



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

**Mayla Martins Conti Barbosa**

**Eficácia e segurança da nicotinamida 10% associada à fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, comparado à hidroquinona 4%, em gel creme, em mulheres com melasma: um ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado**

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

**Orientador:** Prof. Dr<sup>o</sup>. Hélio Amante Miot

**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Cavalcante Espósito Lemos

**Botucatu, 2024**

**Mayla Martins Conti Barbosa**

**Eficácia e segurança da nicotinamida 10% associada à fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, comparado à hidroquinona 4%, em gel creme, em mulheres com melasma: um ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado**

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

**Orientador:** Prof. Dr<sup>o</sup>. Hélio Amante Miot

**Coorientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Cavalcante Espósito Lemos

**Botucatu, 2024**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Barbosa, Mayla Martins Conti.

Eficácia e segurança da nicotinamida 10% associada à fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, comparado à hidroquinona 4%, em gel creme, em mulheres com melasma : um ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado / Mayla Martins Conti Barbosa. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Hélio Amante Miot

Coorientador: Ana Claudia Cavalcante Espósito Lemos

Capes: 40101029

1. Antioxidantes. 2. Hidroquinonas. 3. Hiperpigmentação. 4. Melanose. 5. Niacinamida.

Palavras-chave: Antioxidantes; Hidroquinona; Hiperpigmentação; Melasma; Nicotinamida.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Botucatu



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MAYLA MARTINS CONTI BARBOSA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 12 dias do mês de junho do ano de 2024, às 13:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MAYLA MARTINS CONTI BARBOSA, intitulada **Eficácia e segurança da nicotinamida 10%, associada à fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, comparado à hidroquinona 4%, em gel creme, em mulheres com melasma: um ensaio clínico duplo-cego, randomizado e controlado.** A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. HELIO AMANTE MIOT (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Depto. de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. ANNA CAROLINA MIOLA (Participação Virtual) do(a) Depto. de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia / FM/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. PRISCILA NERI LACERDA (Participação Virtual) do(a) Hospital Santa Izabel / Santa Casa de Misericórdia da Bahia. Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. HELIO AMANTE MIOT

## **REGISTRO DO IMPACTO ESPERADO NAS SOCIEDADES DE DISSERTAÇÕES E TESES**

Melasma é uma dermatose com alta prevalência e, apesar dos inúmeros tratamentos disponíveis, ainda não há cura. As manifestações do melasma podem impactar de forma negativa na vida social, familiar e profissional dos pacientes e isso não pode ser negligenciado.

Este estudo é de grande relevância para a comunidade científica e para os pacientes, pois propõe uma opção terapêutica para o clareamento das lesões cutâneas, impactando de forma positiva na melhora da qualidade de vidas dos pacientes acometidos.

## **RECORD OF THE EXPECTED IMPACT ON DISSERTATION AND THESIS SOCIETIES**

Melasma is a dermatosis with high prevalence, and despite the numerous available treatments, there is still no cure. The manifestations of melasma can negatively impact patients' social, familial, and professional lives, which cannot be overlooked.

This study is highly relevant to the scientific community and patients because it proposes a therapeutic option for lightening skin lesions, positively impacting the quality of life of affected patients.

## **DEDICATÓRIA**

É com imensa alegria e gratidão que dedico este momento para expressar meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a realização deste percurso acadêmico desafiador e enriquecedor.

Agradeço a Deus por ter me guiado nesse caminho e mostrado que tudo era possível.

Aos meus pais, Diomar e Rosana, pelo eterno incentivo aos estudos e que não mediram esforços para que eu chegasse até essa etapa da minha vida.

À minha irmã, Halana, por ser minha melhor amiga, me incentivar e apoiar em tudo.

Ao meu namorado, Paulo Victor, por seu apoio incondicional, amor e compreensão em todos os momentos.

A todos os familiares e amigos, pela torcida e cada palavra de encorajamento, que tornaram essa caminhada mais leve.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

Ao meu orientador, Dr. Hélio Amante Miot, por quem tenho muita admiração, expresso minha profunda gratidão por toda dedicação, incentivo, paciência e ajuda.

À minha coorientadora, Dra. Ana Cláudia Espósito, pela disponibilidade, paciência e auxílio que foram de grande importância na realização desse projeto.

Ao Dr. Daniel Cassiano e Dra. Edileia Bagatin, que tanto contribuíram para minha pesquisa, agradeço imensamente pela dedicação e colaboração valiosa.

À Rebecca, Marina e Ana Flávia, que foram essenciais na realização desse projeto, tornando essa jornada mais leve e prazerosa.

Às pacientes, pela confiança em participar da pesquisa, sem elas nada disso seria possível.

À todos os demais docentes, médicos contratados, médicos colaboradores e funcionários do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, com quem convivi e tive a honra de aprender muito além da medicina.

## RESUMO

**Introdução:** Melasma é uma hipermelanose cutânea crônica adquirida, caracterizada por máculas acastanhadas, principalmente em áreas fotoexpostas, especialmente na face, acometendo preferencialmente mulheres. Sua patogênese não é bem compreendida, mas o estresse oxidativo tem papel fundamental nesse processo. A nicotinamida atua como potente eliminadora de radicais livres, além de inibir a transferência de melanossomas dos melanócitos para os queratinócitos, reduzindo assim, a melanogênese. Antioxidantes tópicos, como o fosfato ascorbil magnésio e umectantes, como o ácido hialurônico, podem melhorar seu desempenho. Atualmente, não há um ensaio controlado sobre a combinação desses componentes, em comparação com hidroquinona para o tratamento do melasma. Este estudo teve como objetivo explorar a tolerabilidade e eficácia da associação desses produtos *versus* hidroquinona 4%.

**Métodos:** Um ensaio clínico multicêntrico, duplo-cego, randomizado e controlado, realizado entre maio a agosto de 2023, envolvendo 50 mulheres adultas portadoras de melasma facial moderado a grave, selecionadas através de amostragem por conveniência durante o ambulatório de dermatologia. As participantes foram randomizadas e alocadas consecutivamente em dois grupos, um grupo fez uso da associação de nicotinamida 10% + fosfato ascorbil magnésio 5% + ácido hialurônico 5%, em gel creme, duas vezes ao dia (grupo NIC), por 60 dias; o outro grupo, hidroquinona 4%, em gel creme, à noite e placebo, em gel creme, pele manhã (grupo HQ), por 60 dias. Todas as participantes receberam protetor solar com cor (FPS 70) durante o estudo. Os pesquisadores não tinham acesso à lista de randomização. Dados clínicos e demográficos foram avaliados na inclusão. Em D0, D14 e D60, foram realizadas fotografias padronizadas, medições colorimétricas, avaliações de gravidade clínica usando mMASI e avaliações de qualidade de vida por meio do MELASQoL. A colorimetria foi avaliada calculando a diferença de luminosidade colorimétrica ( $Dif^*L$ ) entre a pele afetada pelo melasma e a pele adjacente não afetada (<2 cm de distância), medida usando o CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta®). Essas medições foram feitas na mesma região facial. O desfecho primário foi a mudança no mMASI em relação ao início em cada visita. Os desfechos secundários incluíram diferenças em MELASQoL,  $Dif^*L$  e GAIS (Escala Global de Melhoria Estética). Essas avaliações foram conduzidas por um investigador cego, não envolvido nas avaliações iniciais ou no acompanhamento. Em todas as reavaliações foi questionado quanto à tolerabilidade, efeitos adversos, frequência diária da aplicação dos produtos, bem como avaliação subjetiva de melhora por parte das participantes. O tamanho da amostra foi calculado para detectar uma diferença mínima de 10% na redução do mMASI entre os grupos,

assumindo um desvio-padrão equivalente. O poder do teste foi ajustado para 90% e alfa para 5%, considerando uma taxa potencial de desistência de até 10%. Todos os resultados foram analisados com base no princípio de intenção de tratar. A redução nos escores (D14-D0 e D60-D0) e a diferença nos escores categóricos (por exemplo, GAIS e percepção subjetiva de melhora) entre os grupos foram avaliadas usando o teste de Mann-Whitney. A frequência de efeitos adversos irritativos foi comparada entre os grupos usando o teste exato de Fisher. A significância foi definida em um valor- $p < 0.05$ .

**Resultados:** Ambas as intervenções levaram a uma melhora progressiva no mMASI, MELASQoL e GAIS, sem diferença entre elas no D14 e D60 ( $p > 0,2$ ). No grupo NIC, a redução média (IC 95%) no mMASI foi de 16% (8-24%) no D14 e 32% (23-41%) no D60, enquanto no grupo HQ, foi de 10% (7-24%) no D14 e 43% (34-52%) no D60. A redução na luminosidade colorimétrica foi maior no grupo HQ no D60 ( $p=0,01$ ). Ambos os tratamentos foram bem tolerados, sem efeitos colaterais graves. Houve dois *dropouts*: uma perda de seguimento no grupo HQ e uma retirada de consentimento no grupo NIC, ambos sem relação com efeitos adversos.

**Conclusão:** A associação de nicotinamida 10%, fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, foi segura e bem tolerada, embora sua eficácia não tenha sido superior à da hidroquinona 4%, em gel creme. Este regime pode ser considerado para pacientes com baixa tolerabilidade ou falha no tratamento com hidroquinona, bem como terapia de manutenção após uso de hidroquinona. Além de ser segura durante a gestação e lactação.

**Palavras-chave:** Melasma; Hiperpigmentação; Nicotinamida; Hidroquinona; Antioxidantes.

## ABSTRACT

**Introduction:** Melasma is a chronic acquired hypermelanosis of the skin, characterized by brownish macules primarily on photoexposed areas, especially the face, predominantly affecting women. Its pathogenesis is not well understood, but oxidative stress plays a fundamental role in the process. Nicotinamide acts as a potent free radical scavenger and also inhibits the transfer of melanosomes from melanocytes to keratinocytes, thereby reducing melanogenesis. Topical antioxidants (magnesium ascorbyl phosphate) and humectants (hyaluronic acid) can improve its performance. Currently, there are no controlled trials investigating the combination of these components compared to hydroquinone for the treatment of melasma. This study aimed to explore the tolerability and efficacy of the combined product *versus* hydroquinone 4%.

**Methods:** A multicenter, double-blind, randomized and controlled clinical trial conducted between May and August 2023, involving 50 adult women with moderate to severe facial melasma, selected through convenience sampling during dermatology outpatient consultations. Participants were randomized and consecutively allocated into two groups: one group used a combination of 10% nicotinamide + 5% magnesium ascorbyl phosphate + 5% hyaluronic acid, in gel-cream, twice a day (NIC group) for 60 days, while the other group used 4% hydroquinone, in gel-cream, at night and placebo, in gel-cream, in the morning (HQ group) for 60 days. All participants received tinted sunscreen (SPF 70) during the study. Researchers had no access to the randomization list. Clinical and demographic data were evaluated at inclusion. On D0, D14, and D60, standardized photographs, colorimetric measurements, clinical severity assessments using mMASI, and quality of life evaluations through MELASQoL were conducted. Colorimetry was assessed by calculating the difference in colorimetric luminosity (Dif\*L) between the skin affected by melasma and the adjacent unaffected skin (<2 cm distance), measured using the CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta®). These measurements were performed on the same facial region. The primary outcome was the change in mMASI from baseline. Secondary outcomes included differences in MELASQoL, Dif\*L and GAIS (Global Aesthetic Improvement Scale). These evaluations were conducted by a blinded investigator not involved in the initial assessments or follow-up. In each reevaluation, questions were asked regarding product tolerability, adverse effects, daily frequency of product application, as well as subjective improvement evaluation by the participants. The sample size was calculated to detect a minimum of a 10% difference in mMASI reduction between groups, assuming equivalent standard deviation. The test power was set to 90% and alpha to 5%, considering a potential *dropout* rate of up to 10%. All outcomes were analyzed on an intention-to-

treat basis. The reduction in scores (D14-D0 and D60-D0) and the difference in categorical scores (e.g., GAIS and subjective perception of improvement) between groups were assessed using the Mann-Whitney test. The frequency of irritative adverse effects was compared between groups using Fisher's exact test. Significance was set at p-value <0.05.

**Results:** Both interventions led to progressive improvement in mMASI, MELASQoL and GAIS, with no difference between them at D14 and D60 ( $p > 0.2$ ). In the NIC group, the mean reduction (95% CI) in mMASI was 16% (8-24%;  $p < 0,05$ ) at D14 and 32% (23-41%;  $p < 0,01$ ) at D60, while in the HQ group, it was 10% (7-24%;  $p < 0,05$ ) at D14 and 43% (34-52%;  $p < 0,01$ ) at D60. The reduction in colorimetric luminosity was greater in the HQ group at D60 ( $p < 0.01$ ). Both treatments were well tolerated, with no serious adverse effects. There were two *dropouts*: one lost to follow-up in the HQ group and one withdrawal of consent in the NIC group, both unrelated to adverse effects.

**Conclusion:** The combination of 10% nicotinamide, 5% magnesium ascorbyl phosphate, and 5% hyaluronic acid in gel-cream was safe and well tolerated, although its efficacy was not superior to that of 4% hydroquinone in gel-cream. This regimen may be considered for patients with low tolerability or failure in treatment with hydroquinone, as well as maintenance therapy after hydroquinone use. Additionally, it can be used by pregnant and breastfeeding women.

**Keywords:** Melasma; Hyperpigmentation; Nicotinamide; Hydroquinone; Antioxidants.

## INDÍCE DE ABREVIATURAS

AH - Ácido hialurônico

AMPc – Monofosfato cíclico de adenosina

ASP - Proteína sinalizadora AGOUTI

ET-1 - Endotelina 1

FPS - Fator de proteção solar

GAIS – Do inglês Global Aesthetic Improvement Scale: Escala Global de Melhoria Estética

HQ - Hidroquinona

IC 95% - Intervalo de confiança de 95%

IL - Interleucina

iNOS - Óxido nítrico induzível

ITT –Do inglês Intention to treat: Intenção de tratamento

MC1-R - Receptor de melanocortina 1

MASI – Do inglês *Melasma Area and Severity Index*: Índice de gravidade e área do melasma

mMASI – Do inglês *Modified Melasma Area and Severity Index*: Índice de gravidade e área do melasma modificado

MELASQoL – Do inglês *Melasma Quality of Life Scale*: Escala de qualidade de vida em melasma

NAD+ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo redutase

NADP+ - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato

NADPH - Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato redutase

NIC - Nicotinamida

PG - E - Prostaglandina E

RCM – Do inglês reflectance confocal microscopy: microscopia confocal de refletância

ReBEC - Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

RUV - Radiação ultravioleta

SOD - Superóxido-dismutase

GHS-Px - Glutathione peroxidase

MDA - Malondialdeído

NO - Óxido nítrico

TGF – Do inglês transforming growth factor: Fator de transformação do crescimento

UNESP - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo

UVA - Radiação ultravioleta tipo A

UVB - Radiação ultravioleta tipo B

VCPMG - Fosfato ascorbil magnésio

VEGF – Do inglês vascular endothelial growth factor: fator de crescimento do endotélio vascular

$\alpha$ -MSH - Hormônio estimulante de melanócitos do tipo  $\alpha$  ou melanocortina.

## **SUMÁRIO:**

|               |    |
|---------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. OBJETIVOS  | 26 |
| 3. MANUSCRITO | 27 |
| 4. CONCLUSÕES | 45 |
| APÊNDICES     | 46 |
| ANEXOS        | 48 |

## INTRODUÇÃO

### 1.1 MELASMA

Melasma é uma hipermelanose cutânea crônica adquirida, caracterizada por máculas acastanhadas, simétricas e irregulares dispostas em áreas fotoexpostas, especialmente a face, e menos frequentemente na região cervical, torácica anterior e membros superiores, poupando as mucosas<sup>1</sup> (figura 1). Embora possa acometer ambos os sexos e todas as etnias, é mais prevalente em mulheres, de fototipos intermediários de Fitzpatrick (III a V)<sup>1</sup>.

Apesar de ser uma afecção de comprometimento exclusivo cutâneo, pode impactar de forma negativa a vida social, familiar e profissional, provocando efeitos psicológicos importantes<sup>2</sup>.



**Figura 1:** Melasma facial. (Fonte: Arquivo dos pesquisadores)

Sua fisiopatogênese não é totalmente compreendida, mas existem diversos fatores envolvidos na etiologia da dermatose, tais como, influência genética, hormonal, gravidez, exposição à radiação ultravioleta (RUV), cosméticos, fármacos fototóxicos, endocrinopatias e fatores emocionais<sup>3</sup>.

Sabe-se que a pele acometida por melasma quando comparada à pele sã adjacente, apresenta aumento de melanina em todas as camadas da epiderme, elastose solar e proeminência dos

melanossomas, que são organelas altamente especializadas, nas quais ocorre síntese e deposição de melanina<sup>2,4</sup>.

A tirosinase é a principal enzima envolvida no processo de melanogênese. Na presença de oxigênio molecular, oxida a tirosina em dopa (dioxifenilalanina), e esta em dopaquinona. E após a presença ou ausência de cisteína, define o caminho da reação para síntese de eumelanina ou feomelanina<sup>2</sup>.

Na ausência de cisteína (glutathiona), a dopaquinona é transformada em ciclodopa e esta é convertida em dopacromo, que por sua vez, pode ser degradado através de duas vias, resultando em diidroxiindóis, que por fim são oxidados à melanina<sup>2</sup>. A quantidade e qualidade de melanina é regulada por diversos fatores, principalmente pela radiação ultravioleta (RUV),  $\alpha$ -MSH (hormônio estimulante de melanócitos do tipo  $\alpha$  ou melanocortina), ASP (proteína sinalizadora AGOUTI) e MC1-R (receptor de melanocortina 1)<sup>2,4</sup>. O  $\alpha$ -MSH é produzido pelas células de Langerhans, queratinócitos e melanócitos; sua ação parece ser mediada pelo MC1-R (receptor acoplado à proteína-G), presente em várias células da pele, porém com maior densidade nos melanócitos. Quando ocorre a ligação entre as duas moléculas acima, resulta no aumento da produção de monofosfato cíclico de adenosina (AMPC) no melanócito e, dessa forma, aumento na atividade da tirosinase e, finalmente, aumento da produção de eumelanina. A pigmentação da pele está intimamente relacionada aos efeitos do  $\alpha$ -MSH e MC1-R e, há comprovação de aumento deste último nos tecidos hiperpigmentados<sup>5</sup>.

O melasma pode ser classificado clinicamente em três formas: centofacial (região de fronte, supralabial, labial e mentoniana), malar (região zigomática) e mandibular. As regiões mais afetadas estão descritas na tabela 1<sup>4</sup>.

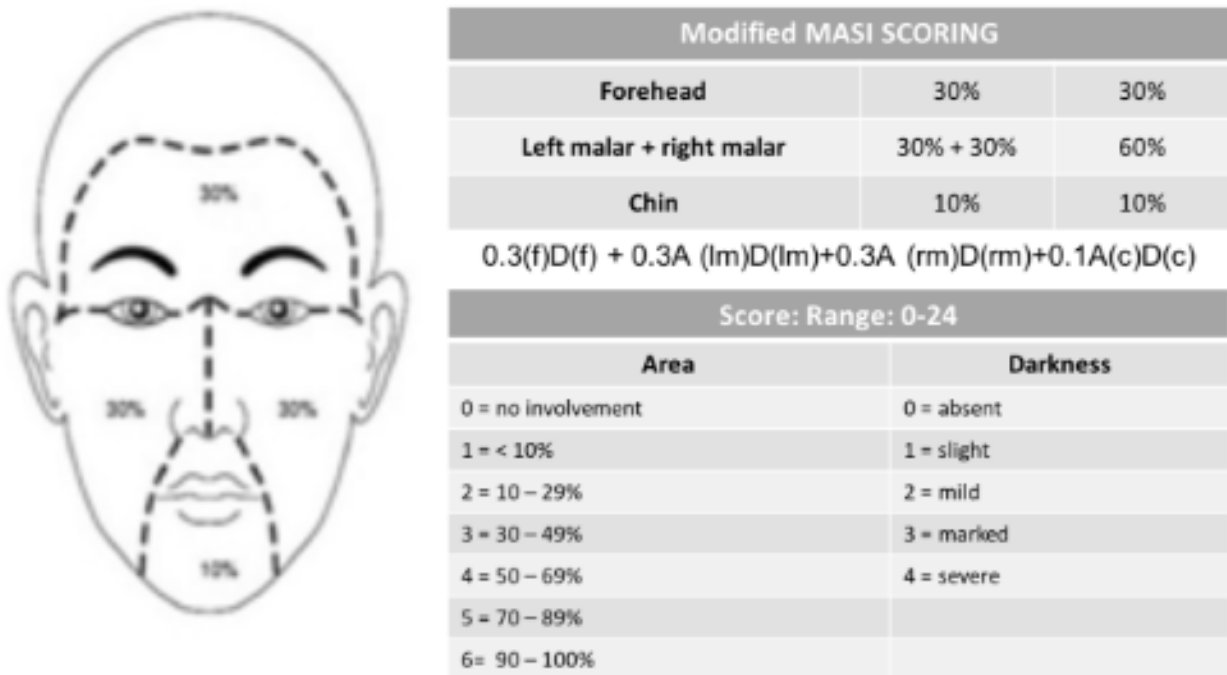
**Tabela 1:** Topografias faciais mais acometidas no melasma (Adaptado: Tamega AA et al, 2013)

| Topografia  | %  |
|-------------|----|
| Zigomática  | 84 |
| Supralabial | 51 |
| Frontal     | 50 |
| Nasal       | 40 |
| Parotídea   | 30 |
| Mentoniana  | 29 |
| Glabelar    | 25 |
| Temporal    | 24 |
| Mandibular  | 18 |

O diagnóstico de melasma é essencialmente clínico, mas existem recursos auxiliares, tais como lâmpada de Wood e dermatoscopia<sup>6,7</sup>.

A lâmpada de Wood já foi utilizada como instrumento de classificação do melasma de acordo com a localização do pigmento, porém, está em desuso para essa finalidade<sup>7</sup>, já que não há correlação entre o exame clínico utilizando luz de Wood e os achados histopatológicos da profundidade do pigmento. Atualmente, pode-se utilizá-la para avaliar resposta terapêutica, especialmente em casos classificados como pigmento superficial<sup>6</sup>. Os achados à dermatoscopia podem auxiliar no diagnóstico, sendo encontrada pigmentação reticular difusa em diversos tons de marrom, preservando aberturas foliculares. Outra ferramenta não invasiva e útil no diagnóstico é a microscopia confocal de reflectância (RCM), que pode avaliar até a derme papilar, fornecendo imagens que tem correspondência com o exame histopatológico, podendo se destacar entre as alterações mais importantes, a elastose solar significativa e aumento de vasos na derme da pele acometida, quando comparada com a pele sã adjacente. A RCM oferece uma inovadora forma de classificação do melasma pelas alterações pigmentares, auxiliando a refinar o prognóstico e na avaliação de resposta terapêutica; entretanto não é uma ferramenta de fácil acesso, sendo restrita a poucos centros de pesquisa<sup>7</sup>.

Existem diversos escores validados para mensurar a gravidade do melasma e o impacto na qualidade de vida, dentre eles, o escore “*Melasma Area and Severity Index*” (MASI), para quantificar a gravidade e resposta ao tratamento. O cálculo do MASI é realizado baseado na avaliação subjetiva de três aspectos: área de envolvimento (A), intensidade da pigmentação (D) e homogeneidade (H), em quatro regiões da face: região frontal (f), malar direita (rm), malar esquerda (lm) e mento (c), correspondendo a 30%, 30%, 30% e 10% da área facial, respectivamente. Cada região é classificada de 0 a 6 (0, sem envolvimento; 1, <10%; 2, 10–29%; 3, 30–49%; 4, 50–69%; 5, 70–89%; 6, 90–100%). Pigmentação e homogeneidade são avaliadas em uma escala de 0 a 4 (0, ausente; 1, leve; 2, moderado; 3, importante; 4, máximo). O Escore MASI foi modificado após 20 anos, retirando da avaliação o critério homogeneidade, que é de difícil mensuração, passando a ser nomeado MASI modificado (mMASI)<sup>8</sup> (Figura 2). O mMASI é reprodutível e capaz de avaliar a gravidade do melasma, assim como o MASI.



**Figura 2:** Representação das áreas faciais e mMASI (Área de melasma e índice de gravidade)

A escala de qualidade de vida do melasma (MelasQoL) foi desenvolvida em 2003 para avaliar os aspectos emocionais e psicossociais dos pacientes com melasma, composta por 10 perguntas, de forma que quanto maior o escore, menor a qualidade de vida<sup>9</sup>.

A *Global Aesthetic Improvement Scale* (GAIS), é uma escala de 5 pontos que avalia a melhora estética global na aparência em comparação ao pré-tratamento, conforme julgado pelo investigador, que também é útil na avaliação do melasma.

O tratamento do melasma é um desafio, devido à refratariedade, cronicidade e tendência à recidiva das lesões<sup>10</sup>.

O tratamento inclui a combinação de fotoproteção, preferencialmente protetores com agentes físicos, associado a agentes despigmentantes, como a hidroquinona (HQ). A HQ é a medicação tópica mais usada e estudada, sendo considerada o tratamento de primeira linha; age inibindo a conversão de DOPA em melanina, pela inibição da enzima tirosinase, demonstrando bons resultados na despigmentação das manchas. Entretanto, pode ter efeitos adversos relacionados a dose e duração do tratamento, como dermatite de contato, hipopigmentação em confete e ocronose exógena<sup>9,10</sup>.

Outros agentes tópicos usados no tratamento incluem ácido azelaico, ácido kójico, ácido retinoico, nicotinamida, ácido salicílico, ácido glicólico e ácido L-ascórbico. Como segunda linha, podemos citar os *peelings* químicos e *lasers*<sup>10</sup>.

## 1.2 ESTRESSE OXIDATIVO SISTÊMICO E TÓPICO NO MELASMA

Inúmeros fatores podem ocasionar estresse oxidativo local e sistêmico, dentre eles, poluição, privação de sono, atividade física e principalmente exposição solar. Qualquer radiação pode estar envolvida e seus efeitos dependem do comprimento de onda, intensidade, penetração na pele, forma de exposição e suscetibilidade individual.

A exposição solar crônica ocasiona estresse oxidativo e inflamação, contribuindo para a melanogênese sustentada no melasma. Diversos estudos buscam compreender o papel do estresse oxidativo no melasma e vários já provaram a eficácia dos antioxidantes tópicos e orais na redução da hiperpigmentação<sup>11</sup>.

Nosso organismo possui um sistema antioxidante composto por componentes enzimáticos, principalmente Superóxido-dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSH-Px), Malondialdeído (MDA) e óxido nítrico (NO), e não enzimáticos<sup>11</sup>.

Os níveis enzimáticos são usados como principal parâmetro de dano oxidativo. O mecanismo de dano tecidual mais importante por estresse oxidativo é a peroxidação lipídica nas membranas celulares, sendo o MDA um produto final desse processo e seu nível pode ser usado como indicador de danos provocados por radicais livres *in vivo*. O NO é um radical livre secretado por células endoteliais e é responsável pela indução do relaxamento da musculatura lisa nos vasos, é gerado nos tecidos decorrente da oxidação e também representa um indicador de estresse oxidativo. A SOD é a principal enzima capaz de depurar radicais de oxigênio livres, por meio da conversão de superóxido em peróxido de hidrogênio. Por fim, a GSH-Px é responsável pela conversão de peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Um estudo realizado anteriormente foi observado aumento dos marcadores acima, favorecendo a hipótese de que há relação entre estresse oxidativo e melasma<sup>12</sup>.

A RUV exerce diversos efeitos na epiderme, membrana basal (principalmente UVB) e derme (principalmente UVA), destacando-se, a expressão de p53 nos queratinócitos, o que estimula a síntese de proopiomelanocortinas e laminina-332, ocorre um estímulo à melanogênese, assim como, indução da liberação de mediadores inflamatórios (como prostaglandinas e VEGF). Por sua vez VEGF e prostaglandinas estimulam a proliferação endotelial. Ademais, a RUV estimula também a liberação de neuropeptídeos, que são estímulos à melanogênese e à dendricidade dos melanócitos<sup>13</sup>.

Sabe-se que tanto no melasma quanto em outros distúrbios inflamatórios da pele, a síntese de óxido nítrico induzível (iNOS) é a fonte primária de NO. A UVB é responsável por estimular a via fosfatidilinositol 3-quinase/Akt e NF-κB, que por sua vez induz a expressão de iNOS em queratinócitos e, ativa a tirosinase em melanócitos<sup>12,13</sup>.

Na pele acometida por melasma, há superexpressão de iNOs nos queratinócitos da camada basal. Além disso, há superexpressão de p38 que está envolvida no estresse oxidativo na derme superior<sup>12</sup>.

Diante do exposto acima, diversos agentes antioxidantes vêm sendo usados para tratamento da hiperpigmentação, tais como, nicotinamida, vitamina C, ácido hialurônico vitamina E, *Polypodium leucotomos*, picnogenol e ácido fítico<sup>13</sup>.

O ácido ascórbico, comumente conhecido como vitamina C (VC), apresenta-se em altas concentrações na pele normal. Atua de forma significativa na biossíntese do colágeno, bem como é um importante agente protetor contra os danos induzidos pela RUV. Estudos evidenciam seu potencial na inibição da síntese de melanina, agindo através da regulação negativa da enzima tirosinase. Além das funções supracitadas, possui também efeito antioxidante, mecanismo que confere a propriedade de reduzir a produção de radicais livres responsáveis por desencadear a melanogênese. Baseado em seus mecanismos de ação, a utilização da VC parece ser promissora no tratamento dos distúrbios pigmentares, sobretudo o melasma<sup>14</sup>.

O Fosfato Ascorbil Magnésio (VCPMG) é um derivado estável e hidrossolúvel do ácido ascórbico, com alta permeação e excelente propriedade despigmentante, ao reduzir a síntese de melanina através da tirosinase. A eficácia da VCPMG foi avaliada em 34 mulheres com hiperpigmentação facial, sendo que 19 pacientes apresentaram despigmentação significativa após uso da medicação tópica, comprovando a sua eficácia clínica<sup>15</sup>.

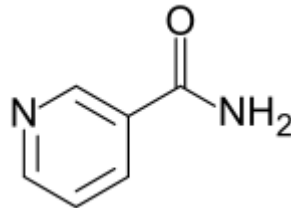
O ácido hialurônico (AH) é um umectante e o principal componente da matriz extracelular na derme, possui propriedades viscoelásticas, hidrofílicas e de biocompatibilidade, sendo amplamente utilizado na regeneração tecidual, cicatrização de feridas e produtos cosméticos, devido a sua capacidade hidratante e antienvhecimento<sup>16</sup>, além de atuar como antioxidante, agindo contra a ação da RUV. A pele com melasma apresenta alteração da barreira cutânea e já é conhecido o papel do AH na regeneração da integridade cutânea. Um estudo realizado anteriormente relatou ainda a redução de TGF, IL 6 e IL 8, após uso de AH, tendo evidência de melhora do melasma<sup>17,18</sup>.

O efeito hidratante do AH, pode otimizar a absorção e permeação de outras substâncias biologicamente ativas, como vitaminas, potencializando suas ações<sup>19</sup>.

### 1.3 NICOTINAMIDA

A nicotinamida (niacinamida) é a forma amida da vitamina B3 hidrossolúvel (ácido nicotínico, niacina), cujo peso molecular é 122,12g/mol (Figura 3). É um componente de coenzimas, como nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>), nicotinamida adenina dinucleotídeo

redutase (NADH), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP<sup>+</sup>) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato redutase (NADPH)<sup>20,21</sup>. Ela é produzida exclusivamente de forma sintética, por três métodos diferentes: (1) oxidação de 3-etil-6-metilpiridina e HNO<sup>3</sup> em ácido nicotínico que é então transformado juntamente com NH<sup>3</sup> em amida de ácido nicotínico; (2) aminólise de nicotinato de metila e NH<sup>3</sup> gasoso, e por fim, (3) amoxidação de 3-metilpiridina em cianopiridina, que é então parcialmente saponificado em nicotinamida. Sua absorção é realizada no intestino delgado, armazenada sob forma de NAD<sup>+</sup> no fígado e possui excreção renal. Dependendo da dose utilizada, diferentes metabólitos são excretados<sup>21</sup>.

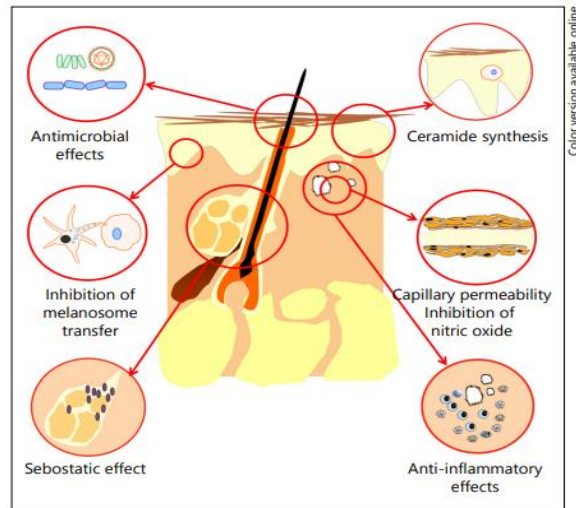


**Figura 3:** Fórmula molecular da nicotinamida (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O). (Fonte: National Library of Medicine.)

A nicotinamida participa do metabolismo energético e regula a síntese de DNA, sendo possível observar diversos efeitos biológicos, especialmente quando a quantidade de uso excede as concentrações fisiológicas. Possui capacidade de reparar lesões induzidas por RUV, reduzindo incidência de queratoses actínicas e cânceres de pele não melanoma, quando usada por via oral, em alguns estudos. Estudos demonstram boa tolerabilidade e alta segurança, podendo ser utilizada inclusive na gestação, tem mínimos efeitos colaterais, tais como, diarreia, trombocitopenia em pacientes submetidos à hemodiálise e raros casos de hepatotoxicidade, quando sua dose ultrapassa 3g/dia<sup>21</sup>.

Além das indicações acima citadas, destacam-se ainda, propriedades antipruriginosas (por restaurar a barreira protetora e por mecanismos que resultam em redução de histamina), antimicrobianas, despigmentantes, fotoprotetoras (inibe a fotocarcinogênese e protege contra a imunossupressão induzida pela RUV), anti-inflamatórias e previne o envelhecimento (a concentração de NAD<sup>+</sup> celular é menor na pele senescente, portanto a suplementação de nicotinamida externa, como precursor de NAD<sup>+</sup> pode resultar em melhora da homeostase epidérmica e bioenergética celular na pele envelhecida ou que sofreu estresse oxidativo)<sup>22</sup> (Figura 4).

De forma tópica, a nicotinamida possui alta permeação, ou seja, grande capacidade de atingir a camada dérmica, sem atingir a corrente sanguínea, produzindo estabilização da barreira epidérmica, através do aumento da síntese proteica e de ceramidas, bem como, participa da diferenciação dos queratinócitos, atenuando irregularidades da pele e rugas finas<sup>23</sup>.



**Figura 4:** Efeitos dermatológicos relevantes da nicotinamida. (Wohlrab et al, 2014)

#### 1.4 AÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA E CLAREADORA DA NICOTINAMIDA

A nicotinamida (NIC) inibe a produção de interleucina 8 (IL-8), à nível de mRNA e proteína, por meio da modulação das vias do fator nuclear (NF- $\kappa$ B) e da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK)<sup>13</sup>. Ela é capaz ainda de inibir ou atenuar a formação de outros agentes pró-inflamatórios, como Prostaglandina E (PG-E), IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e endotelina 1 (ET 1)<sup>20</sup>.

A NIC reduz a síntese de mediadores inflamatórios em queratinócitos epidérmicos na pele que sofreu agressão pela RUV, bem como reduz o eritema provocado pela radiação, reduzindo de forma importante a resposta inflamatória induzida pela RUV<sup>21</sup>.

Em relação a sua propriedade clareadora, estudos apontam que a nicotinamida pode aumentar, reduzir ou não apresentar efeito sobre a atividade da tirosinase, o que difere de outros agentes tópicos utilizados no tratamento do melasma, como a hidroquinona, que age inibindo diretamente esta enzima<sup>21</sup>. Sabe-se que a NIC posterga a transferência de melanosomas dos melanócitos para os queratinócitos, demonstrando que a NIC afeta diretamente os queratinócitos e indiretamente os melanócitos<sup>21</sup>.

Um estudo realizado anteriormente avaliou a eficácia da NIC em reduzir IL 6 e ET 1, que sabidamente são agentes responsáveis por aumentar a dendricidade dos melanócitos e, conseqüentemente a transferência de melanosomas dos melanócitos para os queratinócitos. Os autores comprovaram que a NIC é capaz de reduzir dendricidade dos melanócitos, ao inibir a IL 6 e ET 1, confirmando assim, seu papel na despigmentação<sup>22</sup>.

Um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, realizado no México, avaliou 27 mulheres com melasma e comparou o uso de nicotinamida 4% e hidroquinona 4%. As participantes usaram um produto em cada lado da face (*split face*) e observou-se após 2 meses, uma melhora boa a excelente em 44% das pacientes que receberam nicotinamida e 55% nas que usaram hidroquinona; porém, os efeitos colaterais foram mais observados com o uso de hidroquinona, (29%), comparado à 18% com a nicotinamida<sup>23</sup>.

Um ensaio clínico realizado com 18 mulheres japonesas avaliou a eficácia da nicotinamida na despigmentação da pele. O estudo, tipo *split face*, comparou o uso de hidratante e nicotinamida 5%. O resultado encontrado após 8 semanas, foi de redução da pigmentação no grupo intervenção, quando comparado ao grupo controle<sup>24</sup>.

Devido ao efeito promissor da nicotinamida no tratamento do melasma, sua alta penetração epidérmica associada à sua segurança, evidenciada em outros estudos, idealizamos a possibilidade de maximizar seu efeito a partir do aumento da sua concentração e associação com VCPMG e AH.

Até o momento, não há estudos controlados que comparem a eficácia e a segurança da combinação NIC 10% + VCPMG 5% + AH 5% *versus* hidroquinona no tratamento do melasma.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Handel AC, Miot LDB, Miot HA. Melasma: a clinical and epidemiological review. *An Bras Dermatol*. 2014 Sep;89(5):771–82..
2. Passeron T. Melasma pathogenesis and influencing factors - an overview of the latest research. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013 Jan;27 Suppl 1:5-6.
3. Miot LDB, Miot HA, Silva MG da, Marques MEA. Morphological and functional comparative study of melanocytes in melasma lesions. *An Bras Dermatol*. 2007;82(6):529–34.
4. Tamega A de A, Miot LD, Bonfietti C, Gige TC, Marques ME, Miot HA. Clinical patterns and epidemiological characteristics of facial melasma in Brazilian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013 Feb;27(2):151-6.
5. Sarvjot V, Sharma S, Mishra S, Singh A. Melasma: A clinicopathological study of 43 cases. *Indian J Pathol Microbiol*. 2009;52:357–9
6. Sanchez NP, Pathak MA, Sato S, Fitzpatrick TB, Sanchez JL, Mihm MC Jr. Melasma: a clinical, light microscopic, ultrastructural, and immunofluorescence study. *J Am Acad Dermatol*. 1981 Jun;4(6):698-710.
7. Sarkar R, Arora P, Garg VK, Sonthalia S, Gokhale N. Melasma update. *Indian Dermatol Online J*. 2014;5(4):426-435.
8. Abou-Taleb DAE, Ibrahim AK, Youssef EMK, Moubasher AEA. Reliability, Validity, and Sensitivity to Change Overtime of the Modified Melasma Area and Severity Index Score. *Dermatol Surg*. 2017;43(2):210–7.
9. Gupta AK, Gover MD, Nouri K, Taylor S. The treatment of melasma: a review of clinical trials. *J Am Acad Dermatol*. 2006 Dec;55(6):1048-65.
10. Spierings NMK. Melasma: A critical analysis of clinical trials investigating treatment modalities published in the past 10 years. *J Cosmet Dermatol*. 2020 Jun;19(6):1284-1289.
11. Seçkin, HY. et al. Oxidative stress status in patients with melasma. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014 Sep;33(3):212-7.
12. Babbush KM, Babbush RA, Khachemoune A. Treatment of melasma: a review of less commonly used antioxidants. *Int J Dermatol*. 2021 Feb;60(2):166-173.
13. Boo YC. Mechanistic Basis and Clinical Evidence for the Applications of Nicotinamide (Niacinamide) to Control Skin Aging and Pigmentation. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Aug 21;10(8):1315.

14. Correia G, Magina S. Efficacy of topical vitamin C in melasma and photoaging: A systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2023 Jul;22(7):1938-1945.
15. Kameyama K, Sakai C, Kondoh S, Yonemoto K, Nishiyama S, Tagawa M, Murata T, Ohnuma T, Quigley J, Dorsky A, Bucks D, Blanock K. Inhibitory effect of magnesium L-ascorbyl-2-phosphate (VC-PMG) on melanogenesis *in vitro* and *in vivo*. *J Am Acad Dermatol*. 1996 Jan;34(1):29-33.
16. Juncan AM, Moisă DG, Santini A, Morgovan C, Rus LL, Vonica-Țincu AL, Loghin F. Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules*. 2021 Jul 22;26(15):4429.
17. Witting M, Boreham A, Brodewolf R, Vávrová K, Alexiev U, Friess W, Hedtrich S. Interactions of hyaluronic Acid with the skin and implications for the dermal delivery of biomacromolecules. *Mol Pharm*. 2015 May 4;12(5):1391-401.
18. Lee DJ, Lee J, Ha J, Park KC, Ortonne JP, Kang HY. Defective barrier function in melasma skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012 Dec;26(12):1533-7.
19. Disphanurat W, Srisantithum B. Efficacy and safety of 0.15% isobutylamido thiazolyl resorcinol combined with hyaluronic acid vs 0.15% isobutylamido thiazolyl resorcinol or hyaluronic acid alone in melasma treatment: A randomized evaluator-blind trial. *J Cosmet Dermatol*. 2021 Nov;20(11):3563-3572.
20. Braidy N, Berg J, Clement J, Khorshidi F, Poljak A, Jayasena T, Grant R, Sachdev P. Role of Nicotinamide Adenine Dinucleotide and Related Precursors as Therapeutic Targets for Age-Related Degenerative Diseases: Rationale, Biochemistry, Pharmacokinetics, and Outcomes. *Antioxid Redox Signal*. 2019 Jan 10;30(2):251-294.
21. Bierman JC, Laughlin T, Tamura M, Hulette BC, Mack CE, Sherrill JD, Tan CYR, Morenc M, Bellanger S, Oblong JE. Niacinamide mitigates SASP-related inflammation induced by environmental stressors in human epidermal keratinocytes and skin. *Int J Cosmet Sci*. 2020 Oct;42(5):501-511.
22. Hakozaiki T., Wang J., Laughlin T., Jarrold B., Zhao W., Furue M. Role of interleukin-6 and endothelin-1 receptors in enhanced melanocyte dendricity of facial spots and suppression of their ligands by niacinamide and tranexamic acid. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024;38(Suppl. 2):3–10.
23. Navarrete-Solís J, Castanedo-Cázares JP, Torres-Álvarez B, Oros-Ovalle C, Fuentes-Ahumada C, González FJ, Martínez-Ramírez JD, Moncada B. A Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Niacinamide 4% versus Hydroquinone 4% in the Treatment of Melasma. *Dermatol Res Pract*. 2011;2011:379173.

24. Greatens A, Hakozaki T, Koshoffer A, Epstein H, Schwemberger S, Babcock G, Bissett D, Takiwaki H, Arase S, Wickett RR, Boissy RE. Effective inhibition of melanosome transfer to keratinocytes by lectins and niacinamide is reversible. *Exp Dermatol*. 2005 Jul;14(7):498-508.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Investigar a eficácia e segurança da nicotinamida 10% associada à fosfato ascorbil magnésio 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, em comparação com hidroquinona 4%, em gel creme, na despigmentação do melasma facial em mulheres.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a redução do escore mMASI no grupo intervenção, comparado ao grupo controle;
- Avaliar a melhora da qualidade de vida através da redução do escore MELASQoL entre os grupos;
- Avaliar o aspecto colorimétrico entre os grupos;
- Avaliar a melhora global através da escala GAIS (*Global Aesthetic Improvement Scale*) entre os grupos;
- Avaliar tolerabilidade e efeitos adversos entre os grupos;

### 3. MANUSCRITO – Clinical, Cosmetic, and Investigational Dermatology

**Title:** Efficacy and safety of 10% nicotinamide, associated with 5% magnesium ascorbyl phosphate and 5% hyaluronic acid, in gel-cream, compared to 4% hydroquinone, in gel-cream, in women with facial melasma: a randomized, double-blind, controlled clinical trial.

**Running head:** Nicotinamide associated with vitamin C and hyaluronic acid *versus* hydroquinone in the treatment of melasma

#### **Authors:**

Mayla Martins Conti Barbosa, MD; (1)

Rebecca Perez de Amorim, MD; (1)

Daniel Pinho Cassiano, MD, PhD; (2)

Ana Claudia Cavalcante Esposito, MD, PhD; (3)

Marina Oliveira Dias, MD; (1)

Ana Flávia Teixeira de Abreu, MD; (1)

Edileia Bagatin, MD; PhD; (2)

Hélio Amante Miot, MD, PhD; (1)

#### **Affiliations**

(1) Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP Medical School, Botucatu, SP, Brazil.

(2) Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brazil.

(3) Universidade do Oeste Paulista, Unoeste, Presidente Prudente, SP, Brazil.

#### **Name of the institutions at which the research was conducted:**

Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP, Brazil; UNESP Medical School, Botucatu, SP, Brazil; Clínica Corium, Presidente Prudente, SP, Brazil.

**Corresponding author:**

Prof. Hélio A. Miot

Departamento de Dermatologia, SN, FMB-UNESP Medical School, Botucatu, SP, Brazil.

E-mail: heliomiot@gmail.com

**Conflict of interest:** None.

**Funding source:** FUNADERSP

**Patient consent:** The patients in this study have given written informed consent to the publication of their data.

**Institutional Ethical approval:** UNIFESP Institutional Review Board (#6.142.230).

**Clinical trial registration:** #RBR-4mkfmr8

**Acknowledgments:** None.

**Data availability statement:** The raw data of this study is available under contact with the corresponding author.

**Manuscript word count:** 2,343

**Table count:** 1

**Figure count:** 4

**Abstract:**

**Background:** Nicotinamide has demonstrated efficacy in the treatment of melasma. Topical antioxidants and humectants may enhance its performance. Currently, there is no controlled trial on the combination of 10% nicotinamide, 5% magnesium ascorbyl phosphate, and 5% hyaluronic acid, a dermo-cosmetic compound, in comparison to 4% hydroquinone for the treatment of melasma. This study aimed to explore the tolerability and efficacy of the association of the combined product *versus* hydroquinone.

**Methods:** A multicenter, double-blind, randomized and controlled clinical trial involving women with facial melasma was conducted. Participants were instructed to apply the combined product (NIC group), in gel-cream, twice daily or 4% hydroquinone, in gel-cream, for 60 days (HQ group) at night and placebo in the morning. All products were compounded at the same compounding pharmacy. Evaluations were performed at inclusion, after 14 and 60 days of treatment, measuring the modified Melasma Area and Severity Index (mMASI), Melasma Quality of Life Scale (MELASQoL) and colorimetric luminosity. The Global Aesthetic Improvement Scale (GAIS) was assessed by a blinded evaluator.

**Results:** Both interventions led to a progressive improvement in mMASI, MELASQoL and GAIS, without a difference between them on D14 and D60 ( $p>0.2$ ). For NIC, the mean reduction (95% CI) in mMASI was 16% (8-24%) on D14 and 32% (23-41%) on D60, while for HQ, it was 10% (7-24%) on D14 and 43% (34-52%) on D60. Reduction in colorimetric luminosity was greater in the HQ group at D60 ( $p=0.01$ ). No serious side effects were identified. Of the initially included 50 patients, one was lost to follow-up in the HQ group on D60, and one withdrew consent from the NIC group, both unrelated to treatment.

**Conclusion:** The association of 10% nicotinamide, 5% magnesium ascorbyl phosphate, and 5% hyaluronic acid was safe and well-tolerated, although its overall clinical efficacy was numerically inferior to 4% hydroquinone. This regimen can be considered for patients with poor tolerability or treatment failure with hydroquinone.

**Keywords:** Melasma; Hyperpigmentation; Nicotinamide; Hydroquinone; Antioxidants.

## Main Text

### Introduction

Melasma is a chronic acquired hyperpigmentation of the skin, characterized by the presence of brownish macules in sun-exposed areas, particularly on the face. While it can affect both genders and various ethnicities, it is more prevalent in women during childbearing age, especially those with intermediate Fitzpatrick skin types (III to V)<sup>1,2</sup>. The development of melasma is influenced by hormonal and external factors such as sun exposure, cosmetics, and photosensitizing medications, alongside genetic susceptibility<sup>3</sup>.

The standard treatment for melasma typically involves a combination of sun protection with depigmenting agents, with hydroquinone (HQ) being the most widely used and studied topical bleaching. HQ is a potent tyrosinase inhibitor, however, it also exhibits melanocytotoxic activity. While it yields satisfactory results, it may sensitize the skin of some patients and lead to conditions such as hypochromia *in confetti* and ochronosis, especially after prolonged use, and in higher concentrations<sup>4</sup>.

Sunlight exposure and the release of inflammatory cytokines contribute to disrupting the balance between oxidant and antioxidant agents, leading to increased oxidative stress, which contributes to sustained melanogenesis in melasma<sup>5-7</sup>. Numerous studies have underscored the effectiveness of both topical and oral antioxidants in mitigating hyperpigmentation<sup>6-8</sup>.

Nicotinamide (NIC), or niacinamide, aside from playing a role in energy metabolism and DNA synthesis regulation, exhibits notable biological effects, including depigmenting and photoprotective actions. NIC can prevent photocarcinogenesis and protect against UV-induced immunosuppression, leading to improvement in epidermal homeostasis and cellular bioenergetics in oxidative stress-exposed skin. In addition, it delays the transfer of melanosomes from melanocytes to keratinocytes<sup>8-12</sup>. Also restores the skin barrier by increasing protein and ceramide synthesis and keratinocyte differentiation.

Vitamin C (VC) is a potent antioxidant and is the most abundant in human skin. In the cytoplasm of keratinocytes, melanocytes, and fibroblasts, enzymes related to VC participate in the neutralization of free radicals and reduction of solar erythema and melanogenesis<sup>13,14</sup>. Topical VC

also prevents oxidative damage from UVA radiation and particulate hydrocarbon pollutants, reversing epithelial damage, collagen and lipid synthesis in the skin barrier<sup>15,16</sup>.

L-ascorbic acid is the most biologically active form of VC. However, the hydrophobic structure from the *stratum corneum* reduces its penetration, and pH above 3.5 reduces the L-ascorbic acid stability. In this context, the industry challenge is to develop stable formulations and VC derivatives that have efficient transepidermal delivery to maximize the concentration of active vitamin C in the skin, like magnesium ascorbyl phosphate (VCPMG)<sup>16</sup>.

Melasma is characterized by a local defective skin barrier function<sup>17,18</sup>. Topical hyaluronic acid (HA) enhances epidermal hydration, and binds to extracellular matrix molecules and cell surface receptors, thereby regulating cellular behavior by controlling the tissue's macro and microenvironments. Humectants, such as HA, contribute to the restoration of the skin barrier and facilitate the penetration of active substances through the skin<sup>19</sup>.

It is important to explore safe and effective alternatives to HQ. To date, no randomized controlled study has evaluated the response to the combination of NIC + VCPMG + HA in the treatment of facial melasma. Therefore, we propose a study that compares this combination with HQ.

## Materials and Methods

A multicenter, double-blind, randomized and controlled clinical trial involving 50 women with facial melasma was conducted at UNIFESP (São Paulo - SP), FMB-Unesp (Botucatu - SP) and Corium Clinic (Presidente Prudente - SP). Participants were recruited from dermatological patients between May and August 2023. The diagnosis of facial melasma was established through clinical and dermoscopic examination by an experienced dermatologist. The study protocol received approval from the Institutional Review Board, all participants signed informed consent, and the protocol was registered in the Brazilian Registry of Clinical Trials (<https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-4mkfmr8>).

Inclusion criteria comprised women aged between 18 and 60 years old, presenting moderate to severe facial melasma (Melasma Area and Severity Index - mMASI $\geq$ 4), without treatment for at least 45 days, except for sunscreen use during the washout period. Pregnant and lactating women

and individuals with hypersensitivity or previous side effects to the studied medications were not included.

Participants were instructed to apply on the facial spots, a gel cream containing 10% NIC + 5% VCPMG + 5% HA (NIC group) twice daily or to use only 4% HQ gel cream at night and an identical placebo in the morning (HQ group) for 60 days. All products were compounded at the same compounding pharmacy.

The treatment protocols were randomized in blocks through computer simulation, and the participants were consecutively allocated. The researchers had no access to the randomization list (central randomization). At the inclusion (D0), each participant received a brown envelope containing a numbered metal tube, with numbers ranging from 1 to 50, and they were randomized into two groups:

- NIC Group: received broad-spectrum tinted sunscreen (Episol color, SPF 70) and two tubes (morning and night) containing 10% NIC + 5% VCPMG + 5% HA gel cream, applied twice daily for 60 days.
- HQ Group: received the broad-spectrum tinted sunscreen, a tube with 4% HQ gel cream for nightly use, and another identical tube containing a topical placebo for morning use for 60 days.

Clinical and demographic data were evaluated at the inclusion. At D0, D14, and D60, standardized photographs, colorimetric measurements, assessments of clinical severity using mMASI, and evaluations of the quality of life through the Melasma Quality of Life Scale (MELASQoL) were performed<sup>1,20</sup>.

Colorimetry was assessed by calculating the difference in colorimetric luminosity (Dif\*L) between the skin affected by melasma and the adjacent unaffected skin (<2 cm distance), measured using the CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta®). These measurements were performed on the same facial region on each visit.

The primary outcome was the change in mMASI from baseline at each visit. Secondary outcomes included differences in MELASQoL, Dif\*L, and GAIS (Global Aesthetic Improvement Scale). GAIS is a 5-point scale used to evaluate the overall improvement in a patient's appearance after a specific treatment or procedure, ranging from "worse" to "very much improved"<sup>21</sup>. These assessments were conducted by a blinded investigator not involved in the initial evaluations or in the follow-up assessments.

Additionally, participants were questioned during follow-up assessments on day 14 and day 60 regarding product tolerability, compliance, adverse effects, and the daily frequency of sunscreen applications. They also provided a subjective improvement evaluation at D14 and D60, categorizing the evolution of melasma as worsening, neutral, mild improvement, moderate improvement, significant improvement, and exceptional improvement.

The sample size was calculated to detect a minimum of a 10% difference in mMASI reduction between the groups, assuming an equivalent standard deviation. We set the power at 90% and alpha at 5%, accounting for up to a 10% potential *dropout* rate<sup>22</sup>.

All outcomes were analyzed on an intention-to-treat basis<sup>23</sup>. The absolute reduction in scores (D14-D0 and D60-D0) and the difference in the categorical scores (e.g., GAIS and subjective perception of improvement) between groups were assessed using the Mann-Whitney test. The frequency of irritative adverse effects was compared between the groups using Fisher's exact test<sup>24,25</sup>. Significance was set at a p-value  $<0.05$ <sup>26</sup>.

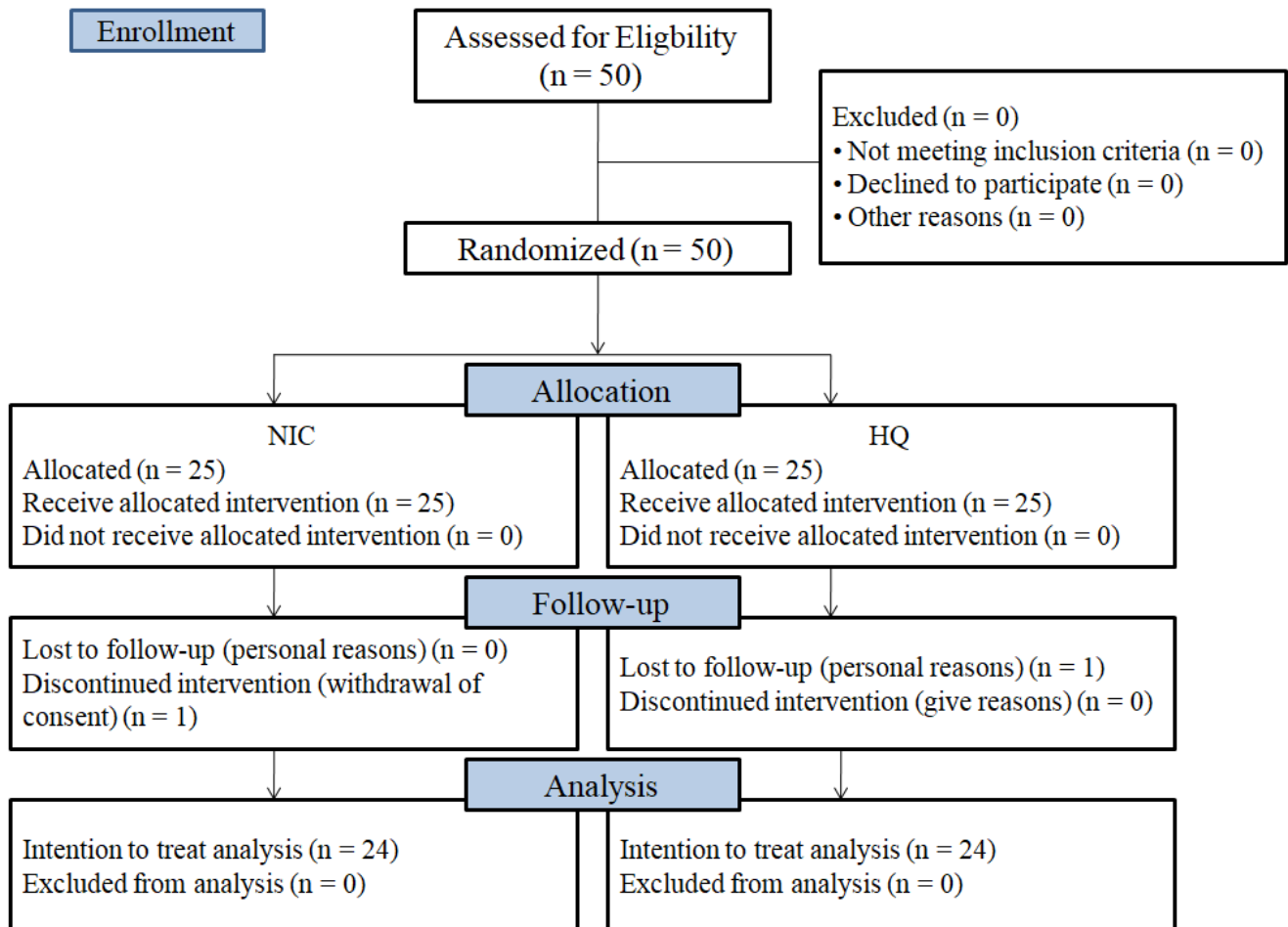
## Results

The main clinical and demographic variables of the groups at inclusion are presented in Table 1, and no differences were observed between the groups ( $p >0.1$ ). Out of the initially enrolled 50 patients, there was one loss to follow-up on day 60 in the HQ group, and one withdrawal of consent in the NIC group, both of which were unrelated to the treatment. The study flowchart according to CONSORT 2010 is presented in Figure 1.

**Table 1.** Clinical and demographic data of the participants ( $n = 49$ ).

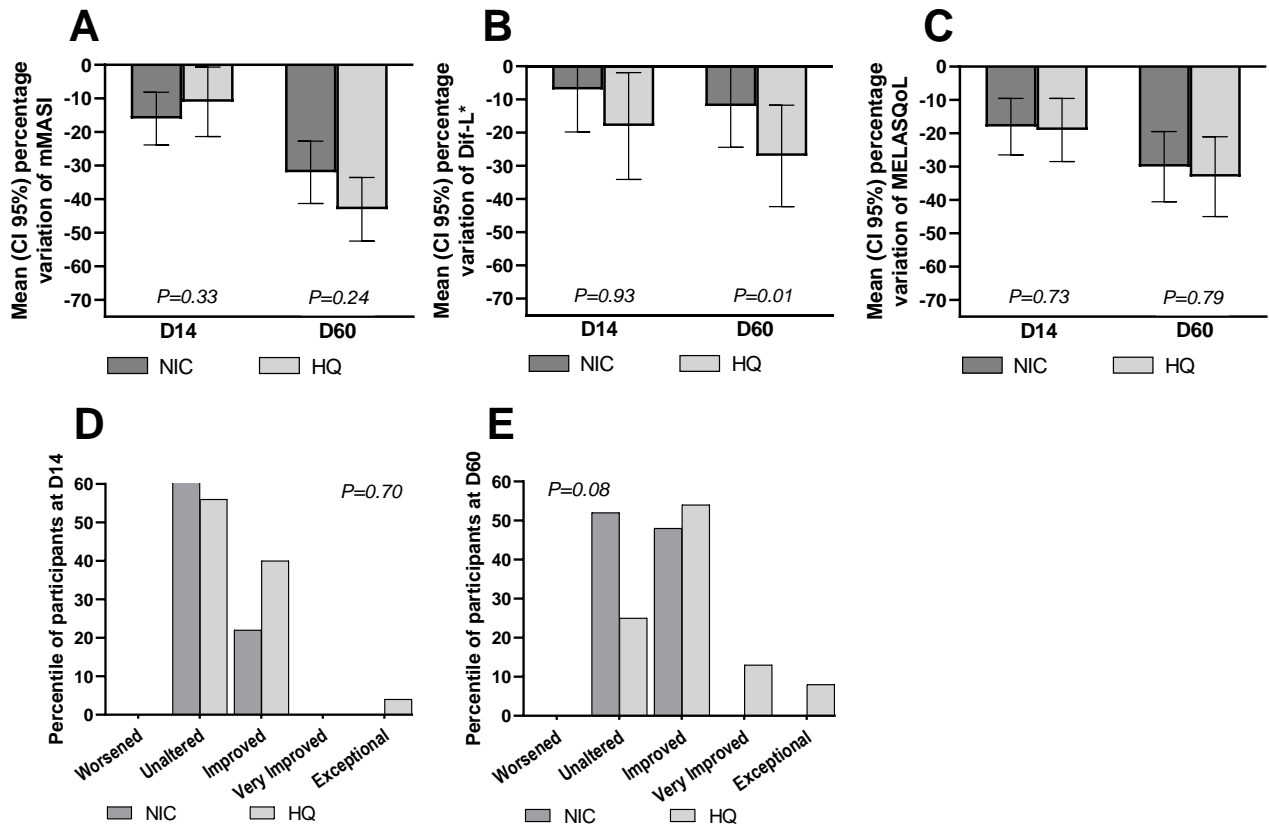
| <b>Variables</b>         | <b>NIC</b>  | <b>HQ</b>   |
|--------------------------|-------------|-------------|
| <i>n</i>                 | 24          | 25          |
| Age (years), mean (SD)   | 44.0 (5.7)  | 44.8 (7.1)  |
| Skin phototype, n (%)    |             |             |
| II                       | 6 (8%)      | 3 (12%)     |
| III                      | 30 (42%)    | 9 (36%)     |
| IV                       | 33 (46%)    | 8 (32%)     |
| V                        | 3 (4%)      | 5 (20%)     |
| Age of onset, mean (SD)  | 31.4 (6.1)  | 28.3 (8.9)  |
| Family occurrence, n (%) | 17 (71%)    | 20 (80%)    |
| mMASI, mean (SD)         | 6.2 (3.1)   | 7.2 (4.4)   |
| MELASQoL, mean (SD)      | 44.7 (17.9) | 50.7 (15.3) |
| Dif*L, mean (SD)         | 5.0 (2.1)   | 4.7 (2.7)   |

mMASI: modified Melasma Area Severity Index; MELASQoL: Melasma Quality of Life Scale; Dif\*L: difference between colorimetric luminosity (\*L) from the melasma to the adjacent unaffected skin.



**Figure 1.** Study flowchart according to CONSORT 2010.

The main outcomes are summarized in Figure 2. Both groups showed progressive improvement in clinical outcomes (Figures 3 and 4) and quality of life, with no difference between the groups ( $p > 0.2$ ). Within the NIC group, the mean reduction (95% CI) in mMASI was 16% (8-24%;  $p < 0.05$ ) on D14 and 32% (23-41%;  $p < 0.01$ ) on D60, while for the HQ group, it was 10% (7-24%;  $p < 0.05$ ) on D14 and 43% (34-52%;  $p < 0.01$ ) on D60, respectively.



**Figure 2.** Main outcomes for D14 and D60. (A) Percentage reduction in mMASI score; (B) Percentage reductions in colorimetric difference between healthy and affected skin; (C) percentage reduction in MELASQoL; (D) and (E) GAIS scores at D14 and D60.



**Figure 3.** Facial melasma treated with topical 10% nicotinamide + 5% magnesium ascorbyl phosphate + 5% hyaluronic acid. Standardized photography from the inclusion, after 14 and 60 days.



**Figure 4.** Facial melasma treated with 4% hydroquinone. Standardized photography from the inclusion, after 14 and 60 days.

Additionally, both groups demonstrated reductions in MELASQoL (95% CI) on D14 and D60, with a mean reduction of 18% (12-23%;  $p < 0.01$ ) on D14 and 30% (22-39%;  $p < 0.01$ ) on D60 in the NIC group. The HQ group showed reductions of 20% (10-31%;  $p < 0.01$ ) on D14 and 33% (2-46%;  $p < 0.01$ ) on D60.

Reductions in luminosity difference (colorimetry) were observed in the NIC group, from 7% (3-22%;  $p < 0.05$ ) on D14 to 17% (0-34%;  $p < 0.05$ ) on D60. In the HQ group, the reductions were from 18% (6-43%;  $p < 0.01$ ) on day 14 to 27% (13-43%;  $p < 0.01$ ) on D60.

The GAIS score did not differ between the groups on both D14 and D60 ( $p > 0.05$ ). Any improvement was evidenced in 5 (21%) and 11 (46%) participants in the NIC group on D14 and D60, respectively, and 11 (44%) and 18 (75%) in the HQ group.

Both treatments were well tolerated, with no serious adverse effects. In the NIC group, seven cases of mild itching (29%) were observed on D14, while on D60, three cases (13%;  $p = 0.11$ ) of mild acne and three cases (13%) of burning/itching were observed, all resolving spontaneously without the need for intervention. In the HQ group, nine cases (36%;  $p = 0.85$ ) of irritation/dryness were noted on D14, and nine cases (38%;  $p = 0.10$ ) on Day 60, which were advised to use moisturizer, achieving complete resolution without treatment interruption.

All participants used the treatment for at least six days per week, and all applied sunscreen at least twice a day.

According to participants' subjective evaluations, on D14, perceived improvement was reported by 71% of NIC group participants and 76% of HQ group participants ( $p = 0.15$ ); on D60, both groups showed improvement in 92% of cases ( $p = 0.78$ ).

## Discussion

A consistent improvement was observed in clinical measures, quality of life scores, and colorimetric measurements in women with melasma treated with 4% HQ gel cream for 60 days. Similarly, those treated with 10% NIC + 5% VCPMG + 5% HA gel cream up to day 60 also showed progressive favorable results. The participants of the study represented a usual sample of Brazilian adult women with melasma, regarding clinical and epidemiological data from previous studies<sup>27-35</sup>.

In this trial, which was conducted as a between-groups comparison to avoid confounding bias during product application, the topical combination of NIC + VCPMG + HA achieved numerically inferior clinical results compared to HQ on D14 or D60.

In a prior study comparing the 4% NIC and 4% HQ, where participants applied one product to each side of the face (*split face*), a significant improvement was observed in 44% of patients using NIC and 55% using HQ after two months. However, side effects were more prevalent with HQ (29%) compared to NIC (18%), indicating the better tolerability of NIC and a higher safety profile<sup>9</sup>. This study also assessed histopathological characteristics of melasma-affected skin before and after the use of 4% NIC, revealing a significant reduction in melanin content in the epidermis, as well as decreased inflammatory infiltrate and solar elastosis<sup>9</sup>.

The efficacy of topical NIC in skin depigmentation was evaluated through a randomized clinical trial involving 18 Japanese women. NIC 5% was applied to one side of the face, while a moisturizer was applied to the contralateral side. The results after eight weeks demonstrated a reduction in pigmentation in the intervention side compared to the control side<sup>36</sup>. In our sample, the topical combination of NIC + VCPMG + HA promoted 32% mMASI reduction in 8 weeks, with excellent tolerability.

A study conducted with Chinese women observed, after 16 weeks of using 10% nicotinamide, an average reduction of 36% in mMASI in 14 participants with melasma, without

observing any adverse effects. However, the comparator group, which combined this regimen with biweekly salicylic acid peels, showed superior performance<sup>37</sup>.

Another study aimed to investigate the role of interleukin 6 (IL-6) and endothelin-1 (ET-1) receptors in the increased dendricity of melanocytes in hyperpigmented facial lesions and the action of NIC in suppressing these ligands. The study observed that IL-6 and ET-1 increased melanocyte dendricity, consequently enhancing the transfer of melanosomes from melanocytes to keratinocytes. Therefore, this study demonstrated that NIC was effective in reducing the release of IL-6 and ET-1 from keratinocytes, inhibiting melanocyte dendricity, confirming its role in skin depigmenting<sup>38</sup>.

VCPMG is a stable, lipophilic, and esterified form of VC that remains stable at neutral pH<sup>16</sup>. An *in vitro* study has shown its potential to protect keratinocytes against UVA irradiation, possibly by increasing glutathione levels<sup>39</sup>. Additionally, other *in vitro* results demonstrated that it induces collagen synthesis to a similar extent as ascorbic acid<sup>40</sup>. Further histologic studies on the topical combination of NIC + VCPMG + HA are warranted.

The time taken for a basal keratinocyte to reach the stratum corneum is approximately 28 days. Therefore, the early evaluation on D14 aimed to identify adverse effects and assess whether the protection of the skin barrier provided by topical NIC and HA would significantly influence the treatment of melasma, considering the limited time for a full cell cycle. The assessment of the isolated effects of the 5% VCPMG, or the 10% NIC in melasma demands specific designs.

Possible limitations of the study include the short duration of the intervention, modest sample size, lack of histopathologic analysis, as well as the assessment of relapses after stopping the treatments. Additionally, the study was not self-controlled, making it impossible to exclude intrinsic patient response factors. The use of this combination in longer treatment regimens for melasma is warranted.

## **Conclusion**

The topical combination of NIC + VCPMG + AH, was found to be safe and well-tolerated, although its overall clinical efficacy was numerically inferior to 4% hydroquinone. It should be considered as an alternative treatment for facial melasma, especially for patients with poor tolerability or treatment failure with HQ, as well as maintenance therapy after hydroquinone use.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** To the patients in this study who gave written informed consent to the publication of their case details and images.

**INFORMED-CONSENT STATEMENT:** Written informed consent was obtained from patients to publish their data and images in this paper.

**ETHICS STATEMENT:** The study was approved by the Research Ethics Committee of the UNIFESP (#6.142.230). All procedures in studies involving human participants were performed in accordance with the Declaration of Helsinki (as revised in 2013).

**DISCLOSURE:** None with this manuscript.

**FUNDING:** None

## References

1. Handel AC, Miot LD, Miot HA. Melasma: a clinical and epidemiological review. *An Bras Dermatol*. 2014;89:771-782. doi: 10.1590/abd1806-4841.20143063
2. Dias MO, Minagawa FH, Teixeira de Abreu AF, Barbosa MMC, de Amorim RP, Esposito ACC, Miot HA. Prevalence of facial melasma among adult women in a multiracial population. *Int J Dermatol*. 2024;63:e89-e91. doi: 10.1111/ijd.17078
3. Esposito ACC, Cassiano DP, da Silva CN, Lima PB, Dias JAF, Hassun K, Bagatin E, Miot LDB, Miot HA. Update on Melasma-Part I: Pathogenesis. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2022;12:1967-1988. doi: 10.1007/s13555-022-00779-x
4. Cassiano DP, Esposito ACC, da Silva CN, Lima PB, Dias JAF, Hassun K, Miot LDB, Miot HA, Bagatin E. Update on Melasma-Part II: Treatment. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2022;12:1989-2012. doi: 10.1007/s13555-022-00780-4
5. Seckin HY, Kalkan G, Bas Y, Akbas A, Onder Y, Ozyurt H, Sahin M. Oxidative stress status in patients with melasma. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014;33:212-217. doi: 10.3109/15569527.2013.834496
6. Katiyar S, Yadav D. Correlation of Oxidative Stress with Melasma: An Overview. *Curr Pharm Des*. 2022;28:225-231. doi: 10.2174/1381612827666211104154928
7. Choubey V, Sarkar R, Garg V, Kaushik S, Ghunawat S, Sonthalia S. Role of oxidative stress in melasma: a prospective study on serum and blood markers of oxidative stress in melasma patients. *Int J Dermatol*. 2017;56:939-943. doi: 10.1111/ijd.13695
8. Zhen AX, Piao MJ, Kang KA, Fernando P, Kang HK, Koh YS, Yi JM, Hyun JW. Niacinamide Protects Skin Cells from Oxidative Stress Induced by Particulate Matter. *Biomol Ther (Seoul)*. 2019;27:562-569. doi: 10.4062/biomolther.2019.061
9. Navarrete-Solis J, Castanedo-Cazares JP, Torres-Alvarez B, Oros-Ovalle C, Fuentes-Ahumada C, Gonzalez FJ, Martinez-Ramirez JD, Moncada B. A Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Niacinamide 4% versus Hydroquinone 4% in the Treatment of Melasma. *Dermatol Res Pract*. 2011;2011:379173. doi: 10.1155/2011/379173
10. Draelos ZD, Ertel K, Berge C. Niacinamide-containing facial moisturizer improves skin barrier and benefits subjects with rosacea. *Cutis*. 2005;76:135-141.
11. Berardesca E, Ardigo M, Cameli N, Mariano M, Agozzino M, Matts PJ. Randomized, double-blinded, vehicle-controlled, split-face study to evaluate the effects of topical application of a Gold Silk Sericin/Niacinamide/Signaline complex on biophysical

- parameters related to skin ageing. *Int J Cosmet Sci.* 2015;37:606-612. doi: 10.1111/ics.12237
12. Madaan P, Sikka P, Malik DS. Cosmeceutical Aptitudes of Niacinamide: A Review. *Recent Adv Antiinfect Drug Discov.* 2021;16:196-208. doi: 10.2174/2772434416666211129105629
  13. Correia G, Magina S. Efficacy of topical vitamin C in melasma and photoaging: A systematic review. *J Cosmet Dermatol.* 2023;22:1938-1945. doi: 10.1111/jocd.15748
  14. Huh CH, Seo KI, Park JY, Lim JG, Eun HC, Park KC. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vitamin C iontophoresis in melasma. *Dermatology.* 2003;206:316-320. doi: 10.1159/000069943
  15. Dimitrov A, Zanini M, Zucchi H, Boudah S, Lima J, Soeur J, Marrot L. Vitamin C prevents epidermal damage induced by PM-associated pollutants and UVA1 combined exposure. *Exp Dermatol.* 2021;30:1693-1698. doi: 10.1111/exd.14315
  16. Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2017;10:14-17.
  17. Lee DJ, Lee J, Ha J, Park KC, Ortonne JP, Kang HY. Defective barrier function in melasma skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2012;26:1533-1537. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04337.x
  18. Esposito 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;32:101-108. doi: 10.5021/ad.2020.32.2.101
  19. Disphanurat W, Srisantithum B. Efficacy and safety of 0.15% isobutylamido thiazolyl resorcinol combined with hyaluronic acid vs 0.15% isobutylamido thiazolyl resorcinol or hyaluronic acid alone in melasma treatment: A randomized evaluator-blind trial. *J Cosmet Dermatol.* 2021;20:3563-3572. doi: 10.1111/jocd.14031
  20. Maranzatto CF, Miot HA, Miot LD, Meneguim S. Psychometric analysis and dimensional structure of the Brazilian version of melasma quality of life scale (MELASQoL-BP). *An Bras Dermatol.* 2016;91:422-428. doi: 10.1590/abd1806-4841.20165014
  21. Narins RS, Brandt F, Leyden J, Lorenc ZP, Rubin M, Smith S. A randomized, double-blind, multicenter comparison of the efficacy and tolerability of Restylane versus Zyplast for the correction of nasolabial folds. *Dermatol Surg.* 2003;29:588-595. doi: 10.1046/j.1524-4725.2003.29150.x
  22. Miot HA. Sample size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras.* 2011;10:275-278. doi: 10.1590/s1677-54492011000400001

23. Bagatin E, Miot HA. How to design and write a clinical research protocol in Cosmetic Dermatology. *An Bras Dermatol*. 2013;88:69-75. doi: 10.1590/s0365-05962013000100008
24. Miola AC, Miot HA. Comparing categorical variables in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2022;21:e20210225. doi: 10.1590/1677-5449.20210225
25. Miot HA. Analysis of data with dependent measures in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2023;22:e20220150. doi: 10.1590/1677-5449.202201502
26. Miola AC, Miot HA. P-value and effect-size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2021;20:e20210038. doi: 10.1590/1677-5449.210038
27. da Silva CN, Miot HA, Grassi TF, Dias-Melicio LA, Santos L, Esposito ACC. Expression of Endothelin-1, Endothelin Receptor-A, and Endothelin Receptor-B in facial melasma compared to adjacent skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2023;16:2847-2853. doi: 10.2147/CCID.S402168
28. Lima PB, Dias JAF, Cassiano D, Esposito ACC, Bagatin E, Miot LDB, Miot HA. A comparative study of topical 5% cysteamine versus 4% hydroquinone in the treatment of facial melasma in women. *Int J Dermatol*. 2020;59:1531-1536. doi: 10.1111/ijd.15146
29. Lima PB, Dias JAF, Esposito ACC, Miot LDB, Miot HA. French maritime pine bark extract (pycnogenol) in association with triple combination cream for the treatment of facial melasma in women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021;35:502-508. doi: 10.1111/jdv.16896
30. Dias JAF, Lima PB, Cassiano DP, Esposito ACC, Bagatin E, Miot LDB, Miot HA. Oral ketotifen associated with famotidine for the treatment of facial melasma: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2022;36:e123-e125. doi: 10.1111/jdv.17692
31. Tamega A de A, Miot LD, Bonfietti C, Gige TC, Marques ME, Miot HA. Clinical patterns and epidemiological characteristics of facial melasma in Brazilian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27:151-156. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04430.x
32. Holanda IRM, de Almeida Correa Alfredo M, Cassiano DP, Esposito ACC, Lima PB, Bagatin E, Miot HA. Efficacy of oral 5 mg melatonin in the treatment of facial melasma in women: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024;38:ahead of print. doi: 10.1111/jdv.19784
33. Cassiano D, Esposito ACC, Hassun K, Bagatin E, Lima M, Lima EVA, Miot LDB, Miot HA. Efficacy and safety of microneedling and oral tranexamic acid in the treatment of facial melasma in women: An open, evaluator-blinded, randomized clinical trial. *J Am Acad Dermatol*. 2020;83:1176-1178. doi: 10.1016/j.jaad.2020.02.002

34. Holanda IRM, de Almeida Correa Alfredo M, Cassiano DP, Esposito ACC, Lima PB, Bagatin E, Miot HA. Efficacy of oral 5 mg melatonin in the treatment of facial melasma in women: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024. doi: 10.1111/jdv.19784
35. de Amorim RP, Barbosa MMC, Cassiano DP, Esposito ACC, Dias MO, de Abreu AFT, Bagatin E, Miot HA. Sequential therapy with topical clobetasol for 14 days followed by hydroquinone versus hydroquinone alone in facial melasma treatment: a randomized, double-blind, controlled clinical trial. *Int J Dermatol*. 2024. doi: 10.1111/ijd.17094
36. Hakozaki T, Minwalla L, Zhuang J, Chhoa M, Matsubara A, Miyamoto K, Greatens A, Hillebrand GG, Bissett DL, Boissy RE. The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. *Br J Dermatol*. 2002;147:20-31. doi: 10.1046/j.1365-2133.2002.04834.x
37. Cheng Y, Zhang L, You Y. The effects of supramolecular nicotinamide combined with supramolecular salicylic acid on chloasma. *J Cosmet Dermatol*. 2024;23:681-686. doi: 10.1111/jocd.16010
38. Hakozaki T, Wang J, Laughlin T, Jarrold B, Zhao W, Furue M. Role of interleukin-6 and endothelin-1 receptors in enhanced melanocyte dendricity of facial spots and suppression of their ligands by niacinamide and tranexamic acid. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2024;38 Suppl 2:3-10. doi: 10.1111/jdv.19719
39. Hwang TL, Tsai CJ, Chen JL, Changchien TT, Wang CC, Wu CM. Magnesium ascorbyl phosphate and coenzyme Q10 protect keratinocytes against UVA irradiation by suppressing glutathione depletion. *Mol Med Rep*. 2012;6:375-378. doi: 10.3892/mmr.2012.933
40. Geesin JC, Gordon JS, Berg RA. Regulation of collagen synthesis in human dermal fibroblasts by the sodium and magnesium salts of ascorbyl-2-phosphate. *Skin Pharmacol*. 1993;6:65-71. doi: 10.1159/000211089

#### 4. CONCLUSÕES

A combinação de nicotinamida 10%, VCPMG 5% e ácido hialurônico 5%, em gel creme, aplicado duas vezes ao dia, por 60 dias foi bem tolerada e levou à redução progressiva dos escores clínicos, de qualidade de vida e colorimetria, de mulheres portadoras de melasma facial.

A melhora clínica e de qualidade de vida desse regime não demonstrou diferença quando comparada à intervenção com hidroquinona. Entretanto, a melhora do escore colorimétrico foi inferior à promovida pela hidroquinona, no fim do seguimento.

Em pacientes portadores de melasma com falha terapêutica, contraindicação ou efeitos adversos relacionados à hidroquinona, a combinação de nicotinamida 10%, VCPMG 5% e ácido hialurônico 5%, deve ser considerada, bem como seu uso como terapia de manutenção após o uso de hidroquinona, além de ser segura na gestação e lactação.

**APÊNCIDE 1:**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU  
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA E RADIOTERAPIA**

---

Paciente: \_\_\_\_\_

**USO TÓPICO**

- 1) Tratamento MANHÃ gel creme -----01 Tubo  
Aplicar na face, uma vez ao dia, cedo, por 8 semanas.
  
- 2) Tratamento NOITE gel creme -----01 Tubo  
Aplicar na face, uma vez ao dia, ao deitar, por 8 semanas.
  
- 3) Filtro solar com cor de amplo espectro FPS 60 -----Contínuo  
Aplicar na face pela manhã e reaplicar a cada 3 horas.



## APÊNCIDE 2 – ANAMNESE D0

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Grupo \_\_\_\_\_  
 Nome: \_\_\_\_\_  
 Telefone de contato: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_\_\_  
 Fototipo: \_\_\_\_\_ Profissão/Ocupação: \_\_\_\_\_  
 Exposição solar diária ( ) Não ( ) Sim – Quanto? \_\_\_\_\_  
 Comorbidades: \_\_\_\_\_  
 Medicamentos em uso: \_\_\_\_\_  
 Uso de ACO: \_\_\_\_\_ Tempode uso: \_\_\_\_\_  
 Tabagista ( ) Não ( ) Sim: \_\_\_\_\_ Anos. Maço. G \_\_\_ P \_\_\_ A \_\_\_ C \_\_\_  
 Antecedente familiar de melasma ( ) Não ( ) Sim – Quem? \_\_\_\_\_  
 Idade do surgimento do melasma: \_\_\_\_\_. Primeiro local de acometimento: \_\_\_\_\_  
 Fator desencadeante: \_\_\_\_\_  
 Tratamentos já empregados  
 ( ) Clareador de manutenção ( ) Hidroquinona / Fórmula tripla  
 ( ) Acidotranexâmico ( ) Antioxidantes (picnogenol, luteína...)  
 ( ) Peeling ( ) LIP ( ) Laser ( ) Microagulhamento ( ) Outros: \_\_\_\_\_  
 Obs:

## APÊNDICE 3 – REAVALIAÇÃO D14 E D60

Nome: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

- 1) Uso regular do produto? ( ) Sim ( ) Não
- 2) Efeitos Colaterais do produto: ( ) Não ( ) Sim  
 Se sim, quais? \_\_\_\_\_
- 3) Fez uso regular (a cada 3 horas) do filtro solar? ( ) Sim ( ) Não  
 Se fez uso irregular, quantas vezes aplicou ao dia? \_\_\_\_\_

## ANEXOS

### ANEXO 1:

#### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

##### TERMINOLOGIA OBRIGATÓRIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 466/12-CNS-MS)

Você foi convidada a participar de um projeto de pesquisa chamado “EFICÁCIA E SEGURANÇA DA NICOTINAMIDA 10% ASSOCIADA À VCPMG 5% E ÁCIDO HIALURÔNICO 5% TÓPICA, DUAS VEZES AO DIA, COMPARADA À HIDROQUINONA 4% EM MULHERES BRASILEIRAS COM MELASMA: UM ENSAIO CLÍNICO DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO” que pretende estudar a eficácia do tratamento do melasma com Nicotinamida 10% associada à vitamina C PMG 5% e ácido hialurônico 5%.

A pesquisa constará da realização de duas consultas médicas. No primeiro dia, seu rosto será avaliado e fotografado, serão realizadas perguntas sobre sua qualidade de vida, será orientado o uso do protetor solar.

Cada participante receberá dois tubos, que pode ser de Nicotinamida + VCPMG + Ácido hialurônico para aplicação duas vezes ao dia, pela manhã e à noite, ou um de Hidroquinona para aplicação uma vez ao dia, à noite e um de Placebo para aplicação uma vez ao dia, pela manhã.

São complicações possíveis do tratamento: prurido (coceira), eritema, sensação de queimação e irritação no local de aplicação. Se a Sra. apresentar qualquer destes efeitos, entrar em contato imediatamente com o pesquisador.

Após 60 dias do início do estudo, todas as participantes serão reavaliadas e fotografadas. Até o momento, o que existe evidência de melhorar efetivamente o melasma é o uso de protetor solar associado a creme clareador de uso diário.

As fotos serão tiradas com finalidade científica ou de educação médica. Dessa maneira, podem ser publicadas em artigo científico de livre acesso na Internet ou livro texto. Além disso, podem ser apresentadas, isoladas ou acompanhadas por assuntos escritos, impressos, gráficos ou áudios, aos profissionais de saúde. Os seus dados pessoais serão totalmente preservados e as fotos anônimas, com tarja sobre os olhos.

Caso você queira participar da pesquisa, não haverá qualquer custo em relação aos tratamentos que serão utilizados e estará contribuindo para o melhor conhecimento do melasma e dos seus tratamentos. Há o potencial benefício de melhora da qualidade da sua pele com o tratamento.

Caso você não queira participar da pesquisa, é seu direito e isso não vai interferir com seu tratamento nas Instituições ou preferência de agendamento médico. Você poderá retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem nenhum prejuízo. É garantido total sigilo do seu nome em relação aos dados relatados nesta pesquisa. Em qualquer etapa do estudo, a Sra. terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. Caso necessário, será garantido o direito à assistência integral e gratuita ao participante, devido a danos decorrentes da participação na pesquisa e pelo tempo que for necessário. Assim como é garantido o direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Se desejar conhecer o resultado da pesquisa, ou o seu resultado em específico, deve entrar em contato com os pesquisadores, pelos telefones abaixo.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609 que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00

às 11.30 e das 14.00 às 17horas, na Chácara Butignolli s/nº em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo. Os dados de localização dos pesquisadores estão abaixo descritos.

Uma via desse termo de consentimento deve ser guardada com o sujeito da pesquisa, e outra será arquivada junto ao pesquisador.

“Acredito ter sido suficientemente informada a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “EFICÁCIA E SEGURANÇA DA NICOTINAMIDA 10% ASSOCIADA À VCPMG 5% E ÁCIDO HIALURÔNICO 5% TÓPICO DUAS VEZES AO DIA, COMPARADA À HIDROQUINONA 4% EM MULHERES BRASILEIRAS COM MELASMA: UM ENSAIO CLÍNICO DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO”. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste serviço.”

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

“Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária, o Consentimentos Livre e Esclarecido desta participante da pesquisa (ou representante legal) para a participação neste estudo. Declaro ainda que me comprometo a cumprir todos os termos aqui descritos.”

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Orientador: Hélio Amante Miot, Rua Magnólia, 400, Botucatu. Fone: (14) 3882-4922. E-mail: [heliomiot@fmb.unesp.br](mailto:heliomiot@fmb.unesp.br)

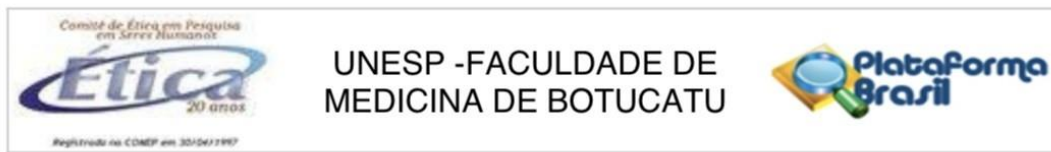
Pesquisadora: Mayla Martins Conti Barbosa, Rua Cardoso de Almeida, 2581- Botucatu. Fone: (63) 99954-7471. E-mail: [mayla\\_conti@hotmail.com](mailto:mayla_conti@hotmail.com).

Pesquisadora: Rebecca Perez de Amorim, Rua Salim Kahil, 470 - Botucatu. Fone: (91) 99185-4243. E-mail: [rebeccapamorim@outlook.com](mailto:rebeccapamorim@outlook.com).

Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP - Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n CEP 18618687 - Botucatu, SP - Brasil; Tel (14) 3880-100

---

## ANEXO 2 – APROVAÇÃO NO CEP



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** EFICÁCIA E SEGURANÇA DA NICOTINAMIDA 10%, ASSOCIADA AO VCPMG 5% E ÁCIDO HIALURÔNICO 5% TÓPICO, DUAS VEZES AO DIA, COMPARADO À HIDROQUINONA 4% EM MULHERES BRASILEIRAS COM MELASMA: UM ENSAIO CLÍNICO DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E CONTROLADO

**Pesquisador:** Hélio Amante Miot

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 59640822.0.0000.5411

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.752.812

**Apresentação do Projeto:**

As informações descritas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas dos documentos e arquivo - Informações Básicas da Pesquisa.

**INTRODUÇÃO:**

Melasma é uma hipermelanose cutânea crônica adquirida, caracterizada por máculas castanhadas, simétricas e irregulares dispostas em áreas foto expostas, especialmente a face, acometendo principalmente mulheres entre 30-55anos, que cursa com comprometimento estético, causando prejuízos emocionais importantes. Estudos comprovam que a pele acometida por melasma quando comparada à pele sã adjacente, apresenta aumento de melanina em todas as camadas da epiderme, elastose solar e há proeminência dos melanossomas e já é conhecido também a influência do estresse oxidativo. Fatores de risco bem estabelecidos, como radiação ultravioleta (RUV), gravidez, fatores genéticos, fármacos, estão entre os fatores

etiológicos. Existem diversos tratamentos com bons resultados e estudos promissores no uso de antioxidantes, como a nicotinamida, dentre as opções terapêuticas.

**2.3 PERGUNTA NORTEADORA**

O uso da nicotinamida 10% associada à VCPMG 5% e ácido hialurônico 5% gel creme, duas vezes ao

**Endereço:** Chácara Butignolli, s/n

**Bairro:** Rubião Junior

**UF:** SP

**Telefone:** (14)3880-1609

**Município:** BOTUCATU

**CEP:** 18.618-970

**E-mail:** cep@fmb.unesp.br

## ANEXO 3 – Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos (ReBEC)

### RBR-4mkfmr8 The benefit of Nicotinamide + Vitamin C + Hyaluronic Acid, compared to Hydroquinone in the treatment of Melasma

Date of registration: 03/20/2023 (mm/dd/yyyy)

Last approval date : 03/20/2023 (mm/dd/yyyy)

#### Study type:

Interventional

#### Scientific title:

##### en

Efficacy and safety topical Nicotinamide 10%, associated with VCPMG 5% and Hyaluronic Acid 5%, compared to Hydroquinone 4% tested in Brazilian women with Melasma: a double-blind, randomized and controlled trial

##### pt-br

Eficácia e segurança da Nicotinamida 10%, associada à VCPMG 5% e Ácido Hialurônico 5% tópico, duas vezes ao dia, comparado à Hidroquinona 4% em mulheres brasileira com Melasma: um ensaio clínico duplo cego, randomizado e controlado

##### es

Efficacy and safety topical Nicotinamide 10%, associated with VCPMG 5% and Hyaluronic Acid 5%, compared to Hydroquinone 4% tested in Brazilian women with Melasma: a double-blind, randomized and controlled trial

#### Trial identification

- UTN code: U1111-1281-6663
- Public title:

##### en

The benefit of Nicotinamide + Vitamin C + Hyaluronic Acid, compared to Hydroquinone in the treatment of Melasma

##### pt-br

O benefício da Nicotinamida + Vitamina C + Ácido Hialurônico, comparado com Hidroquinona no tratamento do Melasma



## ANEXO 4

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU  
DEPARTAMENTO DE DERMATOLOGIA E RADIOTERAPIA

Nome: \_\_\_\_\_

**Questionário de qualidade de vida**

Considerando a sua doença, **melasma**, e a **última semana** antes dessa consulta, como você se sente em relação:

**1) A aparência da sua pele:**

- 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 tempo

**2) Frustração pela condição da sua pele:**

- 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 tempo

**3) Constrangimento pela condição da sua pele**

- 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 tempo

**4) Sentindo-se depressivo pela condição da sua pele**

- 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 tempo

**5) Os efeitos da condição da sua pele no relacionamento com outras**

**peças (por exemplo: interações com a família, amigos, relacionamentos íntimos)**

- 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 tempo

**6) Os efeitos da condição da sua pele sobre o desejo de estar com as pessoas**

- 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 tempo

**7) A condição da sua pele dificulta a demonstração de afeto**

- 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 tempo

**8) As manchas na pele fazem você não se sentir atraente para os outros**

- 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 tempo

**9) As manchas na pele fazem você se sentir menos importante ou produtivo**

- Nem um pouco incomodado
- Não incomodado na maioria da vezes
- Não incomodado algumas vezes
- Neutro
- Incomodado algumas vezes
- Incomodado na maioria das vezes
- Incomodado todo tempo

**10) As manchas na pele afetam o seu senso de liberdade**

- Nem um pouco incomodado
- Não incomodado na maioria da vezes
- Não incomodado algumas vezes
- Neutro
- Incomodado algumas vezes
- Incomodado na maioria das vezes
- Incomodado todo tempo

## ANEXO 5 – COLORIMETRIA

Nome da participante: \_\_\_\_\_

|                              | L* | A* | B* |
|------------------------------|----|----|----|
| T0 melasma – medida 1        |    |    |    |
| T0 melasma – medida 2        |    |    |    |
| T0 melasma – medida 3        |    |    |    |
| T0 pele adjacente – medida 1 |    |    |    |
| T0 pele adjacente – medida 2 |    |    |    |
| T0 pele adjacente – medida 3 |    |    |    |
| T8 melasma – medida 1        |    |    |    |
| T8 melasma – medida 2        |    |    |    |
| T8 melasma – medida 3        |    |    |    |
| T8 pele adjacente – medida 1 |    |    |    |
| T8 pele adjacente – medida 2 |    |    |    |
| T8 pele adjacente – medida 3 |    |    |    |

---