

**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA BIOFOTÔNICA**

THAÍS RODRIGUES GALACHE

**FOTOBIMODULAÇÃO COM LUZ ÂMBAR NO TRATAMENTO DO
MELASMA: ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO,
DUPLO CEGO**

**São Paulo, SP
2023**

THAÍS RODRIGUES GALACHE

**FOTOBIMODULAÇÃO COM LUZ ÂMBAR NO TRATAMENTO DO
MELASMA: ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO,
DUPLO CEGO**

Dissertação apresentada à
Universidade Nove de Julho, para
obtenção do título de Mestre em
Medicina-Biofotônica.
Orientadora: Profa. Dra. Christiane
Pavani

**São Paulo, SP
2023**

Galache, Thaís Rodrigues.

Fotobiomodulação com luz âmbar no tratamento do melasma:
ensaio clínico, randomizado, controlado, duplo cego. / Thaís
Rodrigues Galache. 2024.

138 f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Nove de Julho -
UNINOVE, São Paulo, 2024.

Orientador (a): Prof^a Dr^a. Christiane Pavani.

1. Melasma. 2. Fotobiomodulação. 3. Ácido tranexâmico. 4. Led
âmbar. 5. LLT.

I. Pavani, Christiane. II. Título.

CDU 615.831

São Paulo, 15 de dezembro de 2023.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): Thaís Rodrigues Galache

Título da Dissertação: “Fotobiomodulação com luz âmbar no tratamento do melasma: ensaio clínico randomizado controlado duplo cego”.

Presidente: PROF^a. DR^a. CHRISTIANE PAVANI



Membro: PROF^a. DR^a. REBECA BOLTES CECATTO



Membro: PROF^a. DR^a. MARIANA CHAVES AVEIRO



Dedico este trabalho em memória de minha mãe e minha avó,
que sempre incentivaram meu crescimento profissional e minha
formação acadêmica.

AGRADECIMENTOS

É com imensa gratidão e satisfação que expresso meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram para realização deste trabalho de dissertação pelo Mestrado em Medicina-Biofotônica. Este momento não seria possível sem apoio e a colaboração generosa de diversas pessoas e gostaria de aproveitar esta oportunidade para expressar meu reconhecimento a cada uma delas.

Agradeço ao meu marido pela compreensão, paciência, ajuda recebida no decorrer do curso, na pesquisa, coletas e principalmente nos atendimentos da maioria dos participantes desse estudo, sem esse apoio, nada seria possível.

Aos pacientes da Odontologia Galache, pela compreensão, que por meses o local foi dedicado exclusivamente a essa pesquisa, sem atendimentos clínicos odontológicos.

Devo agradecer à minha orientadora Dra. Christiane Pavani, cuja orientação dedicada, conhecimento e incentivo foram fundamentais para a condução deste estudo. Obrigada por todo o auxílio, competência, dedicação, dicas preciosas para minha evolução acadêmica e ao longo do período de elaboração desse trabalho.

Aos participantes da pesquisa, que aceitaram realizar os tratamentos, aplicações e exames por 14 semanas seguidas e acompanhamentos de resultados por ainda mais 08 semanas.

Não posso deixar de agradecer aos colegas da PPGB, Cícero Dayves da Silva Bezerra pelas aplicações de Led nos participantes alocados na UNINOVE, Michelle Mota Sena pelas avaliações realizadas e Verônica Ovídio Carvalho de Santana pelo auxílio com aplicativos de softwares utilizados nas análises.

Ao professor Dr. Rodrigo Labat Marcos, pela liberação do seu laboratório de pesquisa, do uso de seu microscópio para as análises utilizadas nesse estudo e pelas dicas pertinentes e valiosas.

Paulo Roberto Marvulle pela liberação aos ambulatórios da UNINOVE Vergueiro, para a utilização durante os tratamentos dos participantes dessa pesquisa.

A professora Dra. Lara Jansinski Motta, pelo auxílio e instruções fornecidas para o meu ingresso ao programa de mestrado em Medicina-Biofotônica.

A professora Dra. Rebeca Boltes Cecatto, por aceitar participar da minha banca de qualificação e defesa do Mestrado em Medicina Biofotônica, bem como, por ser tão generosa ao passar seu conhecimento nas avaliações, e assim, contribuir para refinar essa dissertação.

Professora Dra. Mariana Chaves Aveiro, por compor a banca da minha Defesa e pela consideração em corrigir e engrandecer esse trabalho.

Gostaria de agradecer à Universidade Nove de Julho (UNINOVE), que gentilmente cedeu a estrutura para coleta e concedeu bolsa de mestrado. Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro (código financeiro 001).

Agradeço também, a RENNOVA® pela grande parceria, que cedeu todos os protetores solares tonalizantes FPS 60 entregues mensalmente para todos os participantes do estudo, além de, produtos utilizados para limpeza da pele dos participantes nos tratamentos, como a água micelar, espuma hidratante e bruma prebiótica.

Por fim, agradeço à DMC que forneceu o equipamento de LED (E-LIGHT) para ser utilizado em um centro desta pesquisa.

EPÍGRAFE

“Não existem atalhos para a vida. Foi necessária cada e toda situação que você encontrou para trazê-lo para o agora. E agora é o momento certo.”

Asha Tyson

RESUMO

Introdução: O melasma facial (MF), principal distúrbio de pigmentação em mulheres (90% dos casos), tem etiologia parcialmente conhecida. O Ácido tranexâmico (ATX) trata o MF inibindo a conversão da plasmina em plasminogênio e ativando a autofagia. Estudos in vitro indicam que a fotobiomodulação (FBM) âmbar também ativa a autofagia. **Objetivo:** Avaliar o efeito da FBM âmbar no MF, em comparação com ATX. **Material e Método:** Este estudo controlado, randomizado e duplo-cego teve pacientes divididos em 2 grupos: FBM com Led âmbar + cosmético placebo (Grupo 1) e FBM sham + cosmético ácido tranexâmico 5% (Grupo 2). Foram incluídas mulheres com idades entre 35 a 50 anos, fototipos II a IV e que apresentavam MF. Foram excluídas participantes que faziam uso de contraceptivos, DIU, reposição hormonal, doenças autoimunes, medicamentos fotossensíveis e tratamentos faciais recentes. Os participantes receberam os tratamentos semanalmente, por 12 semanas e também fizeram o uso domiciliar do produto durante este período. Todos os participantes utilizaram protetor solar fornecido pelo pesquisador, durante todo o estudo. **Resultados:** 21 mulheres com idade entre 39 e 49 anos foram incluídas, sendo 10 no grupo FBM e 11 no grupo ATX. Não foram encontradas diferenças significantes na análise intragrupo no parâmetro MASI ao longo do tempo para ambos tratamentos ATX ($13,8 \pm 2,8$; $11,7 \pm 2,1$; $11,8 \pm 2,2$) e FBM ($16,4 \pm 3,0$; $16,8 \pm 2,2$; $16,2 \pm 2,0$), bem como não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos em todos os períodos investigados. A Avaliação Global da Face revelou melhorias no MF em ambos os grupos, com uma pontuação mediana de 4 [4-5] para PBM e 4 [3-4] para TXA. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois tratamentos. Uma pontuação de 4 representa uma leve melhoria, aproximadamente 25%, com evidência notável de hiperpigmentação remanescente. Na avaliação objetiva da intensidade da pigmentação não foram observadas diferenças significantes no grupo FBM na comparação intragrupo ao longo do tempo de tratamento (623.658 ± 12.397 ; 632.800 ± 10.397 ; e 642.424 ± 12.134 para PBM). Por outro lado, no grupo ATX foi observado aumento na intensidade de pigmentação do baseline em relação à sexta semana de tratamento (600.325 ± 1.820 ; 641.088 ± 9.914 ; e 635.308 ± 11.569 para TXA). Na comparação entre grupos, não foram encontradas diferenças em nenhum dos tempos avaliados. Foi observada melhora na qualidade de vida dos participantes, conforme indicado por redução nas pontuações do questionário MelaQoL ($47,9 \pm 15,6$; $37,0 \pm 17,0$; e $19,3 \pm 11,5$ para PBM; $46,6 \pm 12,9$; $38,1 \pm 9,7$; e $26,8 \pm 13,6$ para TXA no início do estudo, na sexta semana e após a conclusão do tratamento, respectivamente). Esta redução foi significativa após a sexta semana de tratamento em ambos os grupos, embora não tenha sido observada diferença na qualidade de vida entre os dois grupos. De maneira geral foram encontrados somente efeitos adversos leves e transitórios como eritema, rubor. **Conclusão:** Neste estudo piloto não foram encontrados efeitos de melhora no MF ao longo do tratamento e follow up

com base no índice MASI em nenhum dos tratamentos bem como não foram encontradas diferenças entre os tratamentos.

Palavras chaves: Melasma, Fotobiomodulação, Ácido Tranexâmico, Led Âmbar, LLLT

ABSTRACT

Introduction: Facial Melasma (FM), the main pigmentation disorder in women (90% of cases), has a partially known etiology. Tranexamic acid (ATX) treats FM by inhibiting the conversion of plasmin to plasminogen and activating autophagy. In vitro studies indicate that amber photobiomodulation (FBM) also activates autophagy. **Objective:** To evaluate the effect of amber FBM on FM, compared with ATX. **Material and Method:** This controlled, randomized, double-blind study had patients divided into 2 groups: FBM with amber LED + placebo cosmetic (Group 1) and sham FBM + 5% tranexamic acid cosmetic (Group 2). Women aged between 35 and 50 years, phototypes II to IV and who had FM were included. Participants who were using contraceptives, IUDs, hormone replacement therapy, autoimmune diseases, photosensitive medications and recent facial treatments were excluded. Participants received treatments weekly for 12 weeks and also used the product at home during this period. All participants used sunscreen provided by the researcher throughout the study. Results: 21 women aged between 39 and 49 years were included, 10 in the FBM group and 11 in the ATX group. No significant differences were found in the intragroup analysis in the MASI parameter over time for both ATX (13.8 ± 2.8 ; 11.7 ± 2.1 ; 11.8 ± 2.2) and FBM (16.4 ± 3.0 ; 16.8 ± 2.2 ; 16.2 ± 2.0), as well as no significant differences were found between the groups in all periods investigated. The Global Face Assessment revealed improvements in FM in both groups, with a median score of 4 [4-5] for PBM and 4 [3-4] for TXA. No significant differences were observed between the two treatments. A score of 4 represents a slight improvement, approximately 25%, with notable evidence of remaining hyperpigmentation. In the objective assessment of pigmentation intensity, no significant differences were observed in the FBM group in the intragroup comparison over the treatment time ($623,658 \pm 12,397$; $632,800 \pm 10,397$; and $642,424 \pm 12,134$ for PBM). On the other hand, an increase was observed in the ATX group in the intensity of pigmentation at baseline in relation to the sixth week of treatment ($600,325 \pm 1,820$; $641,088 \pm 9,914$; and $635,308 \pm 11,569$ for TXA). In the comparison between groups, no differences were found at any of the times evaluated. An improvement in quality was observed of participants' lives, as indicated by reduction in MelaQoL questionnaire scores (47.9 ± 15.6 ; 37.0 ± 17.0 ; and 19.3 ± 11.5 for PBM; 46.6 ± 12.9 ; 38.1 ± 9.7 ; and 26.8 ± 13.6 for TXA at baseline, in the sixth week and after completion of treatment, respectively). This reduction was significant after the sixth week of treatment in both groups, although no difference in quality of life was observed between the two groups. In general, only mild and transient adverse effects were found, such as erythema, flushing. Conclusion: In this pilot study, no improvement effects were found in FM throughout the treatment and follow-up based on the MASI index in any of the treatments, nor were any differences found between treatments.

Keywords: Melasma, Photobiomodulation, Tranexamic Acid, Amber LED, LLLT

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1: Características da pele com Melasma, com detecção de aumento vascular subsuperficial (seta). Fonte: Masub (2020)³³</i>	23
<i>Figura 2: Região com Melasma e aumento vascular, observado pelo dermatoscópio. Fonte: Hammerschmidt (2012)³⁴</i>	24
<i>Figura 3: Camadas da epiderme e os diferentes tipos celulares. Fonte: Galache (2024)³⁷</i>	25
<i>Figura 4: Avaliação da profundidade da pigmentação com luz de Wood. Fonte: Handel (2014)⁷</i>	26
<i>Figura 5: Melanogênese e transferência de melanossomas aos queratinócitos. Fonte: Chemyunion.</i>	27
<i>Figura 6: Diferentes vias da indução do Melasma. Fonte: Galache (2023)⁵⁰</i>	28
<i>Figura 7: Comprimento de onda e penetração no tecido. Fonte: Sorbellini (2018)⁹⁶</i>	34
<i>Figura 8: Equipamento e-light (DMC) para aplicação de FBM. Fonte: Arquivo pessoal da autora</i>	41
<i>Figura 9: Período das avaliações realizadas no decorrer do estudo. Fonte: Arquivo pessoal da autora</i>	43
<i>Figura 10: Divisão das áreas anatômicas para determinação do índice MASI. Fonte: Pandya (2011)¹¹⁸</i>	45
<i>Figura 11: Medição do suporte do Dermascan, com utilização de paquímetro para calibração do programa Image J. Fonte: Arquivo pessoal da autora.</i>	47
<i>Figura 12: Exame com luz branca e luz de Wood. Fonte: Arquivo pessoal da autora</i>	48
<i>Figura 13: A: Marcação com lápis no local da coleta. B: Corneomelametria corada com Fontana Manson. Fonte: Arquivo pessoal da autora.</i>	49
<i>Figura 14: Medidas estéticas. Fonte: Arquivo pessoal da autora</i>	53

<i>Figura 15: Aplicação de FBM. (A) Equipamento E-light ABR, DMC (São Carlos, São Paulo, Brasil). (B) Aplicação na face do participante, com proteção nos olhos e fone de ouvido. (C) Sequência de FBM. Fonte: Galache (2023)⁸</i>	55
<i>Figura 16: Fluxograma Consort.¹³³</i>	58
<i>Figura 17: A: Imagens de participante do grupo FMB, utilizadas para o desfecho MASI, Baseline, 6° semana, 12° semana, 16° semana e 20° semana. B: Imagens com a lâmpada de wood, para o auxílio das análises.</i>	61
<i>Figura 18: A: Imagens de participante do grupo ATX, utilizadas para o desfecho MASI, Baseline, 6° semana, 12° semana, 16° semana e 20° semana. B: Imagens com a lâmpada de wood, para o auxílio das análises.</i>	62
<i>Figura 19: Valores MASI ao longo do estudo. Valores expressos como média ± erro padrão.</i>	63
<i>Figura 20: A: Imagem de participante de FBM, realizada no início do tratamento. B: Imagem no final do tratamento para avaliar o desfecho.</i>	64
<i>Figura 21: A: Imagem de participante de ATX, realizada no início do tratamento. B: Imagem no final do tratamento para avaliar o desfecho.</i>	64
<i>Figura 22: Final Global da Face.</i>	65
<i>Figura 23: Imagem de participante do grupo ATX em tonalidade cinza para evidenciação da intensidade das manchas e análise objetiva pelo Image J.</i>	66
<i>Figura 24: Imagem de participante do grupo FBM em tonalidade cinza para evidenciação da intensidade das manchas e análise objetiva pelo Image J.</i>	66
<i>Figura 25: Corneomelametria realizada de participante do grupo FBM na baseline, 6° semana e 12° semana.</i>	68
<i>Figura 26: Corneomelametria realizada de participante do grupo ATX na baseline, 6° semana e 12° semana.</i>	68
<i>Figura 27: Pontuação MELASQoL. Cinza: antes do tratamento, vermelho: semana 6, azul: semana 12 (final do tratamento). *p<0,05.</i>	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dosimetria do Estudo.....	54
Tabela 2: Características da amostra.....	59
Tabela 3: Pontuação MASI ao longo do estudo.....	63
Tabela 4: Frequências (absolutas e relativas) dos scores do Índice final global.....	65
Tabela 5: Intensidade de pigmentação mensurada nas fotografias (média ± erro padrão).....	67
Tabela 6: MELASQoL em 0, 6 e 12 semanas do tratamento (Mediana [25%-75%]).....	69
Tabela 7: Frequências (absolutas e relativas) de aparecimento dos efeitos colaterais	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- α-MSH – Hormônio estimulante de melanócito do tipo Alfa
- AMP-CÍCLICO – Monofosfato cíclico de adenosina
- ATP – Adenosina trifosfato
- ATX – Ácido Tranexâmico
- CNES – Cadastro nacional de estabelecimentos de saúde
- CSSS – *Cianoacrilato Strippings* (tira de cianoacrilato)
- DIU – Dispositivo intra uterino
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- DOPA – Dihidroxifenilalanina
- FBM – Fotobiomodulação
- FBS - Fibroblasto
- FGF – Fator de crescimento de fibroblasto
- FITZPATRICK – Escala de fototipos de Fitzpatrick
- HQ - Hidroquinona
- LED – Diodo Emissor de Luz
- LLLT – *Low Level Laser Therapy* (terapia laser de baixa intensidade)
- MASI – *Melasma Area and Severity Index* (Índice de Severidade do melasma)
- MELASQoL-PB – *Melasma Quality of Life Scale* (Escala de Qualidade de vida associada ao melasma) – versão traduzida para o português falado no Brasil
- MF – Melasma Facial
- MITF – Fator de transcrição associado à microftalmia
- mMASI – *Modified melasma Area and Severity Index* (Índice de Severidade do Melasma modificado)
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- RNA – Ácido Ribonucleico
- SHAM – Tratamento Simulado
- TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- TYRP 1 – Tirosinase relacionada a proteína 1
- TYRP 2 – Tirosinase relacionada a proteína 2 ou Dopacromotautomerase

UV – Radiação Ultravioleta

UVA – Radiação Ultravioleta A

UVB – Radiação Ultravioleta B

VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular

VEGFRs – Receptor do fator de crescimento vascular

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO.....	19
1.1 INTRODUÇÃO	20
1.2 Melasma	22
1.2.1 Estrutura da Pele	24
1.2.2 Melanogênese	26
1.2.3 Outros fatores relacionados ao melasma.....	29
1.3 Tratamento do melasma	30
1.3.1 Ácido Tranexâmico (ATX)	31
1.3.2 Fotobiomodulação.....	33
2. OBJETIVOS	37
2.1 Objetivo Geral.....	37
2.2 Objetivos Específicos	37
3. METODOLOGIA.....	38
3.1 Descrição da amostra	39
3.1.1 Critérios de inclusão	39
3.1.2 Critérios de exclusão	39
3.2 Cálculo amostral	40
3.3 Composição dos grupos	40
3.4 Randomização	41
3.5 Cegamento.....	42
3.6 Variáveis do estudo	42
3.6.1 Triagem inicial.....	43
3.6.2 Índice MASI	44
3.6.3 Registros fotográficos	46

3.6.4 Corneomelametria	48
3.6.5 Efeitos adversos	50
3.6.6 Questionário MELASQoL	51
3.6.7 Mudanças ao protocolo registrado	51
3.7 Intervenção	52
3.8 Análise Estatística.....	57
4. RESULTADOS	58
4.1 Descrição da Amostra	58
4.3 Final Global da Face	63
4.4 INTENSIDADE DO MELASMA.....	65
4.5 Corneomelametria.....	67
4.6 Qualidade de vida (MELASQoL).....	68
4.7 EFEITOS adversos	69
5. DISCUSSÃO	71
6. CONCLUSÃO.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78
10. APÊNDICES.....	88
11. ANEXOS.....	100

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A busca por tratamentos estéticos tem apresentado um aumento acentuado ano após ano, relacionado aos desejos de bem-estar e melhora da autoestima de cada indivíduo. Os procedimentos estéticos não invasivos faciais são cada vez mais procurados com aumento de 154% no mercado americano, o maior entre o setor estético.¹ Dentre eles, existem várias opções de tratamentos como peelings químicos, dermoabrasão, fototerapias, toxina botulínica, preenchimentos faciais, entre outros.

Soma-se a isso que durante a pandemia do coronavírus, houve uma mudança drástica nas formas de interação interpessoal, com um aumento da utilização de videoconferências e redes sociais, impostas pelo distanciamento social, seja para a comunicação no trabalho, quanto na vida pessoal. Com a constante visualização da própria imagem, houve a percepção negativa dos indivíduos, despertando insatisfação com a aparência, e por consequência, distúrbios de auto imagem e diminuição da qualidade de vida.^{2,3} Dados recentes apontam que aproximadamente 70% dos indivíduos pesquisados alegaram mudança na percepção da auto imagem sendo que 74% das mulheres alegaram a influência e a importância da pele, levando a uma insatisfação associada a aparência facial e dismorfia de imagem.² Foi apontada elevada prevalência de efeitos psicológicos, com transtornos dismórficos entre mulheres com queixas estéticas.³ Nos países desenvolvidos, um em quatro adultos sofre de ansiedade⁴, diante disso, cerca de 73% da população também relata que, a depressão e a saúde mental exercem um impacto moderado ou grave em suas vidas, portanto, a tendência de aumento para um tratamento do bem estar da mente e do corpo é uma realidade⁵, sendo assim, todos os cuidados estéticos também são considerados cuidados com a saúde, consistindo em um assunto relevante para a atualidade pós pandêmica onde se discute muito sobre saúde mental.

A estética facial é um campo vasto que tem sido área de atuação de profissionais de diferentes áreas de formação, mas ainda há muita deficiência em evidências científicas de qualidade. Quando se trata de compreender e tratar

condições específicas, como o MF, os artigos científicos desempenham um papel fundamental na evolução de seu entendimento e conhecimento de ativos e técnicas com eficácia e segurança.^{6,7,8}

Adicionalmente, observa-se hoje no mercado brasileiro a tendência no lançamento de produtos e equipamentos para tratamentos estéticos que, muitas vezes não tem o devido embasamento científico de eficácia, ou a aplicação se baseia em estudos in vitro ou em animais. Neste sentido, a realização de ensaios clínicos com adequado desenho metodológico para investigação de eficácia na área da estética se faz necessária diante do contexto econômico e de saúde que a área representa na sociedade.

1.1 INTRODUÇÃO

Considerado os vários distúrbios relacionados às manchas, os chamados distúrbios de pigmentação, o mais frequente é o MF.⁹ Dados recentes apontam que 16% de distúrbios de pele foram diagnosticados como Hipercromia/MF em uma instituição pública de São Paulo (Brasil), ficando atrás somente do fotoenvelhecimento com 26%.³

O MF é um distúrbio de hiperpigmentação bastante prevalente no Brasil, desta forma, novos ativos e equipamentos são lançados com a promessa de tratamento eficaz, porém muitas vezes, sem estudos robustos para comprovar os efeitos a médio e longo prazo.^{10,11,12,13}

O termo MF utilizado até hoje, foi descrito na literatura pela primeira vez em 1966 pelo Dr. Sorrel S. Resnik, derivado do grego “melas”, que significa “preto”. Este termo foi considerado o mais apropriado para essa afecção em relação aos termos anteriores, como melanoderma.¹⁴

Essa desordem de hiperpigmentação, consiste por manchas hipocrônicas amarronzadas, simétricas, adquiridas e presente principalmente na face, por ser áreas fotoexpostas e elas afetam principalmente mulheres na escala de fototipos Fitzpatrick III-VI.^{10,15} Regiões da face como a localização centro facial são consideradas as mais comuns com 90% dos casos relatados.

O MF afeta 90% das mulheres em idade fértil, com idade em torno de 27 a 57 anos. Estudos epidemiológicos estimam, que 9 a 50% da população de risco são acometidos por essa afecção, com prevalência nas pessoas com tipo de pele mais escuras que, além da propensão genética, são etnias que habitam regiões com maior exposição aos raios UVA/UVB.⁶ Desta forma, a maior prevalência do MF está entre as pessoas que vivem em áreas intertropicais onde há mais exposição aos raios ultravioleta, sendo comuns entre hispânicos-americano e brasileiros. Indivíduos do leste asiático, indianos, do oriente médio e africanos do mediterrâneo também são afetados.⁷

Os fatores de exacerbação do MF tem sido relacionado com causas diversas: 20% das pacientes associam à gravidez, 30% com o uso de anticoncepcional e 80% à exposição solar.^{16–18} Nos últimos anos, estudos demonstraram que, o calor e a luz visível também podem induzir o aumento da hiperpigmentação.¹⁹ A exposição solar, resposta inflamatória, fatores genéticos, uso de anticoncepcionais hormonais, gestação e distúrbios da tireoide, além de estresse, também são considerados.^{10,20–22}

Estudos apontam que a genética pode desempenhar um papel importante na fisiopatologia do MF. Até o momento já foram relatados ao menos 125 genes associados com a pigmentação e podem influenciar o tom da pele.²³ O gene MC1R, por exemplo, regula o bronzeamento, sensibilidade à exposição solar, controla a produção de melanina e está localizado no cromossomo 16, logo, rege a cor da pele e do cabelo, além de aumentar o risco de melanoma.²⁴

Além disso, dados demonstraram que o MF causa um impacto negativo na vida dos portadores, pois lhes acarreta um impacto psicológico na autoimagem, levando a piora na qualidade de vida.^{20,25} De acordo com a OMS (1946), “saúde é um estado de completo bem estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doenças ou enfermidades”.¹⁶ Desta forma, a percepção positiva da autoimagem, saúde mental e qualidade de vida são essenciais para saúde da população.

Estudos confirmam que, piora da qualidade de vida quanto ansiedade são prevalentes na população que possui MF, por se apresentar em áreas visíveis, ocasionando um forte impacto emocional.^{18,19,26} Dados relacionados à saúde mental

confirmam que, essa afecção tem efeitos psicossociais, havendo sofrimento emocional nos indivíduos acometidos por essa condição.²⁷ Por exemplo, dos pacientes da região mediterrânea portadores de MF 58% apresentam ansiedade significante comparada a pacientes que não possuem a afecção.²⁶

A influência da beleza facial impacta na percepção dos indivíduos, identificando uma pessoa bonita como mais inteligente e sociável.²⁸ A beleza facial tem sido associada às peles uniformes e sem manchas, tanto para homens quanto para mulheres. Neste sentido, a pele com manchas, por se apresentar também em áreas expostas, pode causar um impacto negativo na vida dos indivíduos a partir do grande impacto emocional.¹⁷ Como resultado observa-se privação de convívio social, tristeza com sua auto imagem e inclusive relatos de depressão.^{10,29,30}

Ainda não há uma terapia ou protocolo de tratamento descrito cuja eficácia possa ser considerada universal, principalmente devido à complexidade da fisiopatologia.

1.2 MELASMA

O MF é considerado uma disfunção crônica. Mesmo que a sua etiopatologia ainda seja considerada indefinida, o MF é considerado como adquirido. As características clínicas da pele com MF, além das manchas hiperpigmentadas acastanhadas distintas, incluem eritemas com telangiectasias significativo da vascularização da derme em comparação com pele sem manchas (Figura 1). Essas telangiectasias na face, são pequenos vasos dilatados e são visualizados na superfície da pele.^{20,31,32}



Figura 1:Características da pele com Melasma, com detecção de aumento vascular subsuperficial (seta). Fonte: Masub (2020)³³

O MF normalmente é avaliado clinicamente, mas a utilização de ferramentas tais como a luz de wood ou dermatoscopia auxiliam bastante. O dermatoscópio por sua vez, é uma ferramenta que ajuda a avaliar o MF pela sua profundidade, além de, avaliar a presença de telangiectasias no local (Figura 2). Com esse equipamento, o MF do tipo epidérmico, observa-se uma rede regular acastanhada e enquanto no tipo dérmico, observa-se características de pigmentação cinza a azulada com perda de regularidade na rede pigmentar.³⁴

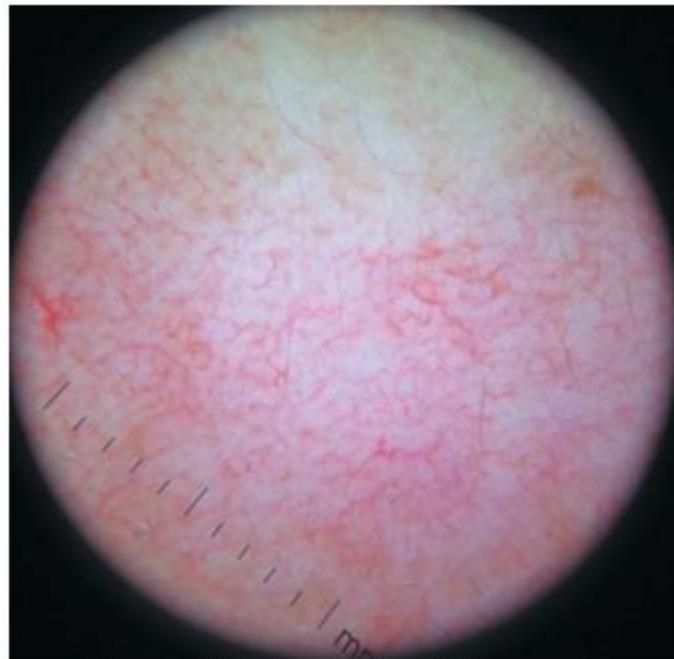


Figura 2: Região com Melasma e aumento vascular, observado pelo dermatoscópio.
Fonte: Hammerschmidt (2012)³⁴

Para entendimento dos fatores relacionados ao MF, é importante compreender a estrutura da pele e um conjunto de sinalizações.

1.2.1 Estrutura da Pele

A pele é composta de dois tipos de tecido, a epiderme e a derme. Na epiderme, de fora para dentro, encontramos as camadas córnea, lúcida, granulosa, espinhosa e basal (Figura 3). Na camada basal, encontram-se principalmente os queratinócitos, células de Merkel (células responsáveis pela transmissão da sensação nervosa) e melanócitos. Na camada espinhosa encontra-se células derivadas da medula óssea que fazem parte do sistema imunológico, chamadas de células de Langherans e são células que desempenham o papel em reações imunológicas, como dermatite de contato. Na camada córnea ou estrato córneo é constituído por queratinócitos mortos e também, encontram-se células chamadas corneócitos. Os corneócitos consistem de proteínas com funções como barreira de permeabilidade.^{35,36}

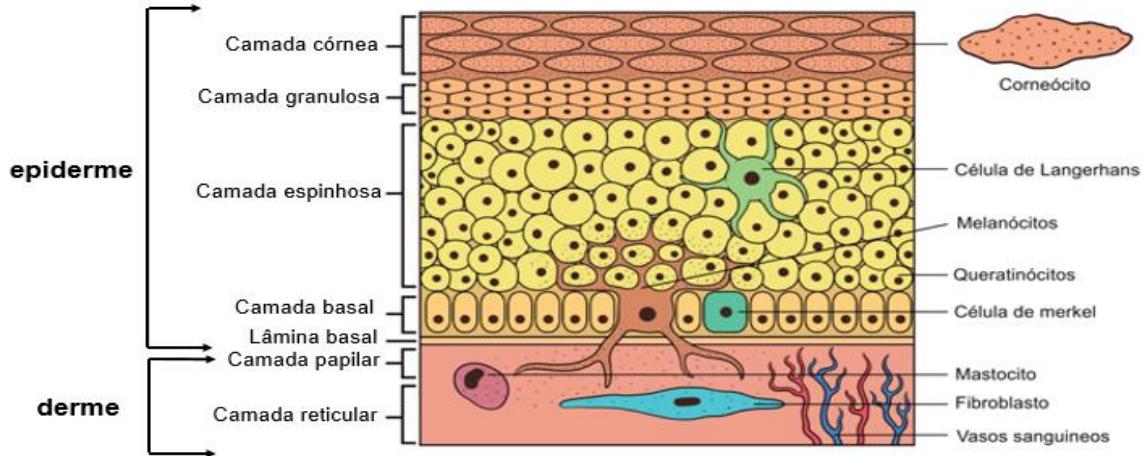


Figura 3: Camadas da epiderme e os diferentes tipos celulares. Fonte: Galache (2024)³⁷

A derme localiza-se abaixo da epiderme, considerada um tecido firme e elástico. Oferece nutrientes à epiderme e acomoda anexos cutâneos, vasos sanguíneos, vasos linfáticos, além de células de origem conjuntiva e sanguínea. O principal tipo de células nessa camada são os fibroblastos, além da elastina.^{35,36} Os dois tecidos são separados por uma fina membrana.

Os melanócitos são células de defesa, encontrados na camada basal da epiderme que possuem na sua principal função, proteger a pele contra efeitos indesejados da luz solar, agentes inflamatórios e drogas muitas vezes nocivas para a pele, por meio da produção de melanina.^{38–40} A melanina é um pigmento endógeno responsável pela absorção da radiação UV (UVA e UVB) que incide sobre a pele, além de capacidade antioxidante.⁴¹ A produção excessiva de melanina pode levar a hiperpigmentação da pele, ocorrendo as chamadas desordens de pigmentação.¹⁰

A capacidade dos indivíduos de produzir os diferentes tipos de melanina é determinada geneticamente. Em 1975, Fitzpatrick desenvolveu uma escala para avaliação dos diferentes tipos de pele baseada em sua resposta à exposição solar (Quadro 1). É uma das escalas mais utilizadas na área da saúde estética, sendo o método mais amplamente aceito de fototipos de pele.^{15,42,43}

Tipo de pele	Cor	Reação ao sol
Tipo I	Muito branca ou sardenta	Sempre se queima
Tipo II	Branca	Geralmente se queima
Tipo III	Branca a moreno claro	Algumas vezes se queima
Tipo IV	Morena	Raramente se queima
Tipo V	Moreno escura	Muito raramente se queima
Tipo VI	Negra	Nunca se queima

Quadro 1: Escala de fototipos de Fitzpatrick. Fonte: adaptada Gupta¹⁵

Pode-se classificar o MF em epidérmico, caracterizado por deposição do pigmento na epiderme e também em MF dérmico onde o depósito está na derme superficial e média.⁴⁴ Para determinar a profundidade da pigmentação cutânea, avalia-se o paciente com luz de Wood, um dispositivo que contém luz ultravioleta A.

Esta ferramenta é imprescindível para distinguir entre pigmentos depositados em camadas dérmicas (menor contraste), epidérmicas (aumento de contraste) ou mistas (áreas com aumento de contrastes e outras não) (Figura 4). O método, é considerado o mais empregado para detectar a hiperpigmentação e outras afecções da pele, mas não é útil para peles de fototipos altos, vide que o contraste entre a área pigmentada e não pigmentada é bastante sutil.⁴⁵



Figura 4: Avaliação da profundidade da pigmentação com luz de Wood. Fonte: Handel (2014)⁷

O processo de pigmentação da pele que ocorre nos melanócitos é conhecido por melanogênese.

1.2.2 Melanogênese

O processo bioquímico da formação de melanina é complexo, iniciado por meio da ação bioquímica da enzima tirosinase sobre o aminoácido tirosina. Na presença de oxigênio molecular, a tirosinase oxida a tirosina em DOPA (dioxifenilalanina) e esta, em dopaquinona (Figura 5).⁴⁶ Na presença de cisteína os processos bioquímicos subsequentes darão origem a feomelanina (amarela-vermelha), se não houver a presença de cisteína, a melanina produzida será a eumelanina (marrom-preta).^{10,11,12}

Dois outros membros da família tirosinase também estão envolvidos no processo de melanogênese: TYRP 1 (tirosinase relacionada a proteína 1) e TYRP 2 (Dct – dopacromotautomerase) especificamente na produção de eumelanina (marrom-preta). Para a formação de eumelanina, a TYRP1 e TYRP 2 atuam como catalisadores de reações enzimáticas e são ajudadores da tirosinase para síntese desse tipo de melanina (marrom – preta).⁴⁷

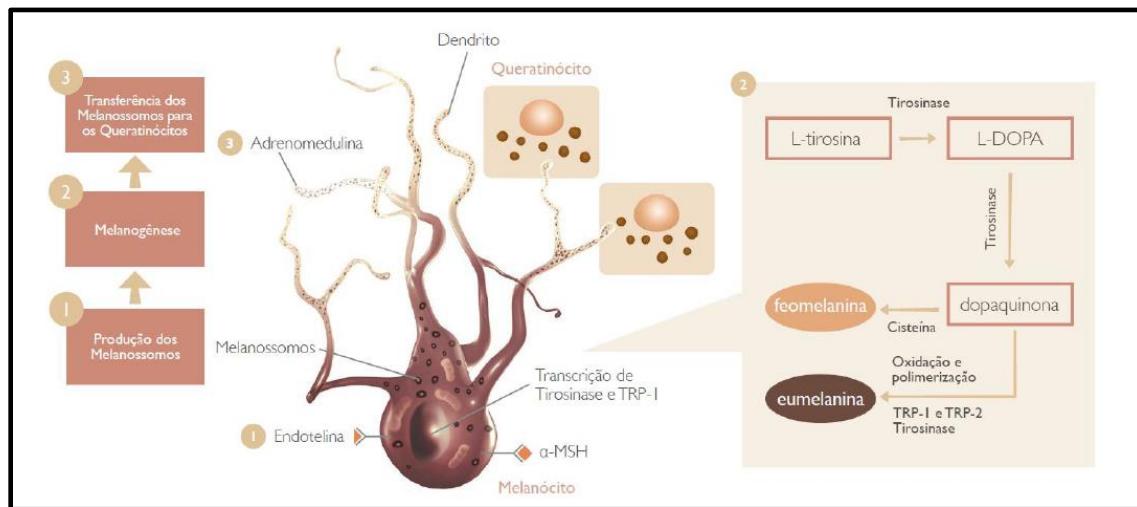


Figura 5: Melanogênese e transferência de melanossomos aos queratinócitos. Fonte: Chemyunion.

Vários fatores podem induzir a melanogênese, entre eles a ação dos raios ultravioleta que aumentam fatores que levam a produção de eumelanina. A exposição ultravioleta ocasiona a ativação do plasminogênio nos queratinócitos que resulta no aumento do hormônio que induz os melanócitos (α MSH). A plasmina é precursor na liberação de fator de crescimento de fibroblastos (FBS), que também é um fator de crescimento dos melanócitos, sendo assim, esses processos levam ao aumento da quantidade de melanina na pele.^{48,49}

Outras vias também são relatadas na literatura (Figura 6), dos quais, após uma exposição dos raios UV, há a produção de hormônio estimulador do α -MSH, produzido pelo queratinócito, ligando-se ao receptor de melanocortina-1 (MC1R) na parede dos melanócitos (Figura 6). Ademais, enzimas TYR, TRP-1 e TRP-2 são estimulados pelo fator de transcrição associado à microftalmia (MITF) e são transferidas para os melanossomos, no qual, ocorrem a produção de melanina.⁵⁰

A endotelina-1 (EDN-1), por sua vez, possui a produção aumentada devido a exposição de raios UV em decorrência do aumento de TYR e TRP-1. Além disso, o fator de células tronco (SCF), que é um ligante do receptor tirosina quinase c-kit, ativa também a melanogênese pela MITF, por consequência, é secretado pelos FBS e queratinócitos.⁵⁰

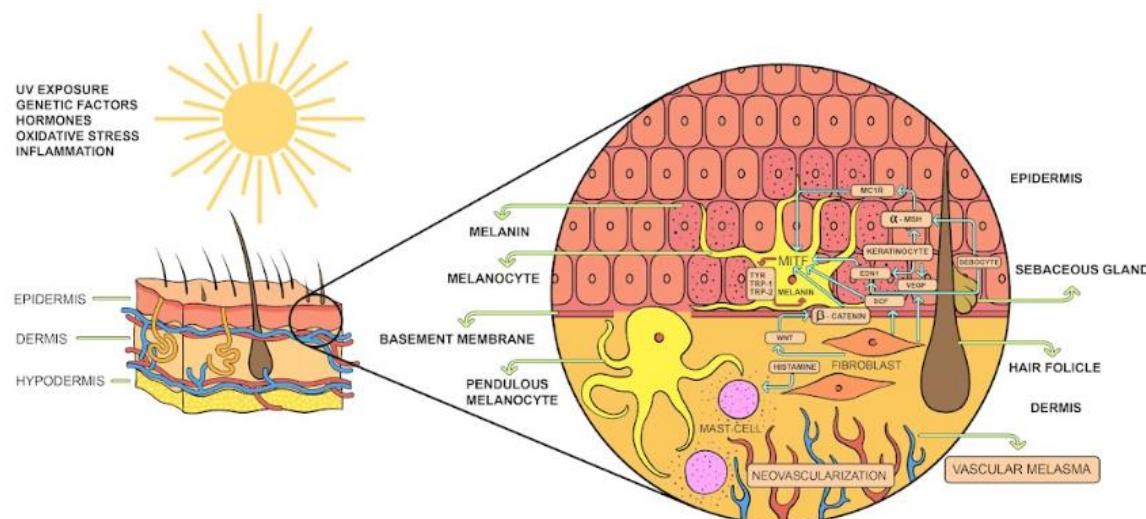


Figura 6: Diferentes vias da indução do Melasma. Fonte: Galache (2023)⁵⁰

Além disso, a luz ultravioleta também provoca aumento de radicais livres.¹⁰ Os radicais livres, promovem reações biológicas nocivas ao organismo, causando danos em moléculas, sendo os mais graves aqueles causados ao DNA e RNA (ácido ribonucleico). Esse estresse oxidativo causado pelos radicais livres, podem ser gerados não somente pelos raios ultravioleta, mas por outras causas relacionadas com meio ambiente ou do próprio organismo. Sabe-se que ação oxidante ao DNA é responsável por mutação levando à oncogênese.^{51,52}

Além disso, fatores inflamatórios são relacionados como indutores da melanogênese pelo aumento da histamina, no qual é liberado pelos mastócitos localizados na derme, mas ainda seu mecanismo é incerto, no entanto, indicam também a relação ao fotoenvelhecimento induzidos pelos raios UV. Estudo in vitro demonstrou que, com a inibição da histamina, houve a redução da melanogênese por um mecanismo fora da atividade da tirosinase que não foi reduzida em camundongos.⁵³⁻⁵⁵

Novos estudos apontam também, para ação nociva da luz azul visível de equipamentos eletrônicos com impacto na pele, como produção de radical livre e com alterações de pigmentação. A luz azul de alta intensidade pode penetrar mais profundamente que os raios UVA/UVB e como consequência danificar o DNA das células, ocasionando um envelhecimento prematuro.⁵⁶

1.2.3 Outros fatores relacionados ao melasma

Os VEGFRs (receptores de fator de crescimento endotelial vascular) nas células endoteliais e angiogênese, atuam como fatores essenciais nessa afecção.³² Achados histológicos, demonstraram aumento anormal do VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) e um aumento da vascularização no MF com uma interação significativa para o desenvolvimento e influência nos melanócitos.⁵⁷

O fotoenvelhecimento também é relacionado ao MF, enquanto que, achados histopatológicos indicaram aumento da vascularização e mastócitos no local da afecção, além de, rompimento da lâmina basal e elastose solar.¹⁴ Sendo assim, pesquisas mais recentes apontam que, não é somente o melanócito reativo o único responsável pelo MF, mas também, vascularização aumentada, mastócitos ativados e fibroblastos (FBS) senescentes.⁵⁸

Os FBS, devido à radiação ultra violeta, secretam citocina pro-inflamatória, fatores angiogênicos e fatores metaloproteinases de matriz (MMPs). Além disso, os FBS presentes no MF, apresentam uma taxa de crescimento menor em comparação aos locais onde não possuem a afecção. Sendo assim, o acúmulo de FBS induzidos pelos raios ultra violetas, possuem um papel importante na fisiopatologia do MF.^{58,59}

Os FBS são considerados uma das principais células da derme e desempenham o papel fundamental na produção das fibras colágenas, elastina e outras proteínas da matriz extracelular. O seu envelhecimento é influenciado por fatores como estresse oxidativo e raios ultravioletas, ocasionando também, um comprometimento em outras células.⁶⁰

1.3 TRATAMENTO DO MELASMA

O tratamento de desordens pigmentação pode ser desafiador, longo e muitas vezes não bem sucedidos.^{37,48,61} Atualmente, o uso de diferentes modalidades terapêuticas, como agentes de fotoproteção, clareadores de pele tópicos ou orais, peeling químico, técnicas como o microagulhamento e lasers, além de medicamentos como corticoides.⁶²⁻⁶⁷

O protetor solar diário é a base de todos os tratamentos para MF como medida preventiva, devido à exposição de raios UV causar estresse oxidativo, inflamação, além de ativar diversas sinalizações para hiperpigmentação como mencionado anteriormente. O uso de fotoprotetores de amplo espectro é fundamental, isto é, atuando tanto na proteção da radiação UVA quanto UVB, além de combinar com outras terapêuticas.^{68,69}

Os despigmentantes por sua vez, são utilizados com o objetivo de clarear a pigmentação da pele, agem inibindo a produção de melanina, por diferentes vias. Existem diferentes ativos disponíveis que podem ser aplicados de forma tópica, injetável e alguns também via oral. Estudos demonstram que o melasma epidérmico representa 70% dos casos encontrados e respondem bem aos tratamentos com despigmentadores.⁴⁵

Uma revisão sistemática e meta-análise de Chang (2023)⁷⁰, demonstrou que diferentes agentes tópicos despigmentantes reduzem a gravidade do MF em aproximadamente 1,5 pontos na escala MASI (índice de área e severidade do melasma) e identificou uma maior incidência de irritação na pele com a utilização de hidroquinona (HQ) e cisteamina.

A HQ é um dos ativos despigmentadores mais utilizados e estudados para o tratamento de MF. Apesar de ser considerado um padrão ouro para o tratamento de

MF, é tóxico para os melanócitos se usado em períodos maiores que 3 meses, podendo ocorrer despigmentação por “confete” e ocronose (hiperpigmentação azulada).^{71,72} Entretanto, a HQ não é aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), agência regulatória americana, para uso cosmético devido ao seu perfil de segurança desconhecido e é proibido na UE, Austrália e Japão.⁷²

Diante destas desvantagens da HQ, outros ativos também estão sendo muito estudados. Atefi e colaboradores⁴⁸ compararam o uso de HQ 2% ao ácido tranexâmico (ATX) tópico a 5%, em 60 mulheres durante 12 semanas. Os resultados mostraram que houve redução do MASI de 4,8 para 2,3, sem diferenças estatísticas entre os tratamentos. Desta forma, o uso tópico do ATX apresentou eficácia similar à HQ pela diminuição da quantidade de melanina sendo interessante por apresentar menos efeitos colaterais que a HQ.

1.3.1 Ácido Tranexâmico (ATX)

O ATX teve seu uso relatado pela primeira vez em 1979, quando foi usado para tratamento de paciente com urticária.⁷³ É um derivado sintético do aminoácido lisina e atua como inibidor da plasmina, sendo eficaz como tratamento de asma por essa atividade, além de ser considerado um medicamento hemostático.^{67,70,74}

O ATX inibe a conversão de plasminogênio em plasmina, que também é um fator de crescimento do fibroblasto, desse modo, possui um efeito clareador da pele pela prevenção da estimulação da melanogênese induzida pelos raios UV.^{70,74} A inibição da plasmina, resulta na diminuição de ácido araquidônico e prostaglandinas, que por sua vez, são mediadores inflamatórios e estimuladores de melanócito.⁷⁵ Em paralelo, o ATX reduz o fator de crescimento endotélio vascular (VEGF) e a angiogênese, sendo assim, atuando por esta via também no tratamento do MF.

O ATX, além de inibir a plasmina e suprimir a angiogênese por meio da inibição de VEGFR^{22,76} também reduz a neovascularização ocasionadas pelo fator de crescimento dos fibroblastos (FGF)⁴⁸, sendo assim, previne e diminui a capacidade da atividade dos melanócitos na melogênese. Também é utilizado como bloqueador da interação do melanócito com o queratinócito, com a ativação da

autofagia e a inibição da síntese de melanina.⁷⁷ Adicionalmente, achados histológicos, corroboraram que o ATX diminui o número de mastócitos na derme, diminuição da vascularização, além da diminuição da pigmentação epidérmica.⁷⁸ A administração do ATX pode ser por via oral, tópica, intravenosa e intradérmica, no entanto, todas as vias possuem suas próprias limitações.

A utilização via oral é debatida vide que existem dados que mostram melhora do MF em 50% dos pacientes que tomaram TXA versus apenas 5,9% no grupo placebo⁷⁹, porém devido ao seu efeito anti fibrinogênio está associado a riscos de acidente vascular cerebral.^{74,80} O ATX por ser um pró-coagulante, pode apresentar riscos de trombose venosas ou arteriais, no entanto, as doses para tratamento de hemorragias são superiores quando comparadas às utilizadas no tratamento de MF.⁷⁵

A via intradérmica envolve a aplicação injetável e por isso, possui menos adesão dos pacientes. Adiciona-se os efeitos adversos como hematomas e hipopigmentação, porém sugere-se que há boa ação local sem efeito sistêmico.⁸¹ Há relato de diminuição significativa do MF entre a 8º e 12º semana de tratamento quando investigado em estudo com 100 participantes.⁸²

A utilização tópica é mais segura, devido a ausência de absorção sistêmica e de efeitos colaterais, mas há alguma demora de resultados em especial devido à baixa permeabilidade relacionada à estrutura química molecular do ATX, além de um custo maior e menor efetividade em casos mais graves de MF.^{81,83} Diante disso, novas formulações de ATX estão sendo utilizadas, como por exemplo os lipossomas, para um aumento de penetração além do estrato córneo.^{70,74}

Os lipossomas são carregadores lipídico e aquoso, no qual, drogas podem ser transportadas.⁷⁴ A utilização do ATX em formulação lipossomal é uma excelente opção pois aumenta a penetração na pele com uma liberação lenta e com efeito hidratante, além de menor irritação cutânea.⁸⁴ O ATX 5% lipossomal (formulado pelo método de fusão) foi comparado à HQ 4% em um desenho de face dividida em 100 mulheres. Foi obtida a mesma ação clareadora da HQ, com menores efeitos colaterais.⁴⁹ Banihashemi e colaboradores⁸⁵, compararam o ATX lipossomal 5% tópico à HQ 4% em 30 mulheres em um desenho de face dividida. Como resultado

houve redução significante no escore MASI de 14,7 para 7, sendo que não houve diferença dos escores entre os dois despigmentantes, apesar da HQ apresentar reação alérgica em alguns participantes.

Terapias combinadas com uso de ATX foram promissoras para clareamento do MF a partir de 12 semanas, sendo não significante com 4 ou 8 semanas.^{86,87} Além disso, Yousefi e colaboradores⁸⁸ notaram que a partir de 3 meses com o mesmo tratamento para MF não há mudança nos escores, concluindo que pode ser necessário várias terapias alternadas, para um tempo mais prolongado de tratamento.

1.3.2 Fotobiomodulação

A primeira utilização da luz é relatada desde 1400 pelos hindus para tratamento de vitiligo com exposição ao sol. Desde então, há relatos na literatura sobre tratamentos e práticas com uso da luz para diversas patologias.⁸⁹ O médico húngaro Endre Mester, em 1967, notou uma aceleração inesperada do crescimento de pelos em estudo sobre câncer em ratos.⁹⁰

A fotobiomodulação (FBM), também conhecida por terapia com laser de baixa intensidade (do inglês *low level laser therapy*, LLLT) ou fototerapia, consiste em entregar radiação eletromagnética para camadas internas da pele. A FBM é aplicada com fontes de luz de baixa potência e comprimentos de onda entre 600 e 1000 nm no espectro visível e infravermelho. O mecanismo da FBM envolve a captação da energia luminosa as mitocôndrias levando à síntese de ATP (adenosina trifosfato).⁹¹⁻⁹³ A capacidade das mitocôndrias de utilizar a luz pela FBM é comparada ao transporte de prótons em plantas na fotossíntese.⁹⁴

Na FBM, o princípio será pelo comprimento de onda que agirá no tecido pelo transporte de energia, onde a absorção do cromóforo alvo, será determinado pelo comprimento ou sua profundidade.⁹⁵ Os comprimentos de onda são distintos dessas luzes, entre elas o azul (400-470 nm), luz amarela (540 – 590 nm), infravermelho (700-1200 nm).^{94,96,97}

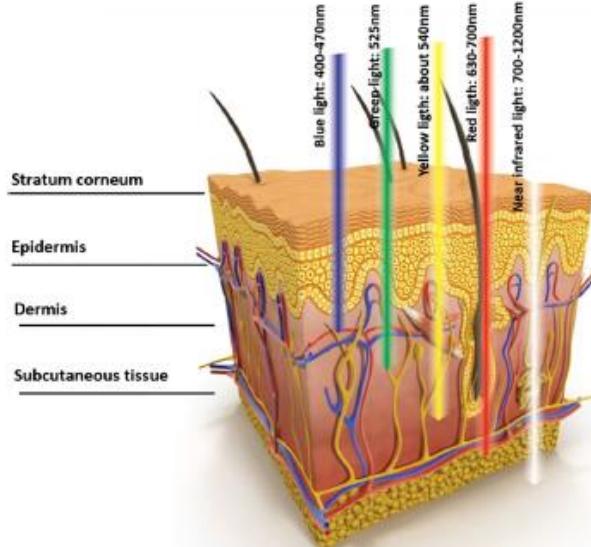


Figura 7: Comprimento de onda e penetração no tecido. Fonte: Sorbellini (2018)⁹⁶

Devido ao seu efeito no metabolismo celular, a FBM tem sido utilizada na prevenção do envelhecimento, na flacidez tissular, diminuição de edemas, na hiperpigmentação e tratamentos de acne.^{98,99} Dados revelaram uma eficácia da terapia em pele fotoenvelhecida, ocorrendo uma estimulação de linfócitos e queratinócitos e foi demonstrado um aumento de colágeno e estimulação dos FBS, através da função mitocondrial, aumento de fluxo sanguíneo e aumento de ATP.^{94,96,97}

A FBM com dispositivos com LED (Diodo Emissor de Luz), vem se tornando uma aliada no tratamento do MF. As principais vantagens incluem o baixo custo, com grande vantagem de não ser invasivo, ablativo e não causar danos teciduais, com poucas contra indicações, entre elas, portadores de glaucoma, cataratas ou câncer de pele.^{92,100,101}

Um estudo publicado em 2016 examinou se a FBM com LED de 660 nm afeta a melanogênese induzida por α -MSH em melanócitos murinos (B16F10). Neste mesmo estudo, também foi avaliado um modelo *in vivo* de hiperpigmentação induzida por UVB usando camundongos sem pelos. Os resultados mostraram que a FBM (660 nm, 7,8 mJ / cm²; 10 J/cm²) é capaz de inibir a atividade da tirosinase induzida por α -MSH em células B16F10 e diminuir a expressão de MITF e tirosinase no modelo *in vivo*, reduzindo a melanogênese e sugerindo que o FBM é uma estratégia potencial de despigmentação.¹⁰² Também existem relatos que a FBM nos comprimentos de onda de 830 nm (20J/cm²) e 850 nm (1 J/cm²) reduziram

significativamente a produção de melanina e expressão de tirosinase em cultura de melanócitos humanos normais ou estimulados por forskolin. O estudo em questão mostrou redução da melanina via redução do AMP-cíclico fosforilado (energia celular – melanócito). Além disso, a FBM nesses comprimentos de onda reduziu a melanogênese através da expressão diminuída de tirosinase, TRP-1 e TRP-2.¹⁰³

Trabalho de Mohamed¹⁰⁴, mostrou que o tratamento para o MF utilizando a luz âmbar, pode contribuir para a manutenção da melhora de um tratamento combinado com despigmentador, além de outro trabalho que indicou o uso da FBM para melhora do eritema pós procedimento ablativo com comprimento de onda de Led 590 nm.⁹⁷ Estudos realizados *in vitro* sugerem que FBM no comprimento de onda de 585 nm (5-20 J/cm²) inibe a melanogênese e promove a autofagia de melanócitos, por meio da diminuição da atividade da tirosinase e a redução de várias enzimas críticas durante a síntese de melanina, como TYR, TRP-1 e MITF, além de inibir a maturação dos melanossomas.^{64,105} A FBM com âmbar também atua no controle da vascularização dérmica alterada e pigmentação da melanina epidérmica, mas ainda não está bem claro se o efeito é direto dessa luz ou é um efeito indireto na VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular) epidérmico.¹⁰⁶ Entretanto, Turkemen³², diz em seu trabalho, que os comprimentos de onda amarelo (âmbar) são conhecidos por terem menor absorção de melanina e assim permitem o tratamento de fototipos mais altos, mas é efetivo nas telangiectasias e o seu cromóforo é a oxiemoglobina intravascular.

Em paralelo no trabalho de Cho⁷⁷ em cultura *in vitro*, o ATX inibe a melanogênese e induz a autofagia. Desta forma, apesar de sustentados somente em estudos *in vitro*, sugere-se que o ATX e a FBM com luz âmbar atuem no MF por vias similares. Paralelamente, em estudo piloto¹⁰⁷ a terapia com Led 590 nm para tratamento de eritema local e na pigmentação e obteve um resultado de 23,33% de melhora do eritema local e na pigmentação durante 12 semanas de intervenção e um acompanhamento favorável após de 8 semanas de terapia sem recidiva.

Os estudos clínicos que avaliam a FBM em MF apresentam em sua maioria alto risco de viés ou não apresentam delineamento adequado para mensurar os

benefícios e eficácia dos tratamentos realizados, com isso, faz- se necessário mais estudos científicos robustos e bem estruturados nesta área.⁹⁸

Desse modo, espera-se com esse trabalho, contribuir para um melhor conhecimento da eficácia do tratamento com FBM pela luz âmbar em MF com relação a tratamentos já utilizados e reconhecidos, desenvolvendo novo protocolo clínico de tratamento com menos efeitos colaterais, para um grupo maior de pessoas e com custo mais acessível.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da FBM com luz âmbar no tratamento de MF em comparação ao efeito do ATX tópico lipossomal a 5%.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Registrar os efeitos adversos relatados durante os tratamentos de FBM e ATX tópico
 - Avaliar a qualidade de vida utilizando o questionário de qualidade de vida relacionado ao MF – MELASQoL

3. METODOLOGIA

Este estudo controlado, randomizado, duplo-cego foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho (UNINOVE) sob o protocolo de número 5.332.384 em 5 de abril de 2022 (ANEXO I). O estudo foi registrado no Clinical Trials.gov (NCT05326997). O artigo de protocolo publicado, foi submetido em 10/03/23 e aceito 11/07/23 na revista BMJ Open⁸ (ANEXO G). Foi publicado também, um artigo de revisão e estado da arte, sobre a FBM e o MF, na revista Photodermatol, Photoimmunol, Photomed⁵⁰ (ANEXO H).

O protocolo de estudo foi escrito com base nas diretrizes SPIRIT (*Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials*), enquanto, os resultados do ensaio clínico foram descritos de acordo com diretrizes do CONSORT STATEMENT (ANEXO F). O estudo foi realizado em conformidade com a Declaração de Helsinki (revisada em Fortaleza, 2013).

A divulgação e inscrição para participar da pesquisa foi realizada por meios digitais, no site da Universidade Nove de Julho, e redes sociais como Instagram, Facebook e WhatsApp. O período do estudo, desde a divulgação da pesquisa, triagem dos pacientes, tratamento e coleta dos dados teve duração de 1 ano e 6 meses (18 meses), com início da divulgação em maio de 2022, com finalização de todos os atendimentos e follow-up em outubro/2023. Os tratamentos foram realizados em consultório particular, CNES 5194164, situado no endereço da Avenida Goiás, 1800 sala 113, na cidade de São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil e no Campus Vergueiro da Universidade Nove de Julho. Após explicação verbal e por escrito do estudo, os participantes que aceitaram participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO C). Além da opção em participar da pesquisa, o participante poderia escolher permitir o uso de sua imagem e neste caso, também assinou o Termo de Autorização de Imagem ou Som (ANEXO E). Caso contrário, as fotos, vídeos ou áudios não poderiam ser utilizadas(os) pelos pesquisadores.

3.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

3.1.1 Critérios de inclusão

Foram selecionados participantes do gênero feminino, com idades entre 35 a 50 anos, fototipos II a IV de acordo com a escala de Fitzpatrick, avaliados clinicamente e que apresentavam MF.

Foram incluídos participantes saudáveis, sem comorbidades clínicas na pele por auto relato e através da anamnese, como psoríase, vitiligo, rosácea e dermatoses.

3.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos após as respostas da triagem, participantes portadores de doenças preexistentes, entre elas doenças autoimunes como Esclerose Múltipla e Lúpus, doenças do sistema digestivo como doença de Crohn e a retocolite ulcerativa idiopática, pois poderiam ocorrer disfunções imunes intestinais, além de manifestações e inflamações cutâneas.^{108,109} Também foram excluídos participantes que apresentavam alterações que interferissem na melanogênese, como ovários policísticos, participantes que utilizaram o medicamento intra oral Isotretinoína^{110,111} há menos de 6 meses, participantes que já tiveram sequelas de acidentes que interferisse no tratamento facial, participantes que estivessem em tratamento (tópico ou oral) para o MF ou qualquer outro tratamento estético na face durante 3 meses anteriores, que estivessem utilizando ácido retinóico ou outro derivado da vitamina A na face, que estivessem em tratamento tópico ou oral com fármacos fotossensibilizantes (resposta anormal do indivíduo expostos a um determinado fármaco)¹¹², que apresentavam patologias cutâneas na face ou glaucoma, pacientes oncológicos, gestantes, lactantes, participantes que responderam que faziam uso de contraceptivos orais ou dispositivos intrauterinos (DIU), com distúrbios na tireoide ou mulheres que estivessem realizando reposição hormonal. Participantes com infecções bacterianas, virais ou fúngicas, ou que tinham tendência a formação de queloides.¹¹³

3.2 CÁLCULO AMOSTRAL

Considerando que existem evidências que o ATX tópico é eficaz no tratamento de MF reduzindo 1,85 pontos na escala MASL (IC95% -2.56, -1.14)⁷³, o cálculo amostral para este estudo tem como base que a FBM não seria inferior ao efeito obtido por meio do grupo controle ativo (tratamento com ATX tópico).

Desta forma, uma vez que a variável primária do estudo é o índice MASL, o limite de não inferioridade foi estabelecido como 0,3 pontos na escala MASL. Considerou-se poder estatístico de 80% ($1-\beta$), o erro do tipo I unilateral¹¹⁴ de 0,025 (α) e o desvio padrão de 0,36, que foi calculado com base no intervalo de confiança 95% dado na revisão sistemática de Zhang e colaboradores.⁷³

Utilizando a equação abaixo¹¹⁴

$$n = \frac{(r + 1)(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha})^2 \sigma^2}{r(d_{NI})^2}$$

Onde r é a taxa de alocação (=1); α é o erro tipo I, β é o erro tipo II, e os valores de Z são tabelados, σ é o desvio padrão e d_{NI} é o limite de não inferioridade. Substituindo os valores na fórmula, foi determinado um tamanho amostral por grupo de 23 participantes por grupo.

$$n = \frac{(1+1)(0,842 + 1,960)^2 0,36^2}{1(0,3)^2} = 23$$

Considerando a possibilidade de até 15% dos participantes abandonarem o estudo, serão necessários 27 participantes por grupo, um total de 54 indivíduos.

3.3 COMPOSIÇÃO DOS GRUPOS

Os participantes foram divididos em dois grupos, que receberam tratamento durante 12 semanas:

- Grupo FBM: Os participantes receberam a intervenção com FBM, utilizando equipamento (DMC E-Light ABR) portátil, contendo um cluster com 4 emissores de LED âmbar (Figura 8). Foi utilizado a luz âmbar com 20 J/cm² e também receberam

um produto para uso tópico domiciliar diário contendo somente a base cosmética sem ativo.

- Grupo Controle: Os participantes receberam a intervenção simulada com FBM, utilizando o mesmo equipamento (DMC E-Light ABR) e também receberam um produto para uso tópico domiciliar contendo 5% de ATX.

Detalhes das intervenções serão descritos posteriormente neste documento.



Figura 8: Equipamento e-light (DMC) para aplicação de FBM. Fonte: Arquivo pessoal da autora

3.4 RANDOMIZAÇÃO

Para distribuir aleatoriamente os sujeitos nos dois grupos experimentais, foi usado um programa gerador de sequência aleatória (<https://www.randomizer.org>) e selecionada a opção de randomização por 9 blocos de 6 participantes. Envelopes opacos foram identificados com números sequenciais e no seu interior foi inserida uma folha contendo a informação do grupo experimental correspondente conforme a ordem gerada. Os envelopes foram selados e permaneceram lacrados em ordem numérica em um lugar seguro até o momento do início da pesquisa. A geração da sequência e a preparação dos envelopes foram realizados por uma pessoa não envolvida no tratamento ou avaliação dos participantes. Estes envelopes foram selados, guardados em segurança com confidencialidade pelo mesmo pesquisador

que gerou a randomização. O pesquisador responsável pela aplicação da FBM retirou e abriu um envelope (sem alterar a sequência numérica dos demais envelopes) e realizou o procedimento indicado para cada participante.

3.5 CEGAMENTO

O pesquisador responsável pela aplicação do tratamento e distribuição dos cosméticos retirou e abriu o envelope que continha a informação do grupo experimental no qual o participante foi inserido. Este único pesquisador executou a aplicação da FBM e distribuiu o produto cosmético, mas não realizou nenhum tipo de avaliação dos participantes.

A coleta das medidas foi realizada por um outro membro da equipe. As avaliações das fotos coletadas foram realizadas por dois examinadores independentes, que não tinham conhecimento do grupo no qual cada participante estaria alocado. O pesquisador, que fez as avaliações, instruiu os participantes de uso dos cosméticos e protetores solares.

Os participantes não tiveram conhecimento se receberam ou não a FBM, pois o responsável pela aplicação posicionou o equipamento nos locais de irradiação em todos os participantes e só acionou a luz quando previsto no grupo experimental específico. No grupo controle o som característico do aparelho foi acionado por meio de gravação. Além disso, foi colocado uma faixa preta, como já mencionado anteriormente, acima dos óculos de proteção de todos os participantes a fim de não visualizarem a luz irradiada na hora da aplicação de FBM.

A fim de obter a certeza do cegamento no final de todo o trabalho, foi feito uma pergunta aos participantes, sobre qual dos grupos de tratamento eles foram alocados, dessa forma, se houvesse menos de 50% de acerto, o cegamento foi realizado com sucesso.

3.6 VARIÁVEIS DO ESTUDO

As variáveis clínicas da pesquisa foram coletadas antes do início do tratamento, na metade do tratamento (6 semanas), no final das sessões (12 semanas), depois de 4 e 8 semanas após o término das aplicações, para avaliar a

remissão/recorrência e estabilidade. Os questionários foram preenchidos antes do tratamento, na metade do tratamento e também ao final das sessões.

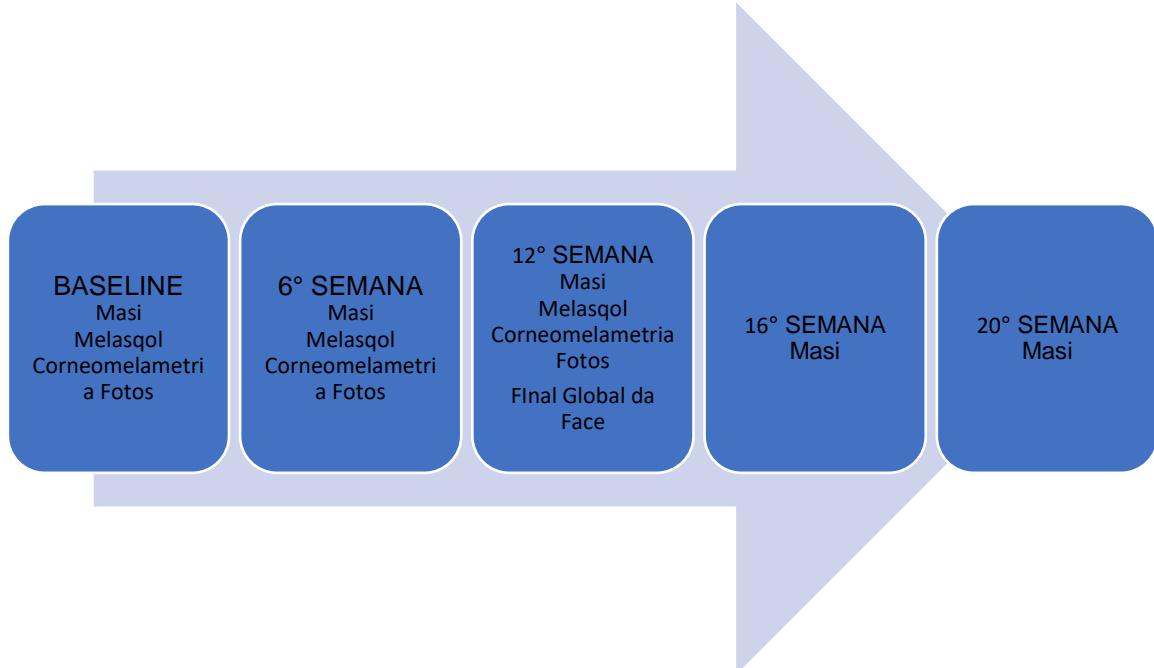


Figura 9: Período das avaliações realizadas no decorrer do estudo. Fonte: Arquivo pessoal da autora.

3.6.1 Triagem inicial

Foi realizado, a todos os participantes, uma triagem inicial, colhendo informações pertinentes à pesquisa sobre a escala Fitzpatrick, idade (em anos), uso de contraceptivo, exposição ao sol, trabalho, sexo, filhos e doenças relacionadas. Foram detalhadas informações sobre a rotina e hábitos do participante. Também foram realizadas perguntas na Anamnese sobre o histórico, saúde geral dos participantes, por serem atendidos em clínica particular e ser uma rotina dentro dos atendimentos presenciais, além de, ser anexado ao prontuário dos participantes (Apêndice 1).

Também foi fornecido aos participantes, toda semana, um formulário a ser preenchido com as atividades da mesma semana, com descrição sobre os hábitos diários durante o estudo (Apêndice 3).

Foi realizado pelo mesmo pesquisador da triagem, um formulário a ser preenchido, de forma subjetiva, sobre diagnóstico complementar, com a intenção

de auxiliar na coleta da corneomelametria e dos outros índices como MASI (Apêndice 2). Foi realizado também, um *checklist* dos registros fotográficos, preenchido pelo pesquisador responsável pelos formulários e registros das fotos (Apêndice 4). Após a finalização dos tratamentos, de forma subjetiva, foi realizado por pesquisador independente, um diagnóstico final global da face, através de registros de fotos realizados após o tratamento, sem saber em qual grupo os participantes foram alocados, para obter o cegamento da análise. (ANEXO D)

Esse pesquisador que fez a triagem, não fez a aplicação do tratamento de FBM nos participantes do estudo.

3.6.2 Índice MASI

A variável primária do estudo foi o índice de severidade do melasma, MASI (*Melasma Area and Severity Index*), criado em 2011. Por meio deste índice é possível determinar a área acometida e a gravidade do MF, através de análise visual do local acometido e atribuição de escores.¹¹⁵⁻¹¹⁷

Para isso, foi necessário dividir a face em quadrantes: Frontal (F), malar direito (MR), malar esquerdo (ML), e mento (C) – Figura 4. Em cada uma destas áreas foram avaliados a área acometida (A), atribuindo escores de 0 a 6, sendo 0 para ausência de acometimento, 1 até 10%; 2 entre 10 e 29%, 3 entre 30 e 49%, 4 entre 50 e 69%, 5 entre 70 e 89% e 6 entre 90 e 100% de acometimento; a Homogeneidade da pigmentação (H), e a intensidade da pigmentação (D), ambos atribuindo escores de 0 a 4, sendo 0 para ausente, 1 para leve, 2 para moderado, 3 para intenso e 4 para máximo (ANEXO B).¹¹⁸

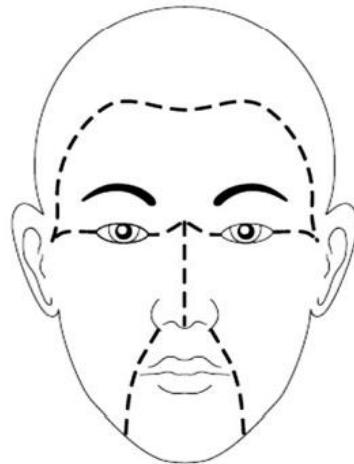


Figura 10: Divisão das áreas anatômicas para determinação do índice MASI. Fonte: Pandya (2011)¹¹⁸

As análises do índice MASI foram realizadas no início do estudo, na 6° semana, na 12° semana, na 16° semana e 20° semana. Para o cegamento da pesquisa 2 avaliadores independentes avaliaram os registros fotográficos e realizar a pontuação do índice MASI iniciais e finais, sem saber qual grupo foram tratados os participantes, conforme já realizado anteriormente em outros estudos duplo-cego, utilizando o mesmo índice.¹¹⁹

Diante dos escores atribuídos, determina-se o índice MASI a partir da equação:

$$\text{MASI} = 0,3(\text{DF} + \text{HF}) * \text{F} + 0,3(\text{DMR} + \text{HMR}) * \text{MR} + 0,3(\text{DML} + \text{HML}) * \text{ML} + 0,1(\text{DC} + \text{HC}) * \text{C}$$

O valor máximo do MASI é 48, e quanto maior o índice obtido maior a gravidade do MF.

Calibração dos examinadores

A calibração dos examinadores independentes, foi realizada, com o auxílio de um especialista na área, para análise de forma subjetiva do MF. Foi detalhado o índice MASI, sua correta divisão dos quadrantes na face, a área acometida, o grau de severidade e a homogeneidade das manchas, com o uso de imagens de artigos com tipos de MF. Foi utilizado imagens com a luz branca para as análises e as

imagens com luz de Wood (azul) para detalhes e dúvidas do acometimento no local da afecção.

O treinamento constou de exercícios conjuntos entre os examinadores independentes, realizados com auxílio de imagens de artigos publicados de participantes com MF. Os dados foram discutidos entre estes pesquisadores com o propósito de alcançar-se um nível excelente de concordância. Foram determinados os mesmos parâmetros para a análise, padronizado e pré delimitando os locais das lesões, antes das análises do índice MASI.

Por fim, os dados dos avaliadores independentes, passaram por análise estatística para verificar o grau de concordância. Caso não houvesse a concordância entre os examinadores, havia a discussão para entrar em consenso. Foi determinado que a mancha mais grave era a considerada para as análises, além de ser utilizado a medida do consenso de 2 avaliadores, caso não houvesse concordância, o terceiro avaliador faria o desempate.

3.6.3 Registros fotográficos

Para o registro fotográfico, também foi registrado no estudo de protocolo, a utilização da câmera digital IPHONE 13 PROMAX, (APPLE, Califórnia-EUA), acoplada ao equipamento Dermascan (Estek, São Paulo) no qual, possui iluminação com luz branca e ultravioleta, além de haver padronização do posicionamento do participante e foi realizado pelo mesmo pesquisador inicial da triagem. Foram determinados os registros, nas posições frontal, de perfil direito e esquerdo, além de posição com a cabeça levemente deslocada para trás, para registro do mento. Posteriormente as imagens adquiridas foram analisadas utilizando o software Image J (NIH, EUA), com a intenção de serem quantificadas a área e a intensidade da mancha como variáveis secundárias do estudo. O Image J é um software para análise de imagens e é utilizado para medir diferentes tipos de imagens, desde estudos *in vitro* até clínicos.¹²⁰

Foi realizado registros fotográficos com a luz de Wood, no início, na 6° semana e na 12° semana, para diagnosticar a profundidade das manchas. O exame com luz de Wood consiste em diagnosticar a profundidade da pigmentação cutânea

e é imprescindível para distinguir entre pigmentos em camadas dérmicas (menor contraste), epidérmicas (aumento de contraste) ou mistas (áreas com aumento de contrastes e outras não), sendo o método mais empregado para detectar a hiperpigmentação e outras afecções da pele, mas não é útil para peles de fototipos altos (IV e V) (Figura 8).⁴⁵

Para obtenção das análises objetivas no programa Image J as imagens frontais com luz de wood foram utilizadas. Para a realização da análise da intensidade das manchas, foi necessário transformar as fotos em preto e branco (“8-bit”). Foi feita a calibração de escala, utilizando o suporte do dermascan da região de frente, cuja largura foi medida com o auxílio de um paquímetro. (Figura 11)

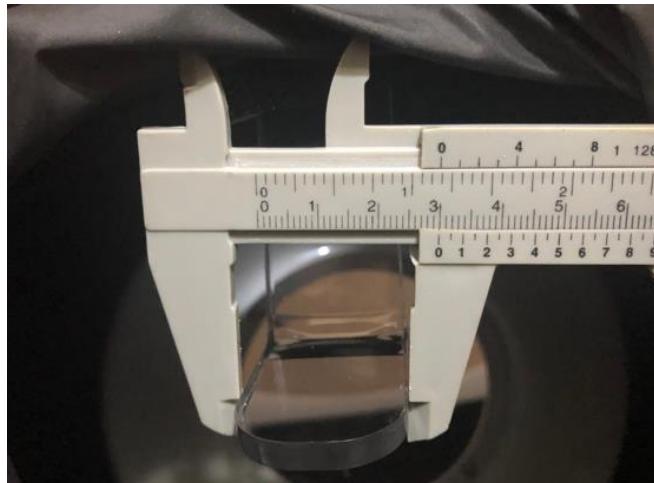


Figura 11: Medição do suporte do Dermascán, com utilização de paquímetro para calibração do programa Image J. Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Em seguida foi determinada a área facial, dividindo em região frontal, malar direito e esquerdo, região supra labial e mento. Utilizamos a padronização do MASI para as fotos, dividindo a região do mento em dois, devido a exclusão dos lábios para essa análise. Logo que a marcação da região com o cursor era feita e solicitada a mensuração, abria uma tela de resultados, sendo utilizado o valor médio (“Mean”), que é a intensidade da mancha na região que foi demarcada. Em todas as fotos foram realizadas 3 análises e calculado o valor médio das 3 mensurações.

Os registros fotográficos para essa análise foram efetuados, no início do estudo, na 6° semana e na 12° semana. Foram realizados registros fotográficos

para utilização do MASI, para o follow up, 30 dias e 60 dias após a finalização dos tratamentos para avaliação de estabilidade.

No final do estudo foi realizado o desfecho, final global da face, uma medida subjetiva clínica com auxílio dos registros fotográficos, em relação da mudança pela gravidade do MF da pigmentação após o tratamento (ANEXO D), sendo considerada uma ferramenta importante da avaliação da eficácia terapêutica, realizado por pesquisador independente, sem saber qual dos grupos o participante estava alocado.^{21,121} Esse registro foi realizado no final do tratamento e coletado utilizando fotos do início do tratamento e da 12^ª semana. Esse desfecho relevante para um estudo sem a utilização de equipamentos com softwares digitais, com uma avaliação clínica real de melhora ou não no final do tratamento e considerado o principal “endpoint” de eficácia para ensaios clínicos do MF.¹²²

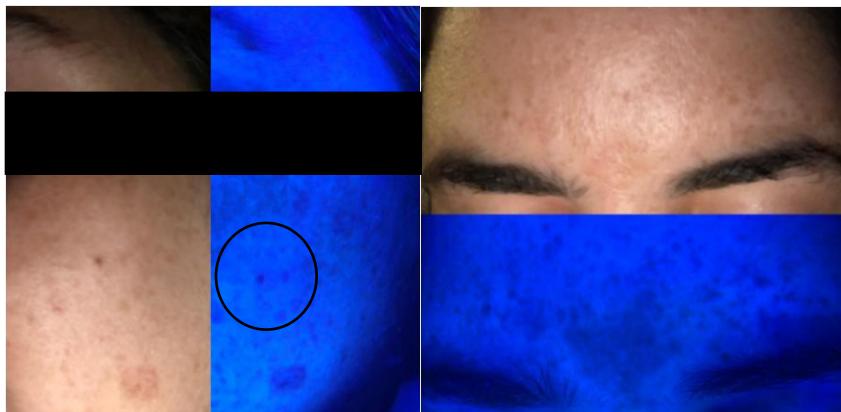


Figura 12: Exame com luz branca e luz de Wood. Fonte: Arquivo pessoal da autora

3.6.4 Corneomelametria

O objetivo da análise do método por corneomelametria, seria sua utilização para quantificar a melanina presente na epiderme, especificamente no extrato cárneo. Sendo assim, foi coletada uma amostra direto da pele do participante com o *cianoacrilato stripings* (CSSS). Para fins de comparação foi escolhido, um local pré estabelecido na região centro malar, devido ao maior aparecimento da afecção.³⁴ Houve preferência pelo lado direito, mas caso não houvesse a afecção aparente, era quantificado o lado esquerdo em seguida a região frontal (testa) e por fim, a região do mento, sendo assim, escolhido a maior mancha de

hiperpigmentação do local e utilizado para tal. A região e a coleta, foram determinadas pelo pesquisador e avaliador inicial e foi descrita no Apêndice 02.

No momento da coleta, foi realizada com o auxílio de lápis branco, uma marcação em formato elíptico na face do participante e feito um registro fotográfico do local determinado para coleta da corneomelametria. Em seguida, uma gota da cola líquida de cianoacrilato¹²³ foi depositada em uma folha transparente de polietileno-tereftalato (PET) na espessura de 175 µm e cortada em pedaços do tamanho lâminas de microscopia (1,5 X 6 cm). Este material foi pressionado firmemente na área a ser analisada por 15 a 30s, adaptando-se às curvas da face. Em seguida, esta folha foi removida devagar, gentilmente. Por fim, as amostras foram coradas com Masson's método argentaffin^{66,124,125} e submetida a análise sob o microscópio. (Figura 13)

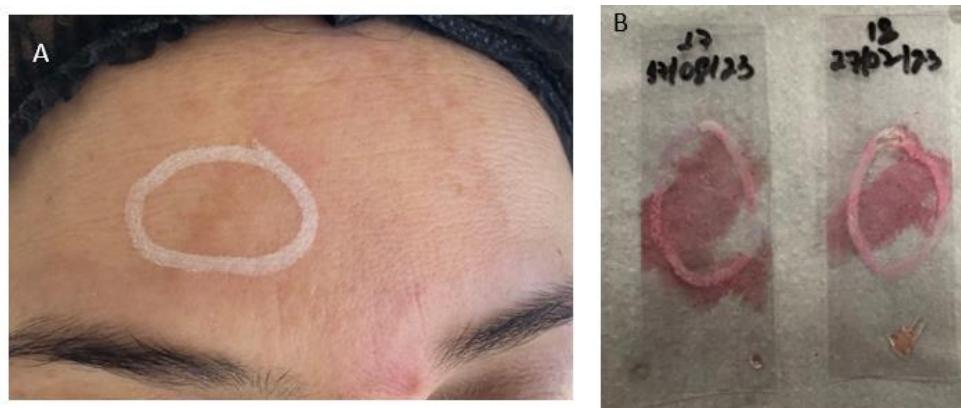


Figura 13: A: Marcação com lápis no local da coleta. B: Corneomelametria corada com Fontana Manson. Fonte: Arquivo pessoal da autora.

Para a coloração das lâminas foi utilizado o Histokit de corante Fontana Manson, coloração especial EasyPath Diagnósticos, com um protocolo da própria empresa. Para isso, com uma cuba de coloração para 30 lâminas foi utilizada e 360 ml de água destilada foi adicionado com 360 gotas do reagente A (prata), em seguida as lâminas foram colocadas em um berço para cuba de coloração, acomodada dentro da cuba com o líquido e levada à estufa por 35' em 62°.

Terminado o tempo, foi retirada a cuba e removida todas as lâminas e lavadas com água destilada por aproximadamente 3 minutos. Em seguida, todas as lâminas foram colocadas sobre a bancada com uma proteção de papel e utilizada 10 gotas em cada lâmina pelo reagente B (Cloreto de ouro) e deixado por 15

segundos e lavada logo em seguida com água destilada. Logo após, foi utilizado o reagente C (Tiosulfato) 10 gotas da solução em cima do local determinado da lâmina e deixado agir por 3 minutos e lavado após esse período com água destilada. Para finalizar, com as lâminas também em cima da bancada, foi utilizado o reagente D (Eosina) 10 gotas e deixado agir por 10 segundos e lavado com água destilada. Com a coloração realizada, foi utilizado o microscópio Nikon eclipse E200 e fotografado as lâminas na objetiva de 10X.

A quantidade da melanina, foi registrada pela intensidade da coloração da carga de melanina dentro dos corneócitos, que são encontrados na camada superficial da epiderme, portanto, não foi possível observar os melanócitos em todas as camadas da epiderme e ou da derme.⁶⁵

As coletas da corneomelametria foram realizadas, no início do estudo, na 6º semana e na 12º semana.

3.6.5 Efeitos adversos

A classificação dos efeitos adversos, foi realizada através do manual de efeitos adversos em ensaios clínicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)^{126,127}, seguindo as recomendações de “*The WHO Adverse Reactions Terminology*” (WHOART) e utilizado pela OMS (Organização Mundial da Saúde)¹²⁸.

Os efeitos adversos foram portanto, classificados em leve, quando os participantes poderiam tolerar, sem interferências no seu dia a dia; moderado, quando interferia no dia a dia dos participantes e grave (EAG), quando o efeito adverso é clinicamente significante, incapacitante, gerasse invalidez, exigisse internação hospitalar, com efeito potencialmente fatal ou mesmo, que levasse a óbito; efeito adverso grave do dispositivo (EAGD), quando o efeito adverso grave foi ocasionada pelo dispositivo; efeito adverso inesperado grave do dispositivo (EAIGD), quando o efeito grave do dispositivo não foi identificado na versão atual do relatório da análise de risco.¹²⁶

Foram coletadas no decorrer da pesquisa, a cada visita do participante clinicamente e pelas informações fornecidas pelos próprios participantes. Foram relacionadas à possíveis efeitos adversos dos tratamentos tais como dor, sensação

de queimadura ou calor excessivo, alergia, coceira, desconforto, vermelhidão, entre outros.

3.6.6 Questionário MELASQoL

As medidas de tratamento do MF não devem visar apenas provar pontuações e índices, mas também melhorar a sensação de bem estar do paciente e sua qualidade de vida.²⁷ Portanto, um questionário sobre o impacto psicossocial que o MF acarreta, é realizado em ensaios clínicos como forma de padronizar a eficácia terapêutica de vários tratamentos de MF.⁶

O questionário MELASQoL, (*melasma Quality of Life Scale*), validado por Balkrishnan e colaboradores¹²⁹ avalia o impacto do MF na qualidade de vida dos acometidos pela afecção e foi aplicado com o intuito da avaliação sobre auto imagem facial e seu grau de satisfação. Cestari e colaboradores¹³⁰ validaram a versão traduzida para o português falado no Brasil, seguindo as recomendações da OMS, com dois tradutores independentes.¹³⁰ MELASQoL tem pontuação total que varia de 10 a 70, com a pontuação final pelas 10 respostas do questionário, sendo 1 (nem um pouco incomodado) a 7 (Incomodado todo o tempo), sendo que quanto maior o escore, pior a qualidade de vida¹³¹ (ANEXO A).

O questionário MELASQoL, foi respondido no início do estudo, na 6º semana e na 12º semana.

3.6.7 Mudanças ao protocolo registrado

No decorrer da pesquisa notamos algumas dificuldades de execução que nos levaram a considerar o estudo como um piloto que será posteriormente adaptado para o projeto de doutorado da candidata. Foi registrada uma amostra 54 participantes, no entanto, finalizamos o estudo com 21 participantes.

Para a análise do índice MASI mudamos a quantidade de avaliadores de 2 para 3, visto que, se 02 avaliadores concordassem no valor do índice o mesmo seria utilizado, caso houvesse discordância, haveria um terceiro avaliador para avaliar o item de discordância.

A câmera utilizada para captação de fotos, também foi alterada para a acoplada a um IPHONE 8 PLUS (APPLE, Califórnia-EUA). Durante a avaliação inicial com o equipamento IPHONE 13 PROMAX , notou-se que o mesmo tinha um mecanismo automático de melhora da imagem que resultava na manipulação das fotos do estudo, ocultando as manchas de MF.

Foram determinados para os registros fotográficos, as posições frontal, de perfil direito e esquerdo, além de posição com a cabeça levemente deslocada para trás, para registro do mento, no entanto, não houve a necessidade dessa última posição, pois, na foto frontal, o mento já é registrado, sendo assim, foram realizadas as posições frontal, perfil direito e esquerdo.

A utilização do software Image J (NIH, EUA), não permitiu a quantificação da área das manchas, pois, o programa não reconhece as áreas específicas do MF, confundindo áreas pigmentadas com sobrancelhas, lábios, sendo assim, foi determinado para análise somente a intensidade da mancha de toda a face, pela análise da foto frontal dividida em áreas menores.

O desfecho de corneomelametria, foi adaptado para demonstração das lâminas coletadas com os pigmentos de melanina no extrato córneo, já que, artigos publicados com a técnica, não permitem sua reprodução para as análises pela falta de dados. Outros artigos com o uso da corneomelametria e que descreviam a técnica de análise, foram realizados através de biópsias.

Acrescentamos no estudo a solicitação de devolução dos frascos dos cosméticos entregues pelos participantes de forma a acompanhar o uso adequado (em termos de quantidade) além de estabelecer uma maior adesão no decorrer da pesquisa.

3.7 INTERVENÇÃO

Todos os participantes que se enquadram nos critérios de elegibilidade, receberam um preparo de pele com peeling enzimático do laboratório Vivence, com a justificativa de homogeneidade na espessura da camada córnea entre os participantes¹³² e redução da reflexão/espalhamento indesejado de fôtons.⁵⁷

Para isso, os participantes foram posicionados na cadeira odontológica em posição de 45°. A região a ser tratada foi higienizada com Água Micelar Rennova® Beauté para remoção de maquiagem/ protetor solar. Em seguida, foi utilizada uma espuma de Limpeza Facial Rennova® Beauté e também removido com gaze e algodão. Foram utilizadas as medidas estéticas para a sequência de aplicação do peeling enzimático, seguindo por ordem as regiões 01 a 06 (Figura 4). O peeling enzimático ficou agindo por no máximo de 10 a 15 minutos. Foi avaliado a presença de eritema e removido logo em seguida com soro fisiológico, caso houvesse. Caso não ocorresse durante esse período, o peeling era removido com 10 a 15 minutos, com soro fisiológico e aplicado protetor solar 60 Rennova® Beauté tonalizante.

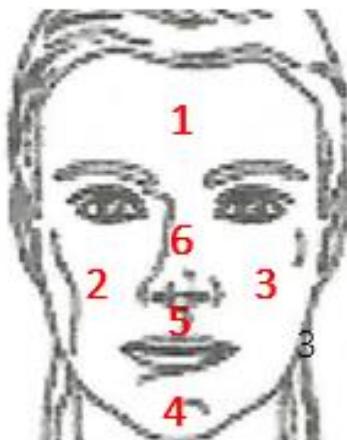


Figura 14: Medidas estéticas. Fonte: Arquivo pessoal da autora

Uma semana após a aplicação do peeling, foi realizada a avaliação pré-tratamento e os participantes receberam a intervenção referente ao seu grupo de tratamento, segundo a alocação dada pela randomização.

- **Grupo FBM:** tratamento cosmético placebo e FBM com luz âmbar

A FBM foi aplicada com um cluster sem fio extra oral da marca DMC E-Light ABR (São Paulo, Brasil) contendo 4 LEDs vermelhos e 4 LEDs azuis e 4 LEDs âmbar, sendo que, somente os LEDs âmbar (590 nm ±10nm) foram utilizados no estudo. As aplicações foram feitas com a luz âmbar para realização da pesquisa, conforme parâmetros descritos na Tabela 1.

Os participantes também foram posicionados na cadeira odontológica em posição de 45°. A região foi tratada da mesma maneira na aplicação de peeling enzimático, com a higienização da face com Água Micelar Rennova® Beauté para remoção de maquiagem/ protetor solar. Logo após, foi utilizado uma espuma de Limpeza Facial Rennova® Beauté e também removido com gaze e algodão. Foram utilizadas as mesmas medidas estéticas para a sequência de aplicação da FBM, seguindo a ordem nas regiões de 01 a 06 (Figura 14), em ambos os grupos.

Tabela 1: Dosimetria do Estudo.

Parâmetro	LED âmbar
Comprimento de onda central [nm]	590
Largura Espectral [nm]	10
Modo de Operação	Contínuo
Potência Radiante Média (um LED) [mW]	100
Diâmetro do Feixe – Um LED [cm]	0,5
Densidade de Potência na abertura [mW/cm ²]	510
Área feixe no tecido alvo – Um LED [cm ²]	1,96
Número Total de LEDs	4
Área irradiada [cm ²]	7,84
Irradiância no alvo [mW/cm ²]	51
Duração da Exposição [s]	392 s
Exposição Radiante [J/cm ²]	20
Densidade de energia na abertura [J/cm ²]	200
Energia Radiante [J]	156,8
Técnica de Aplicação	Contato
Número e frequência das sessões	1X/semana, 4 X mês, 12 sessões

* *Aplicação na face, 1 cm de distância. LED âmbar*

O responsável na aplicação, colocou os óculos de segurança nos participantes para aplicação de FBM. Acima dos olhos e por baixo dos óculos, foi

colocada uma gaze para biossegurança e proteção pelo contato direto dos óculos. Para o total vedamento da área nas regiões dos olhos, foi colocado uma faixa preta para que os participantes não percebessem quaisquer sinais luminosos referente ao grupo alocado, também foi colocado um fone de ouvido com música de relaxamento. Ao final da sessão foi realizada a aplicação do filtro solar, FPS 60 Rennova® Beauté tonalizante.

Os participantes foram orientados verbalmente e por escrito sobre o uso do cosmético em casa, bem como do filtro solar.

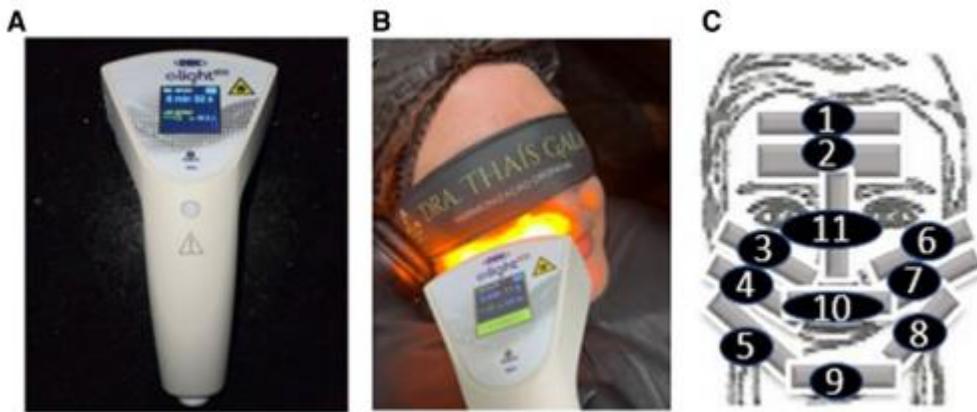


Figura 15: Aplicação de FBM. (A) Equipamento E-light ABR, DMC (São Carlos, São Paulo, Brasil). (B) Aplicação na face do participante, com proteção nos olhos e fone de ouvido. (C) Sequência de FBM. Fonte: Galache (2023)⁸

- **Grupo controle:** tratamento com despigmentante tranexâmico lipossomal 5% Home Care e FBM sham.

Os participantes foram posicionados na cadeira odontológica em posição de 45°, a região a ser tratada foi higienizada com Água Micelar Rennova® Beauté para remoção de maquiagem/ protetor solar. Em seguida, foi utilizado uma espuma de Limpeza Facial Rennova® Beauté e também removido com gaze e algodão.

O responsável na aplicação, colocou os óculos de segurança nos participantes para aplicação de FBM, acima dos olhos e por baixo dos óculos, foi colocada uma gaze para biossegurança e proteção pelo contato direto dos óculos. Para o total vedamento da área nas regiões dos olhos, foi colocado uma faixa preta para que os participantes não percebessem a aplicação de forma “sham”, também foi colocado um fone de ouvido com música de relaxamento.

O responsável pela aplicação da FBM, simulou as irradiações posicionando o dispositivo nos mesmos locais descritos para o grupo FBM, porém, o equipamento foi mantido desligado. Para que os participantes não identificassem o grupo ao qual pertencia, o som de ativação dos aparelhos (bip) foi gravado e ligado na hora da aplicação. Em seguida, como no grupo FBM, foi realizada a aplicação do filtro solar, FPS 60 Rennova® Beauté tonalizante. Os participantes foram orientados verbalmente e por escrito sobre o uso do cosmético em casa, bem como do filtro solar.

Foi entregue a todos os participantes, um frasco slim look de 05 g do produto cosmético para uso em casa (ATX ou placebo) e FPS 60 Rennova® Beauté tonalizante. Para a aplicação, primeiramente, os participantes deveriam lavar a região tratada com água corrente e sabonete neutro, secando com delicadeza, sem esfregar. Todos os participantes foram orientados a utilizar o produto cosmético 2x ao dia, em uma fina camada à noite e outra pela manhã, apenas sobre as manchas e massageá-las por 05 a 10 segundos. Para isso, foi necessário utilizar uma quantidade padronizada para esse uso, com apenas 2 (dois) apertos no “pump” desse frasco. Caso os participantes sentissem algum desconforto, deveriam entrar em contato com os pesquisadores. Pela manhã o rosto deveria ser lavado novamente com sabonete neutro, seguido da aplicação do cosmético e em seguida a aplicação do filtro solar. Pela noite, a face também deveria ser lavada com sabonete neutro e aplicado da mesma forma o cosmético. Foi indicado a reutilizar o protetor solar 3x (três vezes) ao dia.

A fim de estabelecer a adesão durante a pesquisa, foi utilizado um recordatório contendo uma descrição dos hábitos diários durante o estudo, que os participantes levaram a cada sessão (toda semana) para preencher e ser entregue na consulta seguinte (APÊNDICE 3).

Todos os participantes do grupo tratamento com FBM, receberam 15 g do ATX lipossomal 5%, para tratamento do MF ao final do estudo, sem custo, mesmo com o resultado semelhante apresentado pela pesquisa entre as duas intervenções, pois ainda não tínhamos os resultados finais, além de que, não era conhecido o benefício direto da luz âmbar para MF, somente in vitro.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados usando o programa IBM SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) Versão 22.0. Significância de 5% foi estabelecida. Os dados qualitativos foram expressos como frequência absoluta e relativa. Os dados quantitativos foram avaliados segundo a normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk, sendo os dados paramétricos expressos como média \pm desvio padrão ou média \pm erro padrão. Os dados não paramétricos foram expressos como mediana e intervalo interquartílico.

Na análise inferencial, os dados do índice MASI foram analisados segundo o teste ANOVA de duas vias seguidos pelo pós teste de Bonferroni. O escore de diagnóstico final global da face foi comparado entre os grupos por meio do teste de Mann Whitney.

A pontuação do Melasqol foram dados não paramétricos e foi utilizado log transformada e analisados segundo o teste ANOVA de duas vias seguidos pelo pós teste de Bonferroni.

4. RESULTADOS

Do total de participantes previstos para realização do estudo segundo o cálculo amostral ($n=54$), 21 foram incluídos, realizaram o tratamento e os dados são apresentados a seguir.

4.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Um total de 21 participantes foram incluídas no estudo, sendo 10 no grupo que foi tratado com FBM e 11 no grupo tratado com ATX. Uma das participantes, não conseguiu manter a assiduidade para as sessões devido a problemas familiares, apresentando dificuldade na conciliação nas consultas semanais para realização da pesquisa e optou por não continuar o tratamento após a primeira aplicação. Foi realizada somente a primeira avaliação da participante e os dados foram replicados para as demais avaliações, seguindo os princípios da análise por intenção de tratar. (Figura 16)

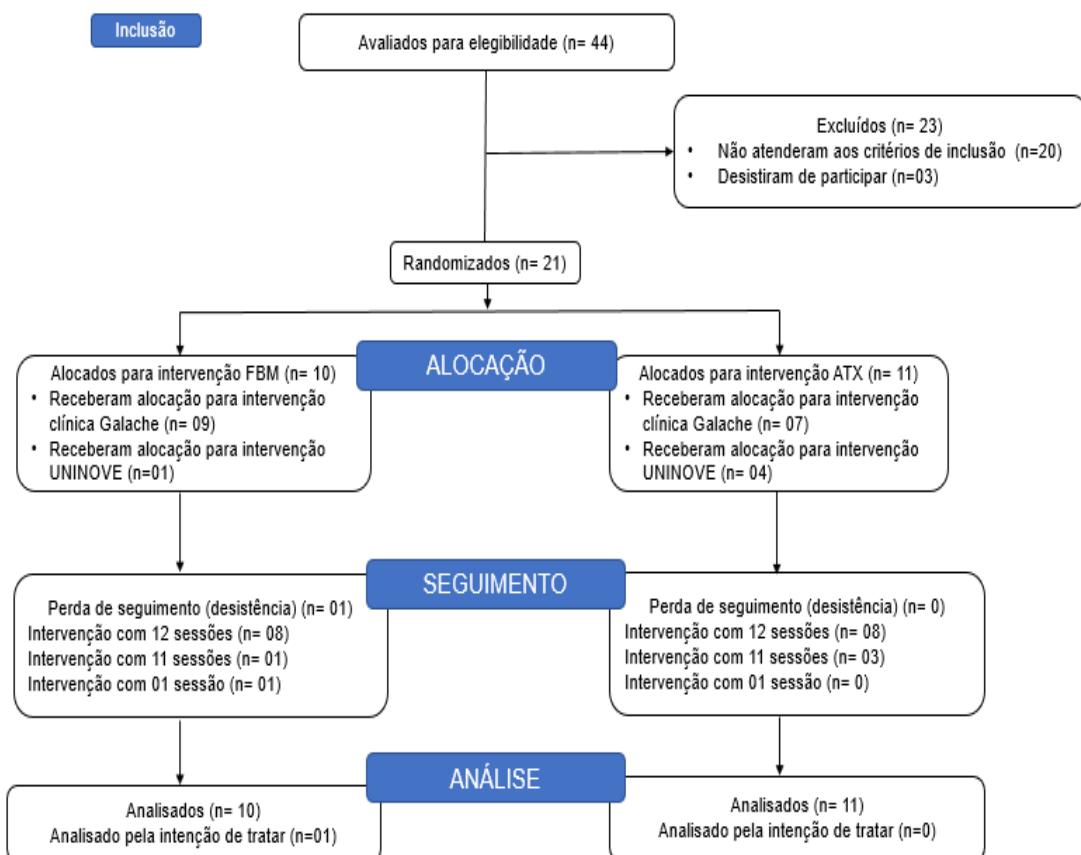


Figura 16: Fluxograma Consort.¹³³

Os participantes apresentaram idade entre 39 a 49 anos, com idade média de 44,1 anos e em sua maioria eram casadas (Tabela 2). Mais de 80% das participantes apresentavam fototipo segundo Fitzpatrick III ou IV (38% e 43%, respectivamente). Além disso, a maior parte das participantes (86% do total, e também a maioria em cada grupo) apresentou histórico familiar positivo para MF, isto é, parentes próximos também apresentaram MF.

Tabela 2: Características da amostra.

Variável	FBM (n= 10)	ATX (n= 11)	TOTAL (n= 21)
Idade (anos)*	43,7 ± 3,7	44,5 ± 3,0	44,1 ± 3,3
ESTADO CIVIL&			
Casada	4 (40%)	5 (45%)	9 (43 %)
Solteira	3 (30%)	1 (10%)	4 (19%)
Divorciada	2 (20%)	5 (45%)	7 (33%)
Outros	1 (10%)	--	1 (5%)
ESCALA FITZPATRICK&			
II	1 (10%)	3 (27%)	4 (19%)
III	5 (50%)	3 (27%)	8 (38%)
IV	4 (40%)	5 (46%)	9 (43%)
HISTÓRICO FAMILIAR&			
Positiva	8 (80%)	10 (91%)	18 (86%)
Negativa	--	1 (9%)	1 (5 %)
Não Lembra	2 (20%)	--	2 (9 %)
PADRÃO&			
Malar D/E	2 (20%)	--	2 (10%)
Centro Malar	8 (80%)	11 (100%)	19 (90%)
Mandibular	--	--	--
GRAVIDADE INICIAL&			
Leve	2 (20%)	5 (46%)	7 (33%)
Moderado	6 (60%)	4 (36%)	10 (48%)
Severo	2 (20%)	2 (18%)	4 (19%)
Número de sessões (mediana, min-máx)	(12, 1-12)	(12, 11-12)	(12, 1-12)

* média ± desvio padrão; & frequência absoluta (frequência relativa %).

A maioria dos participantes apresentaram padrão centro facial (90%) em seguida de padrão malar direito ou esquerdo (10%) Adicionalmente, a maioria apresentou gravidade inicial do MF moderada (48%) porém no grupo FBM 60% apresentou grau moderado e no grupo ATX somente 36% apresentou grau moderado, sendo a maioria do grupo ATX com grau leve (46%). Os participantes realizaram entre 11 e 12 sessões de tratamento, com exceção do participante que não deu seguimento ao tratamento, fazendo somente 1 sessão. Os participantes que não compareceram a uma das sessões alegaram doença como gripe ou covid, um participante viajou no dia da aplicação e outro faltou uma vez sem motivo aparente.

Sabendo que hábitos diários podem afetar a gravidade do MF, optou-se por questionar os participantes acerca de suas profissões. Os participantes apresentavam profissões diversas, como professora, arquiteta, cirurgiã dentista, diarista, metroviária, entre outros. Nenhum participante trabalhava com exposição direta ao sol ou em local quente.

Foram entregues semanalmente, um recordatório para preenchimento pelos participantes, cuja finalidade era acompanhar a utilização correta do cosmético, a utilização do protetor solar, se ocorreu exposição solar durante a semana e se houve a utilização do computador no trabalho, devido a luz azul. Todos os participantes em algum momento do estudo esqueceram de preencher ou não entregaram o formulário.

Também foi verificado que em algum momento, os participantes acabaram se expondo ao sol e utilizaram computador, e houveram casos da não utilização de protetor solar 3 vezes ao dia. Foi registrado, 01 participante do grupo de FBM se expos ao sol diretamente durante todo o dia e obteve piora no resultado, enquanto que outro do grupo ATX também permaneceu em local quente, com resultado negativo. Os participantes que utilizaram o computador, foi por curto período.

A maioria dos participantes utilizaram o cosmético entregue como recomendado e devolveram os frascos cosméticos de 15/15 dias, mas se caso houvesse ainda produto dentro do frasco, era reforçado a forma correta de utilização e indicado utilizar até o final para ser entregue, entretanto, alguns participantes,

como haviam uma maior quantidade de manchas, utilizava 01 frasco semanal e era entregue a esses participantes, 01 frasco por semana e da mesma forma, era reforçado a certa utilização do produto.

4.2 MASI

O MASI é o desfecho primário neste estudo, sendo que o mesmo foi determinado por meio da análise dos registros fotográficos no Baseline, 6º Semana e 12º Semana de tratamento, além de acompanhamentos após a finalização do tratamento (16º Semana e 20º Semana). Foram registradas imagens dos participantes em luz branca e também em lâmpada de wood e o perfil de evolução ao longo do período do estudo para o grupo FBM e ATX está apresentado nas Figuras 17 e 18, respectivamente.



Figura 17: A: Imagens de participante do grupo FMB, utilizadas para o desfecho MASI, Baseline, 6º semana, 12º semana, 16º semana e 20º semana. B: Imagens com a lâmpada de wood, para o auxílio das análises.



Figura 18: A: Imagens de participante do grupo ATX, utilizadas para o desfecho MASI, Baseline, 6º semana, 12º semana, 16º semana e 20º semana. B: Imagens com a lâmpada de wood, para o auxílio das análises.

O índice MASI foi determinado em cada um dos tempos de análise e em ambos os grupos de tratamento, cujos valores foram apresentados na Tabela 3 e apresentados graficamente na Figura 19. Não foram encontradas diferenças significantes na análise intragrupo ao longo do tempo para ambos tratamentos, bem como não foram encontradas diferenças significantes entre os grupos em todos os períodos investigados.

Tabela 3: Pontuação MASI ao longo do estudo.

TEMPO AVALIAÇÃO	DE FBM (n=10)	ATX (n=11)	Valor P
BASELINE	16,4 ± 3,0	13,8 ± 2,8	0,523
6° SEMANA	16,8 ± 2,2	11,7 ± 2,1	0,110
12° SEMANA	16,0 ± 2,0	11,8 ± 2,2	0,197
16° SEMANA	16,2 ± 2,0	10,7 ± 1,9	0,068
20° SEMANA	15,4 ± 2,0	11,3 ± 1,9	0,165
Valor p	0,506	0,590	

* Dados expressos como média ± erro padrão

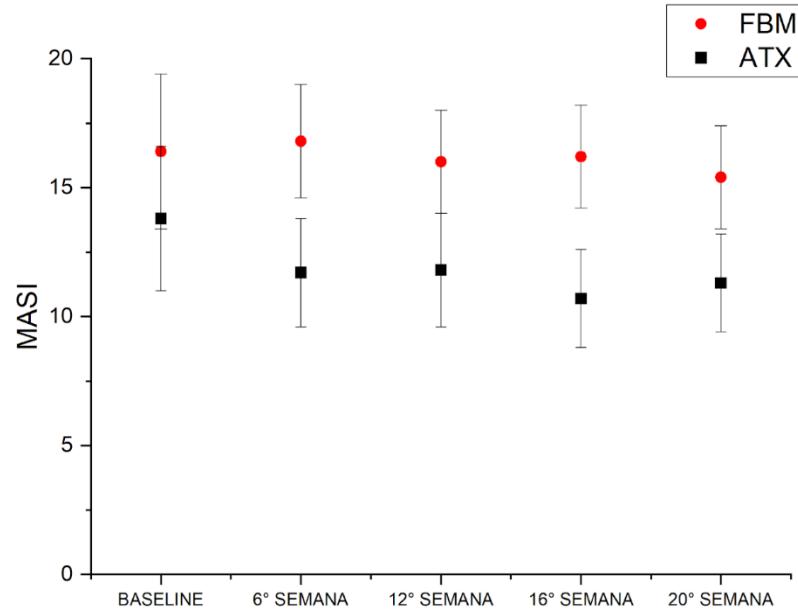


Figura 19: Valores MASI ao longo do estudo. Valores expressos como média ± erro padrão.

4.3 FINAL GLOBAL DA FACE

O índice Final Global da Face é uma medida subjetiva descrita por Pandya²¹, na qual se compara imagens com o intuito de avaliar clinicamente a melhora

geral do tratamento nas regiões onde havia a afecção. A foto realizada em luz branca ao final do tratamento foi comparada com a foto em mesmas condições obtida no início do tratamento e classificada segundo o grau de melhora. (Figura 20 e 21)

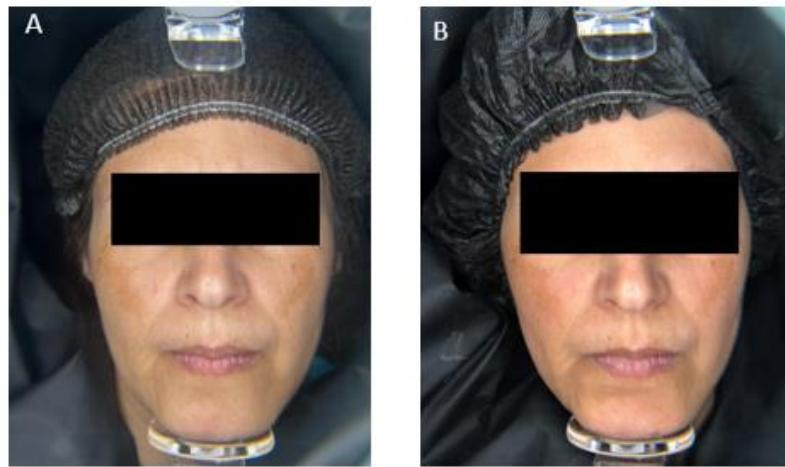


Figura 20: A: Imagem de participante de FBM, realizada no início do tratamento. B: Imagem no final do tratamento para avaliar o desfecho.

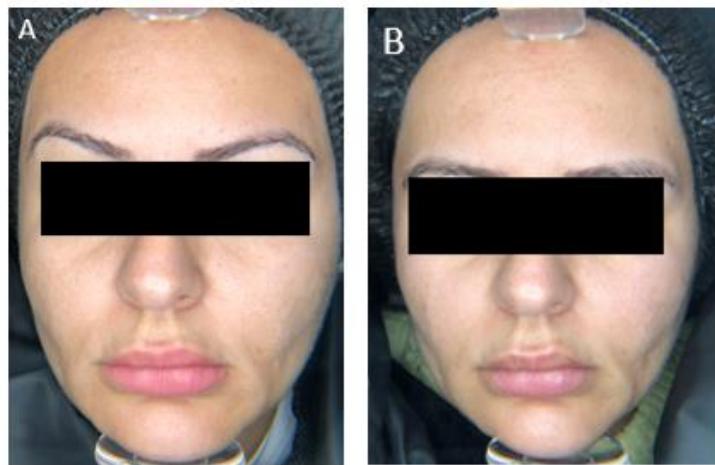


Figura 21: A: Imagem de participante de ATX, realizada no início do tratamento. B: Imagem no final do tratamento para avaliar o desfecho.

A maioria dos participantes obteve uma melhora leve, sendo 5 participantes do grupo FBM e 7 no grupo ATX. Não houve melhora clínica das manchas em 3 participantes do grupo FBM, entretanto, tanto no grupo FBM quanto no grupo ATX

houve 1 participante que apresentou piora clínica das manchas. Ocorrido provavelmente, porque os dois participantes relataram que pegaram sol diretamente no final do estudo (Tabela 4).

Tabela 4: Frequências (absolutas e relativas) dos scores do Índice final global.

Baseline&– Final & (n=21)	FBM (N=10)	ATX (N= 11)	TOTAL (n=21)
0-claro	--	--	--
1-quase claro	--	--	--
2-melhora significativa	--	--	--
3-melhora intermediária	1 (10%)	3 (27%)	4 (19%)
4-melhora leve	5 (50%)	7 (64%)	12 (57%)
5-sem melhora	3 (30%)	--	3 (14%)
6-pior	1 (10%)	1 (9%)	2 (10%)

& *frequência absoluta (frequência relativa %).*

Não foi observada diferença significante entre os grupos quando comparados em termos da classificação Final Global da Face ($p=0,126$) – Figura 12, de forma que houve melhora leve igualmente entre ambos os grupos.

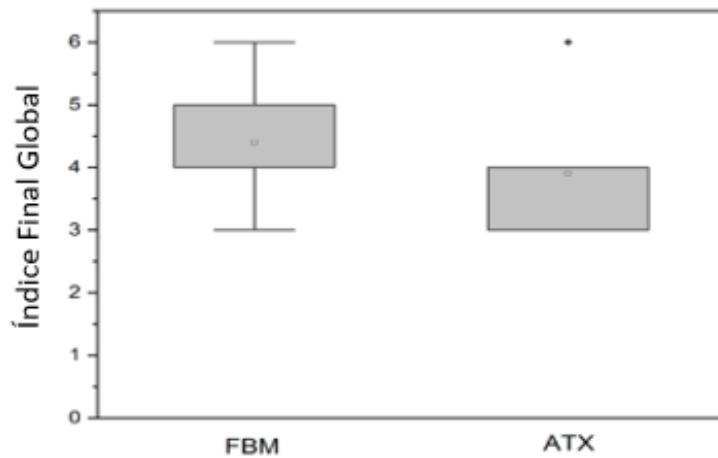


Figura 22: Final Global da Face.

4.4 INTENSIDADE DO MELASMA

Os registros fotográficos, com a utilização do Dermascan, foram realizados, para as análises da intensidade da afecção na baseline, 6º semana e 12º semana. As fotos registradas em luz de wood foram transformadas em tonalidade de cinza,

com a utilização do software image J, para evidenciação das manchas e mensuração da intensidade das manchas de forma objetiva em toda a face. Exemplos das fotos registradas ao longo da evolução do tratamento nos grupos ATX e FBM estão apresentados nas Figuras 23 e 24, respectivamente.

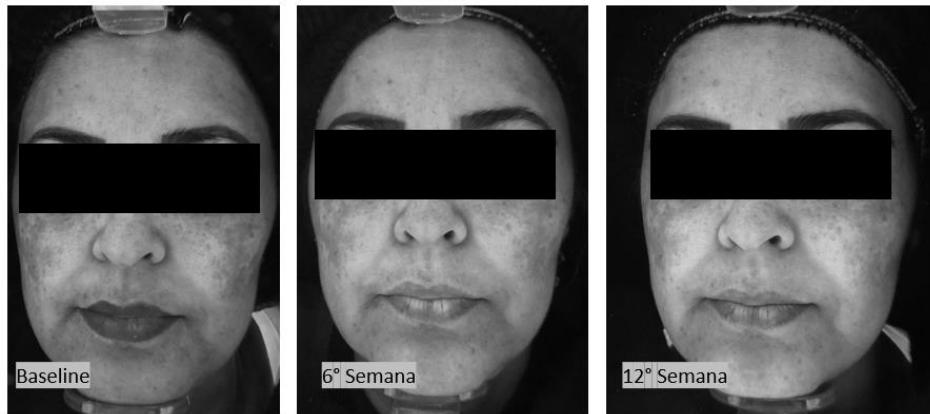


Figura 23: Imagem de participante do grupo ATX em tonalidade cinza para evidenciação da intensidade das manchas e análise objetiva pelo Image J.

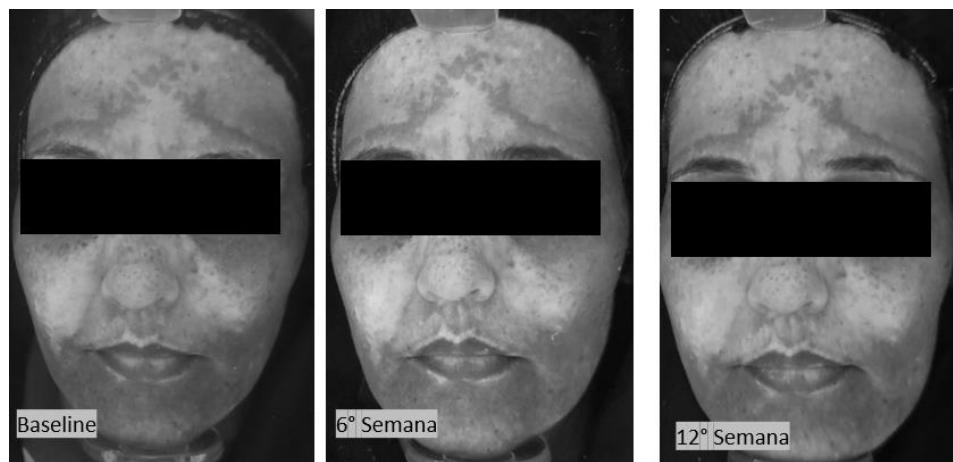


Figura 24: Imagem de participante do grupo FBM em tonalidade cinza para evidenciação da intensidade das manchas e análise objetiva pelo Image J.

Os valores obtidos nas imagens em cada grupo, nos diferentes tempos de análise, estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Intensidade de pigmentação mensurada nas fotografias (média ± erro padrão)

TEMPO DE AVALIAÇÃO	INTENSIDADE		
	FBM (n=10)	ATX (n=11)	Valor p
BASELINE	623.658 ± 12397	600.325 ± 1820	0,189
6° SEMANA	632.800 ± 10397	641.088 ± 9914	0,571
12° SEMANA	642.424 ± 12134	635.308 ± 11569	0,676
Valor p	0,580	0,030	

* Dados expressos com média ± erro padrão

Na comparação intragrupo ao longo do tempo de tratamento não foram observadas diferenças significantes no grupo FBM. Por outro lado, no grupo ATX foi observado aumento na intensidade de pigmentação do baseline em relação à sexta semana de tratamento. Na comparação entre grupos, não foram encontradas diferenças em nenhum dos tempos avaliados.

4.5 CORNEOMELAMETRIA

A corneomelametria foi realizada no baseline, 6° e 12° semana do tratamento. As imagens obtidas ao longo dos tratamentos nos grupos FBM e ATX estão apresentadas nas Figuras 25 e 26. Observa-se a presença da coloração avermelhada intensa no baseline, com redução ao longo das próximas avaliações em ambos os grupos.

O objetivo inicial da corneomelametria era realizar a quantificação do pigmento nos corneócitos da epiderme. Algumas dificuldades técnicas foram encontradas que impediram a realização da quantificação. A primeira delas foi o preparo da pele e amostra. Como é possível observar nas imagens verifica-se a presença de pelos que são interferentes na análise da intensidade da colocação da imagem. Possivelmente ajustes à coleta como a quantidade do produto, ou tempo de secagem possam otimizar a remoção do estrato córneo sem a remoção dos

pelos. Os artigos que relatam a corneomelametria não detalham a metodologia, mas acreditamos que para a quantificação uma série de ajustes serão necessários.

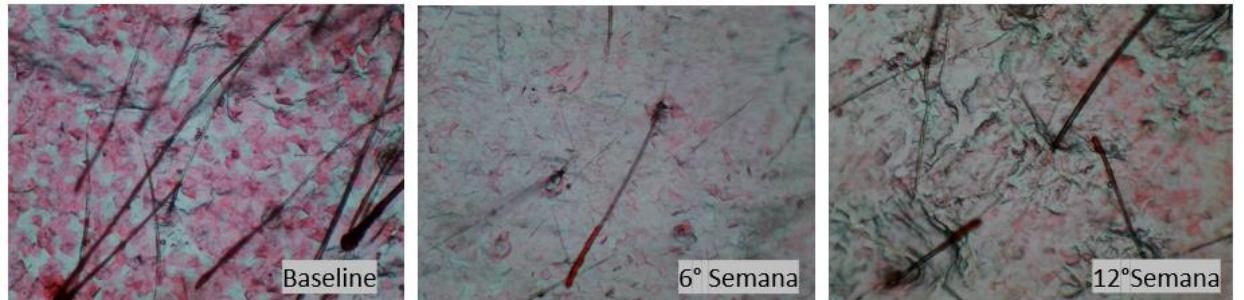


Figura 25: Corneomelametria realizada de participante do grupo FBM na baseline, 6º semana e 12º semana.



Figura 26: Corneomelametria realizada de participante do grupo ATX na baseline, 6º semana e 12º semana.

4.6 QUALIDADE DE VIDA (MELASQOL)

O impacto do tratamento foi avaliado pela qualidade de vida, mensurada por meio do questionário de qualidade de vida associado ao MF, MELASQoL em sua versão traduzida e validada para o português brasileiro. Neste questionário quanto maior a pontuação obtida pior a qualidade de vida do paciente.

Observou-se melhora significativa quando comparados os valores de pontuação no meio (semana 6) e no final do tratamento, bem como quando comparado o início e o final do tratamento, em ambos os grupos. Desta forma, a melhora na qualidade de vida do paciente foi observada após a metade do tratamento e seguiu melhorando até o final tanto quando foi realizado o tratamento com FBM quanto com ATX (Figura 10).

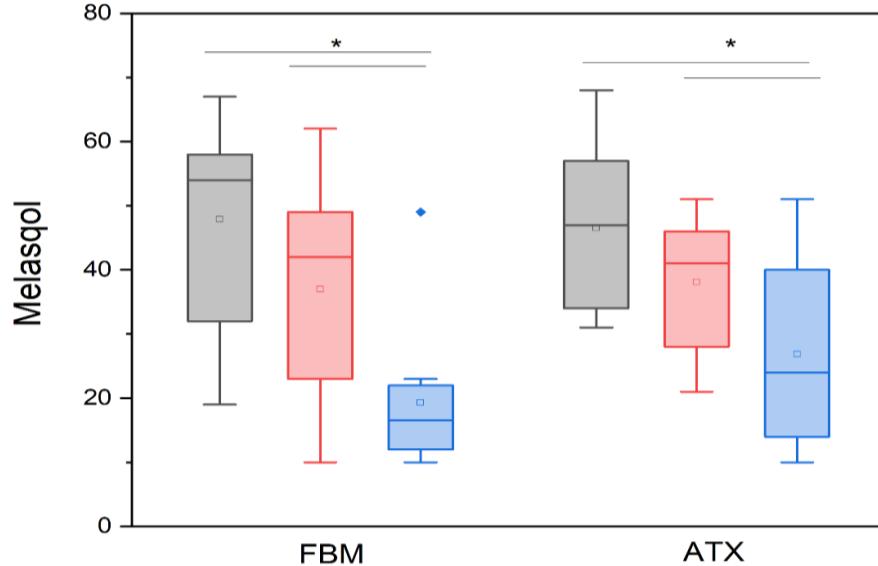


Figura 27: Pontuação MELASQoL. Cinza: antes do tratamento, vermelho: semana 6, azul: semana 12 (final do tratamento). *p<0,05.

Não houve diferença significante nos valores de pontuação total quando comparados os grupos FBM e ATX em cada tempo analisado (antes, semana 6 e semana 12 – ao final do tratamento), demonstrando que ambos os tratamentos foram igualmente eficazes na melhora de qualidade de vida dos participantes (Tabela 6).

Tabela 6: MELASQoL em 0, 6 e 12 semanas do tratamento (Mediana [25%-75%]).

TEMPO DE AVALIAÇÃO	FBM (n=10)	ATX (n=11)	Valor P
BASELINE	54,0 [31,2-58,2]	47,0 [34,0-57,0]	0,996
6° SEMANA	42,0 [20,5-49,8]	41,0 [28,0-46,0]	0,529
12° SEMANA	16,5 [11,5-22,2]	24,0 [14,0-40,0]	0,164

4.7 EFEITOS ADVERSOS

Foram observados alguns efeitos adversos leves em relação aos tratamentos realizados.

Foi relatado por 6 participantes uma sensação de calor na face (rubor), quando aplicado a FBM, mas, cessando logo após a finalização da aplicação, mesmo assim, o cegamento não foi quebrado, pois esses participantes achavam que o tratamento placebo com o creme utilizado todos os dias, também ajudavam no tratamento, mesmo sendo explicado no início da pesquisa, que um dos protocolos entre ATX ou FBM não seria efetivo.

Foi observado, um eritema transitório em 1 participante após a aplicação da FBM. Houve relato de ardência do uso do ATX em 2 participantes, logo no início do tratamento, mas cessando depois com o passar das aplicações da intervenção.

Apesar de ser relatado ressecamento inicial, houve relato de melhora da pele com a maior hidratação nos dois grupos, mas, com maior frequência no grupo de FBM no qual 5 participantes trouxeram este relato e 1 participante no grupo ATX. A melhora na textura da pele também foi relatada nos dois grupos.

Efeitos adversos menores como eritema transitório, ardência e certo incômodo, após a coleta das amostras de corneomelametria foram observados.

Tabela 7: Frequências (absolutas e relativas) de aparecimento dos efeitos colaterais

Tempo de avaliação^{&} (n=21)	FBM (N=10)	ATX (N= 11)	TOTAL (n=21)
Eritema	1 (10%)	--	1 (5%)
Rubor	6 (60%)	--	6 (28%)
Ardência inicial	--	2 (18%)	2 (10%)
Ressecamento inicial	2 (20%)	1 (9%)	3 (14%)
Corneomelametria	7 (70%)	9 (82%)	16 (76%)

^{& frequência absoluta (frequência relativa %).}

5. DISCUSSÃO

A hiperpigmentação na face é atribuída pela maioria das vezes pela exposição aos raios UV.⁶⁸ Considerando o aspecto essencial da radiação UV na sinalização para a melanogênese, bem como os efeitos na lâmina basal responsáveis para presença dos melanócitos em pêndulo e o MF dérmico o primeiro entendimento para um ensaio clínico sobre o MF, é o emprego da proteção solar diária.^{69,134} Com base neste raciocínio foi empregado em ambos os grupos o uso do protetor solar RENNOVA® tonalizante 60 FPS. Alguns trabalhos inclusive, sugerem que a proteção solar já é responsável pela redução no índice MASI em 3,23 pontos.^{68,69}

A melhora das hiperpigmentações são limitantes devido à grande exposição solar associado ao fato do Brasil ser um país tropical com altos índices de radiação ultravioleta ao longo de todo o ano, inclusive no inverno. Em outros países nos quais as estações do ano são mais bem definidas e é menor o hábito de exposição solar, aliás, há piora do MF no verão e melhora no inverno.¹³⁴

De acordo com Organização Meteorológica Mundial (OMM)¹³⁵, o ano de 2023 foi registrado como o mais quente em 174 anos. No Brasil, Instituto Nacional de Meteorologia (INMET)¹³⁶, relatou que de julho a outubro, as temperaturas ficaram acima das médias históricas, exatamente no período que realizamos nossa pesquisa. Além disso, desde abril/maio 2023, foram registradas condições metereológicas com atuação e influência do fenômeno El Niño em todo o Brasil, o que ocasionou o mês de julho mais quente desde 1961, inclusive em São Paulo.¹³⁷ Desse modo, os resultados dessa pesquisa podem ter sido influenciadas por esse ano atípico, com temperaturas elevadas mesmo no inverno.

Neste sentido, os resultados obtidos até o momento não indicam ação efetiva das abordagens de tratamento escolhidas, vide que não foi observada redução no índice MASI em nenhum dos grupos, mesmo com a indicação do uso de protetor solar. Soma-se o fato das características da medida ser desfecho primário do estudo, e ser de difícil reprodução, mas em contrapartida, utilizamos um rigor maior

nas análises dos desfechos. Dessa forma, obtivemos resultados semelhantes nos dois grupos.

A classificação das fotos segundo o índice MASI é bastante desafiadora. Primeiro devido ao uso do registro fotográfico que nem sempre retrata adequadamente o estado do participante. Adicionalmente, mesmo havendo uma calibração dos avaliadores a classificação no índice parece bastante subjetiva. Estudos atuais, utilizam amplamente o MASI modificado (mMASI) como mostrou a revisão sistemática e meta-análise de Zhan (2023)¹³⁸. O mMASI, é um desfecho que tem sido considerado mais prático de ser utilizado¹¹⁸, sendo uma boa opção para pesquisas posteriores.

Também não foram encontradas diferenças entre os grupos quando utilizado como parâmetro o Índice Final Global, porém nesta avaliação foi considerado que a maioria das participantes apresentaram melhora discreta do MF. Acredita-se que neste caso a observação de melhora pode ser atribuída ao fato da análise ter sido feita somente por um avaliador, minimizando as variações na análise. Por outro lado, a utilização de um único avaliador pode enviesar a análise, vide que o mesmo sabe qual a foto do antes e do depois, mesmo que não saiba em qual dos grupos o participante estava alocado. Outros trabalhos também utilizaram esta metodologia na avaliação do MF¹²², inclusive como desfecho primário.

O tamanho amostral atingido, bastante menor do que o calculado também pode ter influenciado na ausência de efeitos observados pela ação das terapias no trabalho. Na revisão sistemática e metanálise de Pennitz (2022)¹³⁹, o ATX tópico lipossomal 5%, mostrou a utilização de 60 a 160 participantes, indicando a necessidade de um maior número na amostra.

Também realizamos registros fotográficos para analisar um desfecho de forma objetiva, com a utilização do software Image J. Novamente consideramos que o registro de imagens não é totalmente padronizado, vide que dependendo do tempo após ativar a lâmpada de wood a imagem registrada mostrava diferentes tons de azul que influenciava na intensidade mensurada. Vários estudos na área

utilizam equipamentos digitais que além da padronização na aquisição das imagens, também realizam as análises.¹⁰⁷

A corneomelametria foi realizada para avaliação histológica dos corneócitos pigmentados, mas o trabalho de Thirion (2006)⁶⁶ que realizou essa análise, não detalhou como foi realizada a mensuração das lâminas coradas, impedindo sua reprodução, sendo assim, utilizamos as lâminas somente para demonstração da região durante 3 etapas do estudo e sua evolução. Outros trabalhos realizavam análises histológicas, através de biópsias no local acometido.

A face, por ser um “cartão de visita” do ser humano e a pele uma parte fundamental da sua identidade, além da sua autoimagem, o MF em contrapartida, como uma condição crônica, pode causar um impacto emocional e psicológico profundo na vida das pessoas, afetando negativamente sua confiança, autoestima e leva a um sofrimento psicossocial, por se apresentar principalmente em área exposta, difícil de esconder. De acordo com pesquisa da Euromonitor (2020)⁴, o bem estar psicológico é mais importante para a qualidade de vida do que a ausência de doenças pelos participantes, confirmado com conceito sobre qualidade de vida da OMS (1946), “saúde é um estado de completo bem estar físico, mental e social e não apenas a ausência de doenças ou enfermidades”.¹⁶ Diante disso, a avaliação da qualidade de vida das pessoas com essa afecção não pode ser ignorada.²⁰

Utilizamos, portanto, um questionário, o MELASQoL, muito utilizado para avaliar o impacto que o MF causa na vida dessas pessoas. Neste estudo ambos tratamentos mostraram melhora da qualidade de vida dos participantes, corroborando com a revisão sistemática e meta-análise de Zhu²⁷, com um resultado estatisticamente significativo, cuja hiperpigmentação presentes na face causam um sofrimento psicossocial associado à angústia com sua imagem e a melhora do índice com o tratamento facial realizado. Porém, como os resultados aqui apresentados não são estatisticamente significantes, pode-se inferir que os pacientes que apresentam MF, podem estar relatando melhora na qualidade de vida simplesmente por estarem sendo cuidados e acolhidos.

Realizamos no nosso estudo, um tratamento de 12 semanas, conforme trabalhos anteriores indicarem que não haveria efeitos com 4 ou 8 semanas com

ATX^{86,87}, inclusive as pesquisas sobre o MF são geralmente em 3 meses, por entender que, sendo o melanócito uma célula adaptativa e responsável pela produção de melanina, foi notado que a partir desse período, não há mudança nos escores.⁸⁸ Em relação a FBM para tratamento de MF, não havia ensaio clínico com luz âmbar até então realizado, somente *in vitro*, indicando que em futuras pesquisas pode ser utilizado outros protocolos, como aplicação da FBM 2X por semana.

O ATX, um agente antifibrinolítico, tem sido utilizado com sucesso no tratamento de várias afecções, incluindo o MF.^{140,141} Estudos clínicos demonstraram que a administração tópica com uso lipossomado resulta em maior permeabilidade do fármaco, menor sensibilidade e a redução significativa da hiperpigmentação, bem como na prevenção da recorrência do MF. Neste trabalho o uso do ATX lipossomado foi seguro e bem tolerado pelos participantes. Os resultados ainda são pouco consideráveis em relação ao que foi descrito na literatura, porém acredita-se que neste caso foi uma questão de baixo tamanho amostral avaliado em relação ao calculado, de forma que o poder estatístico foi baixo.

Também podemos acrescentar a importância de uma avaliação laboratorial independente, do próprio cosmético de ATX 5% lipossomado a ser utilizado em próximas pesquisas, uma vez que o produto é feito em farmácia de manipulação e não temos um controle de suas características, podendo interferir ou não no resultado.

A FBM foi um procedimento seguro e foi bem aceito pelos participantes da pesquisa. Apesar da ausência de efeitos de clareamento efetivos, ou apenas efeitos leves, os participantes também relataram sensação de melhora da pele em termos de hidratação e textura. Estes efeitos podem estar relacionados ao estímulo de FBS em termos de produção de colágeno, ou equilíbrio da barreira cutânea.^{65,99}

Dai 2022¹⁰⁷ apresentou melhora dos participantes com MF ao serem tratados com âmbar uma vez por semana, apresentando redução na escala MASI de 17 para 13, em um trabalho não randomizado e não controlado com 10 participantes, no entanto, esse trabalho apresentou vários vieses, possui baixa evidência e não é um ensaio clínico aleatorizado. Já neste estudo, com um tamanho amostral por grupo similar ao utilizado no mencionado trabalho, esse efeito não foi encontrado.

Acredita-se que, com tamanho amostral maior e alguns ajustes metodológicos, será possível obter dados mais robustos a respeito da utilização e o resultado da FBM no tratamento do MF. Desta forma, em nova pesquisa a ser realizada no doutorado, serão feitos os ajustes e adequações necessárias.

Em trabalhos posteriores, deve-se ser considerado estudos com terapia combinada, do uso de ATX e FBM, contribuindo ao entendimento e a maior eficácia de resultados. O trabalho de Kim (2022)¹⁴², mostrou que o uso de terapias combinadas do uso de ATX e laser diminuíram o índice MASI em comparação e o ATX ajuda a recorrência e o efeito rebote, indicando que novos trabalhos com o uso do ATX e FBM, podem ser realizados futuramente.

Também em pesquisas decorrentes, seria necessário a inclusão de perguntas na anamnese, se o participante já realizou algum tratamento com FBM, devido à possível quebra do cegamento e a sensação térmica que ele emite, além do tempo da afecção, tratamentos de MF anteriores e tempo de uso, por entender que, certos tratamentos podem desencadear manchas ainda mais resistentes, como o efeito adverso da HQ. Uma hipótese levantada na revisão sistemática de Ischack (2021)¹⁴³, a HQ atravessa a derme, é absorvida pelo FBS, que por sua vez, secretam os pigmentos, ocasionando efeitos como a ocronose. Em nosso estudo, 06 participantes declararam que utilizaram hidroquinona anteriormente, sendo 05 do grupo do ATX e 01 do grupo de FBM, diante disso, o tratamento realizado pode não ser adequado para esse perfil de participantes e podemos incluir com um dos pontos a serem discutidos e estudados em outros trabalhos.

Ademais, estudos anteriores já mencionaram que o ATX, possui menor efetividade em casos mais graves de MF^{81,83}, sendo assim, para essa população estudada, talvez seja menos efetivo essa terapia e com uma população diferente, poderá ser encontrado outros resultados.

Nosso estudo possui limitações. Uma delas é o tamanho amostral menor que o calculado. Uma outra limitação importante foi o uso do equipamento Dermascan para captação e padronização de fotos, uma vez que foi possível notar que não há uma padronização adequada das imagens, dificultando as análises objetivas e mesmo as subjetivas. Isso porque o posicionamento da face pode variar um pouco

de participante para participante, além da questão da luz de wood, que dependendo do tempo após ativação leva a imagens mais azuladas ou arroxeadas, influenciando na análise final de intensidade do MF. Desta forma, consideramos que este estudo tem natureza piloto a fim de que ajustes na metodologia sejam realizados para maior robustez das análises sendo que os mesmos serão realizados na continuação da pesquisa no doutorado.

Durante nossa pesquisa, encontramos estudos clínicos, que avaliam a FBM em MF, mas que apresentam em sua maioria alto risco de viés ou não apresentavam delineamento adequado para mensurar os benefícios e eficácia dos tratamentos realizados, sendo assim, no futuro, mais estudos são necessários para aprimorar a compreensão dos mecanismos de ação dessas intervenções, identificar potenciais biomarcadores de resposta ao tratamento e otimizar as estratégias de combinação de tratamento para o MF, com estudos científicos mais robustos e bem estruturados nesta área. Com uma abordagem integrada e personalizada, é possível oferecer à população acometida, uma gama mais ampla de opções terapêuticas eficazes e seguras para o manejo dessa afecção.

6. CONCLUSÃO

Neste estudo não foram observados efeitos significantes tanto do ATX quanto da FBM no tratamento do MF quando comparados por meio do índice MASI, diagnóstico global da face e intensidade de pigmentação, sem diferença entre os tratamentos. Ambos mostraram melhora da qualidade de vida dos participantes durante o tratamento. Por fim, ambos os tratamentos apresentaram efeitos adversos leves e transitórios, sendo o principal da FBM rubor na face e no ATX ardência nas primeiras aplicações. A continuação do estudo no doutorado, ajustando as limitações apresentadas é essencial para obtenção de dados mais robustos. Entretanto, essa pesquisa foi de não inferioridade, e portanto, não houve diferença entre as terapias de ATX e FBM, para essa população estudada.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jain R, Huang P, Ferraz RM. A new tool to improve delivery of patient-engaged care and satisfaction in facial treatments: the Aesthetic Global Ranking Scale. *J Cosmet Dermatol.* 2017;16(1):132–43.
2. Silva MB, Mituiwa BM, Tinoco GCA, Vasconcelos RCF de. A relação entre a autoimagem, a pele e o amplo uso de tecnologias de interação social impostas pela pandemia de COVID-19. *Surg Cosmet Dermatology.* 2015;15:1–6.
3. Morita MM, Merlotto MR, Dantas CL, Olivetti FH, Miot HA. Prevalence and factors associated with body dysmorphic disorder in women under dermatological care at a Brazilian public institution. *An Bras Dermatol.* 2021 Jan;96(1):40–6.
4. Westbrook G, Angus A. Cuidando de mim mesmo: Foco em nossas necessidades mentais [Internet]. Euromonitor Internacional. 2020 [cited 2023 Nov 19]. p. 32. Available from: <https://www.euromonitor.com/article/cuidando-de-mim-mesmo-foco-em-nossas-necessidades-mentais>
5. Westbrook G, Angus A. 10 Principais tendências globais de consumo [Internet]. Euromonitor Internacional. 2020 [cited 2023 Nov 19]. p. 32. Available from: <https://www.euromonitor.com/article/10-principais-tendencias-globais-de-consumo-2021>
6. Ogbechie-Godec OA, Elbuluk N. Melasma: an Up-to-Date Comprehensive Review. *Dermatol Ther (Heidelb)* [Internet]. 2017 Sep 19;7(3):305–18. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13555-017-0194-1>
7. Handel AC, Miot LDB, Miot HA. Melasma: A clinical and epidemiological review. *An Bras Dermatol.* 2014;89(5):771–82.
8. Galache TR, Galache M, Sena MM, Pavani C. Amber photobiomodulation versus tranexamic acid for the treatment of melasma: Protocol for a double-blind, randomised controlled trial. *BMJ Open.* 2023;13(7).
9. Honigman A, Rodrigues M. Differential diagnosis of melasma and hyperpigmentation. *Dermatological Rev* [Internet]. 2023 Feb 3;4(1):30–7. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/der2.144>
10. Kumari S, Thng STG, Verma NK, Gautam HK. Melanogenesis inhibitors. *Acta Derm Venereol.* 2018;98(10):924–31.
11. Qi S, Liu B, Zhang J, Liu X, Dung C, Fan R. Knockdown of microRNA-143-5p by STTM technology affects eumelanin and pheomelanin production in melanocytes. *Mol Med Rep.* 2019;20(3):2649–56.
12. Murina AT, Kerisit KG, Boh EE. Mechanisms of skin aging. *Cosmet Dermatology.* 2012;25(9):399–402.
13. McKesey J, Tovar-Garza A, Pandya AG. Melasma Treatment: An Evidence-Based Review [Internet]. Vol. 21, American Journal of Clinical Dermatology. Springer International Publishing; 2020. 173–225 p. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40257-019-00488-w>
14. Syder NC, Elbuluk N. The history of melasma: Its roots and evolution. *Dermatological Rev.* 2023;4(1):5–11.
15. Gupta V, Sharma VK. Skin typing: Fitzpatrick grading and others. *Clin Dermatol* [Internet]. 2019;37(5):430–6. Available from:

- <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.07.010>
- 16. Van Der Spuy SA. The concept of ‘health.’ *Pharmacovigil Crit Ways Forw.* 2016;31(5):161–72.
 - 17. Jorge MFS, Mourão IB, Pollo CF, Sousa TD de, Meneguin S, Miot HA. Validation of the Skindex-17 quality of life assessment instrument for a Brazilian population. *An Bras Dermatol [Internet].* 2021;96(1):51–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.abd.2020.03.021>
 - 18. Jaiswal DS V. Comparison of Quality of Life, Depression and Self-Esteem in Patients of Vitiligo and Melisma. *J Med Sci Clin Res.* 2016;04(11):13675–82.
 - 19. Kanish B, Goyal SK, Thomas EA, Singla M, Kate P, Kamra D. Depression and anxiety in melasma: Prevalence and correlates in North India. *IP Indian J Clin Exp Dermatology.* 2018;3(4):167–71.
 - 20. Kagha K, Fabi S, Goldman MP. Melasma’s Impact on Quality of Life. *J Drugs Dermatology.* 2020;19(2):184–7.
 - 21. Pandya A, Berneburg M, Ortonne JP, Picardo M. Guidelines for clinical trials in melasma. *Br J Dermatol.* 2006;156(SUPPLE. 1):21–8.
 - 22. Zhu JW, Ni YJ, Tong XY, Guo X, Wu XP, Lu ZF. Tranexamic acid inhibits angiogenesis and melanogenesis in vitro by targeting VEGF receptors. *Int J Med Sci.* 2020;17(7):903–11.
 - 23. Thawabteh AM, Jibreel A, Karaman D, Thawabteh A, Karaman R. Skin Pigmentation Types, Causes and Treatment—A Review. *Molecules.* 2023;28(12).
 - 24. Madelaine R, Ngo KJ, Skariah G, Mourrain P. Genetic deciphering of the antagonistic activities of the melanin-concentrating hormone and melanocortin pathways in skin pigmentation. Jackson IJ, editor. *PLOS Genet [Internet].* 2020 Dec 10;16(12):e1009244. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pgen.1009244>
 - 25. Luqman N. Melasma; Quality of Life in Patients. *Prof Med J.* 2017;24(12):1899–903.
 - 26. Platsidaki E, Efsthathiou V, Markantoni V, Kouris A, Kontochristopoulos G, Nikolaidou E, et al. Self-Esteem, Depression, Anxiety and Quality of Life in Patients with Melasma Living in a Sunny Mediterranean Area: Results from a Prospective Cross-Sectional Study. *Dermatol Ther (Heidelb) [Internet].* 2023;13(5):1127–36. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13555-023-00915-1>
 - 27. Zhu Y, Zeng X, Ying J, Cai Y, Qiu Y, Xiang W. Evaluating the quality of life among melasma patients using the MELASQoL scale: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One [Internet].* 2022;17(1 January). Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0262833>
 - 28. Harrar H, Myers S, Ghanem AM. Art or Science? An Evidence-Based Approach to Human Facial Beauty a Quantitative Analysis Towards an Informed Clinical Aesthetic Practice. Vol. 42, *Aesthetic Plastic Surgery.* 2018. p. 137–46.
 - 29. Serra M, Bohnert K, Narda M, Granger C SN. Brightening and Improvement of Facial Skin Quality in Healthy Female Subjects With Moderate Hyperpigmentation or Dark Spots and Moderate Facial Aging. *J Drugs Dermatol.* 2018;17(12):1310–5.

30. Miot LDB, Miot HA, Da Silva MG, Marques MEA. Fisiopatologia do melasma. An Bras Dermatol. 2009;84(6):623–35.
31. Lueangarun S, Namboonlue C, Tempark T. Postinflammatory and rebound hyperpigmentation as a complication after treatment efficacy of telangiectatic melasma with 585 nanometers Q-switched Nd: YAG laser and 4% hydroquinone cream in skin phototypes III-V. J Cosmet Dermatol. 2021;20(6):1700–8.
32. Turkmen D, Altunisik N, Sener S. The efficacy of a single-session pro-yellow laser in the treatment of facial telangiectasia. Lasers Med Sci. 2021;36(2):401–6.
33. Masub N, Nguyen JK, Austin E, Jagdeo J. The Vascular Component of Melasma: A Systematic Review of Laboratory, Diagnostic, and Therapeutic Evidence. Dermatologic Surg. 2020;46(12):1642–50.
34. Hammerschmidt M, de Mattos SML, Suzuki HS, de Freitas CFNP, Mukai MM. Avaliação dos métodos de classificação do melasma de acordo com a resposta ao tratamento. Surg Cosmet Dermatology. 2012;4(1):155–8.
35. Costin GE, Hearing VJ. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. FASEB J. 2007;21(4):976–94.
36. Silva CL, Topgaard D, Kocherbitov V, Sousa JJS, Pais AAC, Sparr E. Stratum corneum hydration: Phase transformations and mobility in stratum corneum, extracted lipids and isolated corneocytes. Biochim Biophys Acta - Biomembr. 2007;1768(11):2647–59.
37. Galache TR, Galache M. A importância do conhecimento do Melasma para o profissional da HOF: Revisão atualizada. Simmetria – Orofac Harmon Sci.
38. Setterfield L. O guia conciso do microagulhamento dérmico / Lance Setterfield. 3º ed. São Paulo, SP: Triall; 2020.
39. Gonchoroski DD, Correa GM. Tratamento de hipercromia pós-inflamatória com diferentes formulações clareadoras. Infarma. 2005;17(3/4):84–8.
40. Kusztra E. Rejuvenescimento facial. Graffoluz. 2017. 28–30 p.
41. Grimes PE. Melasma: Etiologic and Therapeutic Considerations. Arch Dermatol. 1995;131(12):1453–7.
42. Okoji UK, Taylor SC, Lipoff JB. Equity in skin typing: why it is time to replace the Fitzpatrick scale. Br J Dermatol. 2021;185(1):198–9.
43. Sánchez G; Nova J. Reliability and reproducibility of the Fitzpatrick phototype scale for skin sensitivity to ultraviolet light. Biomédica Rev del Inst Nac Salud. 2008;28(ISSN: 0120-4157):p.544-550.
44. Lima E A. IPCA® Indução percutânea de colágeno com agulhas. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2017. 67–72 p.
45. Blasco-Morente G, Garrido-Colmenero C, López IP, Tercedor-Sánchez J. Wood' light in dermatology: An essential technique. Piel [Internet]. 2014;29(8):487–94. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.piel.2014.03.015>
46. Ito S. IFPCS presidential lecture: A chemist's view of melanogenesis. Pigment Cell Res. 2003;16(3):230–6.
47. Liu JJ, Fisher DE. Lighting a path to pigmentation: Mechanisms of MITF induction by UV. Pigment Cell Melanoma Res. 2010;23(6):741–5.
48. Atefi N, Dalvand B, Ghassemi M, Mehran G, Heydarian A. Therapeutic Effects

- of Topical Tranexamic Acid in Comparison with Hydroquinone in Treatment of Women with Melasma. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2017;7(3):417–24.
49. El-Husseiny R, Rakha N, Sallam M. Efficacy and safety of tranexamic acid 5% cream vs hydroquinone 4% cream in treating melasma: A split-face comparative clinical, histopathological, and antera 3D camera study. *Dermatol Ther*. 2020;33(6):1–7.
50. Galache TR, Sena MM, Tassinary JAF, Pavani C. Photobiomodulation for melasma treatment: Integrative review and state of the art. *Photodermat Photoimmunol Photomed [Internet]*. 2023 Nov 28;00:1–14. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/phpp.12935>
51. Barreiros, André L B S E a. Extresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova*. 2006;29(1):113–23.
52. Rahimi H, Mirnezami M, Yazdabadi A, Hajishahemi A. Evaluation of systemic oxidative stress in patients with melasma. *J Cosmet Dermatol*. 2023;(June):1–5.
53. Chang TS, Chen CT. Inhibitory effect of homochlorcyclizine on melanogenesis in α -melanocyte stimulating hormone-stimulated mouse B16 melanoma cells. *Arch Pharm Res*. 2012 Jan;35(1):119–27.
54. Phansuk K, Vachiramon V, Jurairattanaporn N, Chanpraphap K, Rattananukrom T. Dermal Pathology in Melasma: An Update Review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2022;15(October 2021):11–9.
55. Moon HR, Jo SY, Kim HT, Lee WJ, Won CH, Lee MW, et al. Loratadine, an H 1 Antihistamine, Inhibits Melanogenesis in Human Melanocytes. *Biomed Res Int*. 2019;2019.
56. Kumari J, Das K, Babaei M, Rokni GR, Goldust M. The impact of blue light and digital screens on the skin. *J Cosmet Dermatol*. 2023;22(4):1185–90.
57. Barolet D. Dual effect of photobiomodulation on Melasma: Downregulation of hyperpigmentation and enhanced solar resistance-a pilot study. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2018;11(4):28–34.
58. Wan J, Liao Z, Dong B, Jiang S, Lei T. Targeting senescent dermal fibroblasts responsible for hyperactive melanocytes in melasma. 2023;0:2022–4.
59. Espósito ACC, Brianezi G, Miot LDB, Miot HA. Fibroblast morphology, growth rate and gene expression in facial melasma. *An Bras Dermatol*. 2022;97(5):575–82.
60. Zorina A, Zorin V, Kudlay D, Kopnin P. Age-Related Changes in the Fibroblastic Differon of the Dermis: Role in Skin Aging. *Int J Mol Sci*. 2022;23(11).
61. Tozzo M, Bertoncello L BS. Biocosmético ou cosmético orgânico: revisão de literatura. *Rev Thêma Sci*. 2012;2:122–30.
62. Bernardes PG da S, Lima SB, Batista GF, Sobrinho HM da R, Sampaio LHF. Senile Solar Lentigo - Alternative Treatment Available on the Market of Aesthetic. *J Heal Sci*. 2018;20(4):283.
63. Stefanne G, Barbosa L, Pereira C, Costa M, Lopes MS, Luz FA. Manejo do melasma em mulheres adultas Management of melasma in adult women Manejo del melasma en mujeres adultas. 2021;2021:1–16.
64. Chen L, Xu Z, Jiang M, Zhang C, Wang X, Xiang L. Light-emitting diode 585 nm photomodulation inhibiting melanin synthesis and inducing autophagy in

- human melanocytes. *J Dermatol Sci* [Internet]. 2018;89(1):11–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.10.001>
- 65. Mota LR, Motta LJ, Duarte IDS, Horliana ACRT, Silva DDFT Da, Pavani C. Efficacy of phototherapy to treat facial ageing when using a red versus an amber LED: A protocol for a randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2018;8(5):1–7.
 - 66. Thirion L, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. Whitening effect of a dermocosmetic formulation: A randomized double-blind controlled study on melasma. *Int J Cosmet Sci*. 2006;28(4):263–7.
 - 67. Bagherani N. The efficacy of tranexamic acid in the treatment of melasma. *Dermatol Ther*. 2015;28(4):265.
 - 68. Sarkar R, Ghunawat S, Narang I, Verma S, Garg VK, Dua R. Role of broad-spectrum sunscreen alone in the improvement of melasma area severity index (MASI) and Melasma Quality of Life Index in melasma. *J Cosmet Dermatol*. 2019;18(4):1066–73.
 - 69. Addor FAS, Barcaui CB, Gomes EE, Lupi O, Marçon CR, Miot HA. Sunscreen lotions in the dermatological prescription: review of concepts and controversies. *An Bras Dermatol*. 2022 Mar;97(2):204–22.
 - 70. Chang YF, Lee TL, Oyerinde O, Desai SR, Aljabban A, Bay CP, et al. Efficacy and safety of topical agents in the treatment of melasma: What's evidence? A systematic review and meta-analysis. *J Cosmet Dermatol*. 2023;22(4):1168–76.
 - 71. Lima PB, Dias JAF, Cassiano D, Esposito ACC, Bagatin E, Miot LDB, et al. A comparative study of topical 5% cysteamine versus 4% hydroquinone in the treatment of facial melasma in women. *Int J Dermatol*. 2020;59(12):1531–6.
 - 72. Ribas J, Schettini APM, De Sousa Melo Cavalcante M. Exogenous ochronosis hydroquinone induced: A report of four cases. *An Bras Dermatol*. 2010;85(5):699–703.
 - 73. Zhang L, Tan WQ, Fang QQ, Zhao WY, Zhao QM, Gao J, et al. Tranexamic acid for adults with melasma: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Res Int*. 2018;2018.
 - 74. Verma P, Yadav KS. Novel formulations for topical delivery of tranexamic acid: assessing the need of epidermal targeting for hyperpigmentation disorders. *Expert Opin Drug Deliv* [Internet]. 2023;20(6):773–83. Available from: <https://doi.org/10.1080/17425247.2023.2206645>
 - 75. Kim KM, Lim HW. The uses of tranexamic acid in dermatology: a review. *Int J Dermatol*. 2023;62(5):589–98.
 - 76. Kim SJ, Park JY, Shibata T, Fujiwara R, Kang HY. Efficacy and possible mechanisms of topical tranexamic acid in melasma. *Clin Exp Dermatol*. 2016;41(5):480–5.
 - 77. Cho YH, Park JE, Lim DS, Lee JS. Tranexamic acid inhibits melanogenesis by activating the autophagy system in cultured melanoma cells. *J Dermatol Sci* [Internet]. 2017;88(1):96–102. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2017.05.019>
 - 78. Na JI, Choi SY, Yang SH, Choi HR, Kang HY, Park KC. Effect of tranexamic acid on melasma: A clinical trial with histological evaluation. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2013;27(8):1035–9.

79. Colferai MMT, Miquelin GM, Steiner D. Evaluation of oral tranexamic acid in the treatment of melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2019 Oct;18(5):1495–501.
80. Lee HC, Thng TGS, Goh CL. Oral tranexamic acid (TA) in the treatment of melasma: A retrospective analysis. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2016;75(2):385–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2016.03.001>
81. Konisky H, Balazic E, Jaller JA, Khanna U, Kobets K. Tranexamic acid in melasma: A focused review on drug administration routes. *J Cosmet Dermatol.* 2023;22(4):1197–206.
82. Lee JH, Park JG, Lim SH, Kim JY, Ahn KY, Kim MY, et al. Localized intradermal microinjection of tranexamic acid for treatment of melasma in Asian patients: A preliminary clinical trial. *Dermatologic Surg.* 2006;32(5):626–31.
83. Batory M, Rotsztejn H. Topical Formulations and Intradermal Injections of Tranexamic Acid in the Treatment of Hyperpigmentation - A Review. *Lett Drug Des Discov.* 2017;15(2):212–8.
84. Manosroi A, Podjanasoothon K, Manosroi J. Development of novel topical tranexamic acid liposome formulations. *Int J Pharm.* 2002;235(1–2):61–70.
85. Banihashemi M, Zabolinejad N, Jaafari MR, Salehi M, Jabari A. Comparison of therapeutic effects of liposomal Tranexamic Acid and conventional Hydroquinone on melasma. *J Cosmet Dermatol.* 2015;14(3):174–7.
86. Kim HJ, Moon SH, Cho SH, Lee JD, Kim HS. Efficacy and safety of tranexamic acid in melasma: A meta-analysis and systematic review. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(7):776–81.
87. Xu Y, Ma R, Juliandi J, Wang X, Xu B, Wang D, et al. Efficacy of functional microarray of microneedles combined with topical tranexamic acid for melasma. *Med (United States).* 2017;96(19).
88. Yousefi A, Khani Khoozani Z, Zakerzadeh Forooshani S, Omrani N, Moini AM, Eskandari Y. Is topical zinc effective in the treatment of melasma? A double-blind randomized comparative study. *Dermatologic Surg.* 2014;40(1):33–7.
89. Duarte I, Buense R, Kobata C. Fototerapia. An Bras Dermatol. 2006 Feb;81(1):74–82.
90. Tripodi N, Corcoran D, Antonello P, Balic N, Caddy D, Knight A, et al. The effects of photobiomodulation on human dermal fibroblasts in vitro: A systematic review. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2021 Jan 1;214:112100.
91. Yamada FR, da Silva MM, Scasni KR. O uso do LED para o tratamento da acne. *Surg Cosmet Dermatology.* 2017;9(4):316–23.
92. Estrela JV, Duarte CCF, Almeida DNA, Araruna VR, Silva RMV Da, Cavalcanti RL, et al. Efeito Do Led Na Flacidez Tissular Facial. Catussaba - ISSN 2237-3608. 2014;3(2):29–36.
93. Wanitphakdeedecha R, Lamphonrat T, Phothong W, Eimpunth S, Manuskiatti W. Local and systemic effects of low-level light therapy with light-emitting diodes to improve erythema after fractional ablative skin resurfacing: a controlled study. *Lasers Med Sci.* 2019;34(2):343–51.
94. Weiss RA, McDaniel DH, Geronemus RG, Weiss MA. Clinical trial of a novel non-thermal LED array for reversal of photoaging: Clinical, histologic, and surface profilometric results. *Lasers Surg Med.* 2005;36(2):85–91.

95. Bagnato VS. Os Fundamentos da luz laser. Física na Esc. 2001;2:4–9.
96. Sorbellini E, Rucco M, Rinaldi F. Photodynamic and photobiological effects of light-emitting diode (LED) therapy in dermatological disease: an update. Lasers Med Sci. 2018;33(7):1431–9.
97. Alster TS, Wanitphakdeedecha R. Improvement of postfractional laser erythema with light-emitting diode photomodulation. Dermatologic Surg. 2009;35(5):813–5.
98. Lopes, J.C, Pereira, L.P BI. Laser de baixa potência na estética - revisão de literatura. Rev Saúde em Foco [Internet]. 2018;10:429–37. Available from: http://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2018/07/055_Artigo_laser_de_baixa_potencia_na_estetica.pdf
99. Mota LR, da Silva Duarte I, Galache TR, dos Santos Pretti KM, Neto OC, Motta LJ, et al. Photobiomodulation Reduces Periocular Wrinkle Volume by 30%: A Randomized Controlled Trial. Photobiomodulation, Photomedicine, Laser Surg. 2023;41(2):48–56.
100. Camargo MFP de, Regis TN. Estudo do estímulo de colágeno através da aplicação de luz led. Brazilian J Dev. 2020;6(7):49796–803.
101. Culura BG, Costa CFR da LC. Fototerapia e eletrolifting no tratamento de rugas estáticas. Rev Científica do Unisalesiano. 2014;11.
102. Oh CT, Kwon TR, Choi EJ, Kim SR, Seok J, Mun SK, et al. Inhibitory effect of 660-nm LED on melanin synthesis in in vitro and in vivo. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2017;33(1):49–57.
103. Kim JM, Kim NH, Tian YS, Lee AY. Light-emitting diodes at 830 and 850 nm inhibit melanin synthesis in vitro. Acta Derm Venereol. 2012;92(6):675–80.
104. Mohamed E elden M, Younes A khalek H. Eficácia do laser pró-amarelo de 577 nm no tratamento do melasma : uma perspectiva de dupla face estude. 2020;4172:6–10.
105. Murase D, Hachiya A, Takano K, Hicks R, Visscher MO, Kitahara T, et al. Autophagy has a significant role in determining skin color by regulating melanosome degradation in keratinocytes. J Invest Dermatol [Internet]. 2013;133(10):2416–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jid.2013.165>
106. Lee HI, Lim YY, Kim BJ, Kim MN, Min HJ, Hwang JH, et al. Clinicopathologic efficacy of copper bromide plus/yellow laser (578 nm with 511 nm) for treatment of Melasma in Asian patients. Dermatologic Surg. 2010;36(6):885–93.
107. Dai X, Jin S, Xuan Y, Yang Y, Lu X, Wang C, et al. 590 nm LED Irradiation Improved Erythema through Inhibiting Angiogenesis of Human Microvascular Endothelial Cells and Ameliorated Pigmentation in Melasma. Cells. 2022;11(24).
108. Calatayud PA, Rolim LM, Soranz MA, Santo E del DM. O papel do intestino nas doenças dermatológicas : Revisão de literatura. 2020;1–12.
109. Mota, ES, Kiss DR, Teixeira MG, Almeida MG de, Sanfront F de A, Habr-Gama A et al. Manifestações extra-intestinais em doença de Chrhn e retocolite ulcerativa: prevalência e correlação com o diagnóstico, extensão, atividade, tempo de evolução da doença. Rev bras colo-proctol. 2007;27:349–63.

110. Khalil NY, Darwish IA, Al-Qahtani AA. Isotretinoin. Profiles Drug Subst Excipients Relat Methodol. 2020;45:119–57.
111. Piana M, Canto GS. Antiacneicos Pharmaceutical Care in Dermatology: Antiacneics Drugs. Saude. 2010;36(2):39–53.
112. Gouveia M, Gameiro A, Coutinho I, Gonçalo M. Drug-Induced Photosensitivity. 2016;74(March):123–35.
113. Mohamed EEM, Younes AKH, Hussein GM. Efficacy of 577 nm pro-yellow laser in the treatment of melasma: a prospective split-face study. J Cosmet Laser Ther [Internet]. 2020;22(2):107–10. Available from: <https://doi.org/10.1080/14764172.2020.1744661>
114. Flight L, Julious SA. Practical guide to sample size calculations: Non-inferiority and equivalence trials. Pharm Stat. 2016;15(1):80–9.
115. Kimbrough-Green CK. Topical Retinoic Acid (Tretinoin) for Melasma in Black Patients. Arch Dermatol. 1994 Jun;130(6):727.
116. Maranzato CFP. Desenvolvimento e validação de um questionário multidimensional de avaliação da qualidade de vida relacionada ao melasma (Hrq-melasma). Development and validation of a multidimensional questionnaire to assess quality of life related to melasma. 2016;
117. Fioranelli M, Jafferany M, Wollina U, Tirant M, Van Thuong N, Lotti T. New local treatments for different types of melasma: Vascular type vs nonvascular type. A randomized polycentric study. Dermatol Ther. 2020 May;33(3).
118. Pandya AG, Hynan LS, Bhore R, Riley FC, Guevara IL, Grimes P, 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 [Internet]. 2011;64(1):78-83.e2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2009.10.051>
119. Lueangarun S, Sirithanabadeekul P, Wongwicharn P, Namboonlue C, Pacharapakornpong S, Juntongjin P, et al. Intradermal Tranexamic Acid Injection for the Treatment of Melasma: A Pilot Study with 48-week Follow-up. J Clin Aesthet Dermatol [Internet]. 2020;13(8):36–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33178380%0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC7595366>
120. Weber JF, Fernandes dos Santos AL. Utilização do software ImageJ para avaliar área de lesão dermonecrótica. Rev Saúde Digit e Tecnol Educ. 2019;4(1):120–30.
121. Fleischer AB, Schwartzel EH, Colby SI, Altman DJ. The combination of 2% 4-hydroxyanisole (Mequinol) and 0.01% tretinoin is effective in improving the appearance of solar lentigines and related hyperpigmented lesions in two double-blind multicenter clinical studies. J Am Acad Dermatol. 2000;42(3):459–67.
122. Vingan NR, Panton JA, Barillas J, Lazzarini A, Hoopman J, Kenkel JM, et al. Investigating the efficacy of a fractionated 1927 nm laser for diffuse dyspigmentation and actinic changes. Lasers Surg Med. 2023;55(4):344–58.
123. Saska S, Gaspar AMM, Hochuli-Vieira E. Adesivos à base de cianoacrilato para síntese de tecido mole. An Bras Dermatol. 2009 Dec;84(6):585–92.
124. Miot LDB, Miot HA, Silva MG da, Marques MEA. Estudo comparativo morfológico de melanócitos em lesões de melasma. An Bras Dermatol.

- 2007;82(6):529–34.
125. Carriel VS, Aneiros-Fernandez J, Arias-Santiago S, Garzón IJ, Alaminos M, Campos A. A novel histochemical method for a simultaneous staining of melanin and collagen fibers. Vol. 59, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 2011. p. 270–7.
 126. Brasil. Manual Para Notificação De Eventos Adversos E Monitoramento De Segurança Em Ensaios Clínicos. 2016;18. Available from: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Manual+para+Notificação+de+Eventos+Adversos+e+Monitoramento+de+Segurança+em+Ensaios+Clínicos+-+1ª+Edição/04a68574-8aac-43c9-b0b2-7b7cd80831c4>
 127. ANVISA. Manual para notificação de evento adversos e monitoramento de segurança em ensaios clínicos envolvendo dispositivos médicos em investigação. 2016;1ª edição:19p.
 128. Venulet J, Bankowski Z. Harmonising adverse drug reaction terminology: the role of the Council for International Organizations of Medical Sciences. *Drug Saf* [Internet]. 1998;19(3):165–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9747664>
 129. Balkrishnan R, McMichael AJ, Camacho FT, Saltzberg F, Housman TS, Grummer S, et al. Development and validation of a health-related quality of life instrument for women with melasma. *Br J Dermatol*. 2003 Sep;149(3):572–7.
 130. Cestari TF, Hexsel D, Viegas ML, Azulay L, Hassun K, Almeida ART, et al. Validation of a melasma quality of life questionnaire for Brazilian Portuguese language: The MelasQoL-BP study and improvement of QoL of melasma patients after triple combination therapy. *Br J Dermatol*. 2006;156(SUPPLE. 1):13–20.
 131. Pollo CF, Miot LDB, Meneguin S, Miot HA. Development and validation of a multidimensional questionnaire for evaluating quality of life in melasma (HRQ-melasma). *An Bras Dermatol* [Internet]. 2018;93(3):391–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/abd1806-4841.20186780>
 132. Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: A comprehensive review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:455–61.
 133. Turner L, Shamseer L, Altman DG, Weeks L, Peters J, Kober T, et al. Consolidated standards of reporting trials (CONSORT) and the completeness of reporting of randomised controlled trials (RCTs) published in medical journals. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 Nov 14;2013(1). Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.MR000030.pub2>
 134. Rivas S, Pandya AG. Treatment of Melasma with Topical Agents, Peels and Lasers: An Evidence-Based Review. *Am J Clin Dermatol* [Internet]. 2013 Oct 24;14(5):359–76. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40257-013-0038-4>
 135. Instituto Nacional Metereologia. 2023 é o mais quente em 174 anos, confirma relatório da OMM [Internet]. 2023. Available from: <https://portal.inmet.gov.br/noticias/2023-é-o-mais-quente-em-174-anos-confirma-relatório-da-omm>
 136. INPE, INMET, ANA, CENAD. Painel El Niño 2023-2024. 2023;(02). Available from: <https://portal.inmet.gov.br/uploads/notastecnicas/El-Niño-2023-boletim-de-outubro.pdf>

137. Instituto Nacional de Metereologia (INMET). Julho de 2023 foi o mais quente no Brasil desde 1961 [Internet]. 2023. Available from: <https://portal.inmet.gov.br/noticias/julho-de-2023-foi-o-mais-quente-no-brasil-desde-1961>
138. Khan QA, Abdi P, Farkouh C, Anthony MR, Chundru A, Amatul F, et al. Effectiveness of laser and topical tranexamic acid combination therapy in melasma: An updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Lasers Med Sci* [Internet]. 2023 Jun 16;38(1):139. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s10103-023-03810-5>
139. Pennitz A, Kinberger M, Avila Valle G, Passeron T, Nast A, Werner RN. Self-applied topical interventions for melasma: a systematic review and meta-analysis of data from randomized, investigator-blinded clinical trials*. *Br J Dermatol.* 2022;187(3):309–17.
140. Thawabteh AM, Jibreel A, Karaman D, Thawabteh A, Karaman R. Skin Pigmentation Types, Causes and Treatment—A Review. *Molecules* [Internet]. 2023 Jun 18;28(12):4839. Available from: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/12/4839>
141. Lam T, Medcalf RL, Cloud GC, Myles PS, Keragala CB. Tranexamic acid for haemostasis and beyond: does dose matter? *Thromb J* [Internet]. 2023 Sep 12;21(1):94. Available from: <https://thrombosisjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12959-023-00540-0>
142. Kim KM, Lim HW. The uses of tranexamic acid in dermatology: a review. *Int J Dermatol* [Internet]. 2023 May 24;62(5):589–98. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ijd.16160>
143. Ishack S, Lipner SR. Exogenous ochronosis associated with hydroquinone: a systematic review. *Int J Dermatol.* 2022;61(6):675–84.

10. APÊNDICES

APÊNDICE 1 : Triagem inicial (prontuário) – Saúde Geral

Participante: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

CEP: _____

CPF: _____ RG: _____

Estado Civil: _____ Gênero: () Masculino () Feminino () Outros

Solteiro

Casado

Profissão: _____

Divorciado

Viúvo

Outros

Data de Nascimento: ____/____/____

E-mail _____

Autoriza contato por e-mail? () Sim () Não

Telefone: _____

Autoriza contato por telefone? () Sim () Não

Se sim, prefere contato por ligação ou WhatsApp? () Ligação () WhatsApp

Qual o melhor horário para as ligações? _____

O pesquisador confirma que solicitou que o participante salve em sua agenda o telefone que será utilizado para contato? () SIM

Nome e Telefone de um amigo ou familiar próximo:

CRITÉRIOS - USO PROFISSIONAL

- Idade entre 35 e 50 anos? ()SIM ()Não – EXCLUIR
- Apresenta melasma? ()SIM ()Não - EXCLUIR

Fototipo:

Tipo de pele	Cor	Reação ao sol
Tipo I	Muito branca ou sardenta	Sempre se queima
Tipo II	Branca	Geralmente se queima
Tipo III	Branca a moreno claro	Algumas vezes se queima
Tipo IV	Morena	Raramente se queima
Tipo V	Moreno escura	Muito raramente se queima
Tipo VI	Negra	Nunca se queima

- I (Excluir)
- II (Incluir)
- III (Incluir)
- IV (Incluir)
- V (Excluir)
- VI(Excluir)

Apresenta alguma das enfermidades abaixo? Se sim, excluir.

<input type="checkbox"/> Psoríase	<input type="checkbox"/> Lupus
<input type="checkbox"/> Vitiligo	<input type="checkbox"/> Tireoide
<input type="checkbox"/> Rosácea	<input type="checkbox"/> Doença de Crohn
<input type="checkbox"/> Dermatoses	<input type="checkbox"/> Retrocolite ulcerativa idiopática
<input type="checkbox"/> Esclerose múltipla	<input type="checkbox"/> Ovários policísticos

1. Está grávida ou amamentando? () NÃO () SIM - EXCLUIR
2. Utiliza ou utilizou Isotretinoína (Roacutan®) há menos de 6 meses? () NÃO
() SIM - EXCLUIR
3. Está fazendo ou fez algum tratamento facial há menos de 3 meses? () NÃO
() SIM - EXCLUIR

4. Possui alergia a cremes ou loções? () NÃO () SIM - EXCLUIR

5. Está usando anticoncepcional oral ou DIU? () NÃO () SIM – EXCLUIR
6. Está realizando algum tratamento para melasma no momento? () NÃO () SIM – EXCLUIR
7. Está utilizando algum tipo de ácido para a pele no momento (ácido retinóico, vit A ou outros)? () NÃO () SIM – EXCLUIR
8. Está utilizando uso de algum fármaco intra oral ou tópico que seja sensibilizante (com alguma resposta anormal na pele)? () NÃO () SIM – EXCLUIR
9. Possui alguma doença ou problema de pele? () NÃO () SIM – EXCLUIR
10. Possui glaucoma? () NÃO () SIM – EXCLUIR
11. Tem ou já teve algum tipo de tumor (Câncer)? () NÃO () SIM – EXCLUIR
12. Possui algum distúrbio da tireoide? () NÃO () SIM – EXCLUIR
13. Está fazendo reposição hormonal? () NÃO () SIM – EXCLUIR
14. Possui tendência a formação de quelóide? () NÃO () SIM – EXCLUIR
15. Está com alguma infecção viral, bacteriana ou fúngica? () NÃO () SIM – EXCLUIR
16. Trabalha em local de exposição solar? () NÃO () SIM – EXCLUIR

SAÚDE GERAL:

1. Tem algum problema de saúde? () NÃO () SIM QUAIS?

2. Atualmente está sob tratamento médico? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

3. Está tomando algum medicamento? () NÃO () SIM QUAIS?

4. Possui algum tipo de alergia? () NÃO () SIM QUAIS?

5. Tem sopro ou outra doença no coração? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

6. Tem doença nos rins? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

7. Tem ou teve doença no fígado? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

8. Tem febre com frequência? () NÃO () SIM FREQUÊNCIA:

9. Diabetes? () NÃO () SIM CONTROLADA?

10. Anemia? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

11. Epilepsia ou convulsões? () NÃO () SIM FREQUÊNCIA:

12. Aids (HIV+)? () NÃO () SIM CONTROLADO?

13. Usa marca passo? () NÃO () SIM QUANTO TEMPO?

14. Tem problema de pressão arterial? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

15. Está tomando anticoagulante (aspirina ou Ginko Biloba)? () NÃO () SIM

16. Você fuma ou já foi fumante? () NÃO () SIM QUANTOS POR DIA?

17. Toma antidepressivo? () NÃO () SIM

18. Já utilizou ácido na pele? () NÃO () SIM QUAL?

19. Já fez algum tratamento facial? () NÃO () SIM QUAL?

20. Que produto de pele usa atualmente?

21. Já realizou algum tratamento estético? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

22. Possui intolerância à lactose? () NÃO () SIM

23. Possui algum tipo de problema na pele? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

24. Possui alergia a albumina (proteína do ovo)? () NÃO () SIM

25. Nos próximos dias e meses participará de algum evento importante? () NÃO ()
SIM

26. Trabalha ou vive em local muito quente? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

27. Já teve ou está com herpes labial? () NÃO () SIM

28. Possui algum tipo de distúrbio hormonal? () NÃO () SIM ESPECIFIQUE:

29. Alguém da sua família possui melasma? () SIM () NÃO Qual o
parentesco? _____

Observação (uso profissional) :

APÊNDICE 2 Diagnóstico complementar da pele

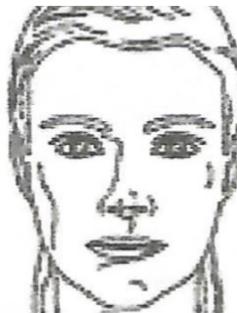
Participante:	Número do Prontuário:
---------------	-----------------------

PELE DIAGNÓSTICO: fina () lipídica () comedões abertos () rugas ()
desidratada () cicatrizes de acne () mista () grossa ()
opaca () comedões fechados () flacidez () poros abertos ()
hipercromias () fotoenvelhecimento () telangiectasias ()
comedões inflamados () lentigo senil () efélides () melasma ()
vitílico () hiperpigmentação pós-inflamatória () albinismo ()
outros () _____

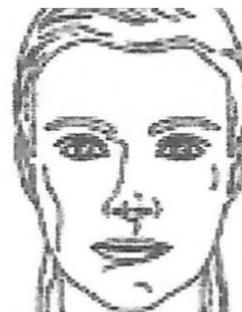
Observação: _____

PADRÃO DO MELASMA: (marcar na figura ao lado)

- A- Malar direito
- B- Malar esquerdo
- C- Centro Malar
- D- Mandibular ou Mento

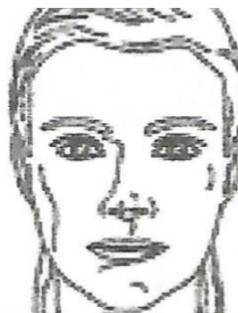
**GRAVIDADE DO MELASMA:** (marcar onde se aplica)

- 0- Resíduo mínimo de pigmentação (claro);
- 1- Leve, ligeiramente mais escuro do que o ambiente área;
- 2- Moderado, mais escuro que a área circundante;
- 3- Severo, mais escuro do que a área circundante.

**LOCAL ONDE SERÁ REALIZADO A MEDIDA DA CORNEOMELAMETRIA:**

(marcar na figura ao lado)

- A- Malar direito
- B- Malar esquerdo
- C- Frontal (testa)
- D- Mento



APÊNDICE 3: DESCRIÇÃO DOS HÁBITOS DIÁRIOS DURANTE O ESTUDO

Participante:	Número do prontuário:
Período:	

DESCRIÇÃO DOS HÁBITOS DIÁRIOS DURANTE O ESTUDO

Importante: Utilize sempre dias consecutivos para a avaliação, inclusive fim de semana e feriados. Coloque nas observações algo que sentiu de diferente na pele. (coceira, ardência, queimação, espinhas, qualquer tipo de alergia, etc). Ou mesmo se esqueceu ou diminuiu o tempo de uso de produtos a serem utilizados.

1ºDIA	/	/			
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM COMPUTADOR	USO DE PROTETOR SOLAR	USO DO DESPIGMENTANTE 2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

2ºDIA	/	/			
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM COMPUTADOR	USO DE PROTETOR SOLAR	USO DO DESPIGMENTANTE 2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

3ºDIA	/	/			
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM COMPUTADOR	USO DE PROTETOR SOLAR	USO DO DESPIGMENTANTE 2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

4ºDIA	<u> </u>	<u> </u>	<u> </u>
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM COMPUTADOR	USO DE PROTETOR SOLAR	USO DO DESPIGMENTANTE 2X AO DIA
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:			

5º DIA	<u> </u>	/	<u> </u>	/	<u> </u>
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM	USO DE PROTETOR	USO DO DESPIGMENTANTE		
	COMPUTADOR	SOLAR	2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

6º DIA	<u> </u>	/	<u> </u>	/	<u> </u>
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM	SO DE PROTETOR	USO DO DESPIGMENTANTE		
	COMPUTADOR	SOLAR	2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

7º DIA	<u> </u>	/	<u> </u>	/	<u> </u>
EXPOSIÇÃO AO SOL	TRABALHO COM COMPUTADOR	USO DE PROTETOR SOLAR	USO DO DESPIGMENTANTE 2X AO DIA		
() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO	() SIM	() NÃO
OBSERVAÇÃO:					

APÊNDICE 4: CHECK LIST - REGISTROS FOTOGRÁFICOS

Participante:	Número do prontuário:
Período:	

Registros Fotográficos (branca e azul)	Frontal	Perfil direito	Perfil esquerdo	Mento
Dia da triagem e coleta dos dados (identificação) Data: ____/____/____ Pesquisador:_____	<input type="checkbox"/> Branca	<input type="checkbox"/> Branca	<input type="checkbox"/> Branca	<input type="checkbox"/> Branca
Coleta da Corneometria – somente do local (depois) Data: ____/____/____ Pesquisador:_____				
Primeiro dia antes da aplicação da FBM ou “sham” (MASI) Data: ____/____/____ Pesquisador:_____	<input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Azul			
6° semana da aplicação da FBM ou “sham” (MASI) Data: ____/____/____ Pesquisador:_____	<input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Azul			
12° semana da pesquisa (MASI) Data: ____/____/____ Pesquisador:_____	<input type="checkbox"/> Branca <input type="checkbox"/> Azul			

Pergunta a ser feita no último dia da consulta do participante (12º dia do estudo), para saber sobre o cegamento da pesquisa:

Em relação ao tratamento realizado na pesquisa, você acha que participou do grupo de tratamento com **laser** ou **despigmentante** cosmético clareador tranexâmico?

() Grupo de **laser** () Grupo de clareador cosmético **despigmentante** Tranexâmico

11. ANEXOS

ANEXO A: MELASQoL-PB- Versão em português falado no Brasil:

Participante:	Número do prontuário:
---------------	-----------------------

Considerando a sua doença, MELASMA, assinale com um círculo como você se sente em relação aos itens listados em cada uma das perguntas:

	Nem um pouco incomodado	Não incomodado na maioria das vezes	Não incomodado algumas vezes	Neutro	Incomodado algumas vezes	Incomodado na maioria das vezes	Incomodado todo o tempo
1. A aparência da sua pele	1	2	3	4	5	6	7
2. Frustração pela condição da sua pele	1	2	3	4	5	6	7
3. Constrangimento pela condição de sua pele	1	2	3	4	5	6	7
4. Sentindo-se depressivo pela condição da sua pele.	1	2	3	4	5	6	7
5. Os efeitos da condição da sua pele no relacionamento com outras pessoas (por ex: interações com a família amigos, relacionamentos íntimos)	1	2	3	4	5	6	7

6. Os efeitos da condição da sua pele sobre o seu desejo de estar com as pessoas	1	2	3	4	5	6	7
7. A condição da sua pele dificulta a demonstração de afeto	1	2	3	4	5	6	7
8. As manchas da pele fazem você não se sentir atraente para os outros	1	2	3	4	5	6	7
9. As manchas da pele fazem você se sentir menos importante ou produtivo.	1	2	3	4	5	6	7
10. As manchas da pele afetam o seu senso de liberdade.	1	2	3	4	5	6	7

O pesquisador checou se participante respondeu à todas as perguntas? () SIM () Não

Responsável: _____

Data:

Somatório das respostas:_____ (uso profissional) – Utilizado somente depois pelo pesquisador de análise

ANEXO B: MASI – melasma Area and Severity Index

Participante: _____	Número do Prontuário: _____
---------------------	-----------------------------

MASI	Fronte (F)	Malar direita (MR)	Malar esquerda (ML)	Mento (C)
Percentagem total de área acometida: de 0 (pele normal) até 6 (90 a 100% de superfície acometida) (A)				
Hiperpigmentação: de 0 (ausente) até 4 (máxima) (D)				
Homogeneidade da hiperpigmentação: de 0 (mínima) até 4 (máxima) (H)				

MASI= 0,3 (DF+ HF)*F + 0,3 (DMR + HMR)*MR + 0,3(DML + HML)*ML + 0,1(DC + HC)*C
--

TOTAL=_____

ANEXO C**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE**

Nome da Participante:	
Endereço:	
Cidade:	CEP:
Telefone:	Fixo: _____ Celular: _____
E-mail:	

1. Título do Trabalho Experimental: Fotobiomodulação com luz âmbar no tratamento de melasma: ensaio clínico, randomizado, controlado, duplo cego.

2. Objetivo: Avaliar o efeito da fotobiomodulação com luz âmbar (equipamento emitindo luz amarela) no tratamento de melasma (manchas escuras no rosto) comparado ao efeito do ativo tranexâmico a 5% (creme cosmético clareador).

3. Justificativa: O melasma é uma doença de pele sem cura, caracterizada por manchas escuras na maioria das vezes no rosto, mas que pode ser controlada. É uma doença muito comum e pode estar relacionada ao sol, gravidez, uso de pílulas anticoncepcionais e outros hormônios, entre outras causas. Muitas vezes, essas manchas no rosto podem constranger a mulher e piorar seu relacionamento com outras pessoas, o que diminui a sua qualidade de vida.

4. Procedimentos da Fase Experimental: Você está sendo convidada a participar deste estudo comparando dois diferentes tratamentos para manchas no rosto. Em um primeiro momento você responderá algumas perguntas ao profissional do grupo de pesquisa informando sobre seu histórico de saúde e seus hábitos de vida para verificarmos se você se encaixa nos critérios estabelecidos para participar da pesquisa. Em seguida, estando apto a participar será realizado registros fotográficos do seu rosto com seu nome para sua identificação e também na mesma sessão, você receberá um tratamento facial chamado peeling. Este procedimento envolve a aplicação de um produto em seu rosto que ficará em contato por no máximo 15 minutos. No momento da aplicação sua pele pode apresentar leve coceira, vermelhidão ou ardência e nos dias subsequentes ao peeling a sua pele pode apresentar leve descamação. Por fim, você responderá a um questionário de qualidade de vida que inclui perguntas de como o melasma afeta sua vida.

Na semana seguinte você deverá comparecer para a avaliação da sua pele e dar início ao tratamento. Para a avaliação, você será convidada a posicionar seu rosto de frente e pelas laterais e um equipamento em que serão realizadas fotos do seu rosto com luz branca e luz negra, para

análise posterior com examinadores. No decorrer do tratamento serão feitas várias fotos para registro e análise.

Independentemente da sua participação nesta pesquisa, você poderá escolher permitir o uso de sua imagem. Se você aceitar, você terá que assinar o Termo de Autorização de Imagem ou Som. Caso contrário, suas fotos, vídeos ou áudios não poderão ser utilizadas(os) pelos pesquisadores.

No mesmo dia, será feita uma análise no rosto, exatamente no local de uma mancha, chamada corneomelametria e será realizada com uma gota da cola líquida em uma folha transparente pequena e este material será pressionado firmemente na área a ser analisada por 15 a 30s, se adaptando às curvas do seu rosto. Em seguida, esta folha é removida de uma vez, rapidamente.

Na sessão de tratamento, você terá seu rosto higienizado com água micelar (um produto cosmético para limpeza e demaquilação), seguido da limpeza com sabonete. Em seguida, seus olhos serão protegidos com gaze, óculos próprios e por cima uma toalha da cor preta, também será colocado um fone de ouvido com música de relaxamento e em seguida, seu rosto receberá o tratamento com a luz amarela. Após a sessão seu rosto receberá filtro solar. Você receberá um produto clareador e um filtro solar para uso diário, além das orientações de uso de forma verbal e escrita. Você também receberá um livreto para anotar o uso dos produtos e mudanças que você notar na sua pele, como vermelhidão ou ardência. Você será atendida em consultório, uma vez por semana, durante 12 semanas, totalizando 3 meses de tratamento. Iremos pedir que retorne em consulta, após 4 e 8 semanas após a finalização dos tratamentos, para avaliar o controle ou aumento das manchas. As consultas durarão em média de 1 hora a 1 hora e 30 minutos cada, nas sextas feiras ou sábados, conforme pré-agendamento feito com o pesquisador. Eventualmente, se caso ocorrer algum feriado nesses dias, novas datas serão acordadas entre as partes.

Sobre os tratamentos realizados, os participantes serão divididos por sorteio em dois grupos. Um deles fará o uso da luz amarela e receberá um creme para hidratação da pele, enquanto o grupo selecionado para utilizar o creme clareador, receberá um tratamento com luz sem efeito. Portanto, você poderá ser alocada em quaisquer destes grupos.

Na metade e ao final do tratamento você novamente será avaliada seguindo os procedimentos já descritos anteriormente. Você também será perguntado sobre como sua pele reagiu em relação aos tratamentos (se houve ardência, coceira, vermelhidão, etc).

5. Desconforto ou Riscos Esperados: O peeling enzimático pode deixar a sua pele avermelhada após a aplicação e com sensação de ressecamento, seguida de descamação (que pode ou não ocorrer, com duração média de 3 a 5 dias). Com o uso da luz amarela (fotobiomodulação) você pode sentir pequeno aquecimento local e sensibilização da pele. Caso haja a necessidade de interrupção e/ou suspensão do tratamento, os pesquisadores estarão sempre à disposição para que você seja prontamente atendida. Os despigmentantes (clareadores), podem causar vermelhidão, ardência, alergias, dermatites, acne, edema, inflamação, entre outros. A análise de corneomelametria pode gerar desconforto, dor, vermelhidão, ardência, coceira, alergias, e para diminuir o desconforto, será aplicado sobre a pele antes e depois da análise, um resfriador para uma anestesia leve da pele. Os questionários podem causar algum constrangimento durante o

preenchimento. Quaisquer destes desconfortos devem ser notificados imediatamente ao pesquisador.

Durante todo o período do estudo não poderá se expor, sem proteção físico/químico, a qualquer tipo de radiação UVA/UVB/Luz visível (luz solar) e a lugares muito quentes, com perigo de novas manchas.

6. Medidas protetivas aos riscos:

Sensações como ardor, calor, rubor e coceira são comuns na área tratada após o procedimento. Caso haja incômodo, o participante poderá realizar compressas frias com soro fisiológico ou água.

O preenchimento dos questionários será realizado em sala reservada para evitar constrangimentos, com total discrição. Os nomes dos participantes não serão divulgados, e seus dados ficarão em sigilo, sendo utilizados somente junto aos demais participantes para divulgação dos resultados do estudo. Para minimizar os desconfortos durante o tratamento, as sessões serão feitas por profissional devidamente capacitados. Além disso, as orientações quanto ao uso do clareador e do filtro solar, além da minimização de exposição ao sol e calor serão fornecidas por escrito para que você possa consultar sempre que necessário. Você terá ao número de celular e WhatsApp dos pesquisadores para dúvidas e questionamentos, além de qualquer problema que possa acontecer durante todo o tempo do estudo.

Os dados do estudo, poderão ser utilizadas para publicação em revista científica, painéis, palestras, cursos, congressos, mas seus dados, como nome, não serão divulgados, estarão em sigilo.

7. Benefícios da Pesquisa: Ao aceitar participar da pesquisa você terá acesso a um tratamento para controle da doença melasma no qual poderá ter suas manchas atenuadas ou diminuídas. Além disso, a pesquisa em questão tem como objetivo levar contribuições que sejam relevantes para a comunidade científica, haja vista que condições relacionadas ao melasma afetam diretamente no bem-estar, qualidade de vida e saúde da população.

O valor do tratamento e os cosméticos utilizados serão realizados e entregues sem custo para o participante.

Caso você tenha realizado o tratamento com terapia experimental com luz amarela (fotobiomodulação), poderá receber o tratamento convencional com o cosmético clareador (ácido tranexâmico) para tratamento do melasma ao final do estudo, sem custo, caso o tratamento com a luz amarela não tenha obtido o mesmo benefício do grupo com cosmético clareador, uma vez que não é conhecido o benefício direto da luz amarela (fotobiomodulação) nas pessoas. Além disso, a pesquisa em questão tem como objetivo levar contribuições que sejam relevantes para a comunidade científica, haja vista que, condições relacionadas ao melasma afetam diretamente no bem-estar, qualidade de vida e saúde da população.

8. Métodos Alternativos Existentes: Existem hoje, vários tratamentos para essas manchas escuras no rosto realizado à base de substâncias clareadoras da pele como cremes, loções, géis, pomadas, peeling químico e também com uso da técnica como o microagulhamento, além de uso de lasers de alta potência.

9. Retirada do Consentimento: Você poderá em qualquer momento desistir de participar da pesquisa e poderá retirar seu consentimento da participação ou mesmo solicitar remoção de seus dados e fotos, sem nenhum prejuízo.

10. Garantia do Sigilo: Considerando o artigo 6º III e 39º VI da Lei 8.078/90 do Código de Defesa do Consumidor, que garantem ao participante a plena informação sobre os serviços adquiridos e seu estado de saúde, além do presente termo, também considera-se a Lei Geral de Proteção de Dados (Lei nº13.709/2018), que implica sobre os direitos das pessoas sobre documentos, segurança e privacidade das suas informações, inclusive em meios digitais. Todos os profissionais envolvidos no estudo garantem total sigilo sobre todos os dados e informações fornecidos por você para a pesquisa em questão. Ao final da pesquisa você será informada a respeito dos resultados obtidos.

11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: Os pesquisadores fornecerão os produtos cosméticos para uso em casa como clareadores, protetor solar e sabonete neutro. Você deverá arcar com custos de alimentação, condução e outros despesas que não estão especificados anteriormente para participação no estudo. Os pesquisadores não se obrigam a fornecer atestados, certidões e/ou segunda via de documentos.

Se houver algum dano decorrente da pesquisa, você terá direito a solicitar indenização através das vias judiciais (Resolução CNS nº. 510/16, Artigo 17, Inciso IX).

12. Local da Pesquisa: Os tratamentos serão realizados em consultório particular, CNES 5194164, situado no endereço da Avenida Goiás, 1800 sala 113, na cidade de São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil. E-mail: odontologia.galache@uol.com.br

Os tratamentos também poderão ser realizados na Universidade Nove de Julho – Campus Vergueiro, localizado na Rua Vergueiro, nº 235/249 – Liberdade, São Paulo – SP, CEP 01504-001.

13. Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) é um colegiado interdisciplinar e independente, que deve existir nas instituições que realizam pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil, criado para defender os interesses dos participantes de pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento das pesquisas dentro dos padrões éticos (Normas e Diretrizes Regulamentadoras da Pesquisa envolvendo Seres Humanos – Res. CNS nº 466/12 e Res. CNS 510/2016). O Comitê de Ética é responsável pela avaliação e acompanhamento dos protocolos de pesquisa no que corresponde aos aspectos éticos. **Endereço do Comitê de Ética da Uninove:** Rua. Vergueiro nº 235/249 – 12º andar – Liberdade – São Paulo – SP CEP. 01504-001. Telefone: 3385-9010. E-mail: comitedeetica@uninove.br

Horários de atendimento do Comitê de Ética: segunda-feira a sexta-feira – Das 11h30 às 13h00 e Das 15h30 às 19h00

14. Nome completo e contato dos pesquisadores (orientadora e alunos): Thaís Rodrigues Galache (011) 94349-3877 (telefone e WhatsApp); Prof. Dra. Christiane Pavani - (011) 97041-3862 (WhatsApp),

15. Eventuais intercorrências que vierem a surgir no decorrer da pesquisa poderão ser discutidas pelos meios informados.

São Paulo, _____ de _____.

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmo que recebi uma via deste termo de consentimento, e autorizo a realização do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos somente neste estudo no meio científico.

Assinatura do Participante ou Representante Legal.

Eu, Thaís Rodrigues Galache, certifico que:

- a) Esta pesquisa só terá início após a aprovação do(s) referido(s) Comitê(s) de Ética em Pesquisa o qual o projeto foi submetido.
- b) Considerando que a ética em pesquisa implica o respeito pela dignidade humana e a proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos;
- c) Este estudo tem mérito científico e a equipe de profissionais devidamente citados neste termo é treinada, capacitada e competente para executar os procedimentos descritos neste termo;

Thaís Rodrigues Galache CROSP 60319

ANEXO D: Diagnóstico final global da pele. Fonte: Pandya²¹

Participante:

Data de Nascimento:

Avaliação global do pesquisador: (marcar onde se aplica)

- 0- Claro, exceto para possível descoloração residual
- 1- Eliminação quase clara, muito significativa (c. 90%); apenas pequenas evidências de hiperpigmentação permanecem
- 2- Melhoria marcada, melhoria significativa (c. 75%); algumas evidências de doença de hiperpigmentação permanecem
- 3- Melhora moderada, intermediária entre melhora leve e acentuada; c. 50% de melhoria em aparecimento de hiperpigmentação
- 4- Melhora leve, alguma melhora (c. 25%); evidências significativas de hiperpigmentação permanecem
- 5- Sem melhora; condição hiperpigmentada inalterada
- 6- Pior; condição pior do que na semana 0

ANEXO E:

**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA USO DE IMAGEM E SOM DE VOZ
PARA FINS DE PESQUISA**

Eu, _____, portador do RG número _____, autorizo o uso da minha imagem e vídeo na qualidade de **PARTICIPANTE**, no projeto de pesquisa intitulado Fotobiomodulação com luz âmbar no tratamento de melasma: ensaio clínico, randomizado, controlado, duplo cego. O referido projeto está sob responsabilidade de **THAÍS RODRIGUES GALACHE** e é vinculada à **UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO (UNINOVE)**.

A finalidade desse uso é para ilustração de trabalho científico, apresentação da evolução do tratamento por imagens iniciais e finais do rosto com a presença das manchas do melasma, e também exemplificação do tratamento e outras imagens e vídeos que forem necessárias para a pesquisa. Será utilizado com o intuito de ilustrar os trabalhos para conclusão de curso de mestrado, publicações de artigos, congressos, apresentações acadêmicos-científicos, seminários, simpósios, fóruns, conferências e jornadas. **Toda imagem de rosto que identifique a minha pessoa deverá conter tarja preta ou similar, a fim de não haver identificação pessoal.**

Tenho ciência de que não haverá divulgação de nenhuma informação pessoal que possa me vincular às imagens utilizadas publicamente. A pesquisadora responsável se compromete a garantir o arquivamento seguro das imagens e/ou sons de voz no arquivo próprio da pesquisa.

Deste modo, declaro que autorizo, livre e espontaneamente, o uso da minha imagem e vídeo sem identificação (com tarja preta ou similar) para fins de pesquisa, nos termos acima descritos.

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o(a) pesquisador(a) responsável pela pesquisa e a outra com o(a) participante da pesquisa ou seu responsável.

Assinatura do(a) participante

Thaís Rodrigues Galache CROSP 60319

Pesquisadora Responsável

São Caetano do Sul, ____ de ____ de _____.

ANEXO F: CONSORT 2010: checklist¹³³

Seção/Tópico	Nº do item	Item do checklist	
Título e resumo			
	1a	Identificar no título como um estudo clínico randomizado	1
	1b	Resumo estruturado de um desenho de estudo, métodos, resultados e conclusões (para orientação específica, consulte CONSORT para resumos)	8
Introdução			
Fundamentos e objetivos	2a	Fundamentação científica e explicação do raciocínio	28-34
	2b	Objetivos específicos ou hipóteses	34,35
Métodos			
Desenho do estudo	3a	Descrição do estudo clínico (como paralelo, fatorial), incluindo a taxa de alocação	36
	3b	Alterações importantes nos métodos após ter iniciado o estudo clínico (como critérios de elegibilidade), com as razões	49-50
Participantes	4a	Critérios de elegibilidade para participantes	37
	4b	Informações e locais de onde foram coletados os dados	36
Intervenções	5	As intervenções de cada grupo, com detalhes suficientes para determinação da replicação, incluindo como e quando eles foram realmente administrados	38,39,40,41-49

Desfechos	6a	Medidas completamente pré-especificadas, definidas como desfechos primário e secundário, incluindo como e quando elas foram avaliadas	36,38-44
	6b	Quaisquer alterações nos desfechos após o estudo clínico ter sido iniciado, com as razões	49-50
Tamanho da amostra	7a	Como foi determinado o tamanho da amostra	38,39
	7b	Quando aplicável, deve haver uma explicação de qualquer análise provisória e diretrizes de encerramento	—
Randomização			

<i>Sequência e geração</i>	8a	Método utilizado para geração de sequência randomizada de alocação	39-40
	8b	Tipos de randomização, detalhes de qualquer restrição (tais como randomização por blocos e tamanho do bloco)	39-40
Alocação e mecanismo de ocultação	9	Mecanismo utilizado para implementar a sequência de alocação randomizada (como <i>recipients</i> numerados sequencialmente), descrevendo os passos a serem seguidos para ocultação da sequência, até as intervenções serem atribuídas	40,41
Implementação	10	Quem gerou a sequência de alocação randomizada, quem inscreveu os participantes e quem atribuiu as intervenções aos participantes	40
Cegamento	11a	Se realizado, quem foi cegado após as intervenções serem atribuídas (ex. participantes, cuidadores, assessores de resultado) e como ocorreu o cegamento	40
	11b	Se relevante, descrever a semelhança das intervenções	--
Métodos estatísticos	12a	Métodos estatísticos utilizados para comparar os grupos para desfechos primários e secundários	55

	12b	Métodos para análises adicionais, como análises de subgrupo e análises ajustadas	55
Resultados			
Fluxo de participantes (é fortemente recomendada utilização de um diagrama) a	13a	Para cada grupo, o número de participantes que foram randomicamente atribuídos, que receberam o tratamento pretendido e que foram analisados para o desfecho primário	56
	13b	Para cada grupos, deve-se indicar perdas e exclusões após a randomização, juntamente com as razões	56
Dados de base			
<i>Números analisados</i>	16	Para cada grupo, número de participantes (denominados) incluídos em cada análise e se a análise foi realizada pela atribuição original dos grupos	56
<i>Desfechos e estimativa</i>	17a	Para cada desfecho primário e secundário, resultados de cada grupo e o tamanho efetivo estimado e sua precisão (como intervalo de confiança de 95%)	57-68
	17b	Para desfechos binários, é recomendada a apresentação de ambos os tamanhos de efeito, absolutos e relativos	
Análises auxiliares	18	Resultados de quaisquer análises realizadas, incluindo análises de subgrupos e análises ajustadas, distinguindo-se as pré-especificadas das exploratórias	59-68
Danos	19	Todos os importantes danos ou efeitos indesejados em cada grupo (observar a orientação específica CONSORT para danos)	67-68
Discussão			
Limitações	20	Limitações do estudo clínico, abordando as fontes dos potenciais vieses, imprecisão e, se relevante, relevância das análises	69-74

Generalização	21	Generalização (validade externa, aplicabilidade) dos achados do estudo clínico	113
Intervenção	22	Interpretação consistente dos resultados, balanço dos benefícios e danos, considerando outras evidências relevantes	69-74
Outras informações			
Registro	23	Número de inscrição e nome do estudo clínico registrado	36
Protocolo	24	Onde o protocolo completo do estudo clínico pode ser acessado, se disponível	36,111-117
Fomento	25	Fontes de financiamento e outros apoios (como abastecimento de drogas), papel dos financiadores	06

ANEXO G: Artigo de protocolo publicado⁸

Open access Protocol

BMJ Open **Amber photobiomodulation versus tranexamic acid for the treatment of melasma: protocol for a double-blind, randomised controlled trial**

Thais Rodrigues Galache,¹ Marcelo Galache,² Michelle Mota Sena,¹ Christiane Pavani  ¹

To cite: Galache TR, Galache M, Sena MM, et al. Amber photobiomodulation versus tranexamic acid for the treatment of melasma: protocol for a double-blind, randomised controlled trial. *BMJ Open* 2023;13:e073568. doi:10.1136/bmjopen-2023-073568

► Prepublication history and additional supplemental material for this paper are available online. To view these files, please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2023-073568>).

Received 10 March 2023
Accepted 11 July 2023

 [Check for updates](#)

© Author(s) (or their employer(s)) 2023. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

¹Postgraduate Program in Biophotonics Applied to the Health Sciences, Universidade Nove de Julho (UNINOVE), São Paulo, SP, Brazil
²Clinica, Odontologia Galache, São Caetano do Sul, Brazil

Correspondence to
Dr Christiane Pavani;
chrspavani@gmail.com

Ethics and dissemination The protocol was approved by the Research Ethics Committee of Universidade Nove de Julho (5 332 384). All participants will fill out the patient informed consent form. The results obtained in this trial will be presented at conferences and submitted for publication.

ABSTRACT

Introduction Photobiomodulation (PBM) has been suggested as an alternative treatment for melasma. *In vitro* studies have shown PBM with amber light inhibits the tyrosinase enzyme, induces autophagy and reduces the melanin content, but randomised controlled clinical trials are still needed. This study aims to evaluate the efficacy of amber PBM (590 nm) in the treatment of melasma compared with liposomal tranexamic acid.

Methods and analysis This study is a controlled, randomised, double-blind, non-inferiority trial. This study will be performed in two centres (Universidade Nove de Julho Facility, Campus Vergueiro, and Galache Odontology Clinic, São Caetano do Sul, both in São Paulo State, Brazil). The sample (54 participants) will be divided into two groups in a 1:1 ratio; one group will receive active PBM and a placebo cosmetic and the other will receive sham PBM and liposomal tranexamic acid. Women presenting facial melasma, aged 35–50 years, with skin phototypes II–IV, will be eligible for inclusion. Women who use oral contraceptives, intrauterine devices, hormone replacement or photosensitising drugs, those with autoimmune disease and those who have undergone facial treatments in the last 3 months will be excluded from the study. The participants will receive PBM weekly for 12 weeks and will use the cosmetic two times per day at home during this period. The severity of melasma will be evaluated through the Melasma Area and Severity Index (MASI) as the primary outcome; pigmentation of the epidermis evaluated by comeometrography, the photographic records, the global diagnosis of the face and the quality-of-life questionnaire (Brazilian Portuguese version of the Melasma Quality of Life Questionnaire) will be assessed as secondary outcomes. All assessments will be made before starting the study (week 0), mid-study at 6 weeks and at the completion of treatment (week 12). MASI will also be evaluated during follow-up (weeks 16 and 20). The data will be analysed based on the intention-to-treat analysis using a generalised mixed model, and $\alpha < 0.05$ will be considered statistically significant.

STRENGTHS AND LIMITATIONS OF THIS STUDY

- ⇒ The analyses will be carried out with non-invasive methods.
- ⇒ Both objective and subjective melasma evaluations will be performed.
- ⇒ All participants will receive an active treatment, tranexamic acid or photobiomodulation.
- ⇒ One-month and 2-month follow-up results will be analysed.
- ⇒ Radiant exposure of 20 J/cm^2 varies among light-emitting diode devices depending on the targeted area reached by the light.

Trial registration number ClinicalTrials.gov Registry (NCT05326997).

INTRODUCTION

Melasma is a skin pigmentation disorder, with 90% of its prevalence occurring in women aged 27–57 years, living in intertropical areas, and is common among Hispanic Americans, Brazilians, East Asians, Indians and Middle Easterners.¹ Individuals with skin phototypes II and IV on the Fitzpatrick scale are the most affected (approximately 70%), while sun exposure is one of the main aggravating factors, at rates of 40%–44%.^{2–4} In Brazil, melasma is the second leading cause of seeking cosmetic treatment among women aged between 25 and 59 years.⁵ It is known that melasma causes psychological trauma in patients, with a negative result in self-image and worsening quality of life as a whole.^{6,7} Despite the high prevalence and the negative impact that it causes, there is still no therapy or treatment protocol that is considered definitive for melasma.

The most used methods in the treatment of melasma include peeling, depigmenting cosmetic agents, topical and oral antioxidants and lasers, among others.^{8,9} In this

Open access


sense, tranexamic acid (TXA) is effective in controlling melasma, causing an improvement of 1.98 (95% CI -0.56, -3.40) MASI (Melasma Area and Severity Index) units,¹⁰ being slightly more effective than hydroquinone and presenting results similar to peeling.¹¹ TXA is used to block the signal between the melanocytes and the keratinocytes, activating autophagy and inhibiting melanin synthesis.¹² Among the new proposals for the treatment of melasma is photobiomodulation (PBM).

PBM can inhibit the expression of the microphthalmia transcription factor (MITF) and the tyrosinase enzyme, as well as reduce the enzymatic activity of tyrosinase, TRP-1 and TRP-2 in murine (B16F10) and human melanocyte cultures,^{13,14} in addition to reducing the levels of reactive oxygen species in the *in vitro* culture of ultraviolet A-exposed fibroblasts.¹⁵ These effects have been observed at 660, 585, 830 and 850 nm, while *in vitro* data have suggested that amber PBM (585 nm) inhibits melanosome maturation and melanogenesis, via the induction of autophagy, a pathway similar to that reported for TXA.¹⁶ Also, it reduces tyrosinase activity, melanin content, as well as the expression of TRP-1 and MITF during melanogenesis signalling.¹⁶ Recently, both *in vitro* and in a pilot clinical study, it was shown that amber PBM at 590 nm reduces the expression of vascular endothelial growth factor and stem cell factor, which are pro-melanogenic factors.¹⁷ Additionally, this study demonstrated a reduction in the MASII score during the treatment, which remained stable up to week 20 after the beginning of the treatment (8 weeks

after the end of treatment).¹⁷ However, there are still no randomised controlled studies, with a low risk of bias, evaluating the effects of amber PBM. Thus, this study was designed to investigate the clinical effect of amber PBM at 590 nm for the treatment of melasma, since *in vitro* data suggest a mechanism of action similar to TXA.¹⁶

In this context, this study aims to evaluate the effectiveness of amber PBM at 590 nm when compared with 5% liposomal TXA, in the treatment of melasma in women. This study hypothesises that PBM is non-inferior to TXA in reducing MASII.

METHODS AND ANALYSIS
Study design

This will be a controlled, randomised, double-blind, two-arm, non-inferiority study. This study will be performed in two centres (Universidade Nove de Julho Facility, Campus Vergueiro, and Galache Odontology Clinic, São Caetano do Sul, both in São Paulo State, Brazil). The registration to participate in the research will be carried out by digital means (website and social networks, such as Instagram, Facebook and WhatsApp). The screening will continue until the sample size is achieved. The study is expected to last 2 years and 4 months (28 months), starting after the publication of the study protocol. TRG, author of this protocol, will explain the procedures, and the participants who want to participate will sign the informed consent form (online supplemental file 1).

Eligibility criteria

This study will include women aged between 35 and 50 years, with skin types I–IV on the Fitzpatrick scale, who present with facial melasma and without clinical skin comorbidities (psoriasis, vitiligo, rosacea and dermatoses). Exclusion criteria will be: pre-existing systemic diseases, autoimmune and digestive system diseases, polycystic ovaries; scars or sequelae of an accident on the face that interfere with the facial treatment; oral isotretinoin use (less than 6 months); use of retinoic acid, vitamin A derivatives or photosensitising drugs; topical or oral treatment for melasma at the time of the research (or less than 3 months before); and the presence of skin pathologies on the face. If they present with glaucoma, cataracts or cancer, are pregnant or breast feeding, are using oral or intrauterine contraceptives or hormone replacement, have thyroid disorders, and show bacterial, viral and fungal infections with the tendency to form keloids, they will all be excluded from this work.

Sample size

When considering that there is evidence that topical TXA is effective in the treatment of melasma, reducing 1.85 points on the MASII scale (95% CI -2.56, -1.14),¹⁰ the sample size calculation for this study was based on the hypothesis that PBM would not be inferior to the effect that is obtained through the active control group (the topical TXA treatment) when compared with the beginning.

Since the primary variable of the study is the MASII at the end of the treatment, the non-inferiority threshold will be set at 0.3 points on the MASII scale. With a statistical power of 80% ($1-\beta$) and the unilateral type I error¹⁸ of 0.025 (α), the SD of 0.36, which was calculated based on the 95% CI given in the systematic review by Zhang *et al.*,¹⁰ the sample size was calculated using the equation below:¹⁸

$$n = \frac{(r+1)(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha})^2 \sigma^2}{r(d_{NI})^2}$$

where r is the allocation rate (=1), α is the type I error (0.05), β is the type II error (0.20), the values of $Z_{1-\beta}$ and $Z_{1-\alpha}$ are tabulated (0.842 and 1.960, respectively), σ is the SD (0.36) and d_{NI} is the non-inferiority limit. By substituting the values in the formula, a sample size of 23 participants per group was determined. While considering the possibility that up to 15% of the participants will drop out of the study, 27 participants per group will be needed, rendering a total of 54 individuals.

Randomisation

A randomisation sequence will be generated with an online tool (<https://www.randomizer.org/>) using nine blocks of six participants. Sealed opaque envelopes will be identified with sequential numbers, and participants will receive the treatment information according to the generated order. The sequence generation and envelope preparation will be performed by a person who is not

a

TIMEPOINT*	Enrolment	STUDY PERIOD						Close-out
		-1 week	Allocation	Post-allocation			20 th week	
		Day 0 (D0)		5 th -6 th week	8 th -9 th week	10 th -12 th week	15 th week	July 22
ENROLMENT:								
Eligibility screen	x							
Informed consent	x							
Skin preparation - Peeling		x						
Allocation			x					
INTERVENTIONS:								
PBM + PC				↔	↔			
PBM sham + ATX				↔	↔			
ASSESSMENTS:								
MASI		x		x	x	x	x	
Corneosclerometry		x		x	x			
Photograph		x		x	x			
MELASQoL		x		x	x			
GSD		x		x	x			
Adverse effects report				x	x			
Statistical Analysis							x	

Figure 1 SPIRIT diagram. ATX, liposomal tranexamic acid; GSD, Global Skin Diagnosis; MASI, Melasma Area and Severity Index; MELASQoL, Melasma Quality of Life Questionnaire; PBM, photobiomodulation; PC, placebo; SPIRIT, Standard Protocol Items: Recommendations for Interventional Trials.

involved in the treatment or the evaluation of the participants (CP, the author of this protocol). These envelopes will be sealed and kept securely and confidentially by the same researcher who generated the randomisation. The researcher responsible for the application of the PBM (MG, an author of this protocol) will remove and open an envelope (without changing the numerical sequence of the other envelopes) and perform the procedure, as indicated for each participant.

Intervention

All of the participants who meet the eligibility criteria will receive a skin preparation with enzymatic peeling¹⁹ (figure 1). The area to be treated will be sanitised with

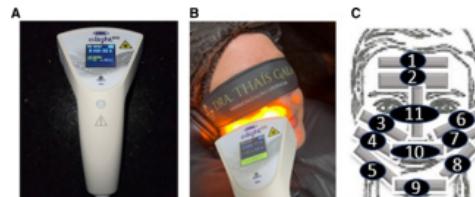


Figure 2 PBM application. (A) E-Light ABR, DMC equipment (São Carlos, São Paulo, Brazil). (B) Application on the participant's face, with eyes protected and headphones. (C) The PBM application sequence. PBM, photobiomodulation.

Rennova Beauté micellar water (Goiás, Brazil) to remove the makeup/sunscreen. A Rennova Beauté cleansing foam will then be used and removed with gauze. The Renew Zyme 30% Pureskin DM 2% enzymatic peeling will be applied on the face for a maximum of 20 min, before being finally removed with water. In the case of intense erythema, the peeling will be removed before the total time has elapsed. Each participant's face will be finished with an application of Sunscreen SPF 60 Facial Toning Rennova Soleil (Goiás, Brazil).

One week after the application of the peeling, the pretreatment evaluation (outcomes assessment) will be carried out, followed by the intervention. The face will be sanitised with Rennova Beauté micellar water for the makeup/sunscreen removal. Soon after, a cleansing foam will be used and removed with gauze. Following these procedures, PBM (active or sham, according to the allocation given by the randomisation) will be applied over the face, in regions 1–11 (figure 2), in both of the groups.

Group A: the participants will receive treatment with PBM when using amber light, once a week, for 12 weeks (DMC E-Light ABR, São Carlos, Brazil) 20J/cm², and will also receive a placebo product, a cosmetic product without an active ingredient for topical use at home, two times per day. Group B: the participants will receive the simulated intervention 'sham', once a week, for 12 weeks (DMC E-Light ABR off). They will also receive a cosmetic product containing 5% liposomal TXA, to be used topically, two times per day. The PBM interventions will be

carried out by a trained researcher (MG, an author of this protocol). Participants will use eye protection and headphones, with music during the PBM application. Additionally, the flasks of the placebo and the TXA cosmetic product will be the same in form, colour and aroma. Thus, participants will also be blinded.

This product will be applied as a thin layer immediately after washing the area to be treated with water and a neutral soap, two times per day (in the morning and before going to sleep). For this procedure, it will be necessary to use a standardised amount of two squeezes on the pump of this bottle. The participant will be instructed to use the Rennova Soleil Toning Facial Sunscreen SPF 60, as provided by the research team, with an amount that covers the entire face, with application three times a day, in addition to avoiding exposure to direct sunlight and excessive heat. During the trial, no other cosmetic products will be allowed, except moisturisers. The cosmetic products will be delivered to the participants every 2 weeks, and the sunscreen every month (a strategy to improve adherence/retention). Furthermore, the participants will receive a diary to record: if and when subjected to sun exposure, sunscreen use, daily dose times of the application of the cosmetic, and in case of any adverse event, a free space to write in. This diary will be delivered weekly.

Allergic reactions to cosmetics and intense erythema are rare. In the case of an allergy, the patient will be withdrawn from the study and will receive the provision of

Open access

Table 1 Light parameters	
Parameter	Amber LED
Central wavelength (nm)	590
Spectral width (nm)	10
Operation mode	Continuous
Average radiant power (one LED) (mW)	100
Beam diameter—one LED (cm)	0.5
Power density at aperture (mW/cm ²)	510
Beam area on target tissue—one LED (cm ²)*	1.96
Total number of LEDs	4
Irradiated area per application (cm ²)	7.84
Irradiance at the target (mW/cm ²)	51
Exposure duration (s)	392
Radiant exposure (J/cm ²)	20
Energy density at aperture (J/cm ²)	200
Radiant energy per application (J)	156.8
Application technique	11 repetitions, 1 cm from the skin surface
Total area irradiated (cm ²)	86.24
Number and frequency of sessions	1x/week, 4x/month, 12 sessions

*Application on the skin, 1 cm from the source.
LED, light-emitting diode.

ancillary care. For this, the blinding might be broken to direct the patient's management. If intense erythema has occurred, the adverse events will be reported, and a temporary suspension of the cosmetic for 2–3 days will be recommended and instructed. The melasma treatment can be restarted after the skin returns to a normal appearance.

The light parameters that will be used in this protocol, as presented in table 1, have already been measured and/or calculated by the authors of this protocol.

Outcomes

The MASI scale at the end of the treatment is the primary outcome of the study, and this will be determined through the visual analysis of the affected site, together with the attribution of the scores, as previously reported, then by calculating the final value by the ponderation of the individual scores.^{20–22} It will be determined at the beginning (week 0), at the middle (week 6), at the end of the treatment (week 12) and at the follow-up assessments (weeks 16 and 20).

Corneomelametry, photographic records, global diagnosis of the face and quality-of-life questionnaire will be assessed as secondary outcomes. Corneomelametry is a technique in which the melanin content is determined in the epidermis by using cyanoacrylate skin surface stripping, according to the procedure published previously.^{23–24} For this analysis, the central malar region will be chosen, preferably on the right side; but if there is no apparent melasma in that region, the area will be on the left side, on the frontal region (forehead) or on the chin region, in this order. Finally, the samples will be stained by the Masson's Argentaffin method^{24–26} and subjected to analysis under the microscope, analysing the intensity of staining.

The photographs will be taken using a digital camera, iPhone 13 PROMAX (APPLE, California, USA), coupled with the Derma Scan equipment (Estek, São Paulo, Brazil), which has standardised illumination, with white and ultraviolet light (wood's lamp), in addition to standardising the positioning of the participant. The images will be used to determine the MASII score by clinicians in a blinded analysis, together with the area and stain intensity (the black and white pictures/greyscale using Image J software (NIH, USA)), along with a subjective analysis of the global improvement of melasma, by independent and blind specialists using the Global Skin Diagnosis, attributing a score from 0 to 6, with 0 being the highest improvement and 6 a worsening of the melasma.^{27–28}

The Brazilian Portuguese version of the Melasma Quality of Life Questionnaire (MELASQoL)^{29–30} will be used to assess the impact of melasma (and the treatment) on the quality of life of those affected by the disease. The MELASQoL consists of 10 questions, whose answers range from 1 (not at all bothered) to 7 (annoyed all the time); thus, the total score will range from 10 to 70, with

the higher the score, the lower the quality of life.

Finally, a record of the adverse effects will be completed, with all the symptoms that were reported during the treatment. The adverse effect records will be analysed throughout the treatment (figure 3). All the clinical variables of the research will be collected before the beginning of the treatment, in the middle of the treatment (6 weeks) and at the end of the session (12 weeks). The outcomes assessment will be performed by TRG and MMS, the authors of this protocol, and they will be blinded regarding the group allocation.

Any modification of the protocol, in terms of eligibility criteria, the treatments or the outcomes, will require a formal amendment of the protocol and approval by the Research Ethics Committee. This will be communicated to the trial registry and reported in the trial results manuscript.

Data analysis

Double data entry will be performed to improve data quality. The data analysis will be performed by an independent researcher (CP, an author of this protocol), and after the analysis, the allocation concealment will

8

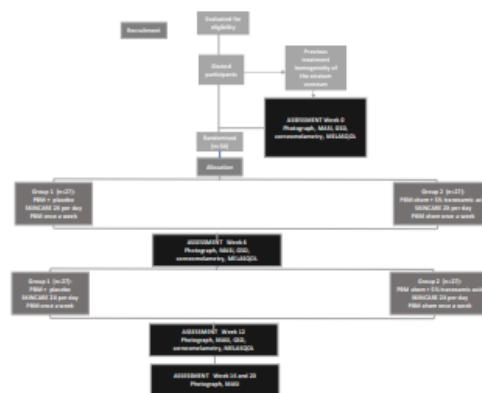


Figure 3 Study flow chart. GSD, Global Skin Diagnosis; MASI, Melasma Area and Severity Index; MELASQoL, Melasma Quality of Life Questionnaire; PBM, photobiomodulation.

be broken. The sample characteristics will be evaluated by the descriptive tests, being presented as average and SD (parametric data), median and interquartile interval (non-parametric data), and absolute and relative frequencies (categorical data). Generalised mixed models will be used for the inferential analysis of MASI, corneomelanometry, MELASQoL, and the area and melasma intensity. If α is <0.05 , it will be considered statistically significant. The statistical analysis will follow the intention-to-treat principles (ie, the participants will be analysed in the groups to which they will be allocated).

The patients' collected data will be written in a chart, stored in numerical order in a safe place and locked with a password, with access restricted to the research

staff responsible for filling in the forms or tabulating the data. These files will be kept for 3 years after the study's completion. The electronic files will be stored in Google Drive and protected by a password. The data tabulation will be performed as a double entry by the research staff.

Patient and public involvement

None.

ETHICS AND DISSEMINATION

The Research Ethics Committee of the Nove de Julho University, São Paulo, Brazil approved the modified version of this project, and the patient informed consent form under no. 5 332 384, on 5 April 2022, according to the guidelines of the Brazilian National Ethics Committee. The study has been registered at Clinical-Trials.gov (NCT05326997; first registered on 14 April 2022). The results obtained in this trial will be presented at conferences and submitted for publication. The participants will receive an email with the main findings of the study. The authors of this protocol and others who fulfil the authorship criteria at the time of the submission will

be named as authors on manuscript reporting the study results. No professional writers will be considered.

Trial status

The recruitment started on 25 March 2023. We are planning to finish recruiting by September 2024 and complete the study by December 2024.

DISCUSSION

PBM has been proposed as a strategy to treat melasma.^{13 14 16} A series of *in vitro* studies of melanocytes has shown that PBM by red, infrared or amber light reduced MITF, tyrosinase, and the TRP-1 and TRP-2 expression, inhibited tyrosinase production, reduced the melanin content and inhibited melanosome maturation.^{13 14 16} Similarly, it has been suggested that TXA inhibits ultraviolet-induced plasmin in the keratinocytes and suppresses ET-1.³¹

Recently, it was shown that a deficit in autophagy in the skin with melasma is related to hyperpigmentation.³² TXA has been shown to induce autophagy in the melanoma cells.¹² Additionally, there is evidence that amber PBM in the melanocyte cells also induces autophagy. In this sense, the rationale of a clinical trial to compare TXA, whose effects in melasma are already known and reported,^{8 10 11 33} with amber PBM is related to a similar mechanism of action. Due to this, the study hypothesises that PBM is non-inferior to TXA in reducing the MASI score.

One advantage of the study is that both groups will receive an active treatment, which is important considering the expectation/frustration of the patients with melasma. Recently, a study evaluating quality of life in patients with melasma found that patients who had prior treatment reported lower quality of life.³⁴

A 12-week treatment protocol was chosen as it has been extensively used in clinical evaluations of melasma treatments.^{33 35-41} Previous literature has demonstrated the efficacy of melasma treatments, with initial improvements observed after 1 month of use, followed by gradual progress up to the 12-week mark.³¹ This justifies the inclusion of intermediate evaluations during the treatment period. Moreover, additional studies have indicated that the reduction in MASI may stabilise or even increase after 12 weeks, indicating a potential recurrence of melasma post-treatment.^{17 40} Consequently, follow-up assessments at 16 and 20 weeks will facilitate the evaluation of remission or recurrence.

The use of sunscreen is already known to be essential during the treatment of melasma since ultraviolet radiation triggers α -MSH production by the keratinocytes and the melanogenesis cascade in the melanocytes, helping to reduce the MASI score.⁴²⁻⁴⁴

Topical TXA at 5% has been used successfully in melasma treatments, with results similar to 2% and 3% hydroquinone.^{45 46} TXA has been considered well tolerated, since no adverse effects have been reported.⁴⁷ A recent systematic review and meta-analysis provided evidence of the

Open access



effectiveness of a treatment for melasma with TXA and mentioned the advantages of using liposomes for TXA transport, due to high stability, and the prolonged and sustained release of the active ingredient.⁴⁸

TXA binds to plasminogen and inhibits the conversion of plasminogen to plasmin, reducing melanogenesis due to decreased production of prostaglandins.⁴⁹ It may also act on melasma vascular component, reducing erythema.⁵⁰ However, TXA presents some disadvantages, especially when considering its chemical structure and properties, since due to this, some topical formulations of TXA do not achieve therapeutic concentrations at the dermal–epidermal junction where it acts in the skin.⁴⁹ In this sense, alternatives to TXA are warranted and PBM might be an interesting possibility, since it may act on both melanogenesis and the vascular component of melasma.

The radiant exposure chosen (20 J/cm^2) presented the highest percentage of melanosomes at stages I and II of maturation, the lowest tyrosinase, and TRP-1 RNA expression, the lowest tyrosinase enzyme, the TRP-1 and MITF protein expression, and whose autophagy induction was found *in vitro* with amber light (585 nm).¹⁶

Hyperpigmentation has been reported as a side effect of PBM. There are reports of this adverse effect when using blue light (400–470 nm) during acne treatment at high radiant exposure (48 J/cm^2).⁵¹ When considering the amber/red wavelengths (570–690 nm), hyperpigmentation would be related to radiant exposures around 96 J/cm^2 ,⁵¹ while for melasma treatment in this study, 20 J/cm^2 will be used. Radiant exposures which induce hyperpigmentation were considerably higher when compared with

the ones used to treat hyperpigmentary disorders, which are usually from 2 up to 20 J/cm^2 .^{2 13 16 17 52} Thus, these opposite effects may be considered dose dependent.

Another weakness that should be mentioned is the reproduction of the light parameter used. Radiant exposure of 20 J/cm^2 varies among light-emitting diode (LED) devices depending on the targeted area reached by light. The radiant exposure is the energy reaching the target tissue divided by the target area. However, the LED devices available for clinical use are different, in the way that each one delivers light to a specific area. If only the total energy is presented on the equipment display, using the radiant exposure presented here will demand that the clinician make a calculation before performing the protocol. We had presented a complete table of parameters, in such a way that the total energy may be considered to reproduce the protocol used here.

One of the strengths of the study is the use of non-invasive methods for evaluation. The MASI and Global Skin Diagnosis are scores used by health professionals to evaluate melasma. Additionally, a detection technique of the melanin content, called corneomelometry, uses a stratum corneum sample, which can easily be obtained by stripping method. Finally, quality of life and adverse effects will be measured by patient self-assessment. Considering how melasma affects patient self-esteem, any invasive method that could cause haematoma, pain

or discomfort would negatively impact the patient. It is also worthy of mention that objective and subjective measurements will be performed. Blinding reduces the bias regarding the subjective measurements; indeed, the objective measurements may corroborate the final data.

This pioneering clinical trial in the treatment of melasma using amber PBM is expected to contribute to a better understanding of the effectiveness of the treatment, together with the possible side effects, and be a first attempt at developing a new clinical protocol at an affordable cost.

Acknowledgements The authors would like to thank the Nove de Julho University (UNINOVE), São Paulo, Brazil, which kindly provided the structure for data collection and provided master's and doctoral scholarships for TRG and MMS. Additionally, they would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) for financial support (financial code 001). They also thank Rennova, which kindly provided all of the sunscreens, micellar water, cleansing foam, and the moisturising mist that were used or delivered to the participants in the survey. Finally, they thank DMC that provided an LED device (e-light) to be used in one centre of this research.

Contributors TRG and CP conceived the protocol. TRG, MG and MMS wrote the protocol (draft preparation). TRG performed the funding acquisition. MG will perform the application of PBM. TRG and MMS will perform the outcome measurements. CP wrote the protocol (review and editing) and will perform the supervision and administration of the project and will carry out the randomisation and statistical analysis. All the authors who drafted the protocol will revise it critically.

Funding The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Disclaimer Rennova has no role in the study design, data collection and/or analysis, decision to publish or preparation of the manuscript. Rennova participation is solely and exclusively through the supply of cosmetic products to

support the treatment, not involving the main treatment (light or TNX) in any way. DMC provided an e-light LED device to be used in the research. DMC has no role in study design, data collection and/or analysis, decision to publish or preparation of the manuscript.

Competing interests TRG is speaker for Rennova in Brazil and received the products to be used in the project: Sunscreen SPF 60 Facial Toning Rennova Soleil, Rennova Beauté micellar water, cleansing foam and moisturising mist. None of the other authors have disclosures to declare.

Patient and public involvement Patients and/or the public were not involved in the design, or conduct, or reporting, or dissemination plans of this research.

Patient consent for publication Not required.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Supplemental material This content has been supplied by the author(s). It has not been vetted by BMJ Publishing Group Limited (BMJ) and may not have been peer-reviewed. Any opinions or recommendations discussed are solely those of the author(s) and are not endorsed by BMJ. BMJ disclaims all liability and responsibility arising from any reliance placed on the content. Where the content includes any translated material, BMJ does not warrant the accuracy and reliability of the translations (including but not limited to local regulations, clinical guidelines, terminology, drug names and drug dosages), and is not responsible for any error and/or omissions arising from translation and adaptation or otherwise.

Open access This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

ORCID iD

Christiane Pavani <http://orcid.org/0000-0001-8275-7370>



REFERENCES

- 1 Handel AC, Miot LDB, Miot HA. Melasma: a clinical and Epidemiological review. *An Bras Dermatol* 2014;89:771–82.
 - 2 Kumaran MS, Narayan R V, Kaushik A, et al. Clinico-Epidemiological profile and long term follow up in Melasma. *Dermatol Ther* 2021;34.
 - 3 Hexsel D, Lacerda DA, Cavalcante AS, et al. Epidemiology of Melasma in Brazilian patients: A multicenter study. *Int J Dermatol* 2014;53:440–4.
 - 4 Demirkan S, Gündüz Ö, Sayan CD. Retrospective analysis of Endemic Melasma patients. *Dermatol Reports* 2017;9:31–3.
 - 5 Miot HA, Penna G de O, Ramos AMC, et al. Profile of dermatological consultations in Brazil. *An Bras Dermatol* 2018;93:916–28.
 - 6 Luqman N, Akhunzada WA, Lugman A, et al. Quality of life in patients. *Professional Med J* 2017;24:1899–903.
 - 7 Kagh K, Fabi S, Goldman MP. Melasma's impact on quality of life. *J Drugs Dermatol* 2020;19:184–7.
 - 8 Austin E, Nguyen JK, Jagdeo J. Topical treatments for Melasma: A systematic review of randomized controlled trials. *J Drugs Dermatol* 2019;18.
 - 9 Rajaratnam R, Halpern J, Salim A, et al. Interventions for Melasma. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;CD003583.
 - 10 Zhang L, Tan W-Q, Fang Q-Q, et al. Tranexamic acid for adults with Melasma: A systematic review and meta-analysis. *BioMed Research International* 2018;2018:1–13.
 - 11 Liu Y, Wu S, Wu H, et al. Comparison of the efficacy of Melasma treatments: A network meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Med* 2021;8.
 - 12 Cho YH, Park JE, Lim DS, et al. Tranexamic acid inhibits Melanogenesis by activating the Autophagy system in cultured Melanoma cells. *J Dermatol Sci* 2017;88:98–102.
 - 13 Oh CT, Kwon T-R, Choi EJ, et al. Inhibitory effect of 660-nM LED on Melanin synthesis in *in vitro* and *in vivo*. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2017;33:49–57.
 - 14 Kim JM, Kim N-H, Tian YS, et al. Light-emitting DIODES at 830 and 850 nm inhibit Melanin synthesis *in vitro*. *Acta Derm Venereol* 2012;92:675–80.
 - 15 Lan C-C, Ho P-Y, Wu C-S, et al. LED 590nm Photomodulation reduces UVA-induced Metalloproteinase-1 expression via upregulation of antioxidant enzyme catalase. *Journal of Dermatological Science* 2015;78:125–32.
 - 16 Chen L, Xu Z, Jiang M, et al. Light-emitting Diode 585Nm Photomodulation inhibiting Melanin synthesis and inducing Autophagy in human Melanocytes. *J Dermatol Sci* 2018;89:11–8.
 - 17 Dai X, Jin S, Xuan Y, et al. 590 nm LED irradiation improved erythema through inhibiting angiogenesis of human Microvascular endothelial cells and ameliorated Pigmentation in Melasma. *Cells* 2022;11:3949.
 - 18 Flight L, Julius SA. Practical guide to sample size calculations: non-inferiority and equivalence trials. *Pharm Stat* 2016;15:80–9.
 - 19 Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: A comprehensive review. *Clin Cosmet Invest Dermatol* 2015;8:455–61.
 - 20 Kirkbride-Green CK, Griffiths CE, Finkel LJ, et al. Topical retinoic acid (Tretinoin) form Melasma in black patients. *Arch Dermatol* 1994;130:727.
 - 21 Fioranelli M, Jafferany M, Wollina U, et al. New local treatments for different types of Melasma: vascular type vs Nonvascular type. A randomized Polycentric study. *Dermatol Ther* 2020;33.
 - 22 Pandya AG, Hyman LS, Bhore R, et al. Reliability assessment and validation of the Melasma area and severity index (MASI) and a new modified MASI scoring method. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2011;64:78–83.
 - 23 Saska S, Gaspar AMM, Hochuli-Vieira E. Adesivos à base de Cianoacrilato para Síntese do Tecido mole [Cyanocrylate adhesives for the synthesis of soft tissue]. *An Bras Dermatol* 2009;84:585–92.
 - 24 Thirion L, Piéard-Franchimont C, Piéard GE. Whitening effect of a Dermocosmetic formulation: A randomized double-blind controlled study on Melasma. *Int J Cosmet Sci* 2006;28:263–7.
 - 25 Miot LDB, Miot HA, Silva MG da, et al. Estudo Comparativo Morfológico e funcional de Melanócitos em Lesões de Melasma [Morphological and functional comparative study of melanocytes in melasma lesions]. *An Bras Dermatol* 2007;82:529–34.
 - 26 Carriel VS, Aneiros-Fernandez J, Arias-Santiago S, et al. A novel histochemical method for a simultaneous staining of Melanin and collagen fibers. *J Histochem Cytochem* 2011;59:270–7.
 - 27 Pandya A, Berneburg M, Ortonne J-P, et al. Guidelines for clinical trials in Melasma. *Br J Dermatol* 2006;156:21–8.
 - 28 Blasco-Morente G, Garrido-Colmenero C, López IP, et al. Wood' light in Dermatology: an essential technique. *Piel* 2014;29:487–94.
 - 29 Balkrishnan R, McMichael AJ, Camacho FT, et al. Development and validation of a health-related quality of life instrument for women with Melasma. *Br J Dermatol* 2003;149:572–7.
 - 30 Cestari TF, Hexsel D, Viegas ML, et al. Validation of a Melasma quality of life questionnaire for Brazilian Portuguese language: the Melasql-BP study and improvement of QoL of Melasma patients after triple combination therapy. *Br J Dermatol* 2006;156 Suppl 1:13–20.
 - 31 Kim SJ, Park JY, Shibata T, et al. Efficacy and possible mechanisms of topical tranexamic acid in Melasma. *Clin Exp Dermatol* 2016;41:480–5.
 - 32 Esposito ACC, de Souza NP, Miot LDB, et al. Deficit in Autophagy: A possible mechanism involved in Melanocyte Hyperfunction in Melasma. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2021;1–3.
 - 33 Kim HJ, Moon SH, Cho SH, et al. Efficacy and safety of tranexamic acid in Melasma: A meta-analysis and systematic review. *Acta Derm Venereol* 2017;97:776–81.
 - 34 Zhu Y, Zeng X, Ying J, et al. Evaluating the quality of life among Melasma patients using the Melasqol scale: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2022;17.
 - 35 Steiner D, Feola C, Bialecki N, et al. Study evaluating the efficacy of topical and injected tranexamic acid in treatment of Melasma. *Surg Cosmet Dermatol* 2009;1:174–7.
 - 36 Ebrahimi B, Naeini FF. Topical tranexamic acid as a promising treatment for Melasma. *J Res Med Sci* 2014;19:753–7.
 - 37 Banihashemi M, Zabolinejad N, Jaafari MR, et al. Comparison of therapeutic effects of liposomal tranexamic acid and conventional Hydroquinone on Melasma. *J Cosmet Dermatol* 2015;14:174–7.
 - 38 El-Husseiny R, Rakha N, Sallam M. Efficacy and safety of tranexamic acid 5% cream vs Hydroquinone 4% cream in treating Melasma: A split-face comparative clinical, histopathological, and Antera 3d camera study. *Dermatol Ther* 2020;33.
 - 39 Manfreda V, Eleonora DM, Luca B. Efficacy and safety of Politransexamide® liposomal emulsion on facial Melasma: A comparative study. *J Cosmet Dermatol* 2023;22:1780–5.
 - 40 Mohamed E-E, Younes A-K, Hussein GM. Efficacy of 577 nm pulsed yellow laser in the treatment of Melasma: a prospective split-face study. *Journal of Cosmetic & Laser Therapy* 2020;22:107–10.
 - 41 Lima PB, Dias JAF, Cassiano DP, et al. Efficacy and safety of topical Isobutylamido Thiazolyl resorcinol (Thiamidol) vs. 4% Hydroquinone cream for facial Melasma: an Evaluator-blinded, randomized controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2021;35:1881–7.
 - 42 Sarker R, Ghunawat S, Narang I, et al. Role of broad - spectrum
- Sunscreen alone in the improvement of Melasma area severity index (MASI) and Melasma quality of life index in Melasma. *J Cosmet Dermatol* 2019;18:1066–73.
- 43 D'Mello S, Finlay G, Baguley B, et al. Signaling pathways in Melanogenesis. *IJMS* 2016;17:1144.
- 44 Wasmeier C, Hume AN, Blasoco G, et al. Melanosomes at a glance. *J Cell Sci* 2008;121(Pt 24):3995–9.
- 45 Janney MS, Subramanian R, Dabas R, et al. A randomized controlled study comparing the efficacy of topical 5% tranexamic acid solution versus 3% Hydroquinone cream in Melasma. *J Cutan Aesthet Surg* 2019;12:63–7.
- 46 Atifi N, Dalvand B, Ghassemi M, et al. Therapeutic effects of topical tranexamic acid in comparison with Hydroquinone in treatment of women with Melasma. *Dermatol Ther (Heidelberg)* 2017;7:417–24.
- 47 Gonzalez-Molina V, Marti-Pineda A, Gonzalez N. Topical treatments for Melasma and their mechanism of action. *J Clin Aesthet Dermatol* 2022;15:19–28.
- 48 Feng X, Su H, Xie J. Efficacy and safety of tranexamic acid in the treatment of adult Melasma: an updated meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Pharm Ther* 2021;46:1263–73.
- 49 Desai S, Chan L, Handog E, et al. Optimizing Melasma management with topical tranexamic acid: an expert consensus. *J Drugs Dermatol* 2023;22:386–92.
- 50 Nguyen J, Rajgopal Bala H, Ross A, et al. Effect of oral tranexamic acid on erythema index in patients with Melasma. *Australas J Dermatol* 2021;62:206–9.
- 51 Li J, Li J, Zhang L, et al. Comparison of red light and blue light therapies for Mild- To- moderate Acne Vulgaris: A randomized controlled clinical study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2022;38:459–64.
- 52 Zhou S, Yamada R, Sakamoto K. Low energy multiple blue light-emitting Diode light irradiation promotes Melanin synthesis and induces DNA damage in B16F10 Melanoma cells. *PLoS One* 2023;18.

ANEXO H: Artigo de revisão publicado⁵⁰

REVIEW ARTICLE

Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine WILEY

Photobiomodulation for melasma treatment: Integrative review and state of the art

Thais Rodrigues Galache¹  | Michelle Mota Sena¹  |
João Alberto Fioravante Tassinary²  | Christiane Pavani¹ 

¹Postgraduate Program in Biophotonics Medicine, Universidade Nove de Julho, UNINOVE, São Paulo, SP, Brazil

²Centro Universitário Univates – CCBS, Lajeado, RS, Brazil

Correspondence

Christiane Pavani, Biophotonics Medicine Postgraduation Program, Universidade Nove de Julho, UNINOVE, R. Vergueiro, 235/249, São Paulo, SP CEP 01504-001, Brazil.
Email: chrispavani@gmail.com

Funding information

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Grant/Award Number: 304829/2020-0; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Grant/Award Number: Finance Code 001

Abstract

Purpose: Photobiomodulation therapy (PBM) is a versatile technique for treating skin diseases. Melasma, a chronic hyperpigmentation condition, has recently been associated with vascular features and dermal photoaging and poses significant management challenges. We review the recent literature on melasma etiology and the evidence supporting PBM as a therapeutic modality for melasma treatment.

Methods: We conducted a comprehensive literature search in three different databases from May to August 2023, focusing on studies published in the past 10 years. The inclusion criteria comprised full-text studies investigating low-power lasers and/or light-emitting diodes (LEDs) in *in vitro* or *in vivo* models, as well as clinical trials. We excluded studies discussing alternative melasma therapies or lacking experimental data. We identified additional studies by searching the reference lists of the selected articles.

Results: We identified nine relevant studies. Clinical studies, in agreement with *in vitro* experiments and animal models, suggest that PBM effectively reduces melasma-associated hyperpigmentation. Specific wavelengths (red: 630nm; amber: 585 and 590nm; infrared: 830 and 850nm) at radiant exposures between 1 and 20J/cm² exert modulatory effects on tyrosinase activity, gene expression, and protein synthesis of melanocytic pathway components, and thus significantly reduce the melanin content. Additionally, PBM is effective in improving the dermal structure and reducing erythema and neovascularization, features recently identified as pathological components of melasma.

Conclusion: PBM emerges as a promising, contemporary, and non-invasive procedure for treating melasma. Beyond its role in inhibiting melanogenesis, PBM shows potential in reducing erythema and vascularization and improving dermal conditions. However, robust and well-designed clinical trials are needed to determine optimal light parameters and to evaluate the effects of PBM on melasma thoroughly.

KEY WORDS

chloasma, hyperpigmentation, low-level laser therapy, melasma, phototherapy

1 | INTRODUCTION

Melasma is a common, chronic, and recurrent condition—an acquired pigmentary disorder characterized by symmetrical, hyperpigmented macules on sun-exposed areas of the face.¹⁻³ Epidemiological studies have revealed significant variations in the prevalence of melasma across different populations: It is more common in Middle Eastern, East Asian, Mediterranean-African, and South American populations.^{4,5} Based on recent data, in Germany, melasma is more common in individuals with intermediate skin phototypes (III, IV, and V), and the female-to-male ratio of melasma cases is approximately 5.12.⁶ In Brazil, melasma is also more prevalent in women (97.5%), preferentially with skin phototypes II, III, and IV. The age of onset is earlier for phototypes II and III (before 30 years old).⁵ Despite being a common disorder, the pathogenesis of melasma is complex, and our understanding of it evolving.

The precise etiology of melasma remains elusive; however, several factors have been implicated, including genetic predisposition, hormonal influences, ultraviolet (UV) radiation exposure, and the use of certain medications.^{3,4} The burden of melasma extends beyond its physical manifestations, as it can significantly impact a patient's quality of life due to its cosmetic implications. This impact leads to emotional distress, social withdrawal, and reduced self-confidence. The visible nature of melasma lesions, particularly on the face, may result in feelings of embarrassment, frustration, and self-consciousness.^{6,7} The psychosocial implications can extend to various domains, including interpersonal relationships, professional life, and overall well-being. Therefore, the development and implementation of effective treatment strategies for melasma are of utmost importance to improve the patients' quality of life.

The pursuit of effective treatment options for melasma is driven by both patients and healthcare professionals. Patients often seek interventions that can alleviate the visible signs of melasma and enhance their self-esteem. Professionals continually strive to identify novel therapeutic modalities that can achieve satisfactory outcomes and minimize the risk of adverse effects. Consequently, there is still a substantial search for effective melasma treatments, a phenomenon that reflects the unmet need for reliable and evidence-based interventions. In this review, we provide a comprehensive overview of melasma, including its etiology and therapeutic implications. Additionally, we review the

potential of photobiomodulation (PBM) as a promising therapeutic approach to manage melasma.

2 | METHODS

We selected the studies included in this integrative review from a systematic search of the National Library of Medicine (PubMed), Cochrane Library and Medical Literature Analysis, and the Retrieval System Online (MEDLINE) databases conducted from May to August 2023. We only considered papers published in the last 10 years.

After delimiting the theme, we formulated the research question by following the PVO strategy (population/problem, variable, and results/outcomes). In addition, we used the PICO strategy (population/patient, intervention, comparator/control, and outcome) for the systematic review (Table 1) to define the guide question: "How can PBM contribute to the treatment of melasma?"

The search keywords were based on health terminology consulted in the Descriptors in Health Sciences (DeCS) and the Medical Subject Headings (MeSH) and some synonyms found in the literature. We employed the following search string: (photobiomodulation OR phototherapy OR low-intensity laser OR LLLT—low-level laser therapy—OR light emitting diode) AND (melasma OR chloasma OR hyperpigmentation OR melanin synthesis OR melanogenesis).

We only included scientific studies for which a full electronic text was available in which low-power lasers and/or light-emitting diodes (LEDs) were tested in *in vitro* or *in vivo* models or through clinical trials. We used the Rayyan software to assist in the database screening based on the inclusion criteria.⁸ We excluded reports that mentioned other therapies for melasma improvement or that did not include experimental studies. We also searched the references

of the selected articles to identify additional studies and those that were selected were done with the agreement of the co-authors. The number of studies identified in the search, as well as those selected and included in our review, is shown in Figure 1.

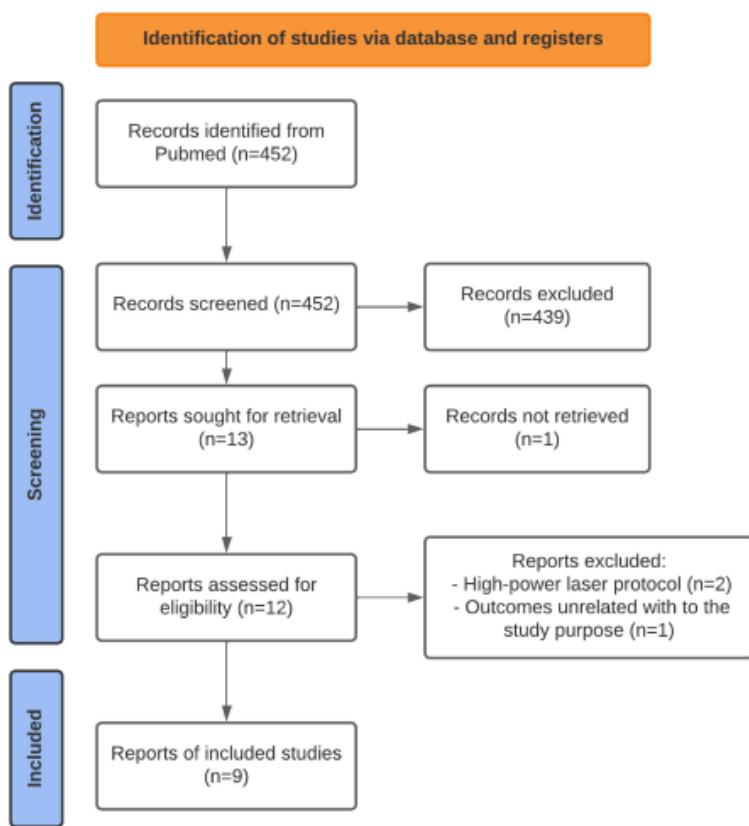
3 | RESULTS

To enhance the reader's understanding of the effects of PBM on melasma, we deemed it crucial to begin with an overview of the etiology and pathology of melasma. This is particularly significant

Identification	Parameter	Detail
P	Population/Patient	Melasma
I	Intervention	Photobiomodulation
C	Comparator/Control	Other procedures/Neither
O	Outcome	Hyperpigmentation improvement

TABLE 1 PICO strategy for search.

FIGURE 1 PRISMA flowchart of the screening process.



considering the recent advancements and proposals pertaining to this subject matter.

3.1 | Review of the etiology, pathology, and mechanisms of melasma

Melanocytes, specialized pigment-producing cells residing in the basal layer of the epidermis, play a vital role in the defense mechanism of the skin tissue.⁹ One of their primary functions is to produce and distribute melanin, the pigment responsible for skin, hair, and eye color. Beyond its esthetic significance, melanin acts as a natural defense mechanism, offering protection against various endogenous or harmful environmental factors. In this sense, the development of melasma is influenced by various factors such as UV radiation exposure, hormonal stimulation, genetic predisposition, oxidative stress, and others.^{5,6}

Exposure to UV radiation is a well-known trigger for melasma, as it can induce oxidative stress and promote melanocyte hyperactivity. Furthermore, the involvement of inflammatory mediators, such as cytokines and growth factors, has been implicated in melasma pathogenesis.^{4,9} Genetic factors are also believed to contribute to melasma susceptibility, with certain gene polymorphisms associated with an increased risk of developing the condition.⁹⁻¹¹ Finally,

hormonal changes, such as pregnancy, oral contraceptive use, and hormonal replacement therapy, may lead to increased production of estrogen and progesterone, which can stimulate melanocyte activity and enhance melanin production.^{4,9,12}

Melasma pathology was first associated with melanogenesis, which is a complex series of enzymatic reactions that occur within melanocytes, resulting in the production of the pigment melanin and its distribution to other cells. The process begins with the conversion of the amino acid tyrosine to dopaquinone, catalyzed by the enzyme tyrosinase (TYR).⁴ Subsequently, dopaquinone is converted into eumelanin or pheomelanin, the two main types of melanin pigments. The efficiency of this conversion is influenced by several enzymes, including tyrosinase-related protein 1 (TRP-1) and tyrosinase-related protein 2 (TRP-2), also known as dopachrome tautomerase.^{4,13} Eumelanin, responsible for brown to black pigmentation, is a more protective form of melanin due to its reactive oxygen scavenger properties, as well as its ability to absorb and scatter UV rays.¹⁴ Conversely, pheomelanin—which is responsible for red or yellow pigmentation and is formed when sulfur-containing molecules such as glutathione or cysteine are present—produces reactive oxygen species when exposed to UVA light.¹⁴ The ratio between eumelanin and pheomelanin synthesis influences the pigmentation phenotype observed in melasma.

There is a robust network of cellular interactions resulting in the activation of melanogenesis in melasma because the function

of melanocytes is regulated by both autocrine and paracrine factors expressed by different types of cells.⁴ Indeed, there is a huge number of signaling mechanisms for melanogenesis; these have been discussed extensively in previous reviews.^{9,15}

Briefly, after UV exposure, keratinocytes produce alpha-melanocyte-stimulating hormone (α -MSH), which binds to the melanocortin-1 receptor (MC1R) on the melanocyte surface (Figure 2). Downstream, microphthalmia-associated transcription factor (MITF) stimulates the synthesis of the enzymes related to melanogenesis (TYR, TRP-1, and TRP-2).^{14,15} These enzymes are transferred to melanosomes where the chemical reactions occur and melanin is produced. UV exposure also increases production of endothelin-1 (EDN-1) in keratinocytes and results in an increase in TYR and TRP-1.^{9,16,17} Stem cell factor (SCF), a ligand for the tyrosine kinase receptor c-kit, also activates melanogenesis via MITF, and it may be secreted by keratinocytes and fibroblasts.^{9,15}

Fibroblasts also secrete Wnt signaling modulators, which upregulate melanogenesis.^{15,18} Activation of the Wnt pathway leads to the stabilization of β -catenin, which translocates to the nucleus and regulates the expression of various target genes, including MITF.⁹ The crosstalk between melanocytes and senescent fibroblasts also plays a role in melasma. The increased expression of the growth differentiation factor 15 (GDF15) induces skin pigmentation through β -catenin.¹⁹ In addition, senescent fibroblasts release vascular

endothelial growth factor (VEGF) that stimulates neovascularization, while the new endothelial cells release EDN-1 that upregulates melanogenesis.¹⁶

Sebocytes exposed to 5J/cm² UVA in vitro produced the melanogenic factors α -MSH, EDN-1, SCF, and basic fibroblast growth factor (bFGF); the cytokines interleukin 1alpha (IL-1 α), IL-1 β , IL-6, and IL-8; arachidonic acid; and prostaglandins. The authors applied the conditioned medium from these cells to melanocytes, which presented increased TYR activity and melanin content, an effect comparable to forskolin.²⁰

Recent evidence has shown that melasma presents a disturbance of melanogenesis as well as features of dermal photoaging such as altered basement membrane, increased vascularization, solar elastosis, and increased mast cell count.^{1,16,17}

The basement membrane has a crucial role in maintaining epidermal/dermal homeostasis. UV exposure leads to increased levels of metalloproteinase 2 (MMP-2) and MMP-9, which degrade collagen IV and VII. Moreover, cadherin, which mediates adhesion between keratinocytes and melanocytes, is degraded by UV radiation. Consequently, loss of basement membrane integrity and cadherins allow melanocytes to protrude into the dermis (called pendulous melanocytes) and to deliver melanin deep in the skin.^{1,4,17} Additionally, the melanin phagocytized by macrophages (the melanophages) are responsible for persistent pigmentation.¹⁷

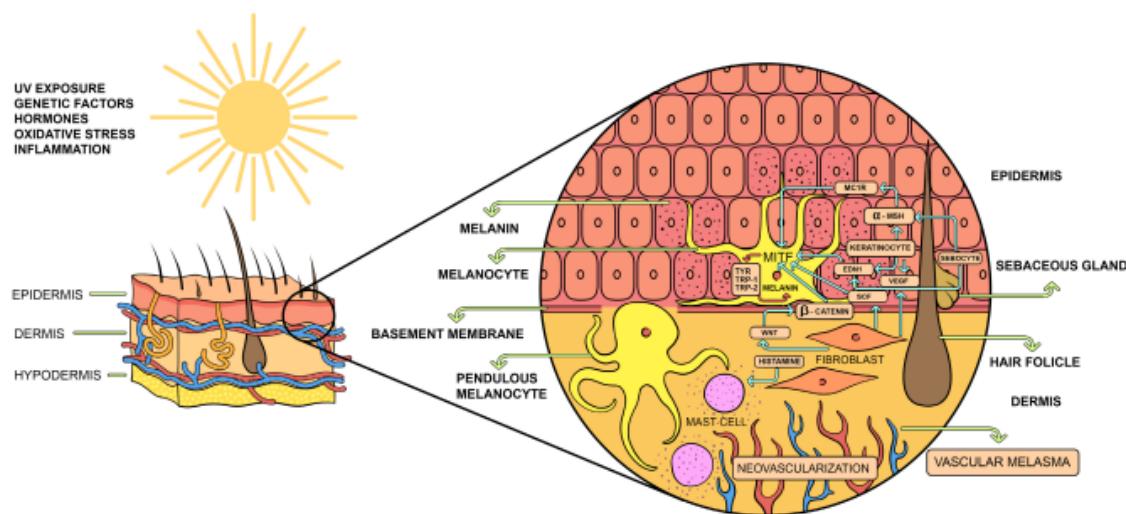


FIGURE 2 Cells and signaling pathways related to skin pigmentation. Exposure to UV radiation stimulates the production of α -MSH by keratinocytes, which binds to the MC1R on the surface of melanocytes and favors the downstream action of MITF. The activation of MITF increases the synthesis of enzymes related to melanogenesis, such as TYR, TRP-1, and TRP-2. UV radiation also acts on keratinocytes, inducing the production of EDN-1, which also results in an increase in TYR and TRP-1. Fibroblasts secrete SCF, which acts to activate melanogenesis via MITF, in addition to modulating Wnt signaling, which also acts to stimulate melanogenesis. Both keratinocytes and senescent fibroblasts can release VEGF, an important molecule for neovascularization and which may be involved in the production of EDN-1 by new endothelial cells, culminating in an increase in the melanogenic process. Finally, characteristics related to dermal photoaging such as altered basement membrane, increased vascularization, solar elastosis, and increased mast cell count were also observed in melasma. α -MSH, melanocyte stimulating hormone; EDN-1, endothelin-1; MC1R, microphthalmia-associated transcription factor; SCF, stem cell factor; TRP-1, tyrosinase-related protein 1; TRP-2, tyrosinase-related protein 2; TYR, tyrosinase; UV, ultraviolet; VEGF, vascular endothelial growth factor.

Regarding vascularization, there is an increase in the number, size, and caliper of blood vessels in melasma lesions compared with normal skin.^{21,22} In addition, there is increased expression of VEGF in melasma. UV exposure increases VEGF production by keratinocytes and it may be related to the vascular component in melasma.^{4,17} Histological analysis of melasma lesions has shown the presence of elastosis and an increased mast cell count.²¹ The presence of elastosis suggests that sun damage is involved in melasma, while the increase in mast cells indicates chronic skin inflammation.⁴ Additionally, mast cells produce mediators, such as VEGF, FGF2, and transforming growth factor β (TGF- β), that induce elastin production in fibroblasts, may participate the damage to basement membrane, and also are angiogenic factors.^{1,22}

Considering the complex nature of the melasma pathology related to melanogenesis, dermal photoaging including the neovasculature, basement membrane damage, and increased mast cell count, treatment should be designed to address all these features.

3.2 | PBM: Definition and light parameters

Low-level laser therapy (LLLT) was discovered in the 1960s. This technique uses coherent, monochromatic, and quasimonochromatic light in the optical region of ~600–1000nm to treat skin conditions in a nondestructive and nonthermal way through the absorption of photons in chromophores.²³ Considering that the use of laser is not necessary and that both stimulation and inhibition of biological processes could be useful, the technique has received the name PBM.^{24,25}

The spectral regions most commonly used in PBM (red at 600–700nm and near-infrared [NIR] at 780–1100nm) are justified by their greater tissue penetration when compared with other wavelengths due to lower absorption and scattering by tissue chromophores.^{23,26,27} Cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the respiratory chain in eukaryotic cells, consists of the main energy photoacceptor molecule and is responsible for the PBM effects. After accepting the photon, there is a cascade of mitochondrial events that result in the biostimulation of various cellular processes, such as cell proliferation, survival, tissue repair, and regeneration.²⁸

In light of the necessity of transferring energy from a photon to a chromophore to induce biological activity and cellular processes without incurring thermal tissue damage, light sources in the form of low-power lasers or LEDs (1–500mW) are commonly employed.^{29,30} Maintaining a low irradiance (<100mW/cm²) is critical to prevent undesired thermal effects and the initiation of reactions unrelated to PBM. The choice of radiant exposure, which quantifies the energy delivered per unit area (expressed as J/cm²), is subject to variation based on the specific wavelength and pathology under consideration. It is notable that lower radiant exposure values are associated with stimulation, while higher values correspond to inhibition, aligning with the principles postulated by the Arndt-Schulz law.²⁷

3.3 | PBM therapy in melasma: In vitro/in vivo data

3.3.1 | The effect of PBM on cell viability and apoptosis

Researchers have evaluated the effects provided by PBM on melanogenesis by using in vitro assays (Table 2). In general, different wavelengths did not show cytotoxic effects in cell viability assays.^{29,31,32} However, it is crucial to exercise caution when considering radiant exposure applied to biological tissues. It is important to note that while there were no alterations in cell proliferation and apoptosis following a 5-day irradiation period with yellow/amber LED light at 585nm (at radiant exposures of 5, 10, 15, and 20J/cm²) and blue LED light at 420nm (at radiant exposures of 5 and 10J/cm²), there was a dose-dependent reduction in cell viability and an increase in apoptosis with the application of red LED light at 630nm and blue LED light at 420nm (when delivered at a radiant exposures >20J/cm²).³¹ Also considering the blue wavelength, Kim et al.³³ evaluated the irradiation effects with LED light at 415nm, called "short" blue, which led to a reduction in viable cells when tested at a radiant exposure of 10, 20, and 40J/cm².

3.3.2 | The effects of PBM on the melanin content and TYR activity

Even after adding forskolin, which induces melanogenesis, there was a reduction in the melanin content after irradiation with infrared LED light at 830nm (20J/cm²), 850nm (1J/cm²), and 940nm (2J/cm²).³³ Furthermore, there was a dose-dependent melanin reduction after application of 660nm (5, 7.5, and 10J/cm²)³⁴ and 585nm LED. There was inhibition of melanosome maturation after exposure to 585nm LED, along with stage I-II melanosome accumulation and a significant reduction in stage III-IV melanosomes.³¹ On the other hand, melanin synthesis was increased around 1.3 times after multiple exposures to long-length 470nm blue LED light (1–2J/cm²),³⁵ showing that different wavelengths could promote different responses in this pathway.

The observed melanin reduction was associated with a reduction in TYR activity after PBM with 660nm LED light (10J/cm²), as well as after repeated irradiation at 830nm (20J/cm²) and 850nm (1J/cm²),^{33,34} and in a dose-dependent manner at 585nm (5, 10, 15, and 20J/cm²).³¹ Interestingly, an *in vivo* evaluation identified that LED light at 660nm (10 and 20J/cm²) was also effective in reducing melanin synthesis in hyperpigmentation induced by UVB radiation.³⁴

In one study, the authors aimed to compare the effects of PBM at 457nm (blue), 635nm (red), and 335nm (UV), with a radiant exposure of 2J/cm².³⁶ Using transmission electron microscopy (TEM), they found that 72h after LED application, there was a significant increase in the number of stage I melanosomes compared with the control group. According to the authors, these findings indicate that melanogenesis was stimulated by the three wavelengths, especially

TABLE 2 Characterization of selected studies on the use of PBM in melasma.

Authors, year	Title	Country of study	Experimental design	Main findings
AlGhamdi et al., 2016 ³⁶	Ultra-structural effects of different low-level lasers on normal cultured human melanocytes: an in vitro comparative study	Saudi Arabia	In vitro (HEMs)	All lasers increased the number of stage I pre-melanosomes in basal melanocytes, which indicates stimulation of melanogenesis. The red laser showed a superior effect compared to the other lasers, and the blue laser showed similar results. The UV laser was, however, the least effective
Barolet, 2018 ³⁷	Dual effect of photobiomodulation on Melasma: downregulation of hyperpigmentation and enhanced solar resistance – a pilot study	Canada	Clinical trial (n=7)	The study showed that dermal melasma can be significantly improved with weekly treatment for eight weeks with pulsed PBM
Chen et al., 2018 ³¹	Light-emitting diode 585 nm photomodulation inhibiting melanin synthesis and inducing autophagy in human melanocytes	China	In vitro (HEMs)	Treatment with 5 J/cm ² to 20 J/cm ² inhibited melanosome maturation, decreased melanin content and tyrosinase activity. Inhibition was accompanied by the decreased expression of TYR, TRP-1 and MITF on both mRNA and protein levels. There was evidence that treatment with amber LED possibly led to melanin reduction by activating autophagy
Dai et al., 2022 ³²	590nm LED irradiation improved erythema through inhibiting angiogenesis of human microvascular endothelial cells and ameliorated pigmentation in melasma	China	In vitro (HMEC-1) Clinical trial (n=10)	This wavelength inhibited HMEC-1 migration, tube formation and the secretion of VEGF and SCF, a pro-melanogenic factor, predominantly through the inhibition of the AKT/PI3K/mTOR pathway. Treatments led to improvement in objective parameters related to erythema, melanin, and affected area, with no reports of worsening symptoms and/or manifestation of adverse effects during treatment
Jin et al., 2020 ²⁹	585 nm light-emitting diodes inhibit melanogenesis through upregulating H19/miR-675 axis in LEDs-irradiated keratinocytes by paracrine effect	China	In vitro (NHEMs and NHEKs)	This study demonstrated that 585 nm LEDs could inhibit melanogenesis in NHEMs via the upregulation of H19 and its derived exosomal miR-675 from NHEKs, which was considered a novel paracrine factor in regulating melanogenesis
Kim et al., 2012 ³³	Light-emitting diodes at 830 and 850 nm inhibit melanin synthesis in vitro	South Korea	In vitro (HEMs)	The evaluation of the effect of seven different wavelengths on melanogenesis indicated that there was a reduction in melanin production and tyrosinase expression, as well as in the expression of other related genes (TRP-1, TRP-2, and MITF) after irradiation with LED at 830 nm and 850 nm
Mpfana et al., 2018 ³⁸	The management of melasma on skin types V and VI using light-emitting diode treatment	South Africa	Clinical trial (n=60)	This study led to a reduction in melasma intensity and pigment granule count in histological images, demonstrating the effectiveness of LED at 633 nm and 830 nm on melasma in patients with phototypes V and VI, without any side effects during the study period
Oh et al., 2017 ³⁴	Inhibitory effect of 660-nm LED on melanin synthesis in in vitro and in vivo	South Korea	In vitro (B16F10 murine melanoma cells) In vivo (HRM-2 melanin-possessing hairless mice)	There was a significant reduction in melanin content, which occurred in a dose-dependent manner after the application of the 660 nm LED, which was also associated with a decrease in tyrosinase activity. In vivo treatment showed that 660 nm LED was effective in decreasing melanin synthesis in UVB-induced hyperpigmentation. Furthermore, the LED-irradiated group demonstrated significant, dose-dependent reductions in melanin, tyrosinase, and MITF protein expression compared to the UVB-irradiated group
Zhou et al., 2023 ³⁵	Low energy multiple blue light-emitting diode light Irradiation promotes melanin synthesis and induces DNA damage in B16F10 melanoma cells	Japan	In vitro (B16F10 murine melanoma cells)	There was a 1.2–1.3x increase in melanin synthesis after three exposures to 470 nm LED blue light. There was upregulation of genes related to melanin synthesis, such as TYR, TRP-1, TRP-2 and MITF after 3 h of exposure, demonstrating that multiple exposure to low-density blue light also induces increased melanin synthesis

by red, which had a superior effect when compared with the other wavelengths.³⁶ In another study, after treating keratinocytes with amber LED light at 585 nm with a radiant exposure above 30 J/cm² and using the conditioned medium to evaluate the effects of PBM on melanocytes, there was an increase in melanogenesis, possibly due to cytotoxic effects on the treated cells, the results of the biphasic response of PBM.²⁹

3.3.3 | Consequences of PBM on the gene expression of melanocytic pathway proteins

Researchers have also evaluated the effects of PBM on the gene expression of melanocytic pathway proteins (Table 3). Of the papers included in this review, only irradiation with blue LED light (470 nm, 1–2 J/cm²) could stimulate the expression of genes related to melanin synthesis. There was a significant increase in MITF immediately after exposure (1–2 h), with upregulation of TYR, TRP-1, TRP-2, and MITF 3 h after treatment. We infer that multiple exposures to blue light, even at a low energy density, lead to increased melanin production.³⁵

Gene expression and MITF, TRP-1, and TRP-2 proteins were reduced after exposure to infrared light at 830 nm (20 J/cm²) and TRP-1 and TRP-2 at 850 nm (1 J/cm²), corroborating the decreased melanin content and TYR activity. However, although LED light at 940 nm reduced the latter, it did not lead to significant differences in the other components of the signaling pathway.³³

According to Oh et al.,³⁴ TYR expression remained reduced 72 h after irradiation with LED light at 660 nm even in the presence of α -MSH, a melanocytic pathway stimulant, and that there was induction of extracellular signal-regulated kinase (ERK) phosphorylation after 120 min of irradiation. This outcome was due to the marking of MITF for proteasomal degradation and a consequent decrease in melanin synthesis.³⁴

Regarding the findings for amber light, there was a reduction in the messenger RNA (mRNA) expression of TYR, TRP-1, and MITF, suggesting that the LED light at 585 nm acts directly on melanogenesis.³¹ In this same study, the authors found differences regarding the cytoplasmic arrangement of microtubule-associated protein light chain 3 (LC3) aggregates, in addition to an increase in the LC3-II protein band in the lysates of irradiated melanocytes. These changes are evidence that there was an induction of autophagosome formation in these cells. Hence, PBM with amber light seems to inhibit melanogenesis by promoting autophagy.³¹ The results reported by Jin et al.¹⁹ corroborate the previously reported results regarding the dose-dependent reduction of MITF, TYR, and TRP-1 mRNA expression and the downregulation of these proteins after irradiation with amber light at 585 nm. These effects are probably the result of increased expression of the H19/miR-675 axis in keratinocytes and their exosomes. Thus, the inhibitory effects on melanocytes likely occur in a paracrine manner.¹⁹

Finally, after irradiation of human microvascular endothelial cells (HMEC-1) in vitro with LED light at 590 nm, there was a significant

reduction in both cell migration and tube formation with a radiant exposure between 20 and 40 J/cm². These results were associated with a decrease in VEGF and SCF levels. The findings suggest that amber light plays some role in inhibiting angiogenesis and improving parameters associated with melasma, in addition to its effects on melanogenesis.³²

3.4 | PBM therapy in melasma: Clinical data

Barolet et al.³⁷ conducted a split-face pilot study involving seven patients (Table 4). They applied weekly microdermabrasion to both sides of the face, followed by infrared PBM on a randomly assigned side. The PBM parameters were: wavelength of 940 nm, energy density of 13.5 J/cm², power density of 90 mW/cm², and a duty cycle of 50%. This treatment was carried out for 8 consecutive weeks. Twelve weeks after beginning the treatment, the Melasma Area and Severity Index (MASI) score was significantly reduced from 11.4 to 4.7 in the group receiving PBM plus microdermabrasion; there was a much less pronounced MASI score decrease from 9.9 to 8.6 in the group that only received microdermabrasion. The authors did not provide the standard deviation, precluding the ability to calculate the effect size. However, the reduction in the melanin index was not as significant as that observed in the MASI score.³⁷

Mpfafana et al.³⁸ treated 60 patients with melasma, specifically those with skin phototypes V and VI, using LED light at 633 nm

(126 J/cm²; 105 mW/cm²) and 830 nm (66 J/cm²; 55 mW/cm²). The treatment protocol consisted of a session with 633 nm light, followed by an application of 830 nm light after a 2-day interval, for a total duration of 12 weeks. Subsequently, this treatment sequence was repeated once a month for 6 months, resulting in a total treatment duration of 9 months. Although the authors reported a reduction in the MASI score before and after the treatments, they did not provide specific values in their study. Additionally, there were no significant differences in the MASI score reduction between the two skin phototypes. It is worth noting that there were no side effects in these patients with higher skin phototypes.³⁸

In a prospective study without a control group, Dai et al.³² treated 10 patients using amber light (585 nm, 20 J/cm², 20 mW/cm²) once a week for 8 weeks. There were significant improvements in erythema and hyperpigmentation, with a reduction in the MASI score—from 17 to 13—at week 8. This MASI score reduction continued at week 12 and remained stable up to week 20. None of the patients reported worsening of their condition.³²

4 | DISCUSSION

We conducted this integrative review by considering different experimental designs to evaluate the state of the art of PBM for melasma treatment. We have identified the mechanisms by which PBM exerts its effects and verified the clinical efficacy of PBM as

TABLE 3 Dosimetric parameters used in PBM in vitro/in vivo assays.

	Author, year	Jin et al., 2020 ²⁹	Chen et al., 2018 ³¹	Oh et al., 2017 ³⁴	2016 ³⁶	AlGhamdi et al., 2012 ³³
Dosimetric parameter	Zhou et al., 2023 ³⁵	Dai et al., 2022 ³²	Normal human epidermal keratinocytes (NHKs) and normal human epidermal melanocytes (NHEMs)	Human epidermal melanocytes (HEMs)	B16F10 murine melanoma cells HRM-2 melanin-possessing hairless mice	Human epidermal melanocytes (HEMs)
Experimental model	B16F10 murine melanoma cells	Human microvascular endothelial cells (HMEC-1)				
Equipment	AITEC SYSTEM CO., LTD. (Japan)	Xuzhou Kernel Medical Equipment Co., Ltd., (Xuzhou, Jiangsu, China)	KN-7000D, Kernel Medical (China)	Smartlux Harmony Medical (Korea)	Korea Electronics Technology Institute, Gyeonggi-do (Korea)	Elec tronics and Telecommunications Research Institute (Daejeon, Korea)
Light source	LED	LED	LED	LED	Laser	LED
Center wavelength (nm)	470	590	585	660	335, 457, 635	415, 530, 630, 660, 830, 850, 940
Operating mode	Continuous	Continuous	Continuous	—	Continuous	—
Average radiant power (mW)	—	—	—	—	—	—
Aperture diameter - spot size (cm ²)	—	—	—	—	—	—
Energy per session (J)	—	—	—	—	—	—
Total irradiation time per session (s)	0, 3600 and 7200	The formula W = P x t was used to compute the irradiation time	—	—	80	—
Irradiance at the target (mW/cm ²)	0.27	35	20	—	25	54.8 (415 nm), 15.8 (530 nm), 22.2 (630 nm), 17.1 (660 nm), 96 (830 nm), 114 (850 nm), 55.5 (940 nm)
Total radiance exposure per session (J/cm ²)	0, 1 and 2	0, 10, 20, 30, 40 and 50	0, 5, 10, 20, 30, 40 and 50	0, 2.5, 5, 7.5, 10, 15 and 20	2.0	0, 1, 2, 5, 10, 20 and 40
Area irradiated (cm ²)	—	—	—	—	—	—
Application technique	—	—	—	—	—	—
Number and frequency of application	Once a day for 3 days	Single application	Single application	Single application	Single application	Single application

TABLE 4 Dosimetric parameters used in PBM treatments for melasma in clinical trials.

Dosimetric parameter	Author, year	Dai et al., 2022 ³²	Barolet, 2018 ³⁷	Mpfana et al., 2018 ³⁸
Number of patients evaluated	<i>n</i> =10	<i>n</i> =7	<i>n</i> =60	
Equipment	Product code: KN-7000D, donated by Xuzhou Kernel Medical Equipment Co.	Lumiphase IR; OpusMed (Montreal, Canada)	Omnilux Medial LED	
Light source	LED	LED	LED	
Center wavelength (nm)	585	940	633+830	
Operating mode	–	Pulsed	Continuous	
Average radiant power (W)	17	–	40 (red) 30 (infrared)	
Aperture diameter – spot size (cm ²)	–	–		
Energy per session (J)		–		
Total irradiation time per session (s)	1000	300	1200	
Irradiance at the target (mW/cm ²)	20	90	105 (red) 55 (infrared)	
Total radiance exposure per session (J/cm ²)	20	13.5	126 (red) 66 (infrared)	
Area irradiated (cm ²)	850 ± 10%	250 (12.5 × 20)	–	
Application technique	–	–		
Number and frequency of treatment sessions	Once a week for eight consecutive sessions	Weekly treatment for eight consecutive sessions	24 treatments were performed weekly (1 session with 633nm and another with 830nm with an interval of 2 days for 12 weeks) and the remaining treatments were performed once a month for 6 months, totaling 36 treatments over a period of 9 months	

a melasma treatment. The term PBM has recently been coined to more accurately describe the technique involving low-intensity lasers or LEDs.^{24,25} This approach seeks to align with the underlying principles of the technique. PBM employs visible light to manipulate biological cascades, thereby either biostimulating or inhibiting signaling pathways.^{25,39} The specific outcomes are contingent upon the chosen light parameters, considering the Arndt-Schultz law, which states that "for every substance, small doses stimulate, moderate doses inhibit, and large doses kill."^{39,40}

In terms of wavelengths, amber light (around 585 nm) has been studied most intensively; however, its clinical efficacy requires further investigation considering more robust study designs, such as randomized clinical trials. The proposed mechanism for amber light suggests a triple action: downregulation of MITF, TYR, and TRP-1; autophagy promotion; and VEGF reduction. In this sense, amber PBM could act simultaneously at different pathophysiological pillars of melasma. This potentiality justifies the investigation of this therapy in future clinical trials.⁴¹

Red and infrared light (from 660 to 940 nm) have been tested separately or in combination in patients. However, the evidence

level is still low due to small sample sizes or the lack of a control group for comparison, increasing the risk of bias. Nonetheless, both spectral regions seem to downregulate MITF, TYR, TRP-1, and TRP-2 in *in vitro* models.

On the other hand, blue light mostly seems to increase hyperpigmentation in melasma rather than treat it due to upregulation of the melanogenesis-related proteins MITF, TYR, TRP-1, and TRP-2. Hence, blue light is not indicated to treat melasma or other hyperpigmentation disorders. Additionally, professionals should be cautious when using blue light for other dermatological approaches. For example, blue light is known to present a bactericidal effect and has been widely used to treat acne. Patients receiving blue light for acne treatment showed high levels of hyperpigmentation.⁴²

Regarding hyperpigmentation, the stimulation of melanogenesis in vitiligo has been achieved through the application of red light at a low radiant exposure level (1–3 J/cm²) via retrograde mitochondrial signaling. Specifically, the absorption of energy by cytochrome c oxidase alters the functional status of the mitochondria, which ultimately promotes the activation of cellular regenerative pathways.^{43–45} Conversely, for the treatment of melasma using red

light, with the goal of inhibiting melanogenesis, a high radiant exposure ($>20\text{ J/cm}^2$) has been employed, emphasizing the importance of properly choosing the light parameters.^{31,38,41} As mentioned above, these opposite stimuli are responses to light parameters following the Arndt-Schultz law.

It is important to point out the differences between UV- and PBM-induced melanogenesis. UV light is characterized by shorter wavelengths and higher energy levels (because energy and wavelengths are inversely proportional). The mechanisms underlying melanogenesis induction after UV exposure have been extensively documented. Following UV exposure and the resultant oxidative stress in various skin cell types including keratinocytes,^{14,15} fibroblasts,^{15,18} and sebocytes,²⁰ and a series of signaling pathways are initiated, leading to proopiomelanocortin (POMC) production, the activation of MITF and/or activation of Wnt/ β -catenin signaling, as well as other support pathways and subsequent progression of the melanogenesis cascade.^{4,46} It is important to note that the application of UV light does not inhibit melanogenesis; on the contrary, it induces it and is also associated with the induction of carcinogenesis.^{47,48} On the other hand, PBM promotes the translocation of signaling regulators to the nucleus; in the nucleus, they regulate genes related to several responses.²⁹ In melasma, a total of 279 genes were found to be differentially expressed in the affected tissue and perilesional area.³⁷

A study that aimed to identify the effects of the application of UV (335 nm), blue (457 nm), and red (635 nm) light on melanocytes by using TEM reported discrepant results compared with other studies.³⁶ The authors stated that their findings could be evidence that melanogenesis was stimulated by the three wavelengths, especially by the red one, which had a superior effect when compared to the others.³⁶ However, we observed that, in truth, there was a reduction in the absolute number of melanosomes (control: 753; UV: 387; blue: 422; red: 344), which indicates a possible inhibitory effect of PBM. In addition, we noted a reduction in the percentage of stage IV melanosomes, which was proportional to the employed wavelength (control: 50.3%; UV: 41.1%; blue: 30.6%; red: 26.2%) associated with an increase in the percentage of stage I melanosomes (control: 12.9%; UV: 31.3%; blue: 52.1%; red: 58.4%), which could be related to inhibition or a delay in melanogenesis, contrary to what was proposed by the authors. However, the absence of additional evaluations, such as TYR activity and mRNA expression of the components of the melanogenic pathway, does not allow us to make such an assertion. On the other hand, the other studies, in general, corroborated each other regarding the melanin content; TYR activity; as well as gene expression of pathway proteins, such as MITF, TRP-1, and TRP-2, which were generally reduced after PBM at specific radiant exposures.

Melasma has traditionally been treated solely as a hyperpigmentation issue, and this approach has led to frequent treatment failures. However, there have been substantial advancements in understanding the pathogenesis of melasma. We now know that this process is associated with dermal photoaging characteristics such as altered basement membrane, increased vascularization, solar

elastosis, and an elevated mast cell count. In addition, melasma improvement has usually been assessed with the MASI score, which evaluates the area and pigmentation intensity of melasma but does not consider erythema. Therefore, the effects related to the vascular component of melasma have not been adequately measured. Due to the low number of clinical PBM studies, whose main limitation is a small sample size, well-designed randomized controlled trials with a low risk of bias are needed to demonstrate the benefits of PBM for melasma treatment. In addition to hyperpigmentation, assessed with the MASI, erythema and dermal homeostasis should also be assessed.

When using low-power LED in continuous mode (585 nm, 20 J/cm², 20 mW/cm²) and directly evaluating erythema using a specific index, researchers observed a reduction after 8 weeks of treatment. The erythema reduction observed in this scenario may be related to the inhibitory action attributed to LED light (590 nm, 20–40 J/cm²) on HMEC-1 migration and tube formation, as well as on the synthesis and secretion of VEGF and SCF by these cells.³² When considering the PBM effect on angiogenesis, a combination of 590 nm (25 mW, 22.5 J) and 830 nm (50 mW, 45 J) light, each for 5 min, reduced erythema and downregulated the expression of markers of angiogenesis (CD31) in a mouse model of rosacea.⁴⁹ Thus, it makes sense to consider the vascular component of melasma pathology, which is related to an increased mast cell count and elevated VEGF and CD31

expression.^{50,51}

Researchers have also evaluated the effects provided by different sources of laser light on the vascular component of melasma.^{52–55} In one of these studies, half of the patients with phototype IV presented postinflammatory hyperchromia after treatment.⁵⁴ In general, the beneficial effects on vascularity provided by these treatments have not been significant.⁵⁶ In this sense, the difficulty in obtaining satisfactory results with laser devices may be related to the type of equipment as well as the light parameters used. Pulsed-laser equipment (PDL, 585 nm) and copper bromide (CuBr, 511–578 nm) promote the delivery of relatively high energy for very short periods of time (milliseconds and nanoseconds), which may lead to rapid tissue heating and inflammation, resulting in postinflammatory hyperchromia.⁵⁷ On the other hand, low-intensity devices may be used for PBM and present several advantages—lower cost; a low risk or absence of adverse events; well-tolerated, safe, and effective non-ablative therapeutic strategy even for higher phototypes; and a lower rebound effect after treatment—as observed for high-intensity lasers or intense pulsed light.^{58–62}

Additionally, 590 and 830 nm light downregulated the expression of inflammatory mediators (S100A9 and p65) in a mouse model of rosacea.⁴⁹ Other studies have corroborated the hypothesis of the anti-inflammatory action of PBM, such as by the reduction in TNF- α , IL-6, and IL-8 mRNA and Nrf2 pathway stimulation in previously stressed human keratinocytes after irradiation with red (660 nm, 3 J/cm², 12 ± 4 mW/cm²) and green (520 nm, 3 J/cm², 12 ± 4 mW/cm²) light.⁶³ Besides, PBM stimulated collagen production in *in vitro* models^{64–66} and in clinical trials. Researchers have

reported a significant reduction in wrinkles when using amber and red light.^{67–70}

Considering the anti-inflammatory action of PBM, other studies have presented findings that indicate that red and infrared light act on pathways that culminate in the polarization of M2 macrophages, which are alternatively activated and have an anti-inflammatory and immunoregulatory phenotype.^{71–73} THP-1 cells irradiated with NIR light (700–1000 nm, 60 J/cm², 101 mW/cm²) showed hypermethylation of H3K4 in the promoter region of the mitochondrial citrate synthase (CS) gene and increased release of the cytokine CCL22, which was related to the release of TGFβ1 by exposed CD4+ T cells. These findings indicate that NIR possibly favors M2 polarization through cellular metabolic reprogramming via action on CS.⁷¹ Corroborating this finding, another *in vitro* study indicated that irradiation with red/infrared light (650 nm, 808 nm, 30 J/cm², 100 mW/cm²) was associated with Ca²⁺ influx, depolarization of the cell membrane, and increased metabolism and proliferation of endothelial cells that, especially in a situation of hypoxia, increased VEGF production and was related to an increase in the M2 macrophage population.⁷² Finally, in another study, when subjecting injured muscle cells to red/infrared irradiation (660 nm/780 nm, 25.025 J/cm²; 1750 mW/cm²), the authors observed modulation of the inflammatory phase, with a significant reduction in the number of CD68+ macrophages (M1) 2 days after muscle injury and an increase in the number of CD163+ macrophages (M2) 7 days after injury. They also observed an increase in the number of CD206+ macrophages (M2) on day 2 and TGFβ mRNA expression on days 2, 4, and 7 after irradiation with NIR.⁷³ These findings are evidence that PBM possibly acts as an important modulator of the inflammatory component present in melasma, although further studies are needed to clarify this attachment.

The studies we included in this review have shown that PBM could improve hyperpigmentation in clinical trials,^{27,32,34} findings that have been corroborated by *in vitro* studies,^{29,31–34} and could control inflammation,^{71–73} improve the dermis structure,^{67–70} and reduce angiogenesis.⁴⁹ Hence, PBM is a promising tool in the treatment of melasma. To minimize melasma recurrence and achieve more satisfactory treatment outcomes, it is crucial to employ combination therapy, which allows synergism and may modulate the melanogenesis, vascular, and dermal features of melasma.

5 | IMPLICATIONS FOR CLINICAL PRACTICE

Considering the points we have raised in this review, clinicians may consider using PBM in clinical practice. However, because there is still a low level of evidence, it should be used in combination to other therapies to treat melasma in all its complexity. In this sense, some suggestions have already been proposed.¹³

First, sunscreen is essential to reduce the exposure of a wide range of cells (keratinocytes, sebocytes, and fibroblasts) to UV

radiation.^{1,74} In addition, skin-lightening agents that act as TYR inhibitors (antioxidants, hydroquinone, arbutin, kojic acid, azelaic acid, some flavonoids, and others) as well as other active ingredients (α-MSH blockers, melanosome transferase inhibitors, and cytokine inhibitors) may help control melanogenic signaling.^{13,75} PBM may contribute to these actions by inhibiting the activity of TYR and other enzymes involved in melanin synthesis; downregulate MITF, TYR, TRP-1, and TRP-2 at the gene and protein levels; and inhibit melanogenesis by promoting autophagy. Finally, chemical peels^{76,77} and dermabrasion^{75,78,79} are the main choices to remove melanin from the epidermis.

Besides acting on melanogenesis, treating melasma includes the control of vascularization, which may be achieved by PBM as well as tranexamic acid.^{50,80,81} In addition, the dermal composition can be improved as part of melasma treatment. At this stage PBM; retinoic acid; inflammatory chemical peels⁸²; percutaneous collagen induction⁸²; and collagen biostimulators such as poly-L-lactic acid,⁸³ polydioxanone,⁸⁴ calcium hydroxyapatite,⁸⁵ and others should be considered, but also used with caution. PBM is an interesting tool because it induces collagen production without the need for an inflammatory stimulus, which could cause adverse effects and promote an increase in melanogenesis. Melasma should be managed by considering each patient's needs and skin/melasma features. This information should be obtained from a detailed evaluation.

6 | CONCLUSION

PBM is a promising, contemporary, and non-invasive procedure that could significantly contribute to melasma treatment. PBM

seems to act by inhibiting melanogenesis and by reducing erythema and vascularization while improving the dermal condition. Additional robust and well-designed clinical trials are needed to improve the evidence level of this approach. Other strategies should be also considered based upon the three main components of melasma pathology: hyperpigmentation, the vascular response, and dermal photoaging.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

TRG: Funding acquisition; Writing—Original draft, Writing—Review and editing. MMS: Funding acquisition; Writing—Original draft, Writing—Review and editing. JAFT: Writing—Original draft, Writing—Review and editing. CP: Conceptualization; Funding acquisition; Supervision; Writing—Original draft, Writing—Review and editing.

ACKNOWLEDGEMENTS

CP thanks CNPq for the Research Fellowship (304829/2020-0). This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brazil (CAPES)—Finance Code 001. TRG and MMS thank CAPES for the fellowships and Universidade Nove de Julho for the scholarships.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

TRG is speaker for Rennova® in Brazil. All the other authors have no disclosures to declare.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated or analysed during the current study.

ORCID

Thais Rodrigues Galache  <https://orcid.org/0000-0001-8332-9677>

Michelle Mota Sena  <https://orcid.org/0000-0002-9396-8488>

João Alberto Fioravante Tassinary  <https://orcid.org/0000-0002-5179-9372>

Christiane Pavani  <https://orcid.org/0000-0001-8275-7370>

REFERENCES

- Kwon SH, Na JI, Choi JY, Park KC. Melasma: updates and perspectives. *Exp Dermatol.* 2019;28(6):704-708. doi:10.1111/exd.13844
- Rajaratnam R, Halpern J, Salim A, Emmett C. Interventions for melasma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;7(7):CD003583. doi:10.1002/14651858.cd003583.pub2
- Bostan E, Cakir A. The dermoscopic characteristics of melasma in relation to different skin phototypes, distribution patterns and wood lamp findings: a cross-sectional study of 236 melasma lesions. *Arch Dermatol Res.* 2023;315:1927-1938. doi:10.1007/s00403-023-02584-8
- Liu W, Chen Q, Xia Y. New mechanistic insights of melasma. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2023;16(February):429-442. doi:10.2147/CCID.S396272
- Hexsel D, Lacerda DA, Cavalcante AS, et al. Epidemiology of melasma in Brazilian patients: a multicenter study. *Int J Dermatol.* 2014;53(4):440-444. doi:10.1111/j.1365-4632.2012.05748.x
- Platsidaki E, Efstatithou V, Markantoni V, et al. Self-esteem, depression, anxiety and quality of life in patients with melasma living in a sunny Mediterranean area: results from a prospective cross-sectional study. *Dermatol Ther (Heidelberg).* 2023;13(5):1127-1136. doi:10.1007/s13555-023-00915-1
- Türkmen H, Yörük S. Risk factors of striae gravidarum and chloasma melasma and their effects on quality of life. *J Cosmet Dermatol.* 2023;22(2):603-612. doi:10.1111/jocd.14783
- Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan – a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev.* 2016;5:210. doi:10.1186/s13643-016-0384-4
- Serre C, Busuttil V, Botto JM. Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation. *Int J Cosmet Sci.* 2018;40(4):328-347. doi:10.1111/ics.12466
- Seleit I, Bakry OA, Masoud E, Nabil S. Identification of genotypes and allelic frequencies of vitamin D receptor gene polymorphism (TaqI) in Egyptian melasma patients. *Indian Dermatol Online J.* 2017;8(6):443-448. doi:10.4103/idoj.IDOJ_115_17
- Suryaningsih BE, Sadewa AH, Wirohadidjojo YW, Soebono H. Association between heterozygote Val92Met MC1R gene polymorphisms with incidence of melasma: a study of Javanese women population in Yogyakarta. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2019;12:489-495. doi:10.2147/CCID.S206115
- Basit H, Godse KV, Al Aboud AM. Melasma. StatPearls Publishing; 2023 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459271/>
- Manap ASA, Lum YK, Ong LH, Tang YQ, Gew LT, Chia AYY. Perspective approaches on melanogenesis inhibition. *Dermatologica Sin.* 2021;39(1):1-12. doi:10.4103/ds.ds_46_20
- Yardman-Frank JM, Fisher DE. Skin pigmentation and its control: from ultraviolet radiation to stem cells. *Exp Dermatol.* 2021;30:560-571.
- Lee KW, Kim M, Lee SH, Kim KD. The function of autophagy as a regulator of melanin homeostasis. *Cell.* 2022;11(13):1-12. doi:10.3390/cells11132085
- Wan J, Liao Z, Dong B, Jiang S, Lei T. Targeting senescent dermal fibroblasts responsible for hyperactive melanocytes in melasma. *Chin Med J (Engl).* 2023;136:1563-1565. doi:10.1097/CM9.0000000000002488
- Phansuk K, Vachiramon V, Jurairattanaporn N, Chanpraphap K, Rattananukrom T. Dermal pathology in melasma: an update review. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022;15:11-19. doi:10.2147/CCID.S343332
- Kang HY, Suzuki I, Lee DJ, et al. Transcriptional profiling shows altered expression of wnt pathway- and lipid metabolism-related genes as well as melanogenesis-related genes in melasma. *J Invest Dermatol.* 2011;131(8):1692-1700. doi:10.1038/jid.2011.109
- Kim Y, Kang B, Kim JC, Park TJ, Kang HY. Senescent fibroblast-derived GDF15 induces skin pigmentation. *J Invest Dermatol.* 2020;140(12):2478-2486.e4. doi:10.1016/j.jid.2020.04.016
- Flori E, Mastrofrancesco A, Mosca S, et al. Sebocytes contribute to melasma onset. *iScience.* 2022;25(3):103871. doi:10.1016/j.isci.2022.103871
- Kim EH, Kim YC, Lee ES, Kang HY. The vascular characteristics of melasma. *J Dermatol Sci.* 2007;46(2):111-116. doi:10.1016/j.jdermsci.2007.01.009
- Espósito ACC, Brianezi G, De Souza NP, Miot LDB, Miot HA. Exploratory study of epidermis, basement membrane zone, upper dermis alterations and wnt pathway activation in melasma compared to adjacent and retroauricular skin. *Ann Dermatol.* 2020;32(2):101-108. doi:10.5021/AD.2020.32.2.101
- Karu TI. Cellular and molecular mechanisms of photobiomodulation (low-power laser therapy). *IEEE J Sel Top Quantum Electron.* 2014;20(2):143-148. doi:10.1109/JSTQE.2013.2273411
- Anders JJ, Lanzafame RJ, Arany PR. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. *Photomed Laser Surg.* 2015;33(4):183-184. doi:10.1089/pho.2015.9848
- Hamblin MR. Photobiomodulation or low-level laser therapy. *J Biophotonics.* 2016;9(11-12):1122-1124. doi:10.1002/jbio.201670113
- Hamblin MR. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.* 2017;4(3):337-361. doi:10.3934/biophys.2017.3.337.Mechanisms
- De Freitas LF, Hamblin MR. Proposed mechanisms of photobiomodulation or low-level light therapy. *IEEE J Sel Top Quantum Electron.* 2016;22(3):348-364. doi:10.1109/JSTQE.2016.2561201
- Avci P, Gupta A, Sadasivam M, et al. Low-level laser (light) therapy (LLLT) in skin: stimulating, healing, restoring. *Semin Cutan Med Surg.* 2013;32(1):41-52.
- Jin S, Chen L, Xu Z, Xing X, Zhang C, Xiang L. 585 nm light-emitting diodes inhibit melanogenesis through upregulating H19/miR-675 axis in LEDs-irradiated keratinocytes by paracrine effect. *J Dermatol Sci.* 2020;98(2):102-108. doi:10.1016/j.jdermsci.2020.03.002
- AlGhamdi KM, Kumar A, Moussa NA. Low-level laser therapy: a useful technique for enhancing the proliferation of various cultured cells. *Lasers Med Sci.* 2012;27(1):237-249. doi:10.1007/s10103-011-0885-2
- Chen L, Xu Z, Jiang M, Zhang C, Wang X, Xiang L. Light-emitting diode 585 nm photomodulation inhibiting melanin synthesis and inducing autophagy in human melanocytes. *J Dermatol Sci.* 2018;89(1):11-18. doi:10.1016/j.jdermsci.2017.10.001
- Dai X, Jin S, Xuan Y, et al. 590 nm LED irradiation improved erythema through inhibiting angiogenesis of human microvascular endothelial cells and ameliorated pigmentation in melasma. *Cell.* 2022;11(24):3949 (1-14). doi:10.3390/cells11243949

33. Kim JM, Kim NH, Tian YS, Lee AY. Light-emitting diodes at 830 and 850 nm inhibit melanin synthesis in vitro. *Acta Derm Venereol*. 2012;92(6):675-680. doi:10.2340/00015555-1319
34. Oh CT, Kwon TR, Choi EJ, et al. Inhibitory effect of 660-nm LED on melanin synthesis in vitro and in vivo. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2017;33(1):49-57. doi:10.1111/php.12276
35. Zhou S, Yamada R, Sakamoto K. Low energy multiple blue light-emitting diode light irradiation promotes melanin synthesis and induces DNA damage in B16F10 melanoma cells. *PLoS One*. 2023;18:e0281062. doi:10.1371/journal.pone.0281062
36. AlGhamdi KM, Kumar A, Al-ghamdi A, Al-Rikabi AC, Mubarek M, Ashour AE. Ultra-structural effects of different low-level lasers on normal cultured human melanocytes: an in vitro comparative study. *Lasers Med Sci*. 2016;31(9):1819-1825. doi:10.1007/s10103-016-2057-x
37. Barolet D. Dual effect of photobiomodulation on melasma: down-regulation of hyperpigmentation and enhanced solar resistance-a pilot study. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2018;11(4):28-34.
38. Mpofana N, Abrahame H. The management of melasma on skin types V and VI using light emitting diode treatment. *Photomed Laser Surg*. 2018;36(10):522-529. doi:10.1089/pho.2018.4486
39. Hamblin MR. Mechanisms and mitochondrial redox signaling in photobiomodulation. *Photochem Photobiol*. 2018;94(2):199-212. doi:10.1111/php.12864
40. Zein R, Selting W, Hamblin MR. Review of light parameters and photobiomodulation efficacy: dive into complexity. *J Biomed Opt*. 2018;23(12):1-17. doi:10.1117/1.jbo.23.12.120901
41. Galache TR, Galache M, Sena MM, Pavani C. Amber photobiomodulation versus tranexamic acid for the treatment of melasma: protocol for a double-blind, randomised controlled trial. *BMJ Open*. 2023;13(7):e073568. doi:10.1136/bmjopen-2023-073568
42. Li J, Li J, Zhang L, et al. Comparison of red light and blue light therapies for mild- to moderate acne vulgaris: a randomized controlled clinical study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2022;38:459-464.
43. Yu S, Lan CCE, Yu HS. Mechanisms of repigmentation induced by photobiomodulation therapy in vitiligo. *Exp Dermatol*. 2019;28:10-14. doi:10.1111/exd.13823
44. Lan CCE, Wu CS, Chiou MH, Hsieh PC, Yu HS. Low-energy helium-neon laser induces locomotion of the immature melanoblasts and promotes melanogenesis of the more differentiated melanoblasts: recapitulation of vitiligo repigmentation in vitro. *J Invest Dermatol*. 2006;126(9):2119-2126. doi:10.1038/sj.jid.5700372
45. Yu HS, Wu CS, Yu CL, Kao YH, Chiou MH. Helium-neon laser irradiation stimulates migration and proliferation in melanocytes and induces repigmentation in segmental-type vitiligo. *J Invest Dermatol*. 2003;120(1):56-64. doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12011.x
46. Wasmeier C, Hume AN, Bolasco G, Seabra MC. Melanosomes at a glance. *J Cell Sci*. 2008;121(24):3995-3999. doi:10.1242/jcs.040667
47. Chouinard N, Therrien J-P, Mitchell DL, Robert M, Drouin R, Rouabia M. Repeated exposures of human skin equivalent to low doses of ultraviolet-B radiation lead to changes in cellular functions and accumulation of cyclobutane pyrimidine dimers. *Biochem Cell Biol*. 2001;79(4):507-515. doi:10.1139/bcb-79-4-507
48. Fernandez TL, Van Lonkhuyzen DR, Dawson RA, Kimlin MG, Upton Z. Characterization of a human skin equivalent model to study the effects of ultraviolet B radiation on keratinocytes. *Tissue Eng - Part C Methods*. 2014;20(7):588-598. doi:10.1089/ten.tec.2013.0293
49. Wu S, Su Y, Wang L, Sun B, Jiang X. The effects of photobiomodulation therapy on inflammatory mediators, immune infiltration, and angiogenesis in a mouse model of rosacea. *Ann Transl Med*. 2022;10(15):831. doi:10.21037/atm-22-3204
50. Kwon SH, Hwang YJ, Lee SK, Park KC. Heterogeneous pathology of melasma and its clinical implications. *Int J Mol Sci*. 2016;17(6):824 (1-10). doi:10.3390/ijms17060824
51. Lee HJ, Hong YJ, Kim M. Angiogenesis in chronic inflammatory skin disorders. *Int J Mol Sci*. 2021;22(21):12035 (1-15). doi:10.3390/ijms222112035
52. Lee HI, Lim YY, Kim BJ, et al. Clinicopathologic efficacy of copper bromide plus/yellow laser (578 nm with 511 nm) for treatment of melasma in Asian patients. *Dermatologic Surg*. 2010;36(6):885-893. doi:10.1111/j.1524-4725.2010.01564.x
53. Eimpunth S, Wanitphakdeedecha R, Triwongwaranat D, Varothai S, Manuskiatti W. Therapeutic outcome of melasma treatment by dual-wavelength (511 and 578 nm) laser in patients with skin phototypes III-V. *Clin Exp Dermatol*. 2014;39(3):292-297. doi:10.1111/ced.12267
54. Passeron T, Fontas E, Kang HY, Bahadoran P, Lacour J-P, Ortonne J-P. Melasma treatment with pulsed-dye laser and triple combination cream: a prospective, randomized, single-blind, split-face study. *Arch Dermatol*. 2011;147(9):2011-2013.
55. Ghorbel HH, Boukari F, Fontas E, et al. Copper bromide laser vs triple-combination cream for the treatment of melasma: a randomized clinical trial. *JAMA Dermatol*. 2015;151(7):791-792. doi:10.1001/jamadermatol.2014.5580
56. Trivedi MK, Yang FC, Cho BK. A review of laser and light therapy in melasma. *Int J Women's Dermatology*. 2017;3(1):11-20. doi:10.1016/j.ijwd.2017.01.004
57. Silpa-archa N, Kohli I, Chaowattanapanit S, Lim HW, Hamzavi I. Postinflammatory hyperpigmentation: a comprehensive overview: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, and noninvasive assessment technique. *J Am Acad Dermatol*. 2017;77(4):591-605. doi:10.1016/j.jaad.2017.01.035
58. Wattanakrai P, Mornchan R, Eimpunth S. Low-fluence Q-switched neodymium-doped yttrium aluminum garnet (1,064 nm) laser for the treatment of facial melasma in Asians. *Dermatologic Surg*. 2010;36(1):76-87. doi:10.1111/j.1524-4725.2009.01383.x
59. Ustuner P, Balevi A, Ozdemir M. A split-face, investigator-blinded comparative study on the efficacy and safety of Q-switched Nd:YAG laser plus microneedling with vitamin C versus Q-switched Nd:YAG laser for the treatment of recalcitrant melasma. *J Cosmet Laser Ther*. 2017;19(7):383-390. doi:10.1080/14764172.2017.1342036
60. Kong SH, Suh HS, Choi YS. Treatment of melasma with pulsed-dye laser and 1,064-nm Q-switched Nd:YAG laser: a split-face study. *Ann Dermatol*. 2018;30(1):1-7. doi:10.5021/ad.2018.30.1.1
61. Kwon HH, Choi SC, Jung JY, Park GH. Combined treatment of melasma involving low-fluence Q-switched Nd:YAG laser and fractional microneedling radiofrequency. *J Dermatolog Treat*. 2019;30(4):352-356. doi:10.1080/09546634.2018.1516858
62. Figueiredo Souza L, Trancoso SS. Single-session intense pulsed light combined with stable fixed-dose triple combination topical therapy for the treatment of refractory melasma. *Dermatol Ther*. 2012;25(5):477-480. doi:10.1111/j.1529-8019.2012.01530.x
63. Salman S, Guermonprez C, Peno-Mazzarino L, et al. Photobiomodulation controls keratinocytes inflammatory response through Nrf2 and reduces Langerhans cells activation. *Antioxidants*. 2023;12(3):766 (1-18). doi:10.3390/antiox12030766
64. Chen CH, Tsai JL, Wang YH, Lee CL, Chen JK, Huang MH. Low-level laser irradiation promotes cell proliferation and mRNA expression of type I collagen and decorin in porcine Achilles tendon fibroblasts in vitro. *J Orthop Res*. 2009;27(5):646-650. doi:10.1002/jor.20800
65. Martignago CCS, Oliveira RF, Pires-Oliveira DAA, et al. Effect of low-level laser therapy on the gene expression of collagen and vascular endothelial growth factor in a culture of fibroblast cells in mice. *Lasers Med Sci*. 2014;30(1):203-208. doi:10.1007/s10103-014-1644-y
66. Li WH, See IS, Kim B, Fassih A, Southall MD, Parsa R. Low-level red plus near infrared lights combination induces expressions of collagen and elastin in human skin in vitro. *Int J Cosmet Sci*. 2021;43(3):311-320. doi:10.1111/ics.12698

67. Barolet D, Roberge CJ, Auger FA, Boucher A, Germain L. Regulation of skin collagen metabolism in vitro using a pulsed 660 nm led light source: clinical correlation with a single-blinded study. *J Invest Dermatol.* 2009;129(12):2751-2759. doi:[10.1038/jid.2009.186](https://doi.org/10.1038/jid.2009.186)
68. Weiss RA, McDaniel DH, Geronemus RG, Weiss MA. Clinical trial of a novel non-thermal LED array for reversal of photoaging: clinical, histologic, and surface profilometric results. *Lasers Surg Med.* 2005;36:85-91. doi:[10.1002/lsm.20107](https://doi.org/10.1002/lsm.20107)
69. Wunsch A, Matuschka K. A controlled trial to determine the efficacy of red and near-infrared light treatment in patient satisfaction, reduction of fine lines, wrinkles, skin roughness, and intradermal collagen density increase. *Photomed Laser Surg.* 2014;32(2):93-100. doi:[10.1089/pho.2013.3616](https://doi.org/10.1089/pho.2013.3616)
70. Mota LR, da Silva DI, Galache TR, et al. Photobiomodulation reduces periocular wrinkle volume by 30%: a randomized controlled trial. *Photobiomodul, Photomed, Laser Surg.* 2023;41(2):48-56. doi:[10.1089/photob.2022.0114](https://doi.org/10.1089/photob.2022.0114)
71. Liao WT, Hung CH, Liang SS, et al. Anti-inflammatory effects induced by near-infrared light irradiation through M2 macrophage polarization. *J Invest Dermatol.* 2021;141(8):2056-2066.e10. doi:[10.1016/j.jid.2020.11.035](https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.11.035)
72. Stepanov YV, Golovynska I, Golovynskyi S, et al. Red and near infrared light-stimulated angiogenesis mediated via Ca²⁺ influx, VEGF production and NO synthesis in endothelial cells in macrophage or malignant environments. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2022;227:112388. doi:[10.1016/j.jphotobiol.2022.112388](https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2022.112388)
73. Souza NHC, Mesquita-Ferrari RA, Rodrigues MFSD, et al. Photobiomodulation and different macrophages phenotypes during muscle tissue repair. *J Cell Mol Med.* 2018;22(10):4922-4934. doi:[10.1111/jcmm.13757](https://doi.org/10.1111/jcmm.13757)
74. Lakhdar H, Zouhair K, Khadir K, et al. Evaluation of the effectiveness of a broad-spectrum sunscreen in the prevention of chloasma in pregnant women. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2007;21(6):738-742. doi:[10.1111/j.1468-3083.2007.02185.x](https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2007.02185.x)
75. Cassiano DP, Espósito ACC, da Silva CN, et al. Update on melasma—part II: treatment. *Dermatol Ther (Heidelb).* 2022;12(9):1989-2012. doi:[10.1007/s13555-022-00780-4](https://doi.org/10.1007/s13555-022-00780-4)
76. Sahu P, Dayal S. Most worthwhile superficial chemical peel for melasma of skin of color: Authors' experience of glycolic, trichloroacetic acid, and lactic peel. *Dermatol Ther.* 2021;34(1):1-8. doi:[10.1111/dth.14493](https://doi.org/10.1111/dth.14493)
77. Doolan BJ, Gupta M. Melasma. *Aust J Gen Pract.* 2021;50(12):880-885.
78. El-Domyati M, Hosam W, Abdel-Azim E, Abdel-Wahab H, Mohamed E. Microdermabrasion: a clinical, histometric, and histopathologic study. *J Cosmet Dermatol.* 2016;15(4):503-513. doi:[10.1111/jocd.12252](https://doi.org/10.1111/jocd.12252)
79. Kunachak S, Leelaudomlipi P, Wongwaisayawan S. Dermabrasion: a curative treatment for melasma. *Aesthetic Plast Surg.* 2001;25(2):114-117. doi:[10.1007/s002660010107](https://doi.org/10.1007/s002660010107)
80. Colombo E, Signore A, Aicardi S, et al. Experimental and clinical applications of red and near-infrared photobiomodulation on endothelial dysfunction: a review. *Biomedicine.* 2021;9(3):274 (1-24). doi:[10.3390/biomedicines9030274](https://doi.org/10.3390/biomedicines9030274)
81. Kim HJ, Moon SH, Cho SH, Lee JD, Kim HS. Efficacy and safety of tranexamic acid in melasma: a meta-analysis and systematic review. *Acta Derm Venereol.* 2017;97(7):776-781. doi:[10.2340/00015555-2668](https://doi.org/10.2340/00015555-2668)
82. Lee JC, Daniels MA, Roth MZ. Mesotherapy, microneedling, and chemical peels. *Clin Plast Surg.* 2016;43(3):583-595. doi:[10.1016/j.cps.2016.03.004](https://doi.org/10.1016/j.cps.2016.03.004)
83. Fitzgerald R, Bass LM, Goldberg DJ, Graivier MH, Lorenc ZP. Physiochemical characteristics of poly-L-lactic acid (PLLA). *Aesthetic Surg J.* 2018;38(April):S13-S17. doi:[10.1093/asj/sjy012](https://doi.org/10.1093/asj/sjy012)
84. Cobo R. Use of polydioxanone threads as an alternative in non-surgical procedures in facial rejuvenation. *Facial Plast Surg.* 2020;36(4):447-452. doi:[10.1055/s-0040-1714266](https://doi.org/10.1055/s-0040-1714266)
85. Lorenc ZP, Bass LM, Fitzgerald R, Goldberg DJ, Graivier MH. Physiochemical characteristics of calcium hydroxylapatite (CaHA). *Aesthetic Surg J.* 2018;38:S8-S12. doi:[10.1093/asj/sjy011](https://doi.org/10.1093/asj/sjy011)

How to cite this article: Galache TR, Sena MM, Tassinary JAF, Pavani C. Photobiomodulation for melasma treatment: Integrative review and state of the art. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2023;00:1-14. doi:[10.1111/phpp.12935](https://doi.org/10.1111/phpp.12935)



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO - UNINOVE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: FOTOBIMODULAÇÃO COM LUZ ÂMBAR NO TRATAMENTO DO MELASMA: ENSAIO CLÍNICO, RANDOMIZADO, CONTROLADO, DUPLO CEGO

Pesquisador: THAIS RODRIGUES GALACHE

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 56583522.0.0000.5511

Instituição Proponente: ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL NOVE DE JULHO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.135.041

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2161413_E1.pdf, de 14/06/2023).

O Melasma é o distúrbio de pigmentação que mais acomete as mulheres, que correspondem à 90% dos casos. Sua etiologia ainda não é totalmente conhecida, mas a exposição solar, fatores genéticos, respostas pigmentares vasculares, anticoncepcionais hormonais, gestação e distúrbios da tireoide, além de estresse, são considerados fatores de exacerbação. O Melasma é considerado uma doença crônica e de difícil resolução, o que afeta diretamente a autoestima dos indivíduos acometidos. A fotobiomodulação (FBM) tem sido sugerida como uma alternativa de tratamento ao Melasma, apresentando em estudos in vitro a inibição da enzima tirosinase e redução no conteúdo de pigmento, porém ainda são necessários estudos clínicos bem delineados. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da fotobiomodulação com luz âmbar no tratamento de Melasma comparado ao efeito do ácido tranexâmico. Material e Método: Este estudo será controlado, randomizado e duplo-cego. A amostra será dividida em 2 grupos: Grupo 1 receberá FBM com Led âmbar e cosmético tópico placebo para uso em home care; Grupo 2 receberá FBM sham e cosmético tópico contendo ácido tranexâmico lipossomal para uso em home care. Serão incluídas mulheres com idades entre 35 a 50 anos, fototipos II a IV e que apresentem Melasma. Serão

Continuação do Parecer: 6.135.041

excluídas participantes que utilizam algum contraceptivo oral, DIU, reposição hormonal, que apresentem doença autoimune, que façam uso de medicamentos fotossensíveis e que tenham realizado tratamentos faciais nos 3 meses anteriores ao estudo. As participantes receberão os tratamentos semanalmente, por 12 semanas e também farão o uso domiciliar do produto durante este período. Todos os participantes utilizarão protetor solar 50 fornecido pelo pesquisador. Serão avaliados a severidade do Melasma por meio do índice MASI (Melasma Area and Severity Index), a pigmentação da epiderme será avaliada por corneomelametria, também serão feitos registros fotográficos e o questionário de qualidade de vida (MELASQoL-PB). As avaliações serão feitas antes do início do estudo, no meio do estudo na 6^a semana e a após a finalização do tratamento. Para a análise estatística, será adotado o intervalo de confiança de 95% e alpha<0,05 será considerado como estatisticamente significativo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o efeito da FBM com luz âmbar no tratamento de Melasma comparado ao efeito do ATX tópico a 5%.

Objetivo Secundário:

- Determinar o índice de severidade do Melasma por meio da escala MASI
- Determinar a área e a intensidade da pigmentação por meio de avaliação fotográfica
- Comparar as imagens fotográficas dos participantes com avaliação de pesquisadores
- Quantificar a melanina presente na epiderme por corneomelametria
- Registrar os efeitos adversos relatados durante os tratamentos de FBM e ATX tópico
- Avaliar a qualidade de vida utilizando o questionário de qualidade de vida relacionado ao Melasma – MELASQoL
- Determinar a melhora subjetiva de ambos os tratamentos pelo Diagnóstico final global da pele.
- Investigar o histórico do paciente e buscar identificar os possíveis agentes relacionados à causa do melasma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Desconforto ou Riscos Esperados: O peeling enzimático pode deixar a sua pele avermelhada após a aplicação e com sensação de ressecamento, seguida de descamação (que pode ou não ocorrer,

Continuação do Parecer: 6.135.041

com duração média de 3 a 5 dias). Com o uso da luz amarela (fotobiomodulação) você pode sentir pequeno aquecimento local e sensibilização da pele. Caso haja a necessidade de interrupção e/ou suspensão do tratamento, os pesquisadores estarão sempre à disposição para que você seja prontamente atendida. Os despigmentantes (clareadores), podem causar vermelhidão, ardência, alergias, dermatites, acne, edema, inflamação, entre outros. A análise de corneomelametria pode gerar desconforto, dor, vermelhidão, ardência, coceira, alergias, e para diminuir o desconforto, será aplicado sobre a pele antes e depois da análise, um resfriador para uma anestesia leve da pele. Os questionários podem causar algum constrangimento durante o preenchimento. Quaisquer destes desconfortos devem ser notificados imediatamente ao pesquisador. Durante todo o período do estudo não poderá se expor, sem proteção físico/químico, a qualquer tipo de radiação UVA/UVB/Luz visível (luz solar) e a lugares muito quentes, com perigo de novas manchas.

Benefícios:

Ao aceitar participar da pesquisa você terá acesso a um tratamento para controle da doença Melasma no qual poderá ter suas manchas atenuadas ou diminuídas. Além disso, a pesquisa em questão tem como objetivo levar contribuições que sejam relevantes para a comunidade científica, haja vista que condições relacionadas ao Melasma afetam diretamente no bem-estar, qualidade de vida e saúde da população. O valor do tratamento e os cosméticos utilizados serão realizados e entregues sem custo para o participante.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo que tem por desenho "Este estudo será controlado, randomizado e duplo-cego. A amostra será dividida em 2 grupos: Grupo 1 receberá FBM com Led âmbar e cosmético tópico placebo para uso em home care; Grupo 2 receberá FBM sham e cosmético tópico contendo ácido tranexâmico lipossomal para uso em home care." e desfecho primário "índice de severidade do Melasma, MASI (Melasma Area and Severity Index)".

A presente versão é uma emenda que tem por justificativa "Após submissão do artigo de protocolo, o revisor da revista BMJ open sugeriu um acompanhamento adicional 4-8 semanas após a conclusão do tratamento para avaliar a remissão/recorrência."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentação obrigatória:

Folha de rosto datada, assinada pelo diretor com carimbo do diretor - Adequado.

Continuação do Parecer: 6.135.041

Projeto de pesquisa - Adequado.

Cronograma - Trata-se de uma emenda de um projeto já aprovado, sendo assim está adequado.

TCLE - Apresentado com pendências.

Carta de anuência - Adequada.

Recomendações:

No TCLE, item 11 está descrito "11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: Os pesquisadores fornecerão os produtos cosméticos para uso em casa como clareadores, protetor solar e sabonete neutro. Você deverá arcar com custos de alimentação, condução e outros despesas que não estão especificados anteriormente para participação no estudo. Os pesquisadores não se obrigam a fornecer atestados, certidões e/ou segunda via de documentos." Favor atentar-se a CNS 466/12 e aos direitos dos participantes de pesquisa expressos na cartilha do Participante de pesquisa disponível em: https://conselho.saude.gov.br/images/comissoes/conep/img/boletins/Cartilha_Direitos_Participantes_de_Pesquisa_2020.pdf

No item 17 a assinatura da pesquisadora ficou em uma página diferente do item. É necessário que a assinatura esteja na mesma lauda do descrito no item.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda aprovada. Sugere-se checar o item recomendação para ajustes.

Considerações Finais a critério do CEP:

O pesquisador deverá se apresentar na instituição de realização da pesquisa (que autorizou a realização do estudo) para início da coleta dos dados.

O participante da pesquisa (ou seu representante) e o pesquisador responsável deverão rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE apondo sua assinatura na última página do referido Termo, conforme Carta Circular no 003/2011 da CONEP/CNS.

Salientamos que o pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Lembramos que esta modificação necessitará de aprovação ética do CEP antes de ser implementada. De forma

Continuação do Parecer: 6.135.041

objetiva com justificativa para nova apreciação, os documentos alterados devem ser evidenciados para facilitar a nova análise.

Ao pesquisador cabe manter em arquivo, sob sua guarda, por 5 anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP (Res. CNS 466/12 item X1. 2. f).

De acordo com a Res. CNS 466/12, X.3.b), o pesquisador deve apresentar a este CEP/SMS os relatórios semestrais. O relatório final deverá ser enviado através da Plataforma Brasil, ícone Notificação. Uma cópia digital do projeto finalizado deverá ser enviada à instância que autorizou a realização do estudo, via correio, e-mail ou entregue pessoalmente, logo que o mesmo estiver concluído.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_2161413_E1.pdf	14/06/2023 00:21:48		Aceito
Outros	cartaemenda_ensaioclinico_2023.pdf	14/06/2023 00:19:50	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_comite_de_etica_emenda_23.pdf	13/06/2023 23:46:44	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_emenda_23_comitedeetica.pdf	13/06/2023 23:35:08	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
Outros	Pendencias.docx	29/03/2022 23:04:06	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
Outros	Documento_liberacao_de_imagens_final_projeto.docx	29/03/2022 23:01:09	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_final_22_comitedeetica.docx	29/03/2022 23:00:49	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_comite_de_etica_mar_22.docx	29/03/2022 23:00:20	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
Folha de Rosto	Thais_Galache_folha_de_rosto.pdf	18/02/2022 15:38:54	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito

Continuação do Parecer: 6.135.041

Outros	carta_de_anuencia_comite_de_etica.pdf	15/02/2022 17:03:06	THAIS RODRIGUES GALACHE	Aceito
--------	---------------------------------------	------------------------	----------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 22 de Junho de 2023

Assinado por:

Anna Carolina Ratto Tempestini Horliana
(Coordenador(a))