) Semelhante a uma impressão digital, a distribuição dos folículos capilares é única para cada indivíduo e por áreas do couro cabeludo, permanecendo inalterada nas alopecias não cicatriciais.(42) Essa tecnologia permite comparações precisas entre os lados em diferentes zonas anatômicas ao longo do tempo. Também evita a raspagem do cabelo.(34)

Ao contrário de estudos anteriores, optamos por injetar tanto na camada intradérmica quanto na intramuscular do couro cabeludo. A aplicação foi intramuscular nos recessos frontotemporais, onde há musculatura estriada para avaliar se a TB seria capaz de bloquear a acetilcolina local, gerando inibição da contração muscular, vasodilatação das arteríolas perfurantes e aumento do fluxo de oxigênio no tecido. Isso levaria à menor conversão de testosterona em DHT e conseqüentemente à menor miniaturização folicular. No vértice, a aplicação foi feita na derme profunda, perto da gálea aponeurótica, onde nenhum músculo está presente. Como não há musculatura nessa área, se a TB fosse eficaz em promover o crescimento capilar, estaríamos diante de um novo mecanismo de ação diferente

da hipótese anteriormente abordada. Talvez uma ação dérmica sobre o TGF- β 1 ou algo inovador a ser posteriormente estudado.

A Figura 8, a seguir, mostra imagens ilustrativas da musculatura do couro cabeludo, nas áreas de interesse para o estudo. A redução hipotética na tensão muscular da gálea (tipicamente elevada na AAG) poderia teoricamente melhorar a densidade dos cabelos.(38) Shon et al.(25) argumentam que a TB intradérmica poderia ser eficaz na AAG por meio da inibição do TGF- β 1 induzido pela presença da DHT no bulbo capilar. O TGF- β 1 suprimiria o crescimento dos queratinócitos foliculares e afetaria negativamente o ciclo capilar. No entanto, os autores declararam que, considerando a difusão do fármaco e a anatomia do couro cabeludo, mesmo a injeção intramuscular poderia inibir indiretamente os níveis de TGF- β 1 no bulbo capilar.(25,43,44) Em nossa pesquisa, nem os recessos frontotemporais nem o vértice demonstraram melhora clínica ou tricoscópica.

Figura 8 – Imagem da anatomia do plano muscular da face e do couro cabeludo



Nota: Notar a ausência de musculatura na região do vértice e a presença de músculos na região do recesso frontotemporal.

Fonte: <https://sanarmed.com/musculos-da-face-uma-revisao-de-anatomia-colunistas/>

Doses administradas em estudos anteriores variaram de 30 a 150 UI e foram sistematicamente distribuídas em metade ou em todo o couro cabeludo.(37,38) Em nosso estudo, aplicamos 25 UI em uma pequena área de 1cm² ao redor das tatuagens e o processo foi repetido após 12 semanas. Essa abordagem garantiu que qualquer resultado potencialmente desfavorável não fosse atribuível à subdosagem ou a outro viés relacionado a uma única intervenção. Além disso, para evitar a influência potencial de má resposta clínica esperada em AAG mais graves ou em pacientes com idade mais avançada nos resultados do tratamento, excluímos os indivíduos com idade acima de 45 anos, duração da doença superior a 10 anos e aqueles com uma classificação Norwood-Hamilton maior do que grau V.

Embora tenhamos estudado um tipo específico de TB (ona toxina), acreditamos que, mesmo com nuances estéticas, de composição e de halo de difusão, não haveria diferença no desfecho do estudo para o tratamento da AAG caso toxinas abo ou incoTB tivessem sido utilizadas na pesquisa.

Nosso estudo prospectivo, triplo-cego e randomizado garantiu que os participantes servissem como seu próprio controle, uma vez que o mesmo paciente recebeu tanto TB como placebo em seu couro cabeludo. Defendemos que tal desenho de estudo reduz fatores de confusão desconhecidos e compensa parcialmente os efeitos limitantes no poder do estudo de nossa modesta coorte.

5 LIMITAÇÕES

As principais limitações deste estudo incluem seu formato monocêntrico, o pequeno tamanho da amostra e o uso da TB exclusivamente no público masculino.

CONCLUSÃO

À medida que as pesquisas avançam progressivamente sobre o mecanismo etiopatogênico da AAG, novas opções surgem para complementar o arsenal terapêutico disponível. Apesar de sua plausibilidade teórica e dos mínimos efeitos colaterais relatados, a TB não se mostrou superior ao placebo para o tratamento da AAG masculina em nenhuma das áreas do couro cabeludo avaliadas em nosso estudo em nenhum momento durante todo o período de acompanhamento de todos os pacientes.

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo usando a tecnologia de correspondência hair-to-hair matching para testar a eficácia da TB para AAG masculina. Nosso estudo randomizado, triplo-cego e controlado por placebo foi único em medir com precisão a contagem de cabelos, a espessura dos fios e a densidade capilar para essa finalidade.

Nem os resultados primários nem secundários (mudança absoluta na densidade capilar total (por cm^2) no couro cabeludo frontal e do vértice, mudança na proporção entre cabelos terminais e cabelos velus e mudança na densidade cumulativa da espessura capilar (por mm/cm^2) da linha de base até a semana 24) de interesse neste estudo foram afetados positivamente pela TB. Portanto, em nosso estudo, a TB não provou ser uma terapia eficaz para AAG masculina.

PERSPECTIVAS FUTURAS

As perspectivas para o tratamento da AAG estão em constante evolução, com novas abordagens sendo exploradas para melhorar a eficácia das intervenções. Nossa pesquisa sobre o uso da TB para tratar AAG em homens não obteve desfecho de melhora clínica, demonstrando que essa terapia não é eficaz para essa condição. No entanto, o campo está aberto a outros tipos de tratamentos injetáveis, como dutasterida, minoxidil e fatores de crescimento, que podem oferecer novas esperanças para pacientes afetados.

A pesquisa atual tem grande relevância para a dermatologia clínica e estética. Entretanto, é importante considerar que nosso estudo se concentrou na população masculina, o que levanta a possibilidade de que a inclusão de uma coorte de mulheres possa, eventualmente, revelar resultados diferentes. Isso porque diferenças nos mecanismos patogênicos entre os gêneros poderiam influenciar a resposta ao tratamento.

À medida que as pesquisas avançam, esperamos que novas terapias direcionadas para AAG sejam desenvolvidas. Esses tratamentos podem não só melhorar o crescimento capilar, mas também ajudar a mitigar os efeitos psicossociais associados à condição. Assim, um enfoque científico com metodologia objetiva e acurada além de abordagem multidisciplinar será fundamental para o manejo eficaz futuro dessa condição tão desafiadora na atualidade.

REFERÊNCIAS

1. Lolli F, Pallotti F, Rossi A, Fortuna MC, Caro G, Lenzi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017 Jul;57(1):9-17. doi:10.1007/s12020-017-1280-y.
2. Melo DF, Ramos PM, Antelo DAP, Machado CJ, Barcaui CB. Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia? *J Cosmet Dermatol*. 2021 Jul;20(7):2093-5. doi: 10.1111/jocd.14177.
3. Meyer-Gonzalez T, Bacqueville D, Grimalt R, Mengeaud V, Piraccini BM, Rudnicka L, et al. Trichology Experts Network Group; Vano-Galvan S. Current controversies in trichology: a European expert consensus statement. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Nov;35 Suppl 2:3-11. doi: 10.1111/jdv.17601.
4. Wang Y, Zhang H, Zheng Q, Tang K, Fang R, Sun Q. Botulinum toxin as a double-edged sword in alopecia: A systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2020 Oct;19(10):2560-5. doi:10.1111/jocd.13647.
5. Blume-Peytavi U, Blumeyer A, Tosti A, Finner A, Marmol V, Trakatelli M, et al. European Consensus Group. S1 guideline for diagnostic evaluation in androgenetic alopecia in men, women, and adolescents. *Br J Dermatol*. 2011 Jan;164(1):5-15. doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.10011.x.
6. Gupta S, Goyal I, Mahendra A. Quality of Life Assessment in Patients with Androgenetic Alopecia. *Int J Trichology*. 2019;11(4):147–52. doi: 10.4103/ijt.ijt_6_19.
7. Han SH, Byun JW, Lee WS, Kang H, Kye YC, Kim KH, et al. Quality of life assessment in male patients with androgenetic alopecia: Result of a prospective, multicenter study. *Ann Dermatol*. 2012 Aug;24(3):311–8. doi: 10.5021/ad.2012.24.3.311.
8. Singh S, Neema S, Vasudevan B. A pilot study to evaluate effectiveness of botulinum toxin in treatment of androgenetic alopecia in males. *J Cutan Aesthet Surg*. 2017 Jul;10(3):163–7. doi: 10.4103/jcas.jcas_77_17.
9. Zhou Y, Yu S, Zhao J, Feng X, Zhang M, Zhao Z. Effectiveness and Safety of Botulinum Toxin Type A in the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Biomed Res Int*. 2020; Aug 4;2020:1501893. doi: 10.1155/2020/1501893.
10. Prie BE, Iosif L, Tivig I, Stoian I, Giurcaneanu C. Oxidative stress in androgenetic alopecia. *J Med Life*. 2016;9(1):79–83.
11. Sinclair R, Torkamani N, Jones L. Androgenetic alopecia: new insights into the pathogenesis and mechanism of hair loss. *F1000Res*. 2015 Aug;4(F1000 Faculty Rev):585. doi: 10.12688/f1000research.6401.1.

12. Ho BS, Ho EXP, Chu CW, Ramasamy S, Bigliardi-Qi M, Florez de Sessions P, et al. Microbiome in the hair follicle of androgenetic alopecia patients. *PLoS One*. 2019 May;14(5):e0216330. doi: 10.1371/journal.pone.0216330.
13. English RS. A hypothetical pathogenesis model for androgenic alopecia: Clarifying the dihydrotestosterone paradox and rate-limiting recovery factors. *Med Hypotheses*. 2018 Feb;111:73–81. doi:10.1016/j.mehy.2017.12.027.
14. Chen KY, Lin SH, Cheng SY, Lo TK, Huang HY, Tang MJ, et al. Androgenetic alopecia is associated with increased scalp hardness. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020 May;34(5):e234-6. doi: 10.1111/jdv.16194.
15. Goren A, Naccarato T. Minoxidil in the treatment of androgenetic alopecia. *Dermatol Ther*. 2018 Sep;31(5):e12686. doi: 10.1111/dth.12686.
16. Kelly Y, Blanco A, Tosti A. Androgenetic Alopecia: An Update of Treatment Options. *Drugs*. 2016 Sep;76(14):1349-64. doi: 10.1007/s40265-016-0629-5.
17. Melo DF, Cortez de Almeida RF, Frattini SC, Santos LDN, Ramos PM. Minimally invasive procedures for the management of female pattern hair loss. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Nov;21(11):5405-8. doi: 10.1111/jocd.15160.
18. Dressler D, Saberi FA, Barbosa ER. Botulinum toxin: mechanisms of action. *Arq Neuropsiquiatr*. 2005 Mar;63(1):180-5. doi: 10.1590/s0004-282x2005000100035.
19. Alsaati AA, Alsaadoun D, Kinkar LI, Alkhamis RS, Ahmed WA, Almathami AH. The Efficacy and Safety of Botulinum Toxin A for the Treatment of Rosacea: A Systematic Review. *Cureus*. 2023 Dec;15(12):e51304. doi: 10.7759/cureus.51304.
20. Zhang H, Tang K, Wang Y, Fang R, Sun Q. Use of Botulinum Toxin in Treating Rosacea: A Systematic Review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2021 Apr;14:407-17. doi: 10.2147/CCID.S307013.
21. Schlessinger J, Gilbert E, Cohen JL, Kaufman J. New Uses of AbobotulinumtoxinA in Aesthetics. *Aesthet Surg J*. 2017 May;37(suppl 1):S45-58. doi: 10.1093/asj/sjx005.
22. Hyun MY, Kim BJ, Lee C, Kim JW. Radiation-induced Alopecia Treated with Botulinum Toxin Type A Injection. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2014 Nov;2(10):e226. doi: 10.1097/GOX.000000000000149.
23. Freund BJ, Schwartz M. Treatment of male pattern baldness with botulinum toxin: a pilot study. *Plast Reconstr Surg*. 2010 Nov;126(5):246e-8e. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181ef816d.
24. Zhang L, Yu Q, Wang Y, Ma Y, Shi Y, Li X. A small dose of botulinum toxin A is effective for treating androgenetic alopecia in Chinese patients. *Dermatol Ther*. 2019;32(4):e12785. doi: 10.1111/dth.12785.

25. Shon U, Kim MH, Lee DY, Kim SH, Park BC. The effect of intradermal botulinum toxin on androgenetic alopecia and its possible mechanism. *J Am Acad Dermatol*. 2020 Dec;83(6):1838–9.
26. Seoudy WM, Metwally OA, Elfangary MM, Mohamed TM. Assessment of efficacy of different botulinum toxin A concentrations in the treatment of androgenetic alopecia assessed by dermoscopy. *J Cosmet Dermatol*. 2023 Aug;23(2):417-25. doi: 10.1111/jocd.15972.
27. Nassar A, Abdel-Aleem H, Samir M, Khattab FM. Efficacy of botulinum toxin A injection in the treatment of androgenic alopecia: A Comparative Controlled Study. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Oct;21(10):4261–8. doi: 10.1111/jocd.14817.
28. Tian K, Gao S, Jia Z, Xu W, Li K, Wu L. A study of combination unilateral subcutaneous botulinum toxin a treatment for androgenetic alopecia. *J Cosmet Dermatol*. 2022 Nov;21(11):5584–90. doi:10.1111/jocd.15179.
29. Iorio ML, Masden DL, Higgins JP. Botulinum toxin a treatment of raynaud's phenomenon: A review. *Semin Arthritis Rheum*. 2012 Feb;41(4):599–603. doi: 10.1016/j.semarthrit.2011.07.006.
30. Gupta AK, Polla Ravi S, Wang T, Talukder M, Starace M, Piraccini BM. Systematic review of mesotherapy: a novel avenue for the treatment of hair loss. *J Dermatol Treat*. 2023 Dec;34(1). doi: 10.1080/09546634.2023.2245084.
31. Martina E, Diotallevi F, Radi G, Campanati A, Offidani A. Therapeutic Use of Botulinum Neurotoxins in Dermatology: Systematic Review. *Toxins (Basel)*. 2021 Feb;13(2):120. doi: 10.3390/toxins13020120.
32. Kasyanju Carrero LM, Ma WW, Liu HF, Yin XF, Zhou BR. Botulinum toxin type A for the treatment and prevention of hypertrophic scars and keloids: Updated review. *J Cosmet Dermatol*. 2019 Feb;18(1):10-5. doi:10.1111/jocd.12828.
33. Shimizu GKM, Wedy GF, Schaefer LV, Ramos PM, Miot HA. Translation into Portuguese language (Brazil), transcultural adaptation and validation of the quality-of-life questionnaire in female pattern hair loss (WAA-QoL-BP). *An Bras Dermatol*. 2018 Sep-Oct;93(5):701-6. doi: 10.1590/abd1806-4841.20187452.
34. Melo DF, Donda ALV, Cortez de Almeida RF, Antelo DA, Muller-Ramos P, Machado CJ, et al. Hair-to-Hair Trichoscopy: An Objective Method to Assess Effectiveness of Botulinum Toxin in a Clinical Trial for Androgenetic Alopecia. *Skin Appendage Disord*. 2023;10(1):41–5. doi: 10.1159/000533796.
35. Bokhari L, Cottle P, Grimalt R, Kasprzak M, Sicińska J, Sinclair R, et al. Efficiency of Hair Detection in Hair-to-Hair Matched Trichoscopy. *Skin Appendage Disord*. 2022 Sep;8(5):382-8. doi: 10.1159/000524345.
36. Pirmez R, Salas-Callo CI. Very-low-dose oral minoxidil in male androgenetic alopecia: A study with quantitative trichoscopic documentation. *J Am Acad Dermatol*. 2020 Jan;82(1):e21-2.

37. Carloni R, Pechevy L, Postel F, Zielinski M, Gandolfi S. Is there a therapeutic effect of botulinum toxin on scalp alopecia? Physiopathology and reported cases: A systematic review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2020 Dec;73(12):2210-6.
38. English RS Jr, Ruiz S. Use of Botulinum Toxin for Androgenic Alopecia: A Systematic Review. *Skin Appendage Disord*. 2022 Mar;8(2):93-100. doi: 10.1159/000518574.
39. Adil A, Godwin M. The effectiveness of treatments for androgenetic alopecia: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2017 Jul;77(1):136-41.e5. doi: 10.1016/j.jaad.2017.02.054.
40. Blume-Peytavi U, Orfanos CE. Microscopy of the hair – the trichogram. In: Serup J, Jemec GBE, Grove GL, editors. *Handbook of non-invasive methods and the skin*. 2nd ed. FL: CRC Press; 2006. p. 875–88.
41. Shih H. A precise automatic system for the hair assessment in hair-care diagnosis applications. *Skin Res Technol*. 2015 Nov;21(4):500-7. doi: 10.1111/srt.12220.
42. Kasprzak M, Sicińska J, Tosti A. Follicular Map: A Novel Approach to Quantitative Trichoscopy. *Skin Appendage Disord*. 2019 Jun;5(4):216-20. doi: 10.1159/000497193.
43. Park BC, Shon U. Author's reply to the comment on: "The effect of intradermal botulinum toxin on androgenetic alopecia and its possible mechanism". *J Am Acad Dermatol*. 2020 Dec;83(6):e437.
44. Carloni R, Gandolfi S, Postel F, Bertheuil N, Pechevy L. Reply to: "The effect of intradermal botulinum toxin on androgenetic alopecia and its possible mechanism". *J Am Acad Dermatol*. 2020 Dec;83(6):e435-6. doi: 10.1016/j.jaad.2020.07.092.

APÊNDICE A – Ficha de consulta

Ficha clínica

	Universidade do Estado do Rio de Janeiro Hospital Universitário Pedro Ernesto Serviço de Dermatologia
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

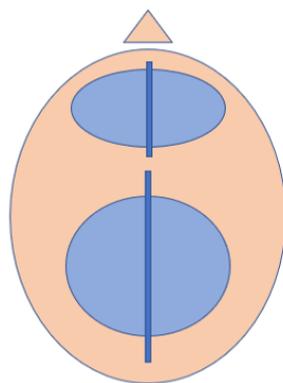
Avaliação da eficácia da toxina botulínica como terapia adjuvante no tratamento da alopecia androgenética masculina

Data da 1ª. consulta: / /

Caso:

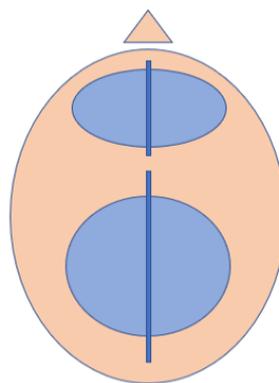
I – Identificação:

1. Nome
2. Registro
3. Endereço
4. Telefone
5. Idade
6. Sexo
7. Etnia



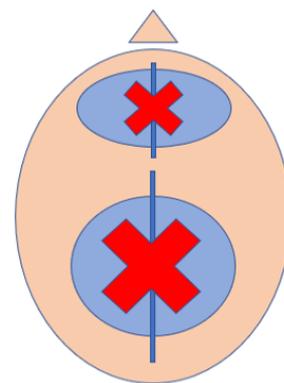
Semana 0

- Foto da clínica
 Foto da tricoscopia



Semana 12

- Foto da clínica
 Foto da tricoscopia



Semana 24

- Foto da clínica
 Foto da tricoscopia

Médico Responsável: _____

APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

**Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Hospital Universitário Pedro Ernesto
Serviço de Dermatologia**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**Título:**

Avaliação da eficácia terapêutica da toxina botulínica na alopecia androgenética masculina

Prezado paciente,

Você está sendo convidado a participar desta pesquisa pois está sendo acompanhado no ambulatório de alopecias na dermatologia do Hospital Pedro Ernesto e foi avaliado com diagnóstico de alopecia androgenética masculina (AAG).

A alopecia androgenética é a forma mais comum de queda de cabelo nos homens. Pode comprometer a autoestima e a qualidade de vida dos indivíduos afetados. Atualmente somente o minoxidil tópico e a finasterida oral são aprovados para tratar a AAG masculina. A toxina botulínica é uma neurotoxina utilizada no campo da estética, oftalmologia e neurologia para o tratamento de diversas condições. Nosso projeto objetiva avaliar se a toxina botulínica injetável é capaz de promover crescimento capilar em áreas calvas de homens portadores de AAG.

Protocolo do estudo

O paciente com alopecia androgenética localizada nas têmporas e no vértex do couro cabeludo será incluído no estudo, caso autorizar. Suas lesões serão clinicamente examinadas por um dermatologista e após ser submetido às fotografias clínicas e tricoscopia para interpretação e correlação dos achados, serão feitas aplicações de toxina botulínica no couro cabeludo no mesmo dia. No primeiro dia, uma tatuagem com permanência de aproximadamente 2 anos será feita. É fundamental comparecer às três consultas agendadas com intervalo de aproximadamente 12 semanas entre as visitas. Qualquer alteração notada será registrada em uma ficha individual padronizada.

Privacidade

Todos os dados pessoais serão utilizados de acordo com as normas legais. Informações que possam identificar os pacientes serão mantidas confidenciais e não serão disponibilizadas publicamente. Se houver necessidade de tirar fotos clínicas, autorizo esse procedimento. As fotos bem como os dados poderão ser publicados, mas a identidade será preservada. O comitê de ética e as autoridades regulatórias poderão ter acesso aos dados originais dos pacientes para verificação dos procedimentos clínicos e informações dos estudos sem violar a confidencialidade dos pacientes e apenas até onde as leis e regulamentos legais o permitam. Assinando e datando este termo de consentimento, o paciente ou seu representante legal autorizam este acesso.

Rubrica – Dr Daniel Fernandes Melo
participante

Rubrica -

Desconforto e riscos possíveis

Não há desconforto ou risco com a tricoscopia. Na tatuagem e na aplicação de toxina botulínica, leve dor ou desconforto passageiro com a injeção podem ocorrer e, geralmente são bem tolerados. Pequenos nódulos inflamatórios, alergia e angioedema, embora raros, já foram relatados.

Participação

A participação neste estudo é completamente voluntária. A qualquer momento poderá ser escolhido não participar deste estudo. Isto não acarretará quaisquer consequências, desvantagens ou problemas futuros em relação ao atendimento médico neste hospital.

Responsabilidade dos pacientes

Caso haja a participação neste estudo, o paciente será submetido a um exame dermatológico direcionado, serão obtidas imagens fotográficas globais e da tricoscopia. O participante deverá fornecer história médica resumida e comparecer às três consultas agendadas para o projeto.

Responsabilidade institucional

Nenhum tipo de compensação foi idealizada para este projeto, já que todos os procedimentos e as prescrições farão parte das visitas clínicas habituais que o paciente faria para acompanhamento da sua condição clínica mesmo que não participasse desse estudo. Os telefones de contato do médico Daniel Fernandes Melo são 3081-6616 ou 3081-6989.

Pagamento dos pacientes

Não haverá qualquer compensação financeira aos participantes deste estudo.

Possíveis informações relevantes em relação ao desejo de continuar no estudo

Todos os achados descobertos durante a pesquisa que possam influenciá-los decisivamente em relação ao desejo de continuar no estudo serão relatados sempre que se tornarem disponíveis.

Contato do Comitê de Ética e Pesquisa

Caso seja necessário, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do HUPE para esclarecimentos ou informações quanto a validade da pesquisa: Av. 28 de setembro, 77 térreo Vila Isabel – Cep 20.551-030 – Tel: (21) 2868-8253 – E-mail: cep-hupe@uerj.br.

Consentimento

Tendo recebido todos os esclarecimentos necessários e, resguardados os preceitos éticos que regulamentam este termo segundo a resolução CNS 466/2012 do Ministério da Saúde, consinto em participar deste estudo.

Rio de Janeiro, _____ de _____ de 20_____

Nome do Participante (letra de forma)

sinatura do Participante

As

Dr. Daniel Fernandes Melo

Data

APÊNDICE C– Formato Final do 1º Artigo Científico Submetido / Aprovado

Received: 5 April 2021 | Accepted: 15 April 2021

DOI: 10.1111/jocd.14177

COSMETIC COMMENTARY



WILEY

Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia?

Daniel Fernandes Melo MSc, MD¹ | Paulo Muller Ramos MD, MSc, PhD² |
 Daniela Alves Pereira Antelo MD, MSc, PhD¹ | Carla Jorge Machado PhD³ |
 Carlos Baptista Barcaui MD, MSc, PhD¹

¹Dermatology Department, University of State of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil

²Dermatology Department, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil

³Preventive and Social Medicine Department, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Brazil

Correspondence: Daniel Fernandes Melo, Dermatology Department, University of State of Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil.
 Email: danielfernandesmelo@yahoo.com.br

Keywords: Androgenetic alopecia, botulinum toxin

Androgenetic alopecia (AGA) is the most common form of alopecia in men and women. It is a chronic and progressive condition, characterized by a decline in the metabolic activities, with progressive miniaturization of the hair follicle. It may compromise self-esteem and quality of life in several affected individuals.¹ Currently, the FDA-approved drugs for the treatment of AGA are only topical minoxidil in women and topical minoxidil and oral finasteride in men.¹ Recently, studies have pointed out injectable botulinum toxin (BT) as an emergent possible adjuvant treatment for AGA.²

Alteration of androgen sensitivity and genetic predisposition is fundamental in the development of the disease. However, hormonal and genetic factors fail to fully explain the etiopathogenesis of AGA. Oxidative stress and perifollicular microinflammation have also been identified as contributing factors to this process.^{3,4} Oxidative stress changes the morphology, proliferation, and apoptosis of cells in the dermal papilla.³ The activation of T lymphocytes by exogenous stimuli such as UV radiation, pollutants, smoke, and alteration of the scalp microbiome would explain the presence of microinflammation.⁴

Additionally, in AGA, bald areas have some microvascular insufficiency, with lower oxygen (O₂) levels than non-bald areas.⁵ In part, this is due to the arterial supply of the apex being promoted by the branches of the trochlear and supraorbital arteries, which are the smallest branches of the internal carotid artery. Moreover, the conversion of testosterone to dihydrotestosterone (DHT) occurs preferably in an environment that is poor in O₂, and therefore, the increase in blood supply would reduce local hypoxia and could be beneficial

in the treatment of AGA.⁵⁻⁷ It is also known that DHT induces the transforming growth factor-β1 (TGF-β1) production in the cells of dermal papilla, which is important in suppressing the growth of follicular epithelial cells. TGF-β1 is a proapoptotic substance with a relevant role in the onset of AGA. Therefore, by antagonizing it, disease progression could be prevented.⁸

BT is a neurotoxin obtained through *C. botulinum*, which inhibits muscle contraction via acetylcholine block. Its benefits have already been demonstrated in the aesthetic field, correction of strabismus, blepharospasm, and several other clinical conditions.²

The rationale for injectable use of BT in AGA would be promoting relaxation of the scalp muscles, reducing muscle pressure on perforating vessels, and potentially increasing blood and O₂ flow to bald areas. Therefore, there would be a reduction in tissue DHT due to the effect known as “wash out,” and consequently, less follicular miniaturization would occur, which is considered the main pathophysiological basis of this disease (Figure 1).⁵⁻⁷

Interestingly, Chen et al recently showed that there is significantly greater scalp stiffness at the apex of men suffering from AGA when compared to other areas of the scalp. This stiffness could be related to fibrosis promoted by increased levels of TGF-β1 in the sites affected by the disease.⁹ Therefore, as an additional mechanism, BT injection would inhibit the secretion of TGF-β1 from hair follicles, contributing to the antifibrotic effect.⁸

AGA is a prevalent condition with a relevant psychosocial impact on several affected individuals. As other complementary etiopathogenic mechanisms emerge, new hypotheses arise to complement

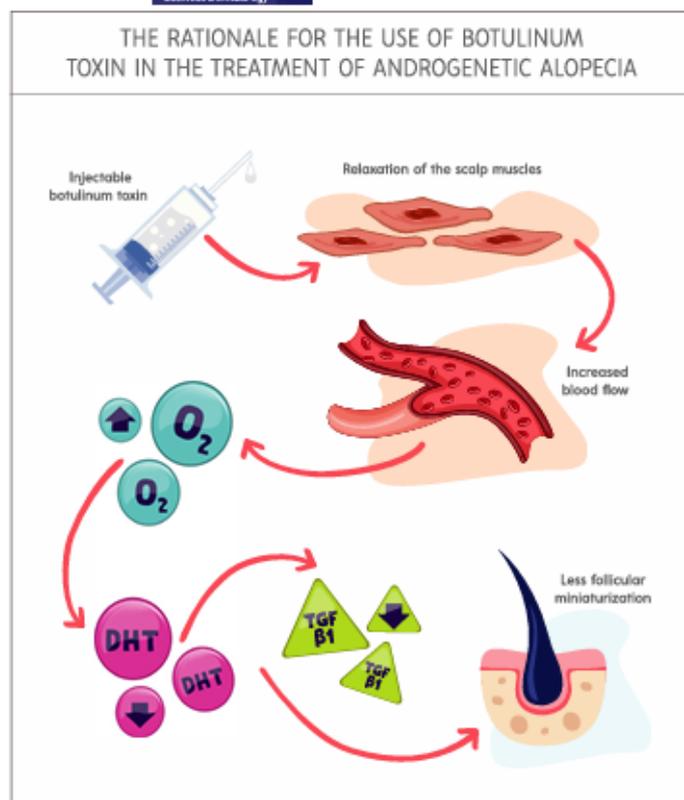


FIGURE 1 The rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia.

already approved classic therapies. In this sense, injectable BT seems to have a theoretical rationale that supports its use in order to expand the therapeutic arsenal for AGA, although robust clinical trials are needed to validate whether the rationale for its use is confirmed in clinical practice.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Dr. Flavia Weffort for her scientific contribution.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

D.A.P.A. conceived the idea; D.F.M. and P.M.R. wrote the manuscript; C.J.M. and C.B.B. contributed to the final manuscript.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data sharing is not applicable to this article.

ORCID

Daniel Fernandes Melo <https://orcid.org/0000-0002-8807-2556>

Paulo Muller Ramos <https://orcid.org/0000-0002-1561-414X>

REFERENCES

- Lolli F, Pallotti F, Rossi A, et al. Androgenetic alopecia: a review. *Endocrine*. 2017;57(1):9-17.
- Wang Y, Zhang H, Zheng Q, Tang K, Fang R, Sun Q. Botulinum toxin as a double-edged sword in alopecia: A systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(10):2560-2565.
- Prie BE, Iosif L, Tivig I, Stoian I, Giurcaneanu C. Oxidative stress in androgenetic alopecia. *J Med Life*. 2016;9(1):79-83.
- Sinclair R, Torkamani N, Jones L. Androgenetic alopecia: new insights into the pathogenesis and mechanism of hair loss. *F1000Research*. 2015;4:585.
- Singh S, Neema S, Vasudevan B. A pilot study to evaluate effectiveness of botulinum toxin in treatment of androgenetic alopecia in males. *J CutanAesthet Surg*. 2017;10(3):163-167.
- Zhang L, Yu Q, Wang Y, Ma Y, Shi Y, Li X. A small dose of botulinum toxin is effective for treating androgenetic alopecia in Chinese patients. *Dermatol Ther*. 2019;32(4):e12785.

7. Freund B, Schwartz M. Treatment of male pattern baldness with botulinum toxin: a pilot study. *Plast Reconstr Surg*. 2010;126(5):246e-248e.
8. Shon U, Kim MH, Lee DY, Kim S, Park B. The effect of intradermal botulinum toxin on androgenetic alopecia and its possible mechanism. *J Am Acad Dermatol*. 2020;83(6):1838-1839.
9. Chen KY, Lin SH, Cheng SY, et al. Androgenetic alopecia is associated with increased scalp hardness. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(5):e234-e236.

How to cite this article: Melo DF, Ramos PM, Antelo DA, Machado CJ, Barcaui CB. Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia?. *J Cosmet Dermatol*. 2021;00:1-3. <https://doi.org/10.1111/jocd.14177>

Introduction

Androgenetic alopecia (AGA) is the most common alopecia, affecting both genders leading to a potential decrease in quality of life (QoL) and self-esteem [1]. The search for more effective treatments for AGA continues to motivate numerous clinical trials [2]. A current concern in trichology is how to accurately measure clinical response in both daily medical practice and academic research. Before and after global pictures and regular trichoscopic images, though useful, are limited tools, sometimes failing to provide adequate comparative measurements for appropriate follow-up [3]. Manual hair counts are susceptible to bias, and standardized QoL questionnaires are subjective [4]. Hair-to-hair (H2H)-matching technology™ has recently emerged as a technique to evaluate variations in follicular units, hair shaft number, and thickness. These evaluations are achieved through a follicular map (FMap) generated from digital trichoscopy images [5]. This article aimed to describe the methodology employed in a triple-blind, randomized, split scalp, placebo-controlled clinical trial using this technology to test the efficacy of botulinum toxin (BT) for male AGA. (Registry: ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-5z2rr58).

Methods

We enrolled 13 male patients between the ages of 18 and 45 in a triple blind clinical trial to evaluate the efficacy of BT for AGA. Baseline epidemiologic and clinical data of the patients are presented in Table 1. The patients should be either virgin of any treatment or treatment-free for a minimum of 6 months. We excluded women and individuals with other inflammatory, infectious, or neoplastic scalp conditions. Written informed consent was obtained from patients to participate in the study. The trial involved three visits scheduled at week 0, week 12, and week 24.

At the first visit, we marked eight spots of the scalp with a temporary tattoo ink that could last up to 2 years – two tattoos were placed on each of the following four scalp zones: left frontotemporal recess, right frontotemporal recess, right side of the vertex, and left side of the vertex area. In each tattoo pair, the marks were distant 1 cm apart. This pigmentation served as landmarks to ensure precision of the H2H-matching trichoscopic analysis performed on the subsequent visits. The procedure was performed with aseptic standards and only after informed consent.

In all three visits, a total of 8 global clinical photographs followed by H2H-matching trichoscopy were captured before the injections. The photographic incidences were front, top, right, and left sides at 45° and 90°, and two posterior views (in orthostatic position and with posterior neck flexion). These pictures were thoroughly compared to assess treatment response.

The trichoscopy was obtained shortly after the global photos with a Fotofinder leviacam™ camera and the software Tricholab® H2H-matching technology™. The spots tattooed on the four scalp zones

Table 1. Summary of baseline epidemiological and clinical characteristics of 13 patients

Variables and statistics/categories	Values
Age of onset, years	
Mean (standard deviation)	37.2 (5.8)
Median (interquartile range)	38 (7)
Minimum; maximum	25; 44
Duration of the disease, years	
Mean (standard deviation)	4.1 (1.7)
Median (interquartile range)	4 (2)
Minimum; maximum	2; 8
Fitzpatrick skin phototype, n (%)	
1	1 (7.7)
2	1 (7.7)
3	8 (61.5)
4	2 (15.4)
5	1 (7.7)
Hair type, n (%)	
Caucasian	10 (76.9)
African	2 (15.4)
Asian	1 (7.7)
Norwood-Hamilton classification, n (%)	
2	1 (7.7)
3	6 (46.2)
4	3 (23.1)
5	3 (23.1)
Comorbidities, n (%)	
No comorbidity	10 (76.9)
Asthma	1 (7.7)
Hypertension	1 (7.7)
Pre-diabetes	1 (7.7)
Family history, n (%)	9 (69.2)
Body mass index, n (%)	
Normal (BMI: 20–24.9)	6 (46.1)
Overweight (BMI: 25–29.9)	5 (38.5)
Obese (BMI: 30 and above)	2 (15.4)

were customized for this research. The software predetermined the exact camera positioning to obtain three images per scalp zone. Notably, the hair did not need to be trimmed or shaved but was re-combed between each image acquisition. The camera had two virtual circles that should perfectly fit the pair of tattoos. The area subjected to trichoscopy analysis measured 0.98 cm².

All captured images were uploaded to the Tricholab® system for differential before-and-after statistical analysis of the following parameters: total hair count, the total number of terminal hair strands, average shaft thickness, and the number of hairs lost or gained during each visit.

For this matched-pair analysis, half of the scalp with 50 IU of BT and the other half with 1 mL of normal saline as a control were injected. The treatment side received ten shots of 5 IU BT equally distributed around the tattoos of each zone. As for the control side, the corresponding areas received an equal volume of 0.9% sodium chloride.



Fig. 1. Comparison of global clinical photographs of the vertex showing apparent worsening of hair density in 1 of the patients after 24 weeks of treatment. Before (a) and after (b).

In this triple-blind study, neither the patient, the physician, nor the data analyst was aware of what was the intervention each side of the scalp received. The injections were administered on the first two visits.

To analyze data provided by the H2H-matching technology™, paired *t* test analysis for matched pairs of the parameters described above was used. Initially, the intervention and control sides of the scalp were individually evaluated during each follow-up visit (images from the first visit were compared to those from the second, those from the second visit with the third, and first with the third). Then, the software compared the differences between the two sides (BT vs. placebo) per scalp zone and a long time. The statistical significance level considered was 5% ($p < 0.05$). Finally, the percent changes in average hair shaft thickness above 0.06 were calculated using matched odds ratio.

Discussion

Since the 1980s, comparative hair counting before and after intervention in a predetermined area has been considered the gold standard of treatment efficacy outcome [6]. Manual hair counting is time-consuming and subject to human error, and some automated systems require hair shaving [7]. Comparative global clinical photography is subjective, and the perception of the patient may be influenced by haircut, hairstyle, coloring, washing, and psychosocial factors. The distance between the camera and the patient, variation in the environment light, hair color changes, camera angle, and zoom during each picture are all technical variables leading to bias in one's perception of improvement (shown in Fig. 1).

Moreover, regular trichoscopy is inefficient for objective analysis if not performed precisely on the very same spot [8].

Tricholab® H2H-matching technology™ uses the relative position of the hair follicles from trichoscopy images to create a map of the scalp – FMap [5]. Similar to a fingerprint, the hair follicle distribution is unique to individuals and scalp areas, and it is not significantly affected by non-scarring alopecia [9]. So, through this technology, we were able to accurately compare BT with placebo for AGA per anatomic zone of the scalp over time without shaving the hair (shown in Fig. 2).

The combination of manually corrected image processing, FMap, and H2H-matching technology™ appears to be the most precise way to evaluate changes in hair count and thickness over time [5]. An increase in hair density is the most objective measure of effectiveness in AGA treatment. However, it does not necessarily correlate with patients' perception of improvement or QoL [10]. Clinical trials should use multiple tools and adopt different endpoints to assess efficacy (e.g., hair counts, global photographs, and QoL questionnaires). The stronger the positive correlation between the tools, the more robust the clinical trials results will be.

Despite its valuable insights, our study is subject to limitations such as a small sample size, the high cost of equipment, the necessity of scalp tattooing, and the considerable time investment required for the examinations. In conclusion, the high prevalence of AGA and its detrimental impact on patients' QoL make the plea for

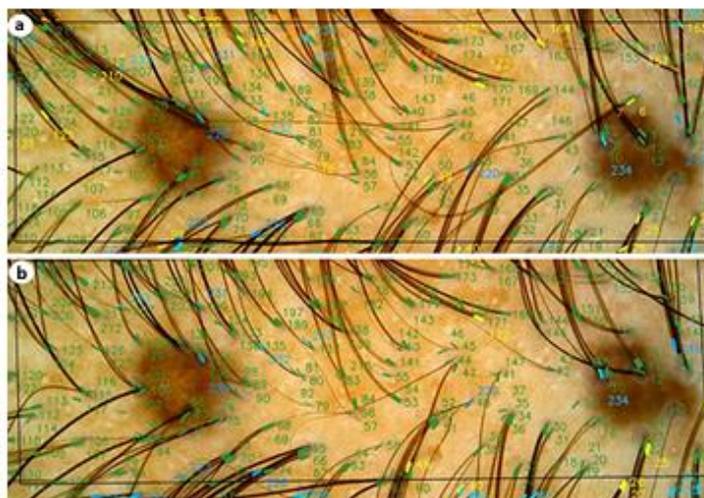


Fig. 2. According to H2H-matched before-after statistics, the average hair thickness was stable: 0.056 mm before (a) vs. 0.057 mm after (b). There was a reduction in the number of vellus (152 vs. 148) and an increase in terminal hairs (70 vs. 82). These data are discrepant from the apparent clinical worsening seen in Fig. 1.

more effective treatments. Accurate assessment of changes in hair count, thickness, and density is crucial to monitor hair loss, thinning, and the therapeutic effect. This article described in detail the methodology of our triple-blind, randomized, split scalp, placebo-controlled clinical trial evaluating the efficacy of BT for male AGA. The design is reproducible and may help other researchers and dermatologists in their clinical practice to obtain reliable results in similar scientific research.

Acknowledgments

The authors would like to thank Tricholab for providing Leviacam™ throughout the clinical trial period and customizing the H2H-matching technology™ software, especially for our research model. We would also like to thank Allergan for providing Botox® vials for the study, regardless of the final research outcomes.

Statement of Ethics

Written informed consent was obtained from patients to participate in the study. Written informed consent was obtained from the patients for publication of the details of their medical case and any accompanying images. Ethical approval was obtained for this study. <https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-5z2rr58>. This study protocol was reviewed and approved by Faculdade de Ciências Médicas – Hospital Universitario Pedro Ernesto – State University of Rio de Janeiro, approval number (4.495.668).

Conflict of Interest Statement

Dr. Antonella Tosti is Editor-in-Chief of Skin Appendage Disorders Journal and acts as a consultant for DS Laboratories, MONAT Global, Almirall, Thirty Madison, Eli Lilly, Bristol Myers Squibb, P&G, Pfizer, Myovant, Ortho Dermatologics, and Curallux, LLC. The other authors have no conflict of interest to declare.

Funding Sources

The authors declared that no grants were involved in supporting this work.

Author Contributions

Daniel Fernandes Melo conceived the idea, wrote the manuscript, and approved the final version to be published. André Luiz Vairo Donda and Rita Fernanda Cortez de Almeida prepared the draft, wrote the article, and approved the final version to be published. Daniela Alves Pereira Antelo, Paulo Muller Ramos, and Carla Jorge Machado designed the study, wrote the draft, and approved the final version to be published. Sidney Frattini wrote the draft, reviewed the text, and approved the final version to be published. Antonella Tosti and Carlos Baptista Barcaui critically reviewed the article and approved the final version to be published.

Data Availability Statement

All data are presented within the article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

References

- Meyer-Gonzalez T, Bacqueville D, Grimalt R, Mengesha V, Piraccini BM, Rudnicka L, et al. Current controversies in trichology: a European expert consensus statement. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021 Nov;35(Suppl 2):3–11.
- Melo DF, Ramos PM, Antelo DAP, Machado CJ, Barcaui CB. Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia? *J Cosmet Dermatol*. 2021 Jul;20(7):2093–5.
- 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 Jan; 164(1):5–15.
- Shimizu GKM, Wedy GF, Schaefer LV, Ramos PM, Miot HA. Translation into Portuguese language (Brazil), transcultural adaptation and validation of the quality-of-life questionnaire in female pattern hair loss (WAA-QoL-BP). *Bras Dermatol*. 2018;93(5): 701–6.
- Bokhari L, Cottle P, Grimalt R, Kasprzak M, Sicińska J, Sinclair R, et al. Efficiency of hair detection in hair-to-hair matched trichoscopy. *Skin Appendage Disord*. 2022 Sep; 8(5):382–8.
- Adil A, Godwin M. The effectiveness of treatments for androgenetic alopecia: a systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(1):136–41.e5.
- Blume-Peytavi U, Orfanos CE. Microscopy of the hair – the trichogram. 2nd ed. In: Serup J, Jemec GBE, Grove GL, editors. *Handbook of non-invasive methods and the Skin*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2006. p. 875–81.
- Shih H. A precise automatic system for the hair assessment in hair-care diagnosis applications. *Skin Res Technol*. 2015 Nov;21(4): 500–7.
- Kasprzak M, Sicińska J, Tosti A. Follicular map: a novel approach to quantitative trichoscopy. *Skin Appendage Disord*. 2019 Jun; 5(4):216–20.
- Gupta S, Goyal I, Mahendra A. Quality of life assessment in patients with androgenetic alopecia. *Int J Trichology*. 2019 Jul-Aug;11(4):147–52.

ARTICLE IN PRESS

RESEARCH LETTER

Efficacy of botulinum toxin in male androgenetic alopecia: A triple-blind, randomized clinical trial

To the Editor: Botulinum toxin (BT) has been reported as an emergent therapy for androgenetic alopecia (AGA).¹⁻⁴ Its postulated effects include relaxation of scalp muscles with increased blood supply, reduction in tissue dihydrotestosterone levels, and fibroblast activity modulation.² A few papers have endorsed its use; however, no placebo-controlled trial has objectively validated it for this purpose.^{1,3,4} Our research aimed to evaluate BT efficacy for male AGA in a randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial.

This study was conducted at the State University of Rio de Janeiro from June 2021 to June 2022. Thirteen men with AGA were enrolled. They were required to be treatment-free for at least 6 months (Table I). Patients were seen in 3 visits (weeks 0, 12, 24). During the initial assessment, we tattooed 8 points on the scalp to mark the target areas for hair counts. In each appointment, we took clinical photographs and conducted trichoscopy with TrichoLAB hair-to-hair matching technology, allowing timely comparison with high precision.

During weeks 0 and 12, each patient received 50IU of BT on one half of the scalp and 1 mL of saline on the other, using 30G-4 mm needles. Injections were intramuscular in the frontal area and intradermal near the aponeurotic galea in the vertex due to the lack of musculature. Supplementary Fig 1, available via Mendeley at <https://doi.org/10.17632/d8cd6c4b3s.1>. At week 24, only clinical and trichoscopic photos were taken. All patients completed the 24-week study with no significant side effects.

The primary outcome was the absolute change in terminal hair density (diameter ≥ 0.06 mm) on the frontal and vertex scalp from baseline to week 24. Secondary outcomes included the absolute change in total hair density, alterations in the vellus/terminal hair ratio, and variations in cumulative hair thickness density from baseline to week 24. Blinded before-and-after statistical analysis of the trichoscopic images was performed using hair-to-hair matching technology.⁵

No difference between the scalp sides was found in the primary or secondary outcomes ($P > .3$) (Table II). An increase in total hair density on the placebo side at the vertex was the only statistically significant result ($P = .025$). There was also no median pairwise

Table I. Demographics, epidemiology, and clinical characteristics of the participants at baseline

Variables	Statistics/categories	Values
Age at study entry (years)	Mean (SD)	37.2 (5.8)
	Median (IQR)	38 (7)
	Mini; Max	25; 44
Disease duration (years)	Mean (SD)	4.1 (1.7)
	Median (IQR)	4 (2)
	Mini; Max	2; 8
Fitzpatrick skin phototype: n (%)	I	1 (7.7)
	II	1 (7.7)
	III	8 (61.5)
	IV	3 (23.1)
Hair type: n (%)	Caucasian	10 (76.9)
	African	2 (15.4)
	Asian	1 (7.7)
	II	1 (7.7)
Norwood-Hamilton classification: n (%)	III	6 (46.2)
	IV	3 (23.1)
	V	3 (23.1)
	No comorbidity	10 (76.9)
	Asthma	1 (7.7)
Comorbidities: n (%)	Hypertension	1 (7.7)
	Prediabetes	1 (7.7)
	Family history: n (%)	9 (69.2)
Body mass index (kg/m ²): n (%)	Normal (20-24.99)	6 (46.1)
	Overweight (25-29.99)	5 (38.5)
	Obese (30 over)	2 (15.4)

We excluded subjects with inflammatory, infectious, or neoplastic scalp conditions. Patients up to 45 years old with a disease duration of up to 10 years were eligible.

IQR, Interquartile range; Max, maximum; Min, minimum; SD, standard deviation.

difference (T0-12; T0-T24; T12-T24). Supplementary Graphic, available via Mendeley at <https://doi.org/10.17632/2tsnczd3rv.1>.

In our study, BT did not improve hair regrowth in men with AGA after 12 to 24 weeks. Terminal hair density in the frontal and vertex scalp decreased on both sides, and the increased vellus/terminal ratio contradicted anticipated clinical improvements.

In previous publications, BT doses ranged from 30-150IU and were distributed across either half or the entire scalp.^{1,3,4} We applied 25IU to a 1 cm² area around the tattoos and repeated it after 12 weeks. This ensured that any potentially unfavorable outcome was not attributable to underdosing or a single intervention. Additionally, by splitting the scalp, participants served as their own control, markedly mitigating confounding.

Table II. Main outcomes for participants in the study (H2H)

	Botulinum toxin (n = 13)			Placebo (n = 13)			Difference of change (CI 95%)	P value [†]
	T ₀	T ₂₄	P value [*]	T ₀	T ₂₄	P value [*]		
Density of hair/ cm ² , mean (SD)								
Frontal								
Terminal Change (T ₂₄ -T ₀)	99.3 (45.5)	85.5 (48.5)	.904	103.7 (30.6)	92.7 (31.7)	.882	-2.8 (-18.1; 12.5)	.652
Total Change (T ₂₄ -T ₀)	216.0 (56.4)	218.8 (56.5)	.290	216.3 (48.0)	219.2 (54.2)	.235	0.3 (-11.9; 12.4)	.576
Vertex								
Terminal Change (T ₂₄ -T ₀)	118.2 (42.3)	95.9 (46.0)	.979	119.4 (47.8)	98.7 (40.8)	.980	-1.6 (-19.5; 16.3)	.848
Total Change (T ₂₄ -T ₀)	216.9 (40.0)	217.7 (39.7)	.408	217.5 (40.7)	225.4 (49.2)	.025	7.0 (-1.66; 15.7)	.948
Ratio terminal/ vellus, mean (SD)								
Frontal Change (T ₂₄ -T ₀)	1.49 (1.89)	0.95 (0.93)	.933	1.33 (1.52)	0.85 (0.48)	.892	-0.07 (-0.33; 0.20)	.704
Vertex Change (T ₂₄ -T ₀)	1.80 (1.42)	1.25 (1.19)	.890	1.92 (1.37)	1.18 (0.98)	.987	0.19 (-0.63; 1.01)	.313
CHTD [mm/cm ²], mean (SD)								
Frontal Change (T ₂₄ -T ₀)	12.7 (3.2)	12.3 (3.2)	.818	12.9 (2.7)	12.6 (3.0)	.816	0.0 (-0.8; 0.9)	.536
Vertex Change (T ₂₄ -T ₀)	13.3 (2.3)	12.6 (2.3)	.969	13.4 (2.6)	13.0 (2.6)	.873	0.3 (-0.4; 1.0)	.814

All outcomes were analyzed with automated hair detection (follicular map) using a TrichoLAB H2H-matched technology.

CHTD, Cumulative hair thickness density; Randomization, simple randomization performed with Microsoft Excel 2021® (RAND() function) to administer BT on one side of the scalp and normal saline on the contralateral side; Terminal hair density, diameter of 0.06 mm/cm² or more.

*Student t test for paired samples: (T₀ = T₂₄); one-tailed test for mean, for the alternative hypothesis (T₂₄) > mean (T₂₀).

†Student t test for paired samples for the alternative hypothesis: mean (botulinum toxin [T₂₄-T₀]) > (placebo [T₂₄-T₀]).

Limitations of this study include its monocentric format and small sample size. Additionally, hair-to-hair matching technology is yet to be validated.

In conclusion, our trial found no benefit of BT for male AGA after utilizing a precise and objective hair count technology.

The authors would like to thank TrichoLab for providing Leviacam throughout the clinical trial period and customizing the H2H-matching technology software, especially for our research model. We would like to thank Eduardo Kelles Vieira Lage for his active guidance in the construction of our graphs and tables.

Daniel Fernandes Melo, MSc, MD,^a Paulo Müller-Ramos, PhD, MD,^b Rita Fernanda Cortez de Almeida, MD,^a Carla Jorge Machado, PhD,^c Sidney Frattini, MD,^d André Luiz Vairo Donda, MD,^a Daniela Alves Pereira Antelo, PhD, MSc, MD,^a and Carlos Baptista Barcaui, PhD, MSc, MD^a

From the Dermatology Department, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil^a; Dermatology Department, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil^b; Preventive

and Social Medicine Department, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais, Brazil; and Grand River Hospital and Saint Mary's General Hospital, Kitchener Waterloo, Ontario, Canada.^d

Funding sources: None.

Patient consent: Not applicable.

IRB approval status: The project was approved by the Ethics Committee of the Faculdade de Ciências Médicas – Hospital Universitario Pedro Ernesto – State University of Rio de Janeiro – UERJ (no. 33716520.2.0000.5259, approval number 4.495.668).

Key words: alopecia; androgenetic alopecia; botulinum toxin; clinical trial; hair count; hair-to-hair matching; male androgenetic alopecia; randomized controlled clinical trial; treatment; trichoscopy.

Correspondence to: Daniel Fernandes Melo, MSc, MD, Department of Dermatology, Rio de Janeiro State University (UERJ), Boulevard 28 de Setembro, 77, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro 20551-031, Brazil

E-mail: danielfernandesmelo@yaboo.com.br

Conflicts of interest

This study was conducted as an investigator-initiated study. AbbVie Inc only provided Botox vials under the terms of the IIS Agreement with no other commitments to this research.

REFERENCES

1. English RS Jr, Ruiz S. Use of botulinum toxin for androgenic alopecia: a systematic review. *Skin Appendage Disord.* 2022; 8(2):93-100.
2. Melo DF, Ramos PM, Antelo DAP, Machado CJ, Barcaui CB. Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia? *J Cosmet Dermatol.* 2021;20(7):2093-2095.
3. Carloni R, Pechevy L, Postel F, Zielinski M, Gandolfi S. Is there a therapeutic effect of botulinum toxin on scalp alopecia? Physiopathology and reported cases: a systematic review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2020;73(12):2210-2216.
4. Wang Y, Zhang H, Zheng Q, Tang K, Fang R, Sun Q. Botulinum toxin as a double-edged sword in alopecia: a systematic review. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19(10):2560-2565.
5. Melo DF, Donda ALV, Cortez De Almeida RF, et al. Hair-to-Hair trichoscopy: an objective method to assess effectiveness of botulinum toxin in a clinical trial for androgenetic alopecia. *Skin Appendage Disord.* 2024;10(1):41-45.

<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2024.07.1464>

APÊNDICE F – Formato Final do 4º Artigo Científico Submetido / Aprovado

1

1 **Article type:** Letter: Notes & Comments

2 **Title:** Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia."

3 André Luiz Vairo Donda, MD,^a Rita Fernanda Cortez de Almeida, MD,^a Daniel Fernandes Melo, MSc, MD,^a Paulo

4 Müller Ramos, PhD, MD,^b Carla Jorge Machado, PhD,^c Sidney Frattini, MD,^d Daniela Alves Pereira Antelo, PhD, MSc,

5 MD,^a and Carlos Baptista Barcaui, PhD, MSc, MD^a

6

7 ^a Dermatology Department, Rio de Janeiro State University (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil

8 ^b Dermatology Department, São Paulo State University (UNESP), Botucatu, Brazil

9 ^c Preventive and Social Medicine Department, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais, Brazil

10 ^d Grand River Hospital and Saint Mary's General Hospital, Kitchener Waterloo, Ontario, Canada

11 **Corresponding author:**

12 Daniel Fernandes Melo

13 Boulevard 28 de setembro, 77

14 20.551-030, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

15 Email: danielfernandesmelo@yahoo.com.br

16

17 **Funding sources:** None

18

19 **Conflicts of Interest:** None declared.

20

21 **IRB approval status:** Ethical approval was not required for this study in accordance with national guidelines.

22

23 **Patient consent:** Not applicable.

24

25 **Reprint requests:** Daniel Fernandes Melo

26

27 **Manuscript word count:** 257 words

28 **References:** 4

29 **Figures and tables:** 0

30 **Supplementary figures:** 0

31 **Supplementary tables:** 0

32 **Keywords:** alopecia; androgenetic alopecia; botulinum toxin; clinical trial; hair count; hair-to-hair matching; male
33 androgenetic alopecia; randomized controlled clinical trial; treatment; trichoscopy.

34 **Body of manuscript:**

35 The authors appreciate the observations made by Ong et al.¹ We share the same concerns regarding the
36 rising costs of low-evidence approaches for hair and scalp disorders, including nutraceuticals and other modern
37 modalities.^{2,3} While efforts to find new options for androgenetic alopecia (AGA) hold the potential to expand our
38 understanding of this condition, we acknowledge that oral 5-alpha-reductase inhibitors and minoxidil remain the
39 standard of care.^{2,3} Our research on botulinum toxin (BT) for AGA aimed to identify minimal qualitative and
40 quantitative changes with high precision, which is perhaps the main strength of our clinical trial.⁴ Despite being the
41 leading cause of hair loss worldwide, AGA management still lacks long-term, high-quality randomized controlled
42 trials (RCT). We agree that efficacy and safety profiles should be considered alongside cost-effectiveness in
43 physicians' decision-making processes. Our RCT found no role for BT in male AGA, and, as noted by Ong et al., other
44 publications have reported positive results with doses of BT ranging from 30 to 150 IU injected throughout half or
45 the entire scalp. However, these studies did not employ precise hair count methodologies.¹ Timed global pictures,
46 manual hair counts, and self-report questionnaires are susceptible to bias and often fail to provide adequate
47 comparative measurements. Our decision to use a high dose of BT – total of 50 IU/cm² – at sites marked with tattoos
48 ensured that negative results could not be attributed to undertreatment. In conclusion, we believe our study's
49 results may help prevent the higher societal costs associated with the widespread use of a therapy not proven
50 effective for male AGA.

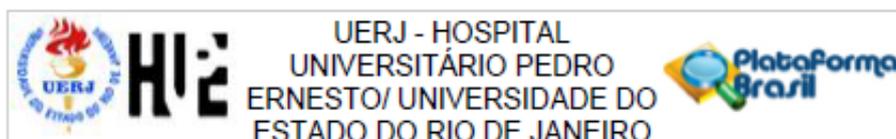
51

52 **References**

- 53 1. Melo DF, Müller-Ramos P, Cortez De Almeida RF, et al. Efficacy of Botulinum Toxin in Male Androgenetic Alopecia:
54 a Triple-Blind, Randomized Clinical Trial. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Published online July
55 2024;50190962224025428. doi:10.1016/j.jaad.2024.07.1464
- 56 2. Devjani S, Ezemma O, Kelley KJ, Stratton E, Senna M. Androgenetic Alopecia: Therapy Update. *Drugs*. 2023
57 Jun;83(8):701-715
- 58 3. Ly NY, Fruechte S, Hordinsky MK, Sadick N, Arruda S, Farah RS. Medical and procedural treatment of androgenetic
59 alopecia - Where are we? *J Am Acad Dermatol*. 2023 Aug;89(25):536-539
- 60 4. Melo DF, Donda ALV, Cortez De Almeida RF, et al. Hair-to-Hair trichoscopy: an objective method to assess
61 effectiveness of botulinum toxin in a clinical trial for androgenetic alopecia. *Skin Appendage Disord*. 2024;10(1):41-
62 45.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – Aprovação CEP

Hospital Universitário Pedro Ernesto – Universidade Estadual do Rio de Janeiro – UERJ (nº 33716520.2.0000.5259, número de aprovação 4.495.668).



Continuação do Parecer: 4.495.668

recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1546837.pdf	12/10/2020 18:54:33		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	19/05/2020 16:13:12	DANIEL FERNANDES MELO	Aceito
Folha de Rosto	rosto.pdf	19/05/2020 15:41:24	DANIEL FERNANDES MELO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	27/04/2020 17:18:53	DANIEL FERNANDES MELO	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

RIO DE JANEIRO, 12 de Janeiro de 2021

Assinado por:
WILLE OIGMAN
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com

ANEXO B – Termo de Compromisso TrichoLab®

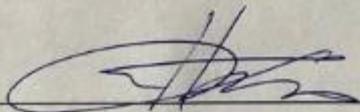
TrichoLAB
ul. Wielicka 38 U3
02-657 Warszawa
POLAND
www.tricholab.com
info@tricholab.com

To: University of State of Rio de Janeiro

DECLARATION

I, Hubert Lacki declare for the proper purposes that the PhD project of the student, Dr. **Daniel Fernandes Melo** will use the TrichoLAB Snap tool with a Hair-to-Hair Matching™ technology. It enables researchers to track every individual hair over the study period. The images use tatoo technology to assure the same spot assessment. The measurements are performed in LAB and will be completely free of cost for the University of State of Rio de Janeiro – UERJ.

Best regards,



Hubert Lacki, Poland, 2020/03/01

ANEXO C – Comprovação da Submissão do 1º Artigo Científico

 **Clarivate Analytics**
clarivate.com

[Visite o site →](#)

Journal of Cosmetic Dermatology - Manuscript ID JCD-04-2021-404

Yahoo/PUBLICA... ☆

 **Arunkumar Dhamodharan** clarivate.com >

De: onbehalf@manuscriptcentral.com

Para: danielfernandesmelo@yahoo.com.br

Cc: danielfernandesmelo@yahoo.com.br, dermato.paulo@gmail.com, daniela@danielaantelo.com.br, carlajmachado@gmail.com, cbarcaui@gmail.com

seg., 5 de abr. de 2021 às 20:33 ☆

05-Apr-2021

Dear Dr. Melo:

Your manuscript entitled "Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia?" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Journal of Cosmetic Dermatology.

Your manuscript ID is JCD-04-2021-404.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/jcd> and edit your user information as appropriate.

All articles accepted for publication in the Journal of Cosmetic Dermatology, regardless of manuscript type, are considered scholarly and an academic achievement.

Thank you for submitting your manuscript to the Journal of Cosmetic Dermatology.

Sincerely,
Dr. Michael Gold
Editor-in-Chief, Journal of Cosmetic Dermatology

ANEXO D – Comprovação do Aceite do 1º Artigo Científico

Journal of Cosmetic Dermatology - Decision on Manuscript ID JCD-04-2021-404

Yahoo/PUBLICA... ☆



Michael Gold [clarivate.com](#) >

De: onbehalf@manuscriptcentral.com

Para: danielfernandesmelo@yahoo.com.br, dermatopaulo@gmail.com, daniela@danielaantelo.com.br, carlajmachado@gmail.com, cbarcaui@gmail.com

Cc: jaishree19@gmail.com, jaisharad@gmail.com



qui, 15 de abr. de 2021 às 14:02 ☆

15-Apr-2021

Dear Dr. Melo:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Is there a rationale for the use of botulinum toxin in the treatment of Androgenetic Alopecia?" in its current form for publication in the Journal of Cosmetic Dermatology.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of Cosmetic Dermatology, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Your article cannot be published until the publisher has received the appropriate signed license agreement. Within a few days of your article being assigned to an issue the corresponding author will receive an email from Wiley's Author Services system which will ask them to log in and will present them with the appropriate license for completion. Please note that JCD is a quarterly publication and therefore a bit of time may pass before you hear from them.

Sincerely,

Michael Gold, MD
Editor-in-Chief, Journal of Cosmetic Dermatology

Associate Editor Comments to Author:

Associate Editor
Comments to the Author:
well written

Reviewer(s)' Comments to Author:

Reviewer: 1

Comments to the Author
Very interesting article that can serve as a basis for further studies on the topic.

Reviewer: 2

Comments to the Author
CONGRATULATIONS FOR THE CLARITY AND INNOVATION OF THIS PAPER.

P.S. – You can help your research get the attention it deserves! Wiley Editing Services offers professional video abstract and infographic creation to help you promote your research at www.wileyauthors.com/eo/promotion. And, check out Wiley's free Promotion Guide for best-practice recommendations for promoting your work at www.wileyauthors.com/eo/guide.

This journal accepts artwork submissions for Cover Images. This is an optional service you can use to help increase article exposure and showcase your research. For more information, including artwork guidelines, pricing, and submission details, please visit the Journal Cover Image page at www.wileyauthors.com/eo/covers.

ANEXO E – Comprovação da Submissão do 2º Artigo Científico

• SAD-2023-6-9 Manuscript submission confirmation

Yahoo/PUBLICA... ☆



• Skin Appendage Disorders

De: sad@manuscriptmanager.net

Para: danielfernandesmelo@yahoo.com.br



seg, 12 de jun. de 2023 às 14:27 ☆

Manuscript: SAD-2023-6-9 - Hair-to-Hair Trichoscopy: an Objective Method to Assess Effectiveness in Clinical Trials for Androgenetic Alopecia
Authors: Daniel Fernandes Melo (Corresponding Author), Andre Luiz Vairo Donda (Co-author), Rita Fernanda Cortez de Almeida (Co-author), Daniela Alves Pereira Antelo (Co-author), Paulo Müller Ramos (Co-author), Carla Jorge Machado (Co-author), Sidney Frattini (Co-author), Antonella Tosti (Co-author), Carlos Barcaui (Co-author)
Date submitted: 2023-06-12

Dear Dr. Melo

Thank you very much for submitting the above manuscript. Please refer to the manuscript number in all correspondence concerning the manuscript as listed above.

Please ensure that all co-authors confirm that you have the authority to act on their behalf by having them click the verification link on the submission confirmation email they have received.

The manuscript will now be forwarded to our Editors and reviewers and we shall inform you as soon as a decision has been made by the editorial board.

The progress of your manuscript can be followed in the progress report that can be accessed from your account overview.

Sincerely,
The Editorial Office

YOUR SIGN IN INFORMATION

Website: <https://www.manuscriptmanager.net/sad>

Email: danielfernandesmelo@yahoo.com.br

Forgot password or not signed in before?

Click the URL below to create/reset your password.

https://www.manuscriptmanager.net/sLib/v4/retrieve_pw.php?paramScreen=Bst8x6dIEUGS9RvQIBBYxk36yo+f1/83yI6RfrJT8I=

ANEXO F – Comprovação do Aceite do 2º Artigo Científico

← Voltar ↩ ↶ ↷

📁 Arquivar 📄 Mover 🗑 Apagar 🛡 Spam ⋮



• SAD-2023-6-9/R1 RESUBMISSION Accept - corrections received

Yahoo/PUBLICA... ☆



• **Skin Appendage Disorders**

De: sad@manuscriptmanager.net

Para: danielfernandesmelo@yahoo.com.br

📄 qua., 23 de ago. de 2023 às 15:04 ☆

Manuscript: SAD-2023-6-9/R1 RESUBMISSION - Hair-to-Hair Trichoscopy: an Objective Method to Assess Effectiveness in Clinical Trials for Androgenetic Alopecia
Authors: Daniel Fernandes Melo (Corresponding Author), André Luiz Vairo Donda (Co-author), Rita Fernanda Cortez de Almeida (Co-author), Daniela Alves Pereira Antelo (Co-author), Paulo Müller Ramos (Co-author), Carla Jorge Machado (Co-author), Sidney Frattini (Co-author), Antonella Tosti (Co-author), Carlos Barcaui (Co-author)
Date submitted: 2023-08-12

Dear Dr. Melo,

Thank you for returning the corrected accept manuscript.

The Publication process has begun and your accepted manuscript will require you as the first corresponding author to finalize the licensing and payment steps at <https://karger.chronoshub.io/>

Congratulations again on having your paper accepted by Skin Appendage Disorders for publication!

Kind regards,

Annabella Szekerczes
Editorial Office
Skin Appendage Disorders
editorialoffice_sad@karger.com

S. Karger AG, Medical and Scientific Publishers, Allschwilerstrasse 10, 4009 Basel, Switzerland

ANEXO G – Comprovação da Submissão do 3º Artigo Científico

• Submission Confirmation for JAAD-D-24-00577R1

Yahoo/PUBLICA...



Journal of the American Academy of Dermatology www.ariessys.com >

De: em@editorialmanager.com

Para: Daniel Fernandes Melo



qui, 6 de jun. às 21:55

Ref.: Ms. No. JAAD-D-24-00577R1

Efficacy of Botulinum Toxin in Male Androgenetic Alopecia: a Triple-Blind, Randomized Clinical Trial

Dear Dr Fernandes Melo,

Journal of the American Academy of Dermatology has received your revised submission.

You may check the status of your manuscript by logging onto Editorial Manager at (<https://www.editorialmanager.com/jaad/>).

Yours sincerely,

Editorial Office

Journal of the American Academy of Dermatology

#AU_JAAD#

To ensure this email reaches the intended recipient, please do not delete the above code

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/jaad/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

ANEXO H – Comprovação do Aceite do 3º Artigo Científico

• Your submission to JAAD

Yahoo/PUBLICA...



Journal of the American Academy of Dermatology www.ariessys.com >

De: em@editorialmanager.com

Para: Daniel Fernandes Melo



ter., 16 de jul. às 11:20

Ref.: Ms. No. JAAD-D-24-00577R1
Journal of the American Academy of Dermatology
Efficacy of Botulinum Toxin in Male Androgenetic Alopecia: a Triple-Blind, Randomized Clinical Trial

Dear Dr Fernandes Melo:

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Journal of the American Academy of Dermatology.

We appreciate and value your contribution to Journal of the American Academy of Dermatology. We regularly invite authors of recently published manuscript to participate in the peer review process. If you were not already part of the journal's reviewer pool, you have now been added to it. We look forward to your continued participation in our journal, and we hope you will consider us again for future submissions.

Thank you for submitting your work to Journal of the American Academy of Dermatology.

Yours sincerely,

Dirk M. Elston, M.D.
Editor
Journal of the American Academy of Dermatology

If you are interested in Open Access, please see this link for instructions and forms: <https://www.elsevier.com/journals/journal-of-the-american-academy-of-dermatology/0190-9622/open-access-options>

COMMENTS FROM THE EDITOR/REVIEWERS:

Dear Authors,

Thank you very much for your revisions. The paper is now acceptable for publication.

Many thanks,
Murad

Reviewer #1: Thank you for addressing my comments

ANEXO I – Comprovação da Submissão do 4º Artigo Científico

- Your PDF Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia." has been built and requires approval

Yahoo/PUBLICA... ☆



Journal of the American Academy of Dermatology www.ariesys.com >

De: em@editorialmanager.com

Para: Daniel Fernandes Melo



seg., 16 de set. às 13:11 ☆

Journal of the American Academy of Dermatology

Title: Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia."

Authors: André Luiz Vairo Donda; Rita Fernanda Cortez de Almeida; Daniel Fernandes Melo; Paulo Müller Ramos; Carla Jorge Machado; Sidney Frattini; Daniela Alves Pereira Antelo; Carlos Baptista Barcaui

Dear Dr Daniel Fernandes Melo,

The PDF for your submission, "Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia."" has now been built and is ready for your approval. Please view the submission before approving it, to be certain that it is free of any errors. If you have already approved the PDF of your submission, this e-mail can be ignored.

To approve the PDF please login to Editorial Manager as an Author:

<https://www.editorialmanager.com/jaad/>

Your username is: danielfm

Then click on the folder 'Submissions Waiting for Author's Approval' to view and approve the PDF of your submission. You may need to click on 'Action Links' to expand your Action Links menu.

You will also need to confirm that you have read and agree with the Elsevier Ethics in Publishing statement before the submission process can be completed. Once all of the above steps are done, you will receive an e-mail confirming receipt of your submission from the Editorial Office.

Please note that you are required to ensure everything appears appropriately in PDF and no change can be made after approving a submission.

Your submission will be given a reference number once an Editor has been assigned to handle it.

Thank you for your time and patience.

Kind regards,

Editorial Office

Journal of the American Academy of Dermatology

ANEXO J – Comprovação do Aceite do 4º Artigo Científico

- JAAD Editorial Decision - JAAD-D-24-02875, "Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia.""

Yahoo/PUBLICA...



Journal of the American Academy of Dermatology www.aariessys.com >

De: em@editorialmanager.com

Para: Daniel Fernandes Melo



qua., 18 de set. às 11:21

Ref.: Ms. No. JAAD-D-24-02875
Journal of the American Academy of Dermatology
Response to Ong et al., "Hair-raising costs: evaluating botulinum toxin treatment for androgenetic alopecia."

Dear Dr Fernandes Melo:

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in the Journal of the American Academy of Dermatology.

We appreciate and value your contribution to Journal of the American Academy of Dermatology. We regularly invite authors of recently published manuscript to participate in the peer review process. If you were not already part of the journal's reviewer pool, you have now been added to it. We look forward to your continued participation in our journal, and we hope you will consider us again for future submissions.

Thank you for submitting your work to Journal of the American Academy of Dermatology.

Yours sincerely,

Jane Grant-Kels, MD
Deputy Editor
Journal of the American Academy of Dermatology