

Faculdade de Farmácia da UFRJ



PROTOCOLO DE ENSAIO CLÍNICO

Avaliação de uma formulação tópica contendo ácido kójico associada ao microagulhamento no tratamento do melasma: ensaio clínico randomizado

Aluna: Jenifer Brasil dos Santos

Orientadora: Dra. Zaida Maria Faria de Freitas

Coorientadora: Dra. Bárbara da Silva e Souza Lorca

Rio de Janeiro

Junho/2022

RESUMO

Melasma é uma doença de pele adquirida, que apresenta um grande impacto social e psicossocial, levando a baixa auto-estima, isolamento social e, até mesmo, quadros depressivos. O tratamento ainda é um desafio clínico, mas geralmente envolve a utilização de agentes tópicos, como o ácido kójico (AK), agente clareador da pele, que apresenta limitações, devido à citotoxicidade e instabilidade de armazenamento. O desenvolvimento de uma formulação na forma de *sérum*, contendo 2,0% de AK é de fácil preparo, segura e eficaz, para o tratamento do melasma, representando importante avanço terapêutico. Estudos já demonstraram que terapias combinadas geralmente levam a melhores resultados do que monoterapias. Por isso, procedimentos como microagulhamento tem sido utilizados para permitir a liberação transcutânea de princípios ativos, podendo aperfeiçoar os resultados esperados. Em vista disso, a presente pesquisa irá avaliar a aplicação *in vivo* do microagulhamento pelos dois métodos de aplicação da técnica: o *roller* e a caneta elétrica no comprimento de agulha 0,5 mm, associado a formulação contendo ácido kójico já que a perfuração do estrato córneo com microagulhas (microagulhamento) representa uma alternativa aos métodos já existentes para o tratamento do melasma, por criar poros na pele que resultam em um aumento da penetração dos ativos. Podendo assim, ser utilizadas baixas concentrações do AK, evitando os efeitos adversos e aprimorando os resultados de sua aplicação como agente despigmentante.

1. INTRODUÇÃO

O melasma é uma doença de pele adquirida, caracterizada por manchas simétricas de hiperpigmentação em áreas expostas ao sol, que afetam regiões do rosto, tais como testa, bochechas, lábio superior e queixo, apresentando manchas de tonalidade marrom claro a marrom escuro. As características histológicas podem incluir pigmentação epidérmica e dérmica, elastose solar, aumento da vascularização e mastocitose (GRIMES et al., 2018; AUSTIN, NGUYEN, JAGDEO, 2019).

Estudos baseados em evidências sugerem que terapias de primeira linha para o melasma abrangem fotoproteção intensa e agentes clareadores (GRIMES et al., 2018). Os ativos clareadores de primeira escolha na terapia tópica do melasma incluem a hidroquinona e combinações dessa com retinóides e esteróides. Há muitas preocupações quanto à segurança e eficácia a longo prazo do uso da hidroquinona, que está associado à ocronose, uma descoloração cinza-azulada da pele e outros efeitos adversos. A hidroquinona é proibida como cosmético em alguns países, mas ainda vem sendo utilizada sob prescrição médica (AUSTIN, NGUYEN, JAGDEO, 2019). Outros agentes tópicos utilizados no tratamento do melasma incluem ácido azelaico, ácido kójico, retinóides, niacinamida, corticosteróides, ácido salicílico, ácido glicólico, resveratrol e resorcinol (GRIMES et al., 2018).

Os tratamentos de segunda linha incluem *peelings* químicos e terapias a *laser*

(AUSTIN, NGUYEN, JAGDEO, 2019). As terapias orais promissoras para o melasma incluem ácido tranexâmico, leucotomos de polipodium e glutathione. Notavelmente, terapias combinadas geralmente resultam em melhores resultados do que as monoterapias. Por isso procedimentos, incluindo *peelings* químicos, *lasers* e, mais recentemente, o microagulhamento também têm sido usados como tratamento adjuvante para o melasma (OGBECHIE-GODEC, ELBULUK, 2017).

O ácido kójico (AK), [5-hidroxi-2- (hidroximetil) - γ -pirona], um metabólito fúngico, vem sendo utilizado em muitos países como agente clareador da pele. Atua pela inibição da atividade da tirosinase reduzindo assim, o conteúdo de melanina. Efeito inibitório misto sob a atividade da difenolase e efeito inibitório competitivo na atividade da monofenolase também foram observados por AK (SINGH et al., 2016). Vários estudos realizados para avaliar os mecanismos de despigmentação e segurança do AK, sugerem que a melhor faixa de concentração para as preparações tópicas seja na faixa de 0,1 a 1,0 %. Pacientes com melasma que usaram creme de AK a 1,0 % e foram acompanhados por 2 anos, não demonstraram nenhum efeito colateral significativo ou reações adversas (BATISTUZZO; ITAYA; ETO, 2015; SAEEDI, ESLAMIFAR, KHEZRI, 2019). Seu uso em cosméticos tem sido limitado, devido à limitação da citotoxicidade e instabilidade de armazenamento (SINGH et al., 2016). Normalmente, as formulações contendo AK são preparações de consistência semissólidas (emulsões, cremes e géis) e líquidas como *sérum*, destinadas a serem aplicadas sobre a pele. As indústrias de produtos cosméticos e dermocosméticos apresentam um papel fundamental no desenvolvimento de formulações mais eficazes, com aspecto sensorial agradável e alta capacidade de espalhabilidade.

Por outro lado, novas formas de aplicação do AK têm sido estudadas visando melhorar a permeação do ativo. Desta forma, o microagulhamento, recentemente, descrito por Lima, Lima, Takano (2013) como a utilização de um sistema de microagulhas aplicado à pele com o objetivo de gerar múltiplas micropuncturas, longas o suficiente para atingir a derme e desencadear, com o sangramento, estímulo inflamatório que resultaria na produção de colágeno, representa uma técnica minimamente invasiva que pode ser associada a um procedimento que permite a liberação transcutânea de princípios ativos selecionados, podendo aperfeiçoar resultados, com a vantagem de ser facilmente aplicada, não invasiva, segura e eficaz (KALIL et al., 2005).

A utilização de agulhas com o objetivo de estimular a produção de colágeno no tratamento de cicatrizes atróficas e rugas foi relatada pela primeira vez por Orentreich, Orentreich (1995), em uma técnica denominada inicialmente como subincisão. Desde então, a técnica passou pelo aperfeiçoamento dos aparelhos utilizados, e foi objeto de estudo de muitos trabalhos publicados, tornando-se hoje uma técnica reconhecida e com grande aceitação por profissionais e pacientes.

Um estudo experimental conduzido por Lima, Lima, Takano (2013) descreveu três fases para o processo de cicatrização, induzido pelo trauma com as agulhas, gerado pela técnica do microagulhamento. Primeiramente ocorre a fase de injúria, onde há liberação de plaquetas e neutrófilos responsáveis pela

liberação de fatores de crescimento com ação sobre os queratinócitos e os fibroblastos, como os fatores de crescimento de transformação α e β (TGF- α e TGF- β), o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), a proteína III ativadora do tecido conjuntivo e o fator de crescimento do tecido conjuntivo. Após esse processo inicial, ocorre então, a fase de cicatrização, onde os neutrófilos são substituídos por monócitos, e conseqüentemente ocorrem angiogênese, epitelização e proliferação de fibroblastos, seguidas da produção de colágeno tipo III, elastina, glicosaminoglicanos e proteoglicanos. Paralelamente, o fator de crescimento dos fibroblastos, o TGF- α e o TGF- β são secretados pelos monócitos. Aproximadamente cinco dias após a injúria gerada pela aplicação das agulhas, a matriz de fibronectina está formada, possibilitando o depósito de colágeno, logo abaixo da camada basal da epiderme. Por último, na fase de maturação, o colágeno tipo III, predominante na fase inicial do processo de cicatrização, vai sendo lentamente substituído pelo colágeno tipo I, que é mais duradouro e persiste por um prazo que varia de cinco a sete anos.

Lima, Lima, Takano (2013), em seu estudo experimental, sugerem que o trauma provocado pela agulha deve atingir profundidade na pele de 1,0 a 3,0 mm para que toda a cascata inflamatória se instale, mantendo a preservação da epiderme, que é apenas perfurada e não removida. Os autores descrevem ainda que centenas de micro-lesões são criadas, resultando em colunas de coleção de sangue na derme, acompanhadas de edema da área tratada e hemostasia praticamente imediata. A intensidade dessas reações é proporcional ao comprimento da agulha utilizada no procedimento.

Atualmente, no mercado brasileiro, existem diversas marcas e dispositivos disponíveis para realizar a técnica de microagulhamento. O *roller* (GR Med Produtos Medicos e Hospitalares Ltda ME - Registro ANVISA: 81382050001/ 81382050002) é um dispositivo em forma de um rolo contendo 192 ou 540 unidades de microagulhas, alinhadas e simétricas, em formato de pirâmide e base em diamante, que estão dispostas em nove discos enfileirados em toda sua extensão com comprimentos que podem variar de 0,25 mm a 3,0 mm e diâmetro de 0,07 mm ou 0,25 mm. A caneta de microagulhamento (GR Med Produtos Medicos e Hospitalares Ltda ME - Registro ANVISA: 81382059001/81382050005) é um equipamento elétrico que para o funcionamento necessita acoplar um cartucho de microagulhas em que é possível ajustar o comprimento da agulha no próprio equipamento, podendo variar de 0,25 mm a 2,50 mm e diâmetro de 0,25 mm. Também há outro dispositivo que consiste em um sistema de infusão transcutânea automática (GR Med Produtos Medicos e Hospitalares Ltda ME - Registro ANVISA: 81382050009), objetivando aumentar o volume de ativos permeados instantaneamente na pele a uma profundidade controlada, pelas microagulhas extremamente finas, acopladas a um sistema de acrílico que libera o ativo simultaneamente à perfuração da pele.

A técnica de microagulhamento tem sido utilizada no tratamento de várias disfunções estéticas, principalmente as que buscam o estímulo da produção de colágeno, assim como o tratamento de cicatrizes atróficas de acne, rejuvenescimento, rugas e linhas de expressão, que podem ainda ser aprimoradas pela

associação de substâncias voltadas a este estímulo. Também pode ser utilizada no tratamento de disfunções da produção de melanina quando associadas a ativos despigmentantes.

A atuação do profissional farmacêutico na estética, mesmo com tantas resoluções publicadas sofre constante embates jurídicos. Atualmente, a resolução Nº 616, de 25 de novembro de 2015 define os requisitos técnicos para o exercício do farmacêutico no âmbito da saúde estética, ampliando o rol das técnicas de natureza estética e recursos terapêuticos utilizados pelo farmacêutico em estabelecimentos de saúde estética como: a aplicação de toxina botulínica, o preenchimento dérmico, a carboxiterapia, a criolipólise, a intradermoterapia, a mesoterapia, o agulhamento e microagulhamento estético, com veiculação de ativos. A Resolução nº 645 de 27 de julho de 2017 do CFF, deu nova redação a trechos da Resolução nº 616 de 2015 do CFF. Dessa forma, os requisitos a serem preenchidos pelo farmacêutico para ser capacitado para exercer a saúde estética passou a exigir: ser egresso de programa de pós-graduação lato sensu reconhecido pelo Ministério da Educação, na área de saúde estética; ou ser egresso de curso livre de formação profissional em saúde estética reconhecido pelo CFF, de acordo com os referenciais mínimos definidos em nota técnica específica. O profissional farmacêutico, legalmente habilitado em estética pode ser responsável técnico para compra e utilização das substâncias e equipamentos necessários para os procedimentos estéticos em consonância com a sua capacitação profissional. Este profissional poderá fazer a escolha autônoma para uso de substâncias em conformidade com a tabela de substâncias utilizadas nos procedimentos estéticos. Desta forma, a suspensão das Resoluções do CFF nº 573/2013 e 669/2018, não interfere na atuação profissional do farmacêutico na saúde estética. Estando respaldados pelas Resoluções do CFF nº 616/2015 e nº 645/2017. O profissional farmacêutico possui conhecimento científico, intelectual, ético e processual voltados para a atenção farmacêutica e práticas clínicas devidamente regulamentadas (VENDRAMINI, 2018).

Portanto, o farmacêutico está habilitado a utilizar a técnica de microagulhamento, que pode ser utilizada no tratamento de disfunções da produção de melanina quando associadas a ativos despigmentantes, como no tratamento do melasma (MALIK, HANIF, MUSTAFA, 2019). O microagulhamento associado ao AK poderá ser uma alternativa de tratamento para o melasma epidérmico e dérmico tornando possível a penetração do ativo despigmentante até a derme, potencializando os resultados obtidos.

2. JUSTIFICATIVA

Sabe-se que o melasma ocorre em todos os grupos étnicos e populacionais. No entanto, estudos epidemiológicos relataram maior prevalência entre fenótipos mais pigmentados. Nas Américas, o melasma é comum entre hispano-americanos e brasileiros que vivem em áreas intertropicais, onde há maior exposição à radiação ultravioleta. A grande miscigenação da população brasileira e o clima tropical do país favorecem o desenvolvimento do melasma, sendo que de 15 a 35% das mulheres brasileiras adultas e/ou grávidas são afetadas pela referida doença (HANDEL, MIOT, MIOT, 2014; GRIMES et al., 2018).

O melasma tem um grande impacto social e psicossocial, pois os pacientes com melasma relatam baixa auto-estima, levando a depressão e ao isolamento social. A terapia continua sendo um desafio clínico e os agentes tópicos são a base do tratamento que deve incluir uma abordagem multifatorial com agentes fotoprotetores, tratamentos antioxidantes, clareadores da pele, esfoliantes entre outros (AUSTIN, NGUYEN, JAGDEO, 2019). Sabe-se que um dos desafios da administração transcutânea de formulações é a liberação da dose suficiente do ativo através das camadas da pele, devido às propriedades de barreira do estrato córneo (EC). Tais moléculas só podem ser permeadas pela pele se a função barreira do EC for reduzida ou interrompida. Para superar essa barreira do EC, diferentes abordagens têm sido estudadas, por métodos físicos incluindo, por exemplo, iontoforese, eletroporação e sonoforese. Utilizando a perfuração do EC com microagulhas, o microagulhamento representa uma alternativa a esses métodos apresentados, por criar poros na pele que resultam em um aumento da penetração (BADRAN, KUNTSCHE, FAHR, 2009). Podendo assim, ser utilizadas baixas concentrações do AK evitando os efeitos adversos e aprimorando os resultados de sua aplicação como agente despigmentante.

3. HIPOTESE

A perfuração do estrato córneo com microagulhas (microagulhamento) representa uma alternativa aos métodos já existentes para o tratamento do melasma, por criar poros na pele que resultam em um aumento da penetração dos ativos. Ao se associar o AK, agente clareador da pele, espera-se manter os efeitos benéficos, com a possibilidade de diminuir as concentrações utilizadas. Dessa forma, será possível evitar eventos adversos, além de aprimorar os resultados de sua, já conhecida, aplicação como agente despigmentante.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Avaliação da eficácia e segurança do microagulhamento associado ao *sérum*, contendo 2,0% de ácido kójico, para o tratamento do melasma.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aplicação *In Vivo* microagulhamento pelos dois métodos de aplicação da técnica: o *roller* e a caneta elétrica no comprimento de agulha 0,5 mm, associado ao *sérum* de ácido kójico na concentração de 2,0% no controle do melasma, comparando com um grupo controle que receberá apenas o *sérum* para uso domiciliar;

Avaliação da melhora da gravidade e área do melasma como medida de eficácia;

Avaliação da melhora na qualidade de vida relacionada ao melasma;

Avaliação da segurança por meio da notificação de eventos adversos;

Análise estatística dos resultados.

5. METODOLOGIA PROPOSTA

5.1. DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um ensaio clínico prospectivo, aberto, randomizado e comparativo para avaliar uma formulação tópica contendo ácido kójico associado ao microagulhamento no tratamento do melasma.

5.2. SELEÇÃO DAS VOLUNTÁRIAS

Serão selecionadas 45 voluntárias do sexo feminino, da comunidade acadêmica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), portadoras de melasma com graus variados de hiperpigmentação. A dermatologista responsável, Dra. Renata Teixeira da Silva, CRM RJ 704881, avaliará todas as voluntárias recrutadas, para selecionar a amostra de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, pois dependem de diagnósticos clínicos.

5.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Participante do sexo feminino;
- Participante entre 25 e 60 anos;
- Portadoras de melasma.

5.4. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Participante com infecção de pele;
- Participante com processo inflamatório na pele;
- Participante com lesões cancerígenas;
- Participante com psoríase;
- Participante com acne ativa;
- Participante com herpes ativa;
- Participante com doença autoimune;

- Participante com distúrbios de coagulação;
- Participante em uso de anticoagulante;
- Participante em uso crônico de antiinflamatório;
- Participante em uso de isotretinoína;
- Participante em realização de outros procedimentos;
- Participante alérgico a algum ativo utilizado;
- Histórico de cicatrização hipertrófica ou quelóide;
- Gravidez ou amamentando.

5.5. RISCOS

O procedimento de microagulhamento associado ao *sérum* de ácido kójico é considerado micro-invasivo, apresentando como possíveis riscos, mesmo com baixa incidência, hiperpigmentação pós-inflamatória, acne e alergia ao ativo utilizado. Exige tempo de recuperação de no mínimo 24 horas ou mais caso ocorra injúria moderada a profunda. Além disso, o procedimento pode ser considerado doloroso para pacientes mais sensíveis. Por ser um procedimento técnico-dependente, exige treinamento e, por isso, será realizado por profissional com experiência e capacitação na área. Importante destacar que todos os procedimentos, envolvendo voluntárias, serão supervisionados pela médica dermatologista responsável, Dra. Renata Teixeira da Silva, CRM RJ 704881.

5.6. BENEFÍCIOS

As participantes submetidas ao tratamento terão oportunidade de tratar as manchas do melasma empregando um procedimento com tempo de recuperação curto e risco de efeitos adversos reduzido em comparação ao de técnicas ablativas como *peelings* e *lasers*. O clareamento das manchas ainda promove a recuperação da autoestima e melhora a qualidade de vida das participantes (LIMA, LIMA, TAKANO, 2013). Levando em conta que é uma pesquisa, os resultados somente serão obtidos após a sua realização e variam de indivíduo para indivíduo.

5.7. SIGILO DE CONFIDENCIALIDADE E TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) (ANEXO 1)

A voluntária terá sua privacidade respeitada, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, a identificar, será mantido em sigilo. Consentindo em participar

da presente pesquisa, o registro de imagem da participante estará autorizado visto que este representa uma fonte de esclarecimento dos resultados alcançados, tanto para o profissional quanto para a voluntária e, posteriormente, para a comunidade científica. Os dados pessoais e o prontuário da participante da pesquisa poderão ser consultados apenas pelos pesquisadores, monitores e auditores do patrocinador, assegurando o compromisso profissional com o sigilo das informações. Para garantir a confidencialidade será feita a codificação dos dados e utilização de senha de acesso aos bancos de dados e prontuários. A participante terá acesso aos resultados obtidos durante o estudo e terá acesso gratuito pós-estudo ao produto final da pesquisa. O envio dos dados para o patrocinador ou a terceiros será feito de forma anonimizada.

Cada voluntária receberá o TCLE (ANEXO 1) e antes de decidir se participará, deverá reservar um tempo para ler cuidadosamente as informações e perguntar sobre qualquer dúvida. A mesma será orientada a não ter pressa para decidir se deseja ou não participar da pesquisa sendo orientada e esclarecida quanto ao teor de todo conteúdo, que compreende desde a natureza e o objetivo do estudo, contra-indicações, plano de tratamento proposto e responsabilidades, assistência profissional e pesquisadores envolvidos, registros, uso de imagens e consentimento geral, reações adversas, precauções e cuidados pós aplicação, benefícios esperados, desconfortos e riscos possíveis na participação da pesquisa. Tendo lido, compreendido e consentido todas as informações contidas no TCLE (ANEXO 1), antes da sua assinatura e não restando dúvidas, a voluntária assinará, autorizando a realização dos procedimentos propostos no termo.

Ao concordar em participar da pesquisa a participante será responsável por comparecer às sessões, seguir as orientações profissionais e as precauções descritas no TCLE (ANEXO 1). Deve compreender que cada tratamento é único, os resultados variam de indivíduo para indivíduo e não podem ser dadas promessas de resultados. Ainda assim, a participante terá plena liberdade para se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e, por desejar sair da pesquisa, não sofrerá nenhuma penalidade ou prejuízo à assistência que receberá dos pesquisadores. No caso da interrupção do estudo, a participante da pesquisa irá receber a assistência que for necessária, de forma gratuita, por tempo que for necessário. As participantes receberão assistência e suporte profissional, ao longo e após a finalização do estudo, com possibilidade de manutenção do tratamento. As participantes da pesquisa irão receber assistência (imediata e integral) por complicações ou danos decorrentes da pesquisa, de forma gratuita. Poderão requerer indenização por danos e receber ressarcimentos de gastos, incluindo acompanhantes, se necessário.

5.8. APLICAÇÃO DA INTERVENÇÃO

Após realização de anamnese criteriosa, será proposto um protocolo de tratamento com microagulhamento, associado ao *sérum* contendo 2,0% de ácido kójico, em três aplicações mensais. A pesquisa será integralmente realizada, no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LADEG) pertencente

a Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e localizado no subsolo da Farmácia Universitária, CCS, Bloco L. Cada participante será fotografada previamente aos procedimentos com câmera digital comum de 48 MP de resolução, na posição horizontal, a uma distância de aproximadamente 15 cm e com a mesma câmera pela lâmpada de Wood (luz ultravioleta) na mesma posição e distância.

As 45 voluntárias serão divididas em três grupos de tratamento. A divisão das participantes será feita por meio de sorteio, ou seja, de forma aleatorizada, para não ocorrer previsão na alocação, evitando tendências e permitindo a comparabilidade entre os grupos e posterior análise estatística. Grupo 1: 15 voluntárias receberão o *sérum* contendo 2,0% de ácido kójico para uso domiciliar como grupo controle. Grupo 2: 15 voluntárias receberão o microagulhamento, empregando o *roller* associada ao *sérum*, contendo 2,0% de ácido kójico. Adicionalmente, também será disponibilizado o mesmo *sérum* para uso domiciliar e Grupo 3: 15 voluntárias receberão o microagulhamento, empregando caneta elétrica associada ao *sérum*, contendo 2,0% de ácido kójico. Adicionalmente, também será disponibilizado o *sérum* para uso domiciliar.

Grupo 1 (Grupo controle): Será dispensado quantidade suficiente para 30 dias de tratamento do *sérum* contendo 2,0% de ácido kójico para uso domiciliar. As participantes deverão retornar nos dias 30, 60 e 90 para avaliação e receberão em cada retorno novo frasco com quantidade suficiente para 30 dias de tratamento. Como protocolo de aplicação, as participantes deverão higienizar a face com sabonete neutro, aplicar diariamente camada fina do *sérum* sobre toda a face pelo menos 30 minutos antes de deitar. Pela manhã deverão remover o *sérum* por meio de nova higienização da face com sabonete neutro e deverão utilizar diariamente protetor solar FPS 60 reaplicando a cada 3 horas.

O tratamento, recebido pelo Grupo 1, é passível de reações adversas relacionadas ao ácido, como ardor, vermelhidão e irritação no local de aplicação. Porém esses efeitos adversos são raros para a concentração utilizada do ácido. Na presença desses sintomas ou qualquer anormalidade, o pesquisador deverá ser informado e consultado. Cada participante da pesquisa receberá as orientações necessárias, que são: não expor a área ao sol sem uso de protetor solar. Não deverão expor a pele a outros ativos ácidos, irritantes ou qualquer outro produto que não os disponibilizados pelo pesquisador durante todo o período de tratamento que compreende desde a primeira aplicação do *sérum* até o último retorno para avaliação com 90 dias. Todas essas precauções e cautelas devem ser seguidas a fim de evitar e/ou minimizar os riscos de efeitos adversos (MCKESEY; TOVAR-GARZA; PANDYA, 2020; SAEEDI; ESLAMIFAR; KHEZRI, 2019).

Grupo 2: Serão realizados três procedimentos com intervalo de 28 dias entre cada aplicação. Será feita a higienização da face com sabonete de clorexidina 2,0%. Uma camada espessa de creme anestésico será aplicada e após obtenção do efeito, será realizada a assepsia da região a ser tratada e seus arredores, com álcool 70%. O microagulhamento será realizado empregando o *roller* com 540 agulhas com diâmetro 0,25 mm, em material de titânio, e comprimento de 0,5 mm, fabricados pela GR

Med Produtos Medicos e Hospitalares LTDA ME (Registro ANVISA: 81382050002). O *roller* será passado 15 vezes, em movimentos de vai e vem, na mesma direção: horizontal, vertical e oblíqua, percorrendo pequenas áreas de aproximadamente 3cm² por vez. Imediatamente após o microagulhamento de cada área o *sérum* de AK será dispersado sobre a pele. Ao final do procedimento será realizada higienização da face com soro fisiológico para remoção dos resíduos. As participantes receberão o *sérum* contendo 2,0% de ácido kójico para uso domiciliar como manutenção do tratamento e deverão utilizar diariamente no período noturno e remover pela manhã. Também deverão fazer uso de filtro solar FPS 60.

Grupo 3: Serão realizados três procedimentos com intervalo de 28 dias entre cada aplicação. Será feita a higienização da face com sabonete de clorexidina 2,0%. Uma camada espessa de creme anestésico será aplicada e após obtenção do efeito, será realizada a assepsia da região a ser tratada e seus arredores, com álcool 70%. O microagulhamento será então realizado empregando a caneta elétrica por meio de cartuchos com 36 agulhas, ajustada no comprimento de 0,5 mm, fabricados pela GR Med Produtos Medicos e Hospitalares LTDA ME (Registro ANVISA: 81382059001/81382050005). A aplicação irá percorrer pequenas áreas, por vez, de aproximadamente 3cm², deslizando o cartucho 6 vezes no mesmo local em oito direções, vertical, para cima e para baixo, horizontal, para a direita e para a esquerda e nas duas direções diagonais, seguindo Amer M, et al. (2018). Imediatamente após o microagulhamento de cada área o *sérum* de AK será dispersado sobre a pele. Ao final do procedimento será realizada higienização da face com soro fisiológico para remoção dos resíduos. As participantes receberão o *sérum* contendo 2,0% de ácido kójico para uso domiciliar como manutenção do tratamento e deverão utilizar diariamente no período noturno e remover pela manhã. Também deverão fazer uso de protetor solar FPS 60.

O tratamento, recebido pelos grupos 2 e 3, é passível de reações adversas como dor no local de aplicação, hematoma, inchaço, vermelhidão ou edema. Cada participante da pesquisa receberá as orientações necessárias, que são: não expor a área ao sol, calor e vapores quentes. Ter cautela com a exposição a luzes artificiais. Não massagear ou manipular a região tratada logo após a aplicação. A pele ficará vermelha nas primeiras 24 horas, podendo se estender por até 48 horas. Ao persistirem os sintomas ou qualquer anormalidade, o pesquisador deverá ser informado e consultado. As participantes deverão usar apenas pomada hidratante e sabonete neutro fornecido pelo pesquisador durante a recuperação da pele após o procedimento. Não se expor ao sol e não usar protetor solar pelas 24 horas seguintes a contar da aplicação do procedimento. Não usar maquiagem de nenhuma espécie nem outros cosméticos ou produtos diversos sobre a pele tratada pelas 48 horas seguintes ao procedimento. Não expor a pele a ativos ácidos, irritantes ou qualquer outro produto que não os disponibilizados pelo pesquisador durante todo o período de tratamento que compreende desde a primeira aplicação até 30 dias após a ultima aplicação do microagulhamento. Todas essas precauções e cautelas devem ser seguidas a fim de evitar e/ou minimizar os riscos do procedimento (LIMA, LIMA, TAKANO, 2013; ORENTREICH, ORENTREICH, 1995, KALIL et al., 2015, SANTOS et al., 2017).

5.9. DESFECHOS AVALIADOS

As participantes serão avaliadas pelas nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias. No dia 0, anteriormente a realização do procedimento, serão avaliadas quanto ao tipo de melasma (epidérmico, dérmico, misto ou inaparente por meio de luz UV utilizando um aparelho denominado Lâmpada de Wood. Nesse primeiro momento também serão avaliadas quanto ao fototipo de pele pelo questionário de Fitzpatrick (**ANEXO 2**) para classificação dos fototipos de pele, com base na predisposição genética, reação à exposição ao sol e hábitos de bronzamento, e pelo MASI, MASI modificado e MELASQol-BP. Todos esses resultados serão reunidos na Ficha de Anamnese (**ANEXO 3**) para cada voluntário.

5.9.1. DESFECHO PRIMÁRIO

Como desfecho primário será avaliada a melhora na gravidade e área do melasma por meio da diferença nas pontuações do MASI (Melasma Area and Severity Index) (**ANEXO 4**) e mMASI (Modified Melasma Area and Severity Index) (**ANEXO 5**) nos tempos 0, 30, 60 e 90 dias. O MASI é uma medida útil na classificação clínica do melasma que tem sido o método mais utilizado na literatura para avaliar a resposta ao tratamento. A pontuação do MASI é calculada pela avaliação de três fatores: área (A) de envolvimento, escuridão (E) e homogeneidade (H), com a testa (T), região malar direita (MD), região malar esquerda (ME) e queixo (Q), correspondendo a 30%, 30%, 30% e 10% da face total, respectivamente. A área de envolvimento em cada uma dessas 4 áreas recebe um valor numérico de 0 a 6 (0 = sem envolvimento; 1 = até 10%; 2 = 10% a 29%; 3 = 30% a 49%; 4 = 50% a 69%; 5 = 70% a 89%; e 6 = 90% a 100%). Escuridão e homogeneidade são classificadas em uma escala de 0 a 4 (0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = marcado; e 4 = máximo). A pontuação do MASI é calculada pela soma das classificações de gravidade para a escuridão e homogeneidade, multiplicada pelo valor da área de envolvimento, para cada uma das 4 áreas faciais. $MAI = Testa 0.3A (E+H) + Malar\ direito 0.3A (E+H) + Malar\ Esquerdo 0.3A (E+H) + Queixo 0.3A (E+H)$. O intervalo total de pontuação é de 0 a 48. (PANDYA et al., 2011).

O segundo instrumento quantitativo e científico de pontuação, o MASI modificado, foi criado para substituir o sistema de pontuação clássico MASI. Esse novo método utiliza a análise da imagem sob luz ultravioleta. (HAMMERSCHMIDT et al., 2012). A área (A) e a escuridão (E) são classificadas da seguinte forma: área de envolvimento: 0 = ausente, 1 = até 10%, 2 = 10% a 29%, 3 = 30% a 49%, 4 = 50% a 69%, 5 = 70% e 89% e 6 = 90% e 100%; escuridão: 0 = ausente, 1 = leve, 2 = moderado, 3 = marcado, e 4 = grave. $MAI\ Modificado = Testa 0.3A E + Malar\ direito 0.3A E + Malar\ Esquerdo 0.3A E + Queixo 0.1A E$. O intervalo da pontuação total é de 0 a 24 (PANDYA et al., 2011).

5.9.2. DESFECHOS SECUNDÁRIOS

Como desfechos secundários serão avaliados a melhora na qualidade de vida relacionada ao melasma por meio da diferença nas pontuações do Melasma Quality of Life (MELASQol) (**ANEXO 6**) nos

tempos 0, 30, 60 e 90 dias. O MELASQol (Melasma Quality of Life Scale), um questionário capaz de avaliar objetivamente a qualidade de vida das participantes acometidas. As questões do questionário consideram como estas se sentem em relação ao melasma, na última semana antes da avaliação como: Nem um pouco incomodado = 1, não incomodado na maioria das vezes = 2, não incomodado algumas vezes = 3, neutro = 4, incomodado algumas vezes = 5, incomodado na maioria das vezes = 6 ou incomodado o tempo todo = 7. Para as questões: 1. A aparência da sua pele. 2. Frustração pela condição da sua pele. 3. Constrangimento pela condição de sua pele. 4. Sentindo-se depressivo pela condição da sua pele. 5. Os efeitos da condição da sua pele no relacionamento com outras pessoas (por ex: interações com a família, amigos, relacionamentos íntimos, etc.). 6. Os efeitos da condição da sua pele sobre o seu desejo de estar com as pessoas. 7. A condição da sua pele dificulta a demonstração de afeto. 8. As manchas da pele fazem você não se sentir atraente para os outros. 9. As manchas da pele fazem você se sentir menos importante ou produtivo. 10. As manchas da pele afetam o seu senso de liberdade. (CESTARI, et al., 2006; BALKRISHNAN R, et al., 2003).

Também como desfecho secundário será avaliada a segurança relacionada as intervenções por meio do número de participantes que relataram eventos adversos, número de eventos adversos, duração do evento adverso e número de desistências devido a eventos adversos indesejáveis para os grupos de intervenção e controle. A notificação dos eventos adversos ocorrerá durante todo o tempo de tratamento e acompanhamento devendo o pesquisador ser informado pelo participante imediatamente ao surgimento do evento adverso que será registrado em Ficha de efeito/evento adverso (**ANEXO 7**).

5.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos serão analisados estatisticamente empregando-se análise de variância (ANOVA), com modelo de planejamento com um e/ou dois fatores fixos, com nível de significância (α) de 5%.

6. CRONOGRAMA

Identificação da Etapa	Início	Término
<i>Recrutamento e seleção dos voluntários</i>	01/08/2022	31/08/2022
<i>Realização do primeiro procedimento</i>	01/09/2022	30/09/2022
<i>Avaliação e realização do segundo procedimento</i>	01/10/2022	31/10/2022
<i>Reavaliação e realização do terceiro procedimento</i>	01/11/2022	30/11/2022
<i>Avaliação final</i>	01/12/2022	31/12/2022
<i>Análise e divulgação dos resultados</i>	01/01/2023	31/03/2023

7. ORÇAMENTO

O presente estudo será integralmente financiado pela FAPERJ, com fomento obtido pelo Edital 21/2019 (Programa de apoio à infraestrutura laboratorial e desenvolvimento das linhas de pesquisa da Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste - UEZO) Numero do Processo e-26/010.002394/2019, ref 211.507/2019, em nome da pesquisadora Prof^a Bárbara da Silva e Souza Lorca, intitulado como "Tratamento de melasma: desenvolvimento e avaliação de formulações tópicas contendo ácido kójico associado ao microagulhamento".

<i>Identificação do Orçamento</i>	<i>Tipo</i>	<i>Valor em Reais (R\$)</i>
<i>Equipamento e material permanente</i>	Capital	17.970,00
<i>Material de consumo</i>	Custeio	29.800,00
<i>Total em Reais (R\$): 47.770,00</i>		

8. REFERÊNCIA

AUSTIN E.; NGUYEN J. K.; JAGDEO J., Topical Treatments for Melasma: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. **J Drugs Dermatol**, v. 18(11), 1 Nov, 2019.

BATISTUZZO, J. A O; ITAYA, M.; ETO, Y. Formulário Médico-Farmacêutico. 5 ed. São Paulo, **Atheneu, Editora São Paulo**, p. 681, 2015.

BADRAN, M. M.; KUNTSCHKE, J.; FAHR, A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller) in vitro: dependency on needle size and applied formulation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 36(4-5), 511-523, 2009.

BALKRISHNAN R. et al., Development and validation of a health-related quality of life instrument for women with melasma. **Br J Dermatol.**, 149:572-7, 2003.

BUCHMANN, S., Main cosmetics vehicles. In: BAREL, A.O.; PAVE, M.; MAIBACH, H.I., eds. Handbook of cosmetic science and technology. **New York: Marcel Dekker**, p.147-150, 2001.

CESTARI, T. F. et al., Translation and cultural adaptation to portuguese of a quality of life questionnaire for patients with melasma. **Med Cutan Iber Lat Am.**, 34(6):270-274, 2006.

CONSTANTINIDES, P. P., Lipid Microemulsions for Improving Drug Dissolution and Oral Absorption: Physical and Biopharmaceutical Aspects. **Pharmaceutical Research**, v. 12, 1561–1572, Nov. 1995.

GRIMES, P. E. et al., New oral and topical approaches for the treatment of melasma. **International Journal Of Women's Dermatology**, v. 5,1,:30-36, 20 Nov, 2018.

GUTIÉRREZ, J. M. et al., Nano-emulsions: New applications and optimization of their preparation. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 13, 245–251, 2008.

HAMMERSCHMIDT, M, et al. Avaliação dos métodos de classificação do melasma de acordo com a resposta ao tratamento. **Surg Cosmet Dermatol**, v. 4(2):155-8, 2012.

HANDEL, A. C.; MIOT, L. D. B.; MIOT, H. Á., Melasma: a clinical and epidemiological review. **Ann Dermatol**, v. 28, No. 5, 2016.

KALIL, C. L. P. V. et al., Comparative, randomized, double-blind study of microneedling associated with drug delivery for rejuvenating the skin of the anterior thorax region. **Surg Cosmet Dermatol**, v. 7(3):211-6, 2015.

KOO O. M.; RUBINSTEIN I.; ONYUKSEL H., Role of Nanotechnology in Targeted Drug Delivery and Imaging: A Concise Review. **Nanomedicine**. v. 1, No. 3, pp. 193-212. 2005.

LEFRANCOIS, P. et al., Insights into Carbopol gel formulations: Microscopy analysis of the microstructure and the influence of polyol additives. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 132, n. 46, p. 42761, 10 dez. 2015.

LIMA, EVA., LIMA, MA., TAKANO, D. Microagulhamento: estudo experimental e classificação da injúria provocada. **Surg Cosmet Dermatol**, v. 5(2):1104, 2013.

MALIK, F.; HANIF, M. M.; MUSTAFA, G., Combination of Oral Tranexamic Acid with Topical 3% Tranexamic Acid versus Oral Tranexamic Acid with Topical 20% Azelaic Acid in the Treatment of Melasma. **Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan**. Vol. 29 (6): 502-504, 2019.

OGBECHIE-GODEC O. A.; ELBULUK N., Melasma: an Up-to-Date Comprehensive Review. **Dermatology and therapy**, v. 7,3:305-318, 19 Jul. 2017.

ORENTREICH, D. S.; ORENTREICH, N. Subcutaneous Incisionless (Subcision) Surgery for the Correction of Depressed Scars and Wrinkles. **Dermatologic Surgery**, v. 21(6), 543–549, 1995.

PANDYA et al., Reliability assessment and validation of the Melasma Area and Severity Index (MASI) and a new modified MASI scoring method. **J Am Acad Dermatol**, 2011;64:78-83.

POUTON C. W., Formulation of self-emulsifying drug delivery systems. **Advanced Drugs Delivery Reviews**, v. 25: 47-58, 14 Abril, 1997.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R., **Tecnologia Farmacêutica**, v. 1, 5 ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995.

SANTOS, J. B. et al., Tratamento de cicatrizes atróficas de acne com a técnica de microagulhamento e drug delivery: relato de caso. **Brazilian Journal Of Surgery And Clinical Research**. VOL.21, N.2, PP.94-100, 2017.

SAEEDI M.; ESLAMIFAR M.; KHEZRI K., Kojic acid applications in cosmetic and pharmaceutical preparations. **Biomed Pharmacother**, v. 110:582-593, Feb, 2019.

SINGH, B. K, PARK, S. H, LEE, H. B, et al., Kojic Acid Peptide: A New Compound with Anti-Tyrosinase Potential. **Ann Dermatol**, v. 28(5):555–561, 30 Set, 2016.

SOLANS C. et al., Nanoemulsions. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**., v. 10:3-4, 102-110, 2005.