

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

**MICROESFERAS DE IVERMECTINA BASEADAS NO
POLIGLICEROL ARBORESCENTE PARA O TRATAMENTO
DA ROSACEA**

Rochelly Mariana Pedroso Oliveira

Itajubá-MG, abril de 2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

Rochelly Mariana Pedroso Oliveira

**MICROESFERAS DE IVERMECTINA BASEADAS NO
POLIGLICEROL ARBORESCENTE PARA O TRATAMENTO
DA ROSACEA**

**Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Materiais para
Engenharia como parte dos requisitos
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências em Materiais para Engenharia.**

Área de Concentração: Não-metals.

**Orientador: Prof. Dr. Álvaro Antônio
Alencar de Queiroz**

Abril de 2018

Itajubá-MG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ITAJUBÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM MATERIAIS PARA ENGENHARIA**

Rochelly Mariana Pedroso Oliveira

**MICROESFERAS DE IVERMECTINA BASEADAS NO
POLIGLICEROL ARBORESCENTE PARA O TRATAMENTO
DA ROSACEA**

**Dissertação aprovada por banca
examinadora em 12 de abril de 2018,
conferindo à autora o título de Mestre em
Ciências em Materiais para Engenharia.**

Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Edson Giuliani
Ramos Fernandes**

**Profa. Dra. Maria Elena Leyva
González**

**Orientador: Prof. Dr. Álvaro
Antônio Alencar de Queiroz**

Itajubá-MG

2018

Aos meus familiares e amigos, pelo incentivo, inspiração, compreensão e apoio nas horas difíceis. À minha vizinha que tanto se orgulha de mim, eterna em nossos corações.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por permitir a conclusão dessa dissertação, depois de muitos momentos difíceis. Aos meus pais Jaqueline e Romolo e aos meus irmãos Rochester e Cy pela torcida, apoio, amor e por não me deixarem desanimar nas horas difíceis enfrentadas. Enfrentamos tudo isso juntos, e dedico a vocês esse trabalho. Agradeço ao Rafa, quem me apoiou nessa escolha, sofreu também com a distância, mas sem deixar o desânimo bater. Agradeço todas as idas ao laboratório, viagens, noites sem dormir direito... Sinto que com a nossa parceria, chegamos mais longe! Obrigada segurar na minha mão durante esse grande passo!

Agradeço profundamente ao meu orientador, professor Dr. Álvaro, pelo auxílio, por me guiar, pela empatia e compreensão nesse processo e pela confiança depositada em mim. Não poderia deixar de agradecer a professora Elena, sempre carinhosa. Agradeço o apoio inicial dado pela professora Dra. Daniela e aos demais docentes e discentes que muito me auxiliaram nessa caminhada.

Aos colegas e amigos da UNIFEI, pelo apoio, pela torcida, pelos puxões de orelha, pela amizade e empatia nesse caminho, principalmente a Letícia, sempre junta nas disciplinas e nos dias de laboratório, Priscila, por me ajudar a familiarizar com as rotinas do laboratório, Alexandro, pelo auxílio nas caracterizações, Leonardo, pelo auxílio no tratamento estatístico das imagens usando o Image J e MatLab, Thiago, pelo processamento das equações de Kissinger e Ozawa, Alexandre, por meu auxiliar com o Origin, Tessa, pela ajuda com a apresentação, Fran, Mayara, Rosana, Mayara Masselli e Luziane, as quais permanecemos juntas nessa caminhada.

Aos amigos que estavam na torcida para essa etapa se concluir, com o coração sempre ao lado, mesmo com a barreira da distância física de alguns, Carol, Nando, Rei, Bruna Matos, Amanda, Lari, Wash, Pedro Sucupira, eu agradeço muito pela parceria de vocês!

Por fim, agradeço a todos que de algum modo colaboraram para a realização deste trabalho.

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”
(Albert Einstein)*

RESUMO

Rosácea é uma dermatose relativamente comum na população mundial que acomete preferencialmente mulheres caucasianas com idades entre 30 a 50 anos. Ao se tratar da rosácea facial, a mesma causa desconforto funcional e estético ao paciente, uma vez que a pele doente é sensível e destaca-se quando comparada à uma pele saudável. Assim sendo, o presente estudo teve como objetivo a obtenção de microesferas biocompatíveis de dendrímeros de poliglicerol (MPGLD) altamente reticulado contendo ivermectina (MPGLD-IVE), medicamento promissor nos tratamentos tópicos de rosácea, com eficácia superior às outras fórmulas terapêuticas. A obtenção desse conjugado visou a liberação controlada e prolongada do medicamento. A metodologia utilizada para a obtenção das microesferas de PGLD-IVE foi a fotoreticulação de uma emulsão de MPGLD_{G4}, previamente reticulado com metacrilato de glicidila (MAG). A partir da obtenção das esferas, foi realizada a caracterização físico-química das mesmas por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), além de ser feito o estudo da liberação *in vitro* desse fármaco. Os resultados das análises mostraram que a emulsão obteve microesferas de diâmetro médio de 20,3 µm, com desvio padrão de 6,7 µm. Por fim, com base no estudo da liberação da Ivermectina, foi detectado que o tipo de transporte por difusão é não Fickiano com cinética de liberação de 1,68 µg/mL por minuto. O melhor tempo/rendimento de reticulação é de aproximadamente 15 min e a melhor concentração de MAG na reticulação do complexo favorecendo a liberação da ivermectina em 25 horas é de 20%. Com isso, concluiu-se que provavelmente o uso das microesferas de poliglicerol arborescentes podem reduzir os efeitos nocivos da rosácea nos pacientes, exigindo um número menor de aplicações, com uma dosagem medicamentosa reduzida e mais controlada, reduzindo a chance de recidivas e consequente o aumento da qualidade de vida.

Palavras-chave: Rosácea, Liberação controlada de fármacos, Ivermectina, MPGLD_{G4}, MPGLD_{G4}-IVE.

ABSTRACT

Rosacea is a fairly common dermatitis in the world population which primarily affects Caucasian women between 30 and 50 years old. When it comes to facial rosacea, the same causes functional and aesthetic discomfort to the patient since the diseased skin is sensitive and stands out when compared to a healthy skin. Thus, the present study aimed to obtain microspheres ivermectin based on arborescent polyglycerol MPGLD_{G4}-IVE for the treatment of rosacea, a promising drug in topical rosacea treatments, with superior efficacy to other therapeutic formulations. The achievement of this conjugate aimed at the controlled and prolonged release of the drug. The methodology used to obtain the MPGLD-IVE microspheres was photoreticulation of a MPGLD_{G4} emulsion, previously reticulated with glycidyl methacrylate (MAG). The physical-chemical characterization of the spheres was made by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscope (SEM), thermogravimetric analysis (TGA), and differential scanning calorimetry (DSC), in addition to the drug's in vitro release study. The results of the analysis showed that the emulsion obtained microspheres with a mean diameter of 20.3 μm , with a standard deviation of 6.7 μm . Finally, based on the study of the release of Ivermectin, it was detected that the type of diffusion transport is non-Fickian with release kinetics of 1.68 $\mu\text{g} / \text{mL}$ per minute. The best reticulated time / yield is approximately 15 min and the best concentration of MAG in the reticulated of the complex favoring the release of ivermectin in 25 hours is 20%. Thus, it was concluded probably with the use of arborescent microspheres can reduce the harmful effects of rosacea in patients, requiring a smaller number of applications, with a reduced and more controlled drug dosage, reducing the chance of recurrence and consequent increase in life quality.

Keywords: Rosacea, Controlled release of drugs, Ivermectin, MPGLD_{G4}, MPGLD_{G4}-IVE.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Conjunto de características presentes em pacientes com rosácea.	25
Figura 2: Fatores internos causadores da rosácea.	29
Figura 3: Efeitos dos raios UVB na pele com rosácea.	30
Figura 4 Corte histológico de biópsia da pele facial de um paciente com rosácea papulopustular mostrando ácaros intactos e rompidos no folículo inflamado.	31
Figura 5: Quadro de classificação dos subtipos de rosácea com as respectivas manifestações clínicas.	34
Figura 6: Rosácea eritematotelangiectásica (ETR).	36
Figura 7: Rosácea papulopustular.	36
Figura 8: Rosácea fimatosa.	37
Figura 9: Rosácea ocular.	37
Figura 10: Corte histológico do infiltrado típico de rosácea granulomatosa.	38
Figura 11: Aspecto clínico da rosácea granulomatosa.	39
Figura 12: Corte histológico típico de rosácea.	40
Figura 13: Medicamentos utilizados no tratamento da rosácea.	42
Figura 14: Fórmulas estruturais das avermectinas naturais.	53
Figura 15 Estrutura química da ivermectina.	54
Figura 16: Frequência de ocorrência das reações adversas.	56
Figura 17: Representação do dendrímero de poliglicerol funcionalizado (G ₃).	60
Figura 18: Estrutura do MPGLD _{G4}	61
Figura 19: Ilustração do processo de obtenção das microesferas PGLD _{G4} -IVE utilizando o processo de fotoreticulação de emulsão.	66
Figura 20: TGA 50 Shimadzu Corporation.	67
Figura 21: DSC 60 Plus Shimadzu Corporation.	67
Figura 22: Aparelho de FTIR Tracer 100.	68
Figura 23: Aparelho de UV-vis Cary 50.	68
Figura 24: MEV.	69
Figura 25: Liofilizador de bancada LJJ04.	69
Figura 26: Metalizador de ouro Denton Vacuum IV.	70
Figura 27: CLAE.	70
Figura 28: Estrutura química da Ivermectina.	79

Figura 29: FTIR IVE.	80
Figura 30: FTIR MPGLD _{G4}	81
Figura 31: TGA da IVE.	82
Figura 32: TGA do MPGLD _{G4} reticulado.	83
Figura 33: DSC da IVE.	84
Figura 34: DSC das MPGLD _{G4} reticuladas.	85
Figura 35: Micrografias obtidas por MEV das microesferas de PGLD _{G4} -IVE funcionalizadas com MAG 20% (m/m)	87
Figura 36: Gráfico da frequência das microesferas e o diâmetro obtidos pela análise no Image J através da ferramenta MatLab.	89
Figura 37: Curva de calibração para a IVE diluída em solução tampão pH 7,4. Internamente é ilustrado o cromatograma CLAE da IVE. O tempo de retenção do fármaco é igual a 3,27 min.	90
Figura 38: Influência do tempo no rendimento da produção de microesferas através da técnica de fotoreticulação da emulsão de MPGLD _{G4} -IVE.	91
Figura 39: Influência da concentração de MAG (% m/m) na eficiência de encapsulamento (EE) da IVE.	92
Figura 40: Espectroscopia FTIR de microesferas obtidas a partir da irradiação com luz UV do MPGLD _{G4} -IVE. Em vermelho observa-se o FTIR do MPGLD _{G4} antes da reticulação e em azul o FTIR após o processo de reticulação.	93
Figura 41: Estudo da liberação in vitro de IVE das microesferas PGLD _{G4} em solução tampão PBS pH 7,4 a 37 °C: 5% MAG (A), 20% MAG (B) e 30 % MAG (C).	94
Figura 42: Modelos cinéticos para a liberação de IVE das microesferas PGLD _{G4} à temperatura ambiente (25 °C): ordem zero (A), primeira ordem (B), Higuchi (C) e Peppas (D).	96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Prevalência da rosácea na população por país em diferentes estudos.....	27
Tabela 2: Dados para obtenção da energia de ativação	71
Tabela 3: Dados obtidos com as diferentes rampas de TGA para a energia de ativação do MPGLD _{G4}	86
Tabela 4: Compilado de dados obtidos a partir das micrografias.....	88
Tabela 5: Aplicação da análise ANOVA nos dados obtidos.	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA	Ácido 5-aminolevulínico
AZ	Ácido azelaico
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
ETR	Rosácea Eritematotelangiectásica
FDA	Food and Drug Administration- Administração de drogas e alimentos
FTIR	Espectroscopia de absorção no Infravermelho por Transformada de Fourier
GABA	Ácido Gama Amino Butírico
GluCl	Ácido Glutâmico ou Glutamato
IVE	Ivermectina
LIP	Luz Intensa Pulsada
LPS	Lipopolissacarídeo
MAG	Metacrilato de Glicidila
MAPs	Proteína-Quinases Ativadas por Mitógenos
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MMPs	Metaloproteinases de matriz
MPGLD	Microesferas de dendrímeros de poliglicerol
MPGLD _{G4}	Microesferas de dendrímeros de poliglicerol de 4ª geração
MPGLD _{G4} -IVE	Conjugado de microesferas de dendrímeros de poliglicerol com Ivermectina
MTZ	Metronidazol
NF-β	Fator Nuclear Kappa-β
PAMAM	Dendrímeros de poli(amido amina)
PPI	Dendrímero de poli(propileno imina)
PGLD	Dendrímeros de poliglicerol
PGLD _{G4}	Dendrímeros de poliglicerol de 4ª geração
PGLD _{G4} -IVE	Conjugado Dendrímeros de poliglicerol com Ivermectina
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SIBO	Supercrescimento Bacteriano do Intestino Delgado
TGA	Análise Termogravimétrica
UV-Vis	Espectroscopia no Ultravioleta Visível

SUMÁRIO

Capítulo 1 -	15
1.1. Introdução	16
1.2. Motivação	18
1.3. Referências Bibliográficas	20
Capítulo 2 -	22
2.1 Objetivos Gerais	23
2.2 Objetivos Específicos	23
Capítulo 3 -	24
3.1 Epidemiologia e Etiologia	25
3.2 Sintomatologia	32
3.3 Subtipos de Rosácea e Diagnóstico	33
3.4 Prevenção e Tratamento	40
3.5 Referências Bibliográficas	48
Capítulo 4 -	51
4.1 Ivermectina	52
4.2 Sistemas de liberação de fármacos	58
4.3 Referências Bibliográficas	62
Capítulo 5 -	64
5.1 Materiais e Métodos	65
5.2 Equipamentos Utilizados	66
5.3 Metodologia das Caracterizações	70
5.3.1 TGA	70
5.3.2 DSC	71
5.3.3 FTIR	73
5.3.4 MEV	73
5.3.5 Software de Tratamento de Imagem	74
5.3.6 Estudo da Cinética	74
5.4 Referências Bibliográficas	76
Capítulo 6 -	77
6.1 Caracterização Físico-química da IVE e do MPGLD _{G4}	78
6.2 Análise Morfológica do MPGLD _{G4} -IVE	86
6.3 Encapsulação da Ivermectina (EE) e o Estudo da Imobilização do Fármaco	89

6.4	Estudo da Funcionalização do MPGLD _{G4}	91
6.5	Caracterização do MPGLDG ₄ -IVE	92
6.6	Estudo da Liberação da IVE do MPGLD _{G4} -IVE	93
6.7	Referências Bibliográficas.....	98
Capítulo 7 -	100
Capítulo 8 -	103

Capítulo 1 -

Justificativa

A relevância desse trabalho será apresentada à comunidade científica, revelando a importância das microesferas arborescentes transportadoras de ivermectina para o tratamento da rosácea.

1.1. Introdução

A rosácea é uma dermatose relativamente comum e possui alta incidência em mulheres do fototipo I e II, que são as tonalidades mais claras de pele, com idades entre 30 a 50 anos. Entretanto o aparecimento em pessoas com fototipo superior ao III, em homens e em indivíduos com idade abaixo dos 30 anos também é relatado na clínica ^{1,2}.

A etiologia da ainda não está elucidada, porém uma série de fatores estão associados ao aparecimento da rosácea, incluindo fatores internos, como predisposição genética, distúrbios vasculares, processo inflamatório local e fatores externos, como condições climáticas, exposição à raios UV, hábitos alimentares, supercrescimento bacteriano do intestino delgado (SIBO), infecção por *Helicobacter pylori* e presença de ácaros do tipo *Demodex folliculorum* ^{1,2,3}.

Alguns estudos estimam a sua prevalência em média de 10% na população de países da Europa, como a Irlanda e Suécia. Em contrapartida, os dados epidemiológicos acerca dessa doença são escassos, pelo motivo dos estudos serem negligenciados. Isso acontece porque a rosácea é uma doença multifatorial e também idiopática, na qual a sintomatologia envolvida pode ser facilmente atribuída a outros tipos de dermatoses ^{2,3}. Dessa forma os estudos comprometidos com o perfil epidemiológico da rosácea no Brasil e no mundo se fazem necessários.

Por possuir um mecanismo complexo de indução primária, a rosácea acomete o sistema vascular cutâneo, o sistema nervoso e o sistema imunológico do indivíduo ⁴. Por essa razão, não foram encontrados marcadores moleculares exclusivos da doença. Dessa forma, o diagnóstico laboratorial é praticamente nulo e a comprovação da rosácea é feita com base na sintomatologia apresentada pelo paciente, preditos como comuns ao seu aparecimento ³. São descritos quatro subtipos comuns de rosácea, a eritematotelangiectásica, papulopustulosa, fimatosa e ocular, sendo a eritematotelangiectásica e a papulopustulosa os subtipos mais comuns ⁴.

A rosácea comumente se manifesta na forma de lesões recorrentes que aparecem preferencialmente na face, sendo raro o aparecimento extra facial. Contudo, pode se manifestar na região do couro cabeludo, pescoço, região pré-esternal, membros e nádegas ^{2,5}. O paciente apresenta um eritema persistente na região acometida, seguido do surgimento de telangiectasias, os quais são capilares

na cor vermelho escuro, azulado, em formatos variados, mais comum em formato de teia de aranha, no local lesionado. Pode-se dar também o surgimento de pápulas e pústulas na face, principalmente na fase crônica, o que culmina o aparecimento de fimatoses, caracterizado por linfedema persistente e hipertrofia das glândulas sebáceas locais. É o caso do quadro de rinofima, o qual provoca o intumescimento desfigurante do nariz, comum em homens senis que possuem rosácea fimatosa ^{5, 6}.

A soma de alterações na estrutura da derme acometida reflete mudanças na aparência da pele do indivíduo, como espessamento da pele, vermelhidão, inchaço, oleosidade por vezes aumentada e até o desfiguramento ⁶. Essa dermatose, principalmente quando se trata da sua manifestação facial, causa desconforto funcional e estético ao paciente, uma vez que a pele doente é sensível e destaca-se facilmente quando comparada à uma pele saudável ^{4, 7}.

A rosácea não possui terapêutica que leva a cura, mas a adoção de um tratamento multifocal para o manejo da rosácea pode devolver a qualidade de vida ao paciente. Os tratamentos disponíveis incluem o uso de medicamentos tópicos e sistêmicos e intervenção cirúrgica, dependendo do caso diagnosticado e do perfil da doença ^{6, 7, 8}.

Os antibióticos e uma gama de cuidados com a pele, como limpeza, uso de filtro solares, restrição aos alimentos que podem desencadear os *flushings*, que consistem na vermelhidão repentina na pele do rosto, eram, até pouco tempo, as únicas intervenções utilizadas ^{9, 10}. Entretanto, a partir da medida da Comissão Europeia (2011-2016) e do plano da Organização Mundial de Saúde (2015) que estabelece a diminuição do uso de antibióticos para doenças não infecciosas, outras alternativas estão sendo amplamente usadas no tratamento das lesões, incluindo a introdução de outros medicamentos tópicos, medicamentos sistêmicos, luz e dermoquimioabrasão para os casos fimatosos ^{9, 11, 12, 13}.

O uso de *lasers* e Luz Intensa Pulsada (LIP) é indicado no tratamento de lesões vasculares de rosácea telangiectásica facial, além de proporcionar a melhora do aspecto cutâneo nos casos de ceratoses e rinofima ^{10, 13}. A terapia fotodinâmica, que associa fotossensibilizadores à Luz Intensa Pulsada (LIP), também tem sido aplicada aos casos de rosácea mais delicados ¹³.

Portanto, uma série de medidas visam a diminuição dos sinais e sintomas dos diversos subtipos de rosácea, principalmente terapias tópicas, obtendo sucesso

satisfatório no controle e tratamento da doença, evitando os danos psicossociais causados pela doença.

1.2. Motivação

Atualmente, os tratamentos tópicos mais utilizados para lesões eritematosas e papulopustulares da rosácea são fórmulas contendo concentrações de metronidazol a 0,75% m/m e 1% (creme) e ácido azeláico a 15% (gel) a 20% (creme). São medicamentos considerados seguros, que provocam a diminuição das lesões e possuem ação acaricida. Além disso, são considerados bem tolerados, com alguns casos de efeitos adversos irritantes pontuais ^{8, 9, 14}.

Porém, no final do ano de 2014 foi aprovado em toda a Europa o uso do creme tópico de ivermectina a 1%, o qual possui grande ação acaricida, possui propriedades anti-inflamatórias e foi considerado um bom imunomodulador. O medicamento foi chamado de Soolantra[®] e se mostrou com eficácia superior aos tratamentos à base de formulações convencionais com metronidazol e ácido azeláico ^{9, 14}.

Mesmo que eficaz, nem todos os pacientes respondem bem ao tratamento tópico, isso porque o tratamento tópico exige uma rotina rigorosa de tratamentos diários, com a aplicação de medicamentos cerca de duas a três vezes ao dia. Isso pode ser explicado pelo fato da pele ser uma barreira mecânica natural, a qual impede a absorção completa dos agentes, tendo a eficácia comprometida se não houver a reaplicação do produto ^{6, 9, 15}.

Já o tratamento sistêmico, sugerido na clínica, consiste no uso de medicamentos como a tetraciclina. Essa medicação é um antibiótico potente, porém que pode ter como efeito adverso a hepatotoxicidade. Está incluso nessa lista a indicação da isotretinoína. Por sua vez, é um seborregulador, anti-inflamatório, imunomodulador e antineoplásico, o qual pode acarretar severos efeitos adversos ao paciente, incluindo especulações sobre predisposição à teratogenia ¹⁰.

A chave para contornar essa problemática das reaplicações diárias e a rotina aumentada de cuidados com a pele, além de evitar os efeitos adversos dos tratamentos sistêmicos é o desenvolvimento de um gel de uso tópico o qual tenha mecanismo de liberação controlada. Os medicamentos de liberação controlada exigem aplicação única diária, tornando os efeitos adversos mínimos, como o baixo

risco de alergias, além de preservar o paciente do uso de antibióticos e imunomoduladores por via oral.

A ivermectina tópica a 1% mostrou-se superior no tratamento de rosácea, tornando-a uma atraente opção para novas terapias. Isso em razão de possuir riscos adversos mínimos comparados aos outros medicamentos utilizados, fácil acesso, unindo ao fato de seu custo ser baixo ⁹.

Para a integração do fármaco à um sistema de liberação controlada usa-se amplamente compostos micro e nanoestruturados. Esses compostos são geralmente parecidos com as moléculas do hospedeiro, possuem tamanho reduzido, porém grande área de contato. As características acima permitem a associação e dissociação dos compostos aos medicamentos, visando a entrega e liberação efetiva do fármaco no tecido. Conseqüentemente, gera maior perfusão, por um período de tempo maior e com risco de toxicidade reduzido ¹⁶.

As microesferas do dendrímero de poliglicerol (PGLD) é um grande candidato para ser o agente de liberação controlada da ivermectina, isso graças as suas características miméticas às moléculas biológicas endógenas, como a albumina, conferindo alta histocompatibilidade. Semelhante às outras macromoléculas ramificadas, possuem baixa massa molecular, presença de grupos hidroxilas e ligações éter, o que lhe atribui caráter hidrofílico ¹⁷.

Dessa forma, conclui-se que a associação do MPGLD à ivermectina para a liberação controlada é uma boa proposta para o tratamento da rosácea. O desenvolvimento de um gel de uso tópico com o mecanismo de liberação controlada pode ser bastante eficaz no controle da doença, reduzindo a quantidade de aplicações diárias contrastando o número de cuidados dos tratamentos atuais prescritos com metronidazol e ácido azelaico, assim, prolongando a ação do fármaco na pele.

1.3. Referências Bibliográficas

1. BOGLIOLO, LUIGI. *Bogliolo Patologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, v.1, 7 ed, p 1239.
2. MICHELENA, C. EGUREN. Acné. Rosácea. Dermatitis solar, *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, v 10, ed 48, 2010, pg 3185-3194.
3. POWELL, FRANK C.; RAGHALLAIGH, SIONA N. *Doenças Anexiais: Rosácea e Distúrbios Associados*. BOLOGNIA, JEAN L. *et al*. *Dermatologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015, v. 1, 3 ed, p 561-569.
4. TAN, J. *et al*. Shortcomings in rosacea diagnosis and classification. *British Journal of Dermatology*, v 176, n 1, jan 2017, p 197-199.
5. WILKIN, J., DAHL, M., DETMAR, M., DRAKE, L., FEINSTEIN, A., ODOM, R., POWELL, F. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea, *Journal of the American Academy of Dermatology*, v 46, ed 4, 2002, p 584-587.
6. BUSTI'NDUY, MCG., FUMERO, VG. Psychosocial impact of rosacea. *PIEL (BARC)*, v 31, ed 2, 2016, p 96-105.
7. STEINHOFF, M., *et al*. Clinical, Cellular, and Molecular Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, v 15, ed 1, 2011, p 2-11.
8. BARBOSA, H. I. M. *A Rosácea e a sua Compreensão: Etiopatogenia e Clínica*. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Coimbra, 2016.
9. SCHALLER, M., Dirschka, T., Kemény, L. *et al*. Superior Efficacy with Ivermectin 1% Cream Compared to Metronidazole 0.75% Cream Contributes to a Better Quality of Life in Patients with Severe Papulopustular Rosacea: A Subanalysis of the Randomized, Investigator-Blinded ATTRACT Study. *Dermatology and Therapy*, v 6, ed 3, set 2016, p 427, 436.
10. TROIELLI, P., *et al*. Actualización y recomendaciones para el diagnóstico y tratamiento de la rosácea en Latinoamérica. *Med Cutan Iber Lat Am*, v 44, suplemento 1, 2016; p (S1): S7-S26.
11. VASCONCELOS, B. V., *et al*. Dermoquimioabrasão: um tratamento eficaz e seguro para o rinofima. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v 8, n 1, 2016, p 28-31.
12. TOREZAN L., NIWA ABM, FESTA Neto C. Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. *An Bras Dermatol*, v 84, n 5, 2009, p 445-459
13. ISSA, M. C. A., *et al*. Luz Intensa pulsada isolada versus Luz Intensa pulsada e ácido aminolevulínico no tratamento da pele fotodanificada: importância do acompanhamento a longo prazo. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v 1, n 3, 2009, p 125-129.
14. TAIEB, A., *et al*. Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol*, v 172, n 4, 2015, p 1103-1110.
15. SPAGNOL, C. M., *et al*. Validation of Caffeic Acid in Emulsion by UV-Spectrophotometric Method. *Physical Chemistry*, v 5, n 1, 2015, p 16-22.

16. SPAGNOL, C. M., *et al.* Obtenção e caracterização de micropartículas poliméricas de ácido cafeico para aplicação tópica. In: Congresso Brasileiro de Cosmetologia, 29, 2016, São Paulo. *Anais P47*, 14p, São Paulo, 2016.
17. MILITAO, L.V. Análise Físico-Química e Fotodinâmica de Clorofila em Dendrímeros de Poliglicerol. 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2013.

Capítulo 2 -

Objetivos

Neste capítulo estão expostos:

- ❖ Objetivos gerais;
- ❖ Objetivos específicos.

2.1 Objetivos Gerais

O objetivo geral desta dissertação é a obtenção de um gel no qual contenha microesferas poliméricas capazes de serem rapidamente absorvidas pela pele do rosto do paciente, garantindo a liberação controlada do fármaco de forma eficaz no tratamento de rosáceas.

2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos pertinentes a esse trabalho são:

- Caracterização físico-química (análises térmicas e FTIR para verificação da pureza farmacológica e das microesferas) da Ivermectina e do MPGLD_{G4};
- Obtenção das microesferas de PGLD_{G4} (MPGLD_{G4}) por fotoreticulação da emulsão contendo o fármaco ivermectina e posteriormente sua caracterização físico-química através das análises morfológicas, CLAE para verificar percentual de eficiência de encapsulamento e de funcionalização do complexo, além do FTIR para verificar a ligação do fármaco nas microesferas;
- Estudo da liberação do fármaco e consequente avaliação do perfil de liberação do MPGLD_{G4}-IVE usando o modelo teórico de cinética de liberação.

Capítulo 3 -

Fundamentação teórica

Nesse capítulo os aspectos clínicos gerais da rosácea estão elucidados, assim como:

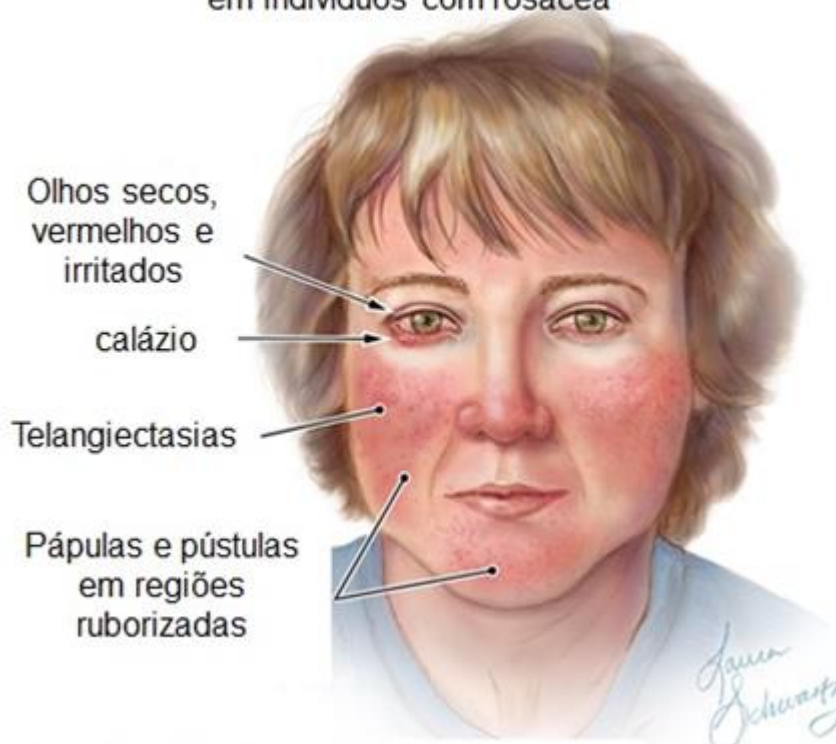
- ❖ Epidemiologia e etiologia;
- ❖ Sintomatologia;
- ❖ Subtipos e diagnóstico;
- ❖ Prevenção e tratamento.

3.1 Epidemiologia e Etiologia

A rosácea é uma doença inflamatória crônica da pele relativamente comum, a qual se caracteriza pelo conjunto de eventos patogênicos intrínsecos: danos na estrutura dérmica, vasculopatia associada e processo inflamatório local ^{1, 2}. As características comuns apresentadas pelos indivíduos com rosácea estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1: Conjunto de características presentes em pacientes com rosácea.

Variedade de características que podem estar presentes em indivíduos com rosácea



Fonte adaptada: Torpy (2012) ³.

Conhecida há muito tempo, a rosácea papulopustulosa foi descrita no século XIX por romancistas da época, os quais intitulavam os pacientes de “rosto vermelho” ⁴. Foi também nessa época, em meados do século XIX, que a rosácea foi catalogada pela primeira vez nos primeiros livros de dermatologia, por Robert Willian ^{2, 4}. O autor a designou *acne rosácea*, porque acreditava-se que a origem da rosácea era seborreica, assim como a *acne vulgaris*. Posteriormente, por volta do início do século

XX, foi que Radeliff-Crocker notou que, na verdade, a doença se tratava de uma inflamação cutânea vascular crônica, onde o eritema advinha dos vasos sanguíneos faciais edemaciados e dilatados, seguidos dos quadros inflamatórios frequentes, diferenciando a rosácea e a acne ^{1,2}.

Entretanto, estudos que abordem a epidemiologia da rosácea são negligenciados. A justificativa se dá pela metodologia adotada para coleta de dados e os meios analíticos utilizados serem duvidosos, limitando a acurácia dos dados. Somado a esse fator, outro motivo pelo qual não se tem maiores dados é que alguns dos diversos sinais e sintomas associados à rosácea também são atribuídos às outras patologias e condições de pele, tal qual a heliodermatose. Essa, por sua vez, apresenta alterações cutâneas como edema e telangiectasias causadas pela exposição à raios UVB, semelhante às alterações vistas na rosácea eritematotelangiectásica, confluindo para a difícil caracterização epidemiológica da rosácea ^{2,5}.

Apesar do discreto aprofundamento nos dados epidemiológicos e demográficos da doença, alguns estudos estimam que cerca de 2,7 e 10% da população irlandesa e sueca, respectivamente, possuem a rosácea, contra os 1,34 % de prevalência na população acima de 30 anos dos EUA ^{6,7}.

Por sua vez, o Brasil é formado por uma população multiétnica e isso torna ainda mais difícil o mapeamento do perfil da doença do país. BONAMIGO *et al* realizou em 2008 um estudo no sul do Brasil, o qual obteve dados epidemiológicos semelhantes aos estudos realizados no exterior, com maior incidência em mulheres com idades entre 40 a 50 anos, possuindo fototipos II e III ⁸. A principal consequência disso é o discreto acesso aos dados epidemiológicos acerca da rosácea, o que demonstra que maiores estudos epidemiológicos no país e no mundo se fazem necessários ².

Para melhor visualização, segue a Tabela 1 listando um compilado das prevalências de rosácea de uma forma geral por país.

Tabela 1: Prevalência da rosácea na população por país em diferentes estudos.

Países/região	N	Prevalência (%)
Alemanha ⁽¹⁾	91.000 trabalhadores	2,3
Estônia ⁽²⁾	348 trabalhadores	2,2
Irlanda ⁽³⁾	1.000 trabalhadores (escritório e ar livre)	2,7
EUA ⁽⁴⁾	9.151.174	1,34
Suécia ⁽⁵⁾	809 trabalhadores de escritório	10
Dinamarca ⁽⁶⁾	10.984	0,09
Tunísia ⁽⁷⁾	244	0,2
Peru ⁽⁸⁾	3.294	2
Grécia ⁽⁹⁾	50.237	1,2
Iémen ⁽¹⁰⁾	13.840	0,4
Reino Unido ⁽¹¹⁾	3.383	1,8
Gana ⁽¹²⁾	2.254	0

Extraído de: Tan, 2013 ⁷.

Referências: ⁽¹⁾ Augustin et al, 2011; ⁽²⁾ Abram et al, 2010; ⁽³⁾ McAleer et al, 2010; ⁽⁴⁾ Romanowicz et al, 2008; ⁽⁵⁾ Berg and Liden, 1989; ⁽⁶⁾ Lomholt, 1964; ⁽⁷⁾ Khaled et al, 2010; ⁽⁸⁾ Gutierrez et al, 2010; ⁽⁹⁾ Kyriakis et al, 2005; ⁽¹⁰⁾ Lal Khatri, 2004; ⁽¹¹⁾ Doe et al, 2001; ⁽¹²⁾ Doe et al, 2001.

A etiologia da doença não é bem definida na literatura. Portanto, pode-se inferir que, por esse mesmo motivo, os estudos epidemiológicos são discretos. Devido à complexidade desses mecanismos de iniciação e a intrigante ligação entre os sistemas vascular, imunológico e nervoso cutâneo que gera a doença, várias hipóteses são elaboradas para explicar a indução da rosácea ^{7, 8, 9}.

Os fatores que se mostram envolvidos com erupção eritematosa facial podem ser tanto fatores internos, tais como fatores genéticos, vasculares, imunológicos, epidérmicos, psicológicos, quanto fatores externos como luz solar, condições do ambiente, infestação folicular por *Demodex folliculorum*, supercrescimento bacteriano do intestino delgado (SIBO) e infecção por *Helicobacter pylori*. Entre esses, ainda são citados hábitos alimentares e estilo de vida do indivíduo ^{6, 10, 11}.

A relação genética com a doença em questão é definida em alguns estudos devido ao surgimento da rosácea em pessoas com descendência norte europeia ou céltica e/ou em pessoas com histórico familiar anterior. Essa herança sugere um possível elemento genético, pois em alguns grupos que manifestam a doença esse é um fator crucial ao aparecimento da rosácea ^{9, 10}.

Os indivíduos com rosácea geralmente possuem uma vasculopatia associada, pois é maior a expressão de fator de crescimento endotelial vascular VEGF, CD-31 (marcador celular pan-endotelial) e do marcador endotelial linfático D2-40 (podoplanina) nessa população quando comparado a grupos controle. Pode-se inferir que esse aumento nos marcadores vasculares estimulam as células endoteliais sanguíneas e linfáticas. O fluxo sanguíneo local é alterado e a pele tem um maior aporte de sangue. Isso justifica o fato do paciente ter episódios de eritemas transitórios, ruborizar com facilidade em diversas situações como calor, determinados alimentos e bebidas alcoólicas e situações do cotidiano que envolvem sentimentos diversos ^{5, 9}.

Alguns estudos demonstram que os sintomas da rosácea estão presentes quando fatores desencadeiam respostas imunitárias inatas exacerbadas, com a liberação aumentada de citosinas e de catelicidinas. Esse é um grupo de peptídeos antimicrobianos, os quais trabalham em atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais, além de estarem envolvidos na reepitelização de feridas na derme e possuírem ações imunoestimulatória e imunomoduladora. Com o aumento desses mediadores, a inflamação local aumenta, dando forma ao processo inflamatório típico da rosácea, principalmente nas regiões dos folículos pilossebáceos ^{5, 12, 13, 14}.

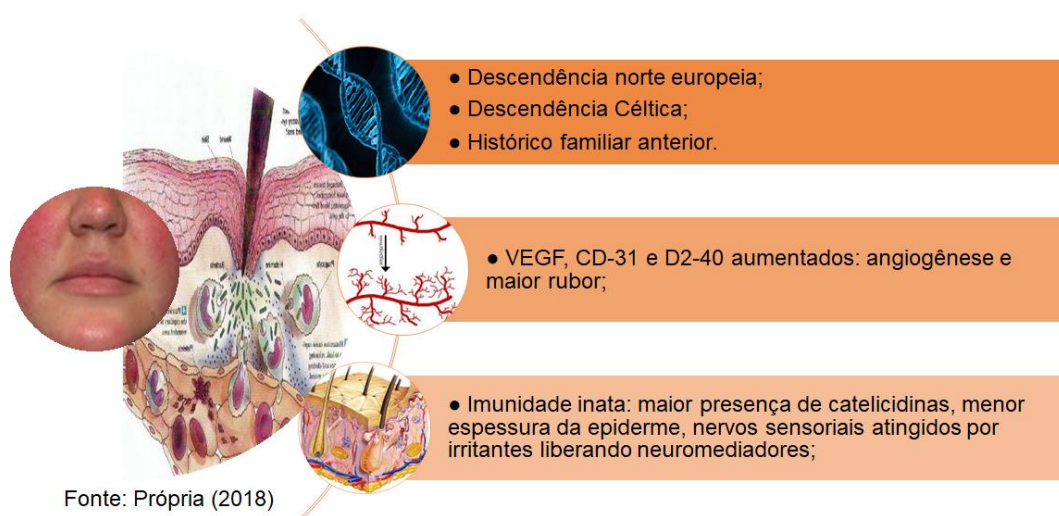
Ainda com enfoque nos mecanismos internos de indução, os pacientes que possuem rosácea apresentam sintomas de secura, ardência ou irritação na pele acometida, o que confirma a sensibilidade maior da pele desses indivíduos relatada na literatura. Isso pode ser explicado pela barreira epidérmica ser anormal e menos espessa nesses indivíduos, fazendo com que a perda de água seja mais acentuada, causando a irritação relatada ^{5, 12, 14}.

Por seu turno, o fato da barreira epidérmica possuir alterações estruturais atribui o afinamento da camada córnea, o último estrato da pele, e conseqüente fragilidade ao mesmo. Dessa forma, a pele pode ser agredida com maior facilidade e com maior gravidade por agentes irritantes externos como luz, sol, vento, frio, microrganismos, estiramento e lesões diversas ¹⁵.

Ligado a isso, os nervos sensoriais induzem uma resposta inflamatória, a inflamação neurogênica, a qual liberam neuromediadores responsáveis pelo aumento da vasodilatação dos capilares locais, liberação de citosinas e recrutamento celular imunitário. Embora esse caminho seja pouco compreendido, o conjunto de eventos citados podem desencadear a rosácea ^{6, 15}.

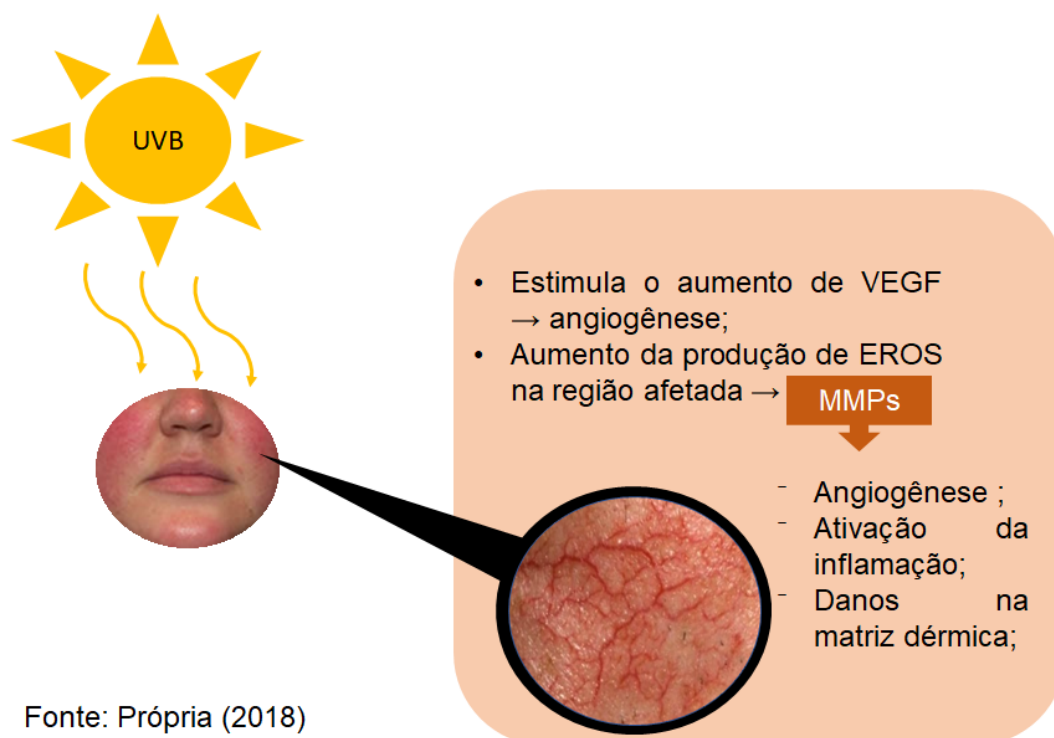
Um esquema de indução interna pode ser proposto, conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2: Fatores internos causadores da rosácea.



Já entre os fatores externos ligados à indução da rosácea ilustrados na Figura 3, pode-se citar a exposição à radiação UVB. Os raios UVB provocam na pele a angiogênese por aumentar a produção local de VEGF. Ainda, por conta da energia da onda, os raios contribuem para o aumento de espécies reativas do oxigênio (EROS) no local, consequentemente aumentando a produção de enzimas endopeptidases denominadas metaloproteinases de matriz (MMPs). As MMPs atuam na remodelagem tecidual epidérmica, entretanto, em pacientes que possuem rosácea, essas enzimas têm ação histopatogênica, tais como danos nos vasos sanguíneos, estímulo à angiogênese, ativação de processos inflamatórios e degradação de colágeno, assim, levando à danos na matriz dérmica ^{5, 9, 15}.

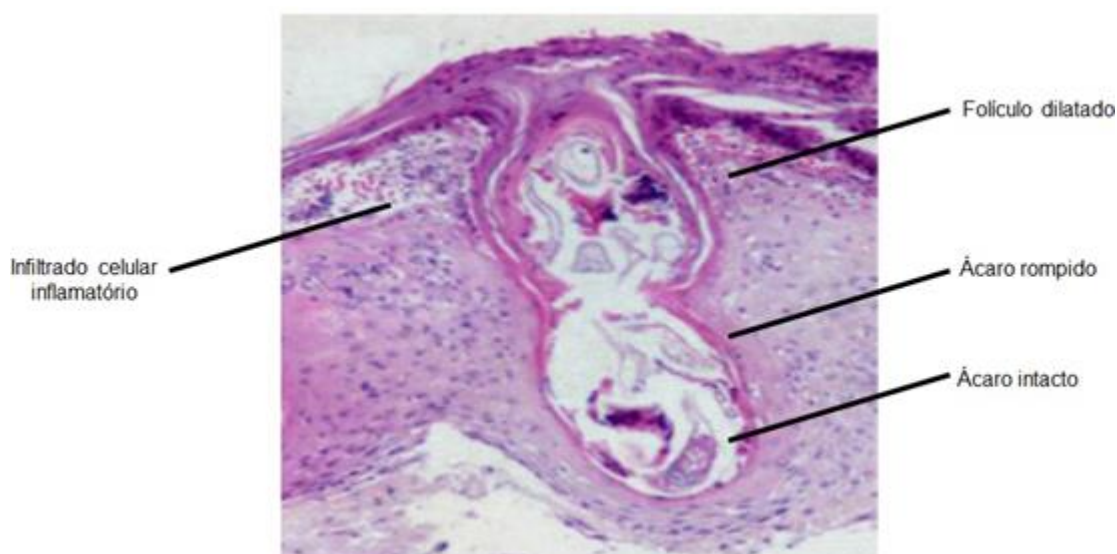
Figura 3: Efeitos dos raios UVB na pele com rosácea.



Outro fator externo amplamente disseminado na literatura como agente perturbador da rosácea é a infestação folicular aumentada por *Demodex folliculorum* e *brevis*. Esses ácaros são comensais saprófitos e estão naturalmente em folículos pilossebáceos na pele, porém, em pessoas acometidas pela rosácea, estão em um número muito maior e com múltiplos ácaros por folículo, causando um grande processo inflamatório ^{16, 17, 18, 19}.

Nos achados histológicos mostrados na Figura 4 há presença de múltiplos ácaros por folículo, um grande infiltrado inflamatório ao redor do aparelho pilossebáceo, com predomínio de células T auxiliares CD4+, seguido de macrófagos e células de Langerhans. A análise desses cortes histológicos leva a crer que há uma reação de hipersensibilidade tardia do tipo IV. A população de ácaros da pele pode aumentar por uso de dermocosméticos, corticoesteróides, ou baixa do sistema imune ^{16, 17, 18, 19}.

Figura 4 Corte histológico de biópsia da pele facial de um paciente com rosácea papulopustular mostrando ácaros intactos e rompidos no folículo inflamado.



Fonte: Moran (2017) ¹⁹.

Existe também a controversa discussão entre a relação com a infecção por *Helicobacter pylori*, a infecção SIBO e a rosácea. Segundo alguns estudos, como o de PARODI *et al* (2008) e DRAGO *et al* (2016), os quais relatam que há melhora do quadro clínico de indivíduos com processo inflamatório ativo típico da rosácea com a erradicação da infecção por *Helicobacter pylori*, como a melhora do quadro de SIBO, usando antibiótico e diminuindo o consumo de álcool pelo paciente ^{11, 20}. Em contrapartida, HERR *et al* (2000) e TORPY *et al* (2012) não confirmam essa relação entre a melhora do paciente com a eliminação da infecção gastrointestinal ^{3, 21}.

Por último, a literatura reporta que hábitos alimentares, como consumo de alimentos quentes, gordurosos, cafés, pimentas, bebidas alcólicas e alimentos capazes de induzir a vasodilatação; períodos que o paciente se depara ao longo da vida com alterações hormonais, o climatério, por exemplo; doenças como gastrite, e estilo de vida do indivíduo, como stress, uso de algumas fragrâncias, uso de medicamentos vasodilatadores, uso de drogas fotossensibilizantes e alterações emocionais cotidianas podem desencadear a rosácea ^{15, 17, 21}.

3.2 Sintomatologia

O aparecimento desta disfunção é maior em indivíduos que possuem fototipos cutâneos I e II e, conforme relatado na maior parte das pesquisas, em mulheres com idade entre 30 a 50 anos. O aparecimento na infância não é bem descrito, provavelmente pela falta de coleta de dados nesse tipo de coorte ².

A referida síndrome agrupa um conjunto de sinais e sintomas típicos e recorrentes em cada subtipo. É particularmente comum na região centro-facial, ocasionando alterações cutâneas como rubor, eritema, telangiectasias, edema, pápulas, pústulas e lesões fimatosas, a exemplo do rinofima, além de lesões oculares em casos específicos de rosácea ocular ²¹.

No ano de 2002 foi realizada uma conferência que reuniu em uma publicação os quatro principais subtipos de rosácea e um tipo variante ²². O objetivo desse documento foi catalogar os subtipos de rosáceas com suas características clínicas e sintomatologia para facilitar e padronizar o diagnóstico da doença, já que exames laboratoriais para essa finalidade são escassos. Com base nessas publicações, é possível listar nesse tópico os principais sintomas dos subtipos de rosácea. Já as características únicas de cada subtipo, mesmo que sejam sutis as diferenças entre elas, serão discutidas adiante na seção 3.3 deste capítulo ^{22, 23}.

A sintomatologia da rosácea é formada por uma cascata de eventos, que podem estar ligados entre si ou não, o que sugere que os subtipos podem não ser estados ou uma evolução da doença ^{9, 22}. Contudo, para o melhor entendimento do conjunto de sinais e sintomas da rosácea, é mais didático abordar uma sequência de aparecimento dos fenômenos comuns à rosácea ²⁴.

Independente do fator etiológico, a rosácea possui como identidade lesões recorrentes na pele da face, particularmente no eixo centro-nasal. O surgimento de lesões extra faciais é raro, mas há relato de casos de lesões na região do couro cabeludo, orelhas, pescoço, região pré-esternal, membros, costas e nádegas ²⁵.

Inicialmente, surge uma vermelhidão na pele do rosto, um eritema persistente, tornando-se visíveis as telangiectasias. As telangiectasias são arteríolas, capilares ou vênulas dilatadas que se sobressaem no rosto, com a aparência de microvasos vermelhos/azulados em formatos variados, principalmente em forma de aranha ²⁶. A pele do rosto tem tendência a ruborizar com facilidade, devido à vascularização

superficial aumentada, dando nome ao fenômeno tido como *flushings*. Alguns pacientes relatam sensação de secura e aspereza na pele, dor, queimação, ardência e fisgadas na região e, raramente, prurido ²⁷.

Posteriormente, rompem-se pápulas e pústulas e há formação de edema nas regiões periorbital, glabellar e malar, incluindo o possível aumento da produção de sebo no local. Em alguns casos podem se formar placas, que são grandes áreas avermelhadas de aspecto seco, por vezes com bordas delimitadas, entre as regiões de pápulas e pústulas. Essas regiões são de tecido inflamado, porém sem alterações epidérmicas na pele adjacente ^{27, 28}.

Quando se trata de rosácea crônica, o linfedema persistente e a hipertrofia das glândulas sebáceas podem dar forma às alterações fimatosas, como rinofima, o inchaço desfigurante do nariz. Já os sintomas de rosácea ocular culminam em inflamação oftálmica de vários subtipos, causando a sensação de ardência, picada, prurido, secura, sensibilidade à luz, visão turva, vermelhidão, pálpebras inchadas, sensação arenosa e de corpo estranho nos olhos, telangiectasias na conjuntiva e nas pálpebras, eritema periocular e aparecimento de calázio e terçol ^{23, 26, 28}.



Como consequência da rosácea, nota-se sintomas e doenças advindas da manifestação das lesões em partes altamente visíveis do corpo. O paciente pode ter alteração de humor, redução da autoestima e, conseqüentemente, diminuição da qualidade de vida. Além disso, estudos mostram que aproximadamente 65% dos pacientes com rosácea possuem transtornos psiquiátricos, desenvolvendo, dessa forma, ansiedade e depressão ²⁹.

3.3 Subtipos de Rosácea e Diagnóstico

A classificação da rosácea feita em 2002 determina quatro principais subtipos de rosácea: a eritematotelangiectásica (ETR), papulopustulosa (PP), fimatosa e ocular. Conta, também, com um subtipo variante, mais raro, a granulomatosa ^{22, 23}.

Para ficar melhor a visualização, as variantes estão dispostas no quadro da Figura 5 com seus respectivos aspectos clínicos mais marcantes.

Figura 5: Quadro de classificação dos subtipos de rosácea com as respectivas manifestações clínicas.

Subtipo	Aspectos clínicos
<p data-bbox="240 394 491 425">Subtipo 1 – ETR</p> 	<p data-bbox="694 394 1434 808">Figura 6: Pacientes possuem tipicamente pele do fototipo I e II, episódios de <i>flushing</i> e presença de eritema facial persistente, principalmente a região centro-facial. Podem haver telangiectasias e rugosidades. A pele é sensível, apresenta ardência, fagulhas e sensação de calor. É um subtipo que não apresenta tanto incômodo estético/funcional ao paciente ^{22, 23}.</p>
<p data-bbox="240 1111 671 1196">Subtipo 2 – Rosácea papulopustulosa (PP)</p> 	<p data-bbox="694 1111 1434 1854">Figura 7: Geralmente são desencadeadas por mecanismos imunológicos inatos aberrantes. Além das características citadas na ETR, incluindo telangiectasias, contudo, nesse caso, mais escuras. No subtipo 2 estão presentes erupções centro-faciais transitórias com ou sem pápulas de pequeno diâmetro (3 mm), podendo aparecer também na região perioral, perinasal e perioculares. Em casos graves é catalogado edema facial crônico e formação de placas inflamatórias, além de cicatrizes. É semelhante à <i>acne vulgaris</i>, excluindo a presença de cravos. É um subtipo mais comum relatado na clínica e apresenta incômodo estético/funcional ao paciente ^{5, 22, 23}.</p>



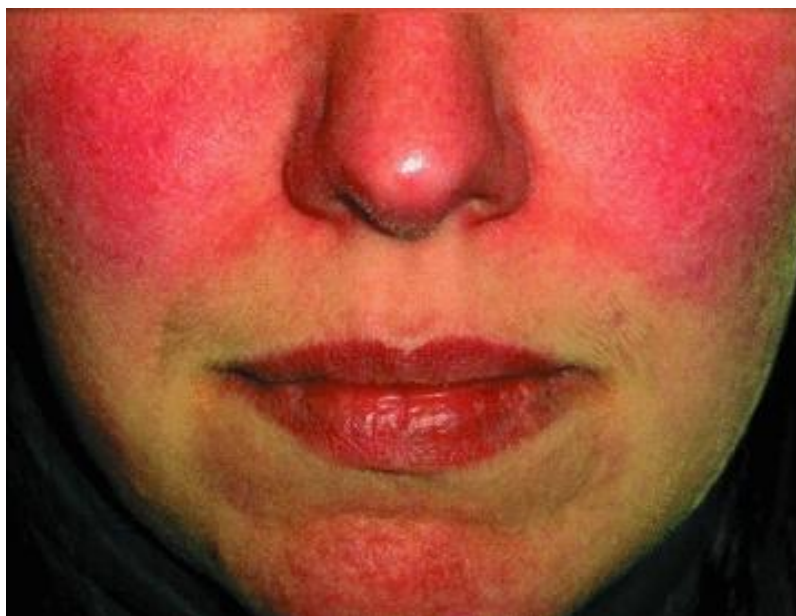
Subtipo	Aspectos clínicos
<p data-bbox="229 286 683 376">Subtipo 3 – Rosácea fimatosa</p> 	<p data-bbox="689 286 1442 1216">Figura 8: Esse subtipo pode ou não estar associado ao aparecimento do subtipo 1 e 2. A existência de telangiectasias pode ser um fator de predisposição. Inicia-se com a dilatação dos poros, principalmente nas partes distais do nariz. Posteriormente ocorre o espessamento da pele e nódulos superficiais irregulares provenientes da hipertrofia das glândulas sebáceas, levando ao desfiguramento do nariz, o rinofima. Outras partes que se localizam as fimatoses são o gnatofima, no queixo, otofima, metade inferior das hélices e lóbulo das orelhas, o mentofima, na área central da testa e, por fim, o blefarofima, edema nas pálpebras. É mais comum em homens. Alguns estudos relatam o surgimento de carcinoma basocelular decorrente da fimatose. É um subtipo que apresenta incômodo estético/funcional ao paciente ^{5, 22}.</p>
<p data-bbox="229 1220 683 1265">Subtipo 4 – Rosácea ocular</p> 	<p data-bbox="689 1220 1442 2038">Figura 9: A existência de outros tipos de rosácea aumenta a chance do aparecimento da rosácea ocular. Manifesta-se por inflamações oculares de vários subtipos, como blefarite, queratite, conjuntivite. Há hiperemia conjuntival interpalpebral, telangiectasias da esclerótica ou outras partes do olho, edema periorbitário e irregularidades das margens das pálpebras. Os pacientes relatam sensação de corpo estranho no olho, lacrimejamento, descamação nas pálpebras, ardor ou picada, secura, coceira, fotosensibilidade e visão turva. Pode haver risco de perda da visão ^{5, 22, 23, 30}.</p>

Figura 6: Rosácea eritematotelangiectásica (ETR).



Fonte: Fuller (2012) ¹⁷.

Figura 7: Rosácea papulopustular.



Fonte: Fuller (2012) ¹⁷.

Figura 8: Rosácea fimatosa.



Fonte: Fuller (2012) ¹⁷.

Figura 9: Rosácea ocular.

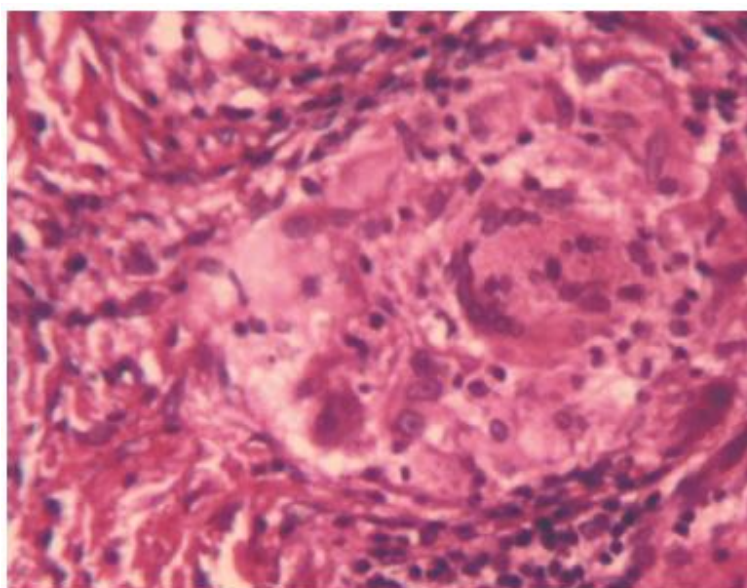


Fonte: Fuller (2012) ¹⁷.

O subtipo variante é uma manifestação peculiar de rosácea que não se identifica com o padrão morfológico visto nos outros subtipos de rosácea. Foi denominada rosácea granulomatosa, por possuir histologia de granuloma epitelióide, conforme mostra a Figura 10⁵.

Seu aparecimento é raro, com a presença de pápulas cutâneas castanhas, amarelas, da cor da pele ou vermelhas, as quais são capazes de deixar cicatrizes. Possivelmente encontram-se nódulos de tamanho uniforme, tipicamente encontrados nas bochechas, nas regiões perioculares e perioral, mostrados na Figura 11. Contudo, as lesões dessa variante são menos inflamatórias do que as pápulas dos outros subtipos. Nesse caso, o aparecimento da rosácea granulomatosa independe do aparecimento dos outros subtipos para ser fechado o seu diagnóstico^{23, 31}.

Figura 10: Corte histológico do infiltrado típico de rosácea granulomatosa.



Fonte: Trindade Neto (2006)³¹.

Figura 11: Aspecto clínico da rosácea granulomatosa.



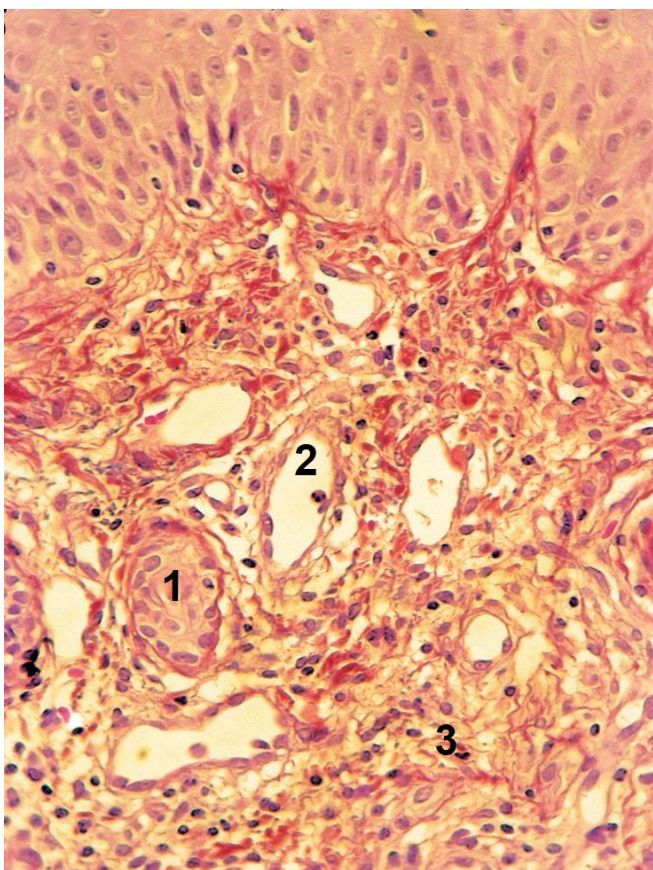
Fonte: Trindade Neto (2006) ³¹.

Existe um termo utilizado na clínica como “pré-rosácea” para os casos de eritema, pele sensível e irritadiça ⁴. Já de acordo com a classificação estabelecida, as dermatoses *pioderma facial*, *erupção acneiforme induzida por esteroides* e *dermatite perioral* não foram categorizadas como rosácea ^{28, 23}.

O diagnóstico dessa doença é baseado nas evidências clínicas, seguindo o modelo de classificação. Dessa forma, a confirmação clínica é baseada na semelhança entre os casos, de acordo com características morfológicas reconhecíveis, devido à inexistência de exames laboratoriais simples capazes de confirmar o diagnóstico de rosácea ^{5, 15, 32}.

Entretanto, pode ser necessária a biópsia da pele para casos de dúvidas e exclusão de diagnósticos alternativos ²². Os achados histopatológicos comuns à rosácea podem ser identificados na Figura 12, os quais são denso infiltrado inflamatório com presença de linfócitos (1), processo de angiogênese e vasos dilatados formando pequenas bolsas (2), além de regiões com processo de desnaturação do arcabouço dérmico, com vários elementos de matriz celular em meio ao tecido (3) ¹⁵.

Figura 12: Corte histológico típico de rosácea.



Fonte: Bonamigo (2008) ¹⁵.

3.4 Prevenção e Tratamento

Levando em consideração a complexidade da doença, a rosácea precisa ter um protocolo de tratamento e uma forma de prevenção das recidivas bem elaborados e estruturados. Isso porque envolve inúmeros cuidados do paciente e mudança da rotina habitual, levando em conta que deslizes podem culminar no aparecimento dos efeitos indesejados, incluindo os danos psicológicos que as lesões acarretam ²⁹.

O paciente terá a inclusão de, pelo menos, três novos hábitos para combater a recidiva: a reeducação, que consiste em aprender como funciona a própria pele, o cuidado diário da pele afetada com terapias coadjuvantes e, por último, fazer uso de medicamentos tópicos/sistêmicos ^{33, 34, 35}.

A reeducação envolve entender os mecanismos que predispõe o aparecimento das lesões como calor, vento, frio, mudanças bruscas de temperatura, exercícios físicos intensos, alimentos picantes, café, alimentos e medicamentos vasodilatadores, álcool, bebidas quentes, uso de fragrâncias e estresse físico ou psicológico. Com o auxílio do médico que acompanha o caso, o indivíduo terá de reconhecer qual é a melhor medicação para seu caso particular, a qual funciona melhor para o próprio tipo de pele, evitando fármacos com efeitos adversos incômodos particulares visando aumentar a qualidade de vida ^{6, 33}.

A respeito das terapias coadjuvantes, que são a integração ao dia-a-dia do uso de produtos de limpeza facial, hidratantes leves, protetores solares, bloqueadores solares, maquiagens solúveis e dermocosméticos aliados à agentes naturais anti-inflamatórios. Com a limpeza adequada da pele e o uso de hidratantes leves, evita-se a retirada do microambiente facial de elementos importantes de defesa, como é o exemplo da descamação precoce da camada córnea. O uso de limpantes não abrasivos e agentes hidratantes leves protegem a camada córnea de proteção natural e, conseqüentemente, limitam a perda de água, já facilitada pela rosácea, pela pele afetada ^{33, 34, 35}.

Os protetores e bloqueadores solares evitam que os raios UVB desencadeiem a cascata de eventos que culminam no favorecimento do surgimento das lesões (Figura 3) ⁵. O uso de cosméticos como maquiagens de tons verdes tem função de neutralizar a vermelhidão visual da pele ⁶. Por seu turno, os dermocosméticos contendo componentes naturais podem ter efeito positivo na correção visual das lesões, como é o caso de hidratantes contendo *Ginkgo biloba*, chá verde e *Aloe vera* na formulação, por exemplo. Esses agentes naturais possuem efeitos calmantes para pele, são bactericidas naturais e reduzem a inflamação local. Além disso, aliados à suaves massagens, podem reduzir o edema facial ^{34, 35}.

Entretanto, a escolha desses itens deve ser feita de forma cautelosa, evitando componentes irritantes da pele com rosácea, já que é uma pele mais sensível. Elementos como álcool, mentóis, hamamélis, cânfora, fragrâncias e óleo de eucalipto devem ser evitados. O ideal é dar preferência para cosméticos que tenham umectantes (glicerina) e oclusivos (vaselina) para auxiliar a reparação da barreira epidérmica ^{5, 6, 33, 34}.

No que concerne à terapia tradicional, a escolha do medicamento ideal deve contemplar diversos focos de terapia: ser capaz de reduzir a população do ácaro *Demodex* na região; possuir efeito vasoconstritor superficial, a fim de reduzir as telangiectasias e vermelhidão; reduzir o efeito das catelicidinas e MMPs; erradicar ou impossibilitar as possíveis infecções bacterianas secundárias, até mesmo a *Helicobacter Pylori*; reduzir as lesões papulopustulares; diminuir a inflamação local e o edema das glândulas sebáceas, sem danificar o arcabouço tecidual saudável; além de tudo isso, é necessário que seja um bom imunomodulador ³⁶.

É uma tarefa difícil encontrar um medicamento capaz de contemplar essas especificações sem causar alergias e efeitos adversos nocivos ao paciente. Ainda dentro desse assunto, nota-se que grande parte dos medicamentos disponíveis não são originalmente específicos para o tratamento da rosácea. Atualmente, as abordagens clínicas contam com a mescla de formulações tópicas concomitantes ou não com o tratamento sistêmico, dependendo da apresentação clínica da doença ³⁷.

A seguir, no quadro da Figura 13 estão dispostos os principais medicamentos indicados na clínica para cada subtipo, sua ação desejada e observações particulares à cada medicação.

Figura 13: Medicamentos utilizados no tratamento da rosácea.

Medicamento	Ação esperada para rosácea	Indicações	Observações
<i>Oximetazolina</i> 0,05% (tópico)	Melhora do eritema facial transitório e <i>flushing</i> .	Subtipo 1	Estimula os receptores α -adrenérgicos resultando em vasoconstrição.
<i>Nadolol e clonidina</i> (oral)	Melhora do eritema facial transitório e <i>flushing</i> .	Subtipo 1	β -bloqueadores não seletivos.

<i>Tartarato de brimonidina 0,5% (gel)</i>	Reduz eritema persistente.	Subtipo 1, Subtipo 2	Estimula os receptores α -adrenérgicos resultando em vasoconstrição.
<i>Ácido azelaico 15% (gel) (AE)</i>	Reduz eritema persistente e pápulas.	Subtipo 2, 3 e variante granulomatosa	Possui efeitos irritantes como queimação, ardência ou comichão.
<i>Metronidazol 0,75 e 1% (gel) (MTZ)</i>	Reduz eritema, pápulas e possui caráter acaricida.	Subtipo 2, 3, 4 e variante granulomatosa	Possui efeitos irritantes.
<i>Peróxido de benzoíla 1 e 5% (tópico)</i>	Reduz eritema, pápulas e pústulas.	Subtipo 2, 3 e variante granulomatosa	Possui efeitos irritantes em pessoas sensíveis.
<i>Eritromicina 2% e clindamicina 1% (tópico)</i>	Antibiótico, reduz pápulas e pústulas.	Subtipo 2, 3 e variante granulomatosa	Clindamicina tem maior eficácia aliada ao peróxido de benzoíla 5%.
<i>Sulfacetamida de sódio 10% e enxofre 5% (tópico)</i>	Antibacteriano, antifúngico, acaricida e efeito queratolítico.	Subtipo 2, 3 e variante granulomatosa	Pode aliar 10% de ureia. Poucos efeitos irritantes.
<i>Ivermectina 10 mg/g creme ou 1% gel (tópico) (IVE)</i>	Reduz eritema, pápulas e pústulas, anti-inflamatório, acaricida, imunomodulador.	Subtipo 2, 3, 4 e variante granulomatosa	Utilizada apenas uma vez ao dia. Poucos efeitos irritantes.

<i>Retinóides (tópico) geralmente o ácido retinóico 0,025% creme ou 0,01% gel, isotretinoína e retinaldeído</i>	Remodelador tecidual, reduz inflamação e de pápulas e pústulas.	Subtipo 2, 3 e variante granulomatosa	Irritante e possível promoção da angiogênese.
<i>Tetraciclinas 250 a 1000 mg/dia (oral) Baixa dose: doxiciclina 40 mg/dia em casos moderados; caso grave: altas doses (até 100 mg).</i>	Antibiótico, anti-inflamatório, redução de pápulas e pústulas.	Subtipo 2, 3, 4 e variante granulomatosa	Provável recidiva e estímulo à resistência bacteriana, apesar das doses serem consideradas subantibacterianas. Reações adversas: hepatotoxicidade.
<i>Eritromicina (250 a 1000 mg/dia), claritromicina (250mg 2 vezes/dia) e azitromicina (500 mg 3 vezes/semana) (oral)</i>	Antibiótico, anti-inflamatório, redução de pápulas e pústulas, redução de <i>Helicobacter pylori</i> .	Subtipo 2, 3, 4 e variante granulomatosa	Provável estímulo à resistência bacteriana. Função renal prejudicada, dano hepático grave.
<i>Ivermectina 200µg/kg, metronidazol 200 mg/dia (oral)</i>	Acaricida, redução de pápulas e pústulas.	Subtipo 2 e variante granulomatosa	Ivermectina e metronidazol podem causar reações irritantes leves. Suspensão do álcool na terapia com Metronidazol.

<i>Isotretinoína 0,1-0,3/kg corporal (oral)</i>	Remodelador tecidual, reduz inflamação e de pápulas e pústulas.	Subtipo 2, 3, 4 e variante granulomatosa (casos severos)	Pode reduzir o volume nasal no rinofima. Alterações metabólicas severas, incluindo no sistema biliar, hepático, psiquiátrico, ocular, ósseo, sanguíneo, cutâneo, gastrointestinal e alergias.
<i>Lágrimas artificiais, ácido fusídico e emulsão oftálmica de ciclosporina a 0,5%</i>	Lubrificação ocular, diminuição da irritação nos olhos, prevenção e tratamento da rosácea ocular.	Subtipo 4	Higienização das pálpebras com sabonetes neutros.

Fonte: Powell (2015) ⁵, Moustafa (2014) ⁶, Elewski (2010) ³⁴; Layton (2017) ³⁶; Pelle (2004) ³⁷.

Os medicamentos de uso tópico listados são de aplicação de duas a três vezes ao dia, dependendo do caso clínico. Por sua vez, a dosagem e frequência dos medicamentos sistêmicos também dependerão da apresentação clínica da doença ^{5, 6, 35, 36, 37}.

Mediante a observação do quadro, nota-se que poucos medicamentos são exclusivos para o tratamento da rosácea. No entanto, esses fármacos descritos conseguem a melhora das lesões em prazo relativamente curto, a maioria por volta de 16 semanas no tratamento tópico e os antibióticos orais em 12 semanas ².

Outra observação considerável é a discreta quantidade de tratamentos direcionados para diminuição das telangiectasias e rinofima. Conforme a literatura, a

união de tratamentos à *lasers* ou LIP aos tratamentos tradicionais medicamentosos demonstram melhora de 50 a 75% e 75 a 100% dos casos, respectivamente ^{38, 39}.

As indicações de *lasers* de CO₂ (comprimento de onda de 10.600 nm no infravermelho) ou de neodímio dopado com granada de ítrio e alumínio (Nd:YAG-comprimento de onda de 1064 nm no infravermelho) e LIP são para o tratamento e controle de telangiectasias, conseqüentemente, reduzindo a vermelhidão local típica da rosácea. Além disso, as técnicas estimulam a remodelagem tecidual, permitindo melhora no aspecto da pele e diminuição do rinofima e das recidivas da doença. As sessões de laser possuem intervalos entre 4 a 8 semanas e de LIP são feitas a cada 3 semanas. O viés dessa abordagem terapêutica é o custo alto do tratamento completo ^{38, 39}.

Em conformidade com os tratamentos utilizando uma fonte de luz, as terapias fotodinâmicas são aplicadas em inúmeras dermatoses e, recentemente, são indicadas inclusive para lesões de rosácea. Essas terapias consistem no uso de luz com comprimento de onda compatível com o espectro de absorção de um agente fotossensibilizante. A ativação desse fármaco fotossensível estimula a morte celular controlada e a conseqüente reepitelização no tecido alvo. Um estudo associou a LIP ao ácido 5-aminolevulínico (ALA) e obteve melhora de 62,9 % das lesões papulares em 3 meses de tratamento ³⁸. É importante ressaltar que ainda assim é um tratamento mais caro, por se tratar do uso de LIP combinado com fármacos de bioengenharia.

No que concerne ao tratamento de lesões fimatosas, a dermoquimioabrasão é uma abordagem igualmente discutida na literatura. Essa técnica consiste no desbastamento das camadas da pele, seguido do *peeling* químico médio, o qual, nesse caso, permite a cauterização química da área desnuda indicada especialmente para os casos extremos de rosácea fimatosa ^{2, 30}.

O procedimento cirúrgico inicia-se com a higienização facial, acompanhada da aplicação de um anestésico, geralmente lidocaína 1%, e adrenalina 1:100.000. Posteriormente, com o auxílio de uma lâmina em bisturi, é feita a retirada manual das áreas desejadas. Feito isso, é realizada a dermoabrasão com lixas diamantadas para uniformizar a pele, logo após é empregada a solução de ácido tricloroacético (ATA), que pode ser utilizado com a solução de Jessner ou com ácido glicólico, finalizando com um curativo. Esta solução é responsável também pela descamação celular,

quanto maior a concentração de ATA, maior a injúria tecidual. Portanto, nesse caso, sua aplicação leva ao equilíbrio hemostático e coagulação da área afetada ³⁰.

VASCONCELOS *et al* (2016) registrou o procedimento de dermoquimioabrasão com ATA a 30% em pacientes com rinfoma e obteve grande sucesso estético na reepitelização da área, sem cicatrizes e marcas. Segundo os autores, é um tratamento de relativo baixo custo, que pode ser feito de forma pontual, eficaz e execução descomplicada ³⁰. Outra grande vantagem do procedimento consiste na possibilidade de análise histopatológica dos tecidos retirados durante o procedimento. Nessa situação, dos sete pacientes estudados, um apresentou neoplasia oculta do tipo carcinoma basocelular superficial, o que vai ao encontro das especulações acerca desse assunto ^{2, 5, 30}.

Todavia, analisando os medicamentos disponíveis, conclui-se que se a medicação é capaz de interromper o efeito inflamatório, diminuir a hiperemia e impedir o crescimento dos ácaros na pele atingida por um preço baixo, ela pode ser uma boa escolha terapêutica. Essa conclusão se dá pelo fato dos medicamentos de via oral poderem trazer malefícios à saúde do paciente, em consequência dos efeitos colaterais causados. Por seu turno, os medicamentos de uso tópico são uma alternativa interessante, por possuir um custo mais baixo e efeitos adversos menos severos, sobretudo a ivermectina, a qual possui vasta atuação no tratamento da rosácea.

3.5 Referências Bibliográficas

1. BERG, M, Lidén, S. An Epidemiological Study of Rosacea. *Acta Derm Venereol* (Stockh), v 69, 1989, p 419-423.
2. TROIELLI, P, *et al.* Update and recommendations for the diagnosis and treatment of rosacea in Latin America. *Med Cutan Iber Lat Am*, v 44, (s1), 2016, p 7-26.
3. TORPY, JM., SCHWARTZ, LA., GOLUB, RM. Rosácea. *JAMA*, v 307, n 21, 2012, p 2333.
4. CRIBIER, B. The red face: art, history and medical representations. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, v 138, s 3, 2011, p S172-S178.
5. POWELL, FRANK C.; RAGHALLAIGH, SIONA N. Doenças Anexiais: Rosácea e Distúrbios Associados. BOLOGNIA, JEAN L. *et al.* *Dermatologia*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015, v. 1, 3 ed, p 561-569.
6. MOUSTAFA, FA.; SANDOVAL, LF.; FELDMAN, SR. Rosacea: New and Emerging Treatments. *Drugs*, v 14, 2014, p 1457–1465.
7. TAN, J., BERG, M. Rosacea: Current state of epidemiology. *JAAD*, v 69, ed 6, s 1, 2013, p S27-S35.
8. BONAMIGO RR, BAKOS L, CARTELL A, EDELWEISS MI. Fatores associados à rosácea em amostras populacionais do Sul do Brasil: análise de estudos casos-controles. *An Bras Dermatol*. V 83, ed 5, 2008, p 419-24.
9. STEINHOFF, M., *et al.* Clinical, Cellular, and Molecular Aspects in the Pathophysiology of Rosacea. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, v 15, ed 1, 2011, p 2-11.
10. BARONA, MI *et al.* Rosacea: update. *Piel (barc)*, v 30, ed 8, 2015, p 485–502.
11. PARODI, A., *et al.* Small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: clinical effectiveness of its eradication. *Clin Gastroenterol Hepatol*, v 6, 2008, p 759-764.
12. LLEÓ, MI, *et al.* Trastornos del folículo pilosebáceo: acné y rosácea. *Medicine*, v 11, ed 48, 2014; p 2823-39 Pamplona. Espanha.
13. YAMASAKI, K. *et al.* Increased serine protease activity and cathelicidin promotes skin inflammation in rosacea. *Nature Medicine*, v 13, 2007, p 975-980.
14. YAMASAKI, K.; GALLO, RL. Rosacea as a Disease of Cathelicidins and Skin Innate Immunity. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, v 15, 2011, p 12–15.
15. BONAMIGO, RR. A expressão imunoistoquímica das metaloproteínases-2 e -9 da matriz inflamatória. 2003. 209 f. Tese (Faculdade de Medicina) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2013.
16. MADEIRA NG., SOGAYAR, MIL. Prevalência de *Demodex folliculorum* e *Demodex brevis* em uma amostra da população de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v 26, ed 4, 1993, p 221-224.
17. FULLER, D., *et al.* Rosacea. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 57, 2012, p 403–409.
18. FERRER, L., *et al.* Immunology and pathogenesis of canine demodicosis. *Vet Dermatol*, v 25, 2014, p 427–e65.
19. MORAN, EM., *et al.* Demodex and rosacea revisited. *Clinics in Dermatology*, v 35, 2017, p 195–200.

20. DRAGO, E. *et al.* The role of small intestinal bacterial overgrowth in rosacea: a 3-year follow-up. *JAAD*, v 75, 2016, p e113- e115.
21. HERR, H, YOU, CH. Relationship between *Helicobacter pylori* and rosacea: it may be a myth. *J Korean Med Sci*, v 15, ed 5, 2000, p 551-554.
22. WILKIN, J., DAHL, M., DETMAR, M., DRAKE, L., FEINSTEIN, A., ODOM, R., POWELL, F. Standard classification of rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea, *Journal of the American Academy of Dermatology*, v 46, ed 4, 2002, p 584-587.
23. TWO, AM. *et al.* Rosacea: Part I. Introduction, categorization, histology, pathogenesis, and risk factors. *JAAD*, v 72, ed 5, 2015, p 749-758.
24. JANSEN, T. Clinical presentations and classification of rosacea. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, v 138, s 3, 2011, p S192-S200.
25. MICHELENA, C. EGUREN. Acné. Rosácea. Dermatitis solar, *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, v 10, ed 48, 2010, pg 3185-3194.
26. STEINHOFF, M., SCHAUBER, J., LEYDEN, J. New insights into rosacea pathophysiology: A review of recent findings. *JAAD*, v 69, ed 6, s 1, 2013, p S15-S26.
27. BOGLIOLO, LUIGI. *Bogliolo Patologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, v.1, 7 ed, p 1239.
28. WILKIN, J. *et al.* Standard grading system for rosacea: Report of the National Rosacea Society Expert Committee on the Classification and Staging of Rosacea. *JAAD*, v 50, 2004, p 907-912.
29. BUSTI'NDUY, MCG., FUMERO, VG. Psychosocial impact of rosacea. *PIEL (BARC)*, v 31, ed 2, 2016, p 96-105.
30. VASCONCELOS, B. V., *et al.* Dermoquimioabrasão: um tratamento eficaz e seguro para o rinofima. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v 8, n 1, 2016, p 28-31.
31. TRINDADE NETO, PB. *et al.* Rosácea granulomatosa: relato de caso - enfoque terapêutico. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 81, sp. 3, 2006, p. S320-S323.
32. CRAWFORD, GH., PELLE, MT., JAMES, WD. Rosacea: I. Etiology, pathogenesis, and subtype classification. *JAAD*, v 51, ed 3, 2004, p 327-341.
33. TWO, AM. *et al.* Rosacea: Part II Topical and systemic therapies in the treatment of rosacea. *JAAD*, v 72, ed 5, 2015, p 761-770.
34. DRAELOS, ZD. Cosmeceuticals for rosácea, *Clinics in Dermatology*, v 35, 2017, p 213–217.
35. ELEWSKI BE., DRAELOS Z, DRENO B, JANSEN T, LAYTON A, PICARDO M. Rosacea - Global diversity and optimized outcome: proposed international consensus from the Rosacea International Expert Group. *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, v 25, ed 2, 2010, p 188–200.
36. LAYTON, AM. Pharmacologic treatments for rosacea. *Clinics in Dermatology*, v 35, 2017, p 207–212.
37. PELLE, MT., *et al.* Rosacea: II. Therapy. *JAAD*, v 51, 2004; p 499-512.
38. ISSA, M. C. A., *et al.* Luz Intensa pulsada isolada versus Luz Intensa pulsada e ácido aminolevulínico no tratamento da pele fotodanificada: importância do acompanhamento a longo prazo. *Surgical & Cosmetic Dermatology*, v 1, n 3, 2009, p 125-129.

39. MARQUES, RZS., *et al.* Tratamento de rosácea com duas faixas e comprimento de onda de luz intensa pulsada num mesmo disparo. *Surg Cosmet Dermatol*, v 8, ed 2, 2016, p 128-132.

Capítulo 4 -

Sistema de Liberação de fármacos

Este tópico aborda a ivermectina e suas características farmacológicas, as quais são indicativos promissores no tratamento da rosácea com maior custo/benefício.

Além disso, estão apresentados o sistema de liberação de fármacos e a motivação que levou a escolha do MPGLD_{G4}.

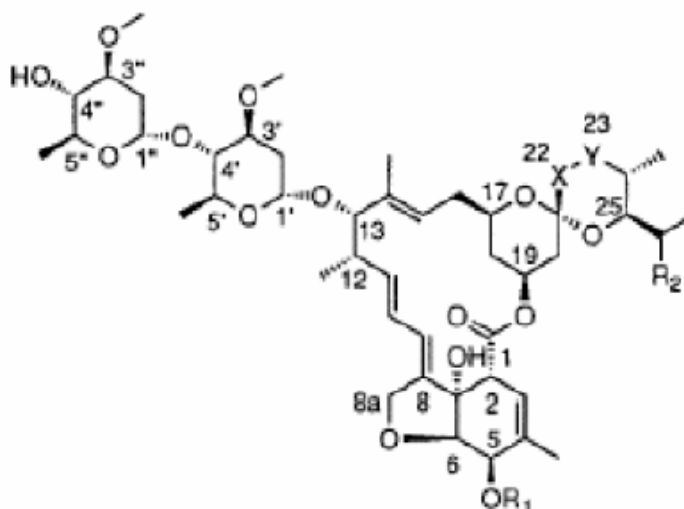
4.1 Ivermectina

A ivermectina é um agente antiparasitário usado amplamente no mundo desde o final da década de 80 para o tratamento via oral de doenças como filariose e outras parasitoses em humanos ¹. Foi descoberta pela empresa Mercy Sharp and Dohme a partir da análise do solo de uma região central do Japão, em Ito, província pertencente a Shikoku ². Esse fármaco é sintético, derivado dos subprodutos da fermentação de fungos actinomicetos *Streptomyces avermitilis* e pertence ao grupo das lactonas macrocíclicas, que integra substâncias chamadas de endectocidas, capazes de combater parasitas internos e externos ^{1,2}.

O processo de fermentação pelo fungo dá origem há oito tipos de fármacos chamados de avermectinas: A1a, A1b, A2a, A2b, B1a, B1b, B2a e B2b. Esses fármacos estão dispostos assim didaticamente conforme as distinções entre as suas estruturas químicas. A diferença entre os compostos tidos como “A” e “B” dá-se pelos radicais, enquanto os do grupo “A” possuem um radical 5-metoxi, os do grupo “B” têm no mesmo local um grupo hidroxila. Já os do tipo “1” apresentam uma ligação dupla no carbono-22,23 através da provável perda de uma molécula de água do grupamento 22-hidroxi presente nos compostos do tipo “2”. Por sua vez, a separação entre tipos “a” e “b” é devido aos grupamentos homólogos ligados ao carbono 25, embora esses ligantes possuam atividade farmacológica igual. Os componentes maiores são tidos como “a” e constituem cerca de 80% das formulações, dispendo de uma cadeia lateral butil ligada ao carbono-25. Já os menores, dados como “b”, possuem um radical isopropil no carbono correspondente e estão presentes em até 20% das formulações ^{1,2}.

A Figura 14 mostra as fórmulas estruturais das oito avermectinas naturais e as respectivas modificações nos radicais R1, R2 e nas ligações X-Y.

Figura 14: Fórmulas estruturais das avermectinas naturais.



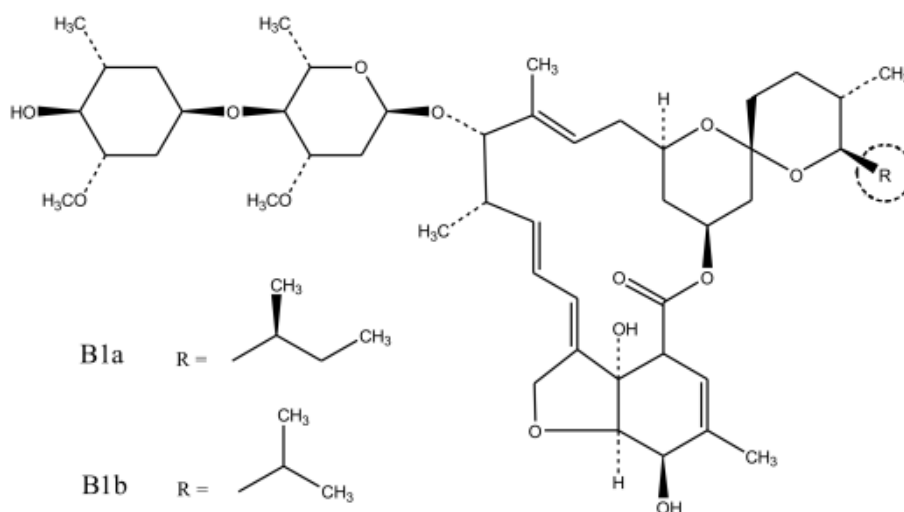
avermectina	R ₁	R ₂	X-Y
A1a	CH ₃	C ₂ H ₅	CH=CH
A1b	CH ₃	CH ₃	CH=CH
A2a	CH ₃	C ₂ H ₅	CH ₂ -CH(OH)
A2b	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -CH(OH)
B1a	H	C ₂ H ₅	CH=CH
B1b	H	CH ₃	CH=CH
B2a	H	C ₂ H ₅	CH ₂ -CH(OH)
B2b	H	CH ₃	CH ₂ -CH(OH)

Fonte: Teixeira (2015) ².

A partir das avermectinas possíveis, a avermectina B1a, também chamada abamectina, possui maior atividade anti-helmíntica, atingindo um maior espectro de abrangência parasitária. Essa característica se dá pela substituição contida no grupo ligado ao carbono 5 e do agrupamento de dissacarídeo. Esse fármaco é o precursor da 22,23 – dihidroavermectina B1, conhecida como ivermectina, que é produzida através da saturação da ligação dupla C-22,23 ^{3, 4}.

A Figura 15 mostra a estrutura química da ivermectina, a qual é composta de uma mistura de ivermectina B1a (compondo 80 a 99 %) e ivermectina B1b (restante 20 a 1%).

Figura 15 Estrutura química da ivermectina.



R = CH₂CH₃ Ivermectina B1_a(5-O-dimetil-22,23-di-hidroavermectina A 1_a)

R = CH₃ Ivermectina B1_b(5-O-dimetil-25-di(1-metilpropil)-25-(1-metiletil)-
22,23-di-hidroavermectina A1_a)

Fonte: Santos (2013) ³.

A ivermectina é um pó cristalino branco ou quase branco pertencente à classe II segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Assim como as outras ocorrências de avermectinas na natureza, possui como características físico-químicas mais marcantes o alto massa molecular (a avermectina B1a possui 875 g.mol⁻¹ e a avermectina B1b 861 g.mol⁻¹), alta permeabilidade, baixa solubilidade em água (0,006 a 0,009 ppm), solubilidade em solventes orgânicos e alta lipofilicidade. Isso justifica o motivo pelo qual haja uma grande concentração de ivermectina e por um tempo maior no tecido adiposo. Tecido esse o qual possui menor vascularização, impedindo o escoamento eficiente da substância para o plasma ^{3, 4}.

Por seu turno, a farmacodinâmica da ivermectina possui mecanismos obscuros e foi descrito como mecanismo hipotético de ação a morte de parasitas por imobilização muscular, sobretudo os músculos responsáveis pela alimentação. Isso ocorre através da sua interação com os canais de cloro controlados pelo ácido glutâmico ou glutamato (GluCl) e pelo ácido gama amino butírico (GABA), canais esses que estão presentes somente nos invertebrados, impedindo dano ao organismo

do hospedeiro. Quando o medicamento se liga a esses receptores, acontece uma hiperpolarização da membrana, permitindo um maior influxo de íons de cloreto para dentro das células, impedindo as sinapses nervosas em vermes. Já no sistema neuromuscular nos artrópodes, aumentam as sinapses levando a paralisia do mesmo, ambos resultando na morte do parasita ^{4, 5}.

Por conseguir afetar parasita intracorpóreos e extracorpóreos, a ivermectina tem sido utilizada na dermatologia para o tratamento de doenças como sarna, demodicose e rosácea. A indicação para o tratamento de lesões de rosácea se dá principalmente devido à relação feita entre a população aumentada de ácaros *Demodex* na pele desses pacientes ^{6, 7}.

Agregado a isso, a ivermectina também mostrou fazer parte de mecanismos imunomoduladores, com atividade anti-inflamatória ^{8, 9, 10}. Segundo o estudo de *Cl et al* (2009) a ivermectina exerceu regulação negativa da transcrição do fator nuclear kappa- β (NF- β) e das proteíno-quinases ativadas por mitógenos (MAPs), inibindo a produção de citocinas inflamatórias induzidas por lipopolissacarídeo (LPS) em ratos, uma vez que essas citocinas são as principais vias de sinalização da inflamação ⁸.

São relatadas na clínica as formas terapêuticas oral e tópica para o tratamento da rosácea e ambas as formas terapêuticas demonstram sucesso no tratamento ¹¹. Entretanto, o medicamento oral possui a problemática comum aos medicamentos de classe II: a baixa solubilidade afetando a absorção sanguínea efetiva. Com isso, pode-se inferir que, devido às características físico-químicas do medicamento, assim que acontece a absorção do fármaco o mesmo será atraído para o tecido adiposo ou qualquer tecido com gordura e terá uma eliminação mais demorada, por conta do escoamento para o plasma mais lento justificado pela reduzida solubilidade do fármaco em água ³.

Nessa perspectiva, a fim de contornar essa problemática da lenta absorção e do consequente depósito do fármaco no organismo em virtude da eliminação prejudicada ³, em 2014 foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) um creme de uso tópico à base de ivermectina à 1% chamado Soolandra® para o tratamento da rosácea que vem mostrando resultados positivos, pois, além de apresentar melhora das lesões e na aparência da pele afetada, também contribui com a diminuição da população dos ácaros *Demodex*, por um preço relativamente baixo ¹³.

A empresa descreve a coleta de dados realizada para o lançamento do produto no mercado, apontando melhoria nos quadros clínicos com o uso de ivermectina tópica. Conforme o laboratório, a faixa máxima de segurança de administração em creme testada em porquinhos da índia de até 10 mg/g. Essa dosagem é a mesma contida no produto e apresentou nos testes feitos nesses animais efeitos adversos mínimos, incluindo sensibilidade cutânea, mas não apresentou toxicidade, genotoxicidade e fototoxicidade. Já nos estudos clínicos em humanos, a empresa demonstra o seguinte quadro da Figura 16 a frequência dos efeitos adversos relatados ¹².

Figura 16: Frequência de ocorrência das reações adversas.

Sistemas de órgãos	Frequência	Reações adversas
Tecidos cutâneos e subcutâneos	Frequente (podem afetar 1 em 10 pessoas)	Sensação de ardor na pele
	Pouco frequente (podem afetar 1 em 100 pessoas)	Irritação cutânea, prurido, pele seca

Fonte: Bula do fármaco Soolandra® ¹².

A maior parte dos ensaios clínicos estão em fase III e já apontam que a ivermectina é uma excelente escolha medicamentosa ^{13, 14, 15}. Muitos desses estudos foram realizados a fim de comparar a eficiência e segurança no uso da ivermectina 1% tópica aos medicamentos mais indicados rotineiramente na clínica para o tratamento da rosácea papulopustular: o metronidazol 0,75% em creme e ácido azelaico a 15% em gel. STEIN *et al* (2014) demonstrou a segurança da ivermectina e o fato de possuir efeitos adversos mais brandos, comparados ao ácido azelaico, durante 40 semanas de tratamento. Os resultados indicam que a IVE pode ser um medicamento próprio para o uso à longo prazo, possuindo segurança em até 52 semanas de tratamento. Ainda, a ivermectina mostrou maior eficácia ao MTZ na melhora das lesões ¹⁶.

A ivermectina tópica também foi comparada com o metronidazol 0,75% em creme em 962 pacientes distribuídos de forma randomizada quanto à terapêutica utilizada (ivermectina: 478 indivíduos) no estudo realizado por TAIEB *et al* (2015). Positivamente, demonstrou melhor desempenho no tratamento das lesões e na redução da inflamação local em 16 semanas (83% IVE versus 73,7% MTZ P < 0.001),

principalmente na contagem das pápulas (diminuição de 84,9% IVE e 75,4% MTZ $P < 0.001$). Incluindo aos resultados, houve a maior satisfação individual dos pacientes do grupo tratado com ivermectina 1% tópica, além desse grupo exibir maior tolerabilidade ao procedimento. Entretanto nenhum dos dois medicamentos foram eficazes na melhora do eritema, o que deve ser assunto para novas pesquisas ¹⁷.

Outros autores, como SIDDIQUI *et al* (2016), fizeram meta-análises cruzando os dados obtidos de 19 estudos viáveis contendo informações que comparam a eficácia entre as terapêuticas com IVE 1% creme, MTZ 0,75% creme e AE 15% gel e os resultados estão em conformidade com a premissa que a ivermectina se mostra superior no tratamento da rosácea, sobretudo a papulopustular ¹⁸.

Dessa forma, quanto à redução da inflamação, a ivermectina 1% creme comparada ao ácido azelaico 15% em gel reduziu em 15,87% com uma aplicação diária de ambos. Já comparada ao metronidazol 0,75% em creme, reduziu 9,92% com uma aplicação diária de IVE em oposição duas aplicações de MTZ em 12 semanas de tratamento. No que concerne aos efeitos adversos, a ivermectina 1% em creme apresentou risco significativamente menor equiparado ao gel de ácido azelaico. Logo, os autores concluíram que a ivermectina 1% em creme pode ser uma opção alternativa de tratamentos de primeira linha para rosácea ¹⁸.

Além disso, a relação custo/benefício do tratamento com ivermectina tópica comparada às formulações contendo metronidazol 0,75% em creme e ácido azelaico a 15% em gel no tratamento da rosácea papulopustular foi estudada nos Estados Unidos em uma coorte de 1000 pacientes. Os resultados da pesquisa sugeriram que a ivermectina 1% creme pode vir a ser um bom tratamento de primeira linha para a rosácea papulopustular, devido ao custo geral com a doença ter sido menor, a ivermectina ter reduzido às recidivas da rosácea e os benefícios clínicos terem sido maiores nesse grupo ^{19, 20}.

Com o intuito de investigar o tempo de tratamento e a qualidade de vida dos pacientes tratados com ivermectina 1% tópica e com metronidazol 0,75%, uma subanálise do estudo feito por TAIEB *et al.* (2015) foi realizada. O estudo concluiu que 161 pacientes apresentavam rosácea papulopustular grave, cerca de 16,7% da população total do estudo, e dentre eles, 80 deles foram tratados com IVE 1% por 16 semanas e obtiveram melhora clínica superior ao grupo tratado com MTZ 0,75%.

Dessa forma, o tratamento com ivermectina 1% tópica contribuiu para a melhoria da qualidade de vida, de acordo com uma avaliação feita pelos próprios pacientes ²¹.

Portanto, fundamentado na literatura, esse trabalho visa o uso da ivermectina como componente de um sistema de liberação controlada do fármaco, com a finalidade de distribuir melhor a medicação, sem correr o risco de bioacumulação tecidual e toxicidade. Dessa maneira, o organismo terá tempo para eliminar gradualmente o medicamento e com efeito reduzir as taxas de ivermectina no tecido e no sangue, mantendo a dosagem medicamentosa segura e minimizando ainda mais os efeitos adversos possíveis ³.

4.2 Sistemas de liberação de fármacos

De acordo com o princípio de diminuir a rotina pesada de cuidados diários que os pacientes com rosácea precisam ter para a melhora das lesões, além de contornar os efeitos adversos severos que as terapias sistêmicas acarretam à saúde do paciente, as formulações tópicas são abordagens terapêuticas mais atraentes ⁷.

Partindo do ponto que a regularidade da terapia influencia diretamente os resultados esperados contra as lesões da rosácea, uma forma de reduzir as chances de esquecimento ou evasão do tratamento antes da melhora clínica é a elaboração de um protótipo de liberação controlada da ivermectina de uso tópico.

Por conseguinte, é uma maneira de garantir uma dosagem efetiva da substância liberada de forma gradativa e garantindo reprodutibilidade, liberação a qual não seja tóxica e evite a perda do produto, se fazendo necessárias as reaplicações dos cremes, géis e dermocosméticos utilizados no tratamento tradicional da rosácea ^{3, 7}.

Os sistemas de liberação são baseados na maneira com que esse medicamento será entregue ao tecido de atuação, visando contornar possíveis barreiras do corpo que os estudos pré-clínicos não preveem. Essa forma de transporte permite reduzir intoxicações, as doses de administração para o efeito desejado e, com o uso de novas tecnologias, permite o controle dessa dose ao longo do tempo ²².

Pensando nisso, o carreador do medicamento deve ser escolhido de forma que permita o encapsulamento do fármaco, contribuindo, assim, com melhorias das

barreiras naturais farmacocinéticas inerentes ao próprio fármaco. Ainda, o transportador deve possuir estrutura molecular mimética às estruturas humanas, para conferir biocompatibilidade ao composto. Dentre os materiais escolhidos para a entrega do fármaco, os polímeros sintéticos são cada vez mais utilizados, por possuírem essas qualidades ^{22, 23}.

Os polímeros naturais são a base de todo o mecanismo celular e participam das principais atividades para manutenção da vida. Favorecendo-se disso, escolher um polímero sintético para a entrega de um medicamento via tópica pode ser de grande ajuda, para que o fármaco seja absorvido de forma mais facilitada, por serem derivados ou inspirados em elementos biológicos como colágeno, gelatina, albumina, quitosana e celulose, por exemplo ²³.

Dentro do cenário que visa o tratamento da rosácea, a ivermectina, por ser um medicamento de classe II, possui a problemática da baixa solubilidade, porém apresenta alta permeabilidade, condições que conferem ao medicamento excelentes chances para o uso tópico. As formas sugeridas para contornar esse problema, mesmo para a terapia tópica, seriam a diminuição do tamanho de partículas, a formação de sais, dispersão sólida, a elaboração de formas metaestáveis, tecnologias com lipídios e complexação do fármaco ³.

Fundamentado nessas formas de abordagem, a que mais favorece a entrega efetiva do medicamento, em doses controladas, é a indexação da ivermectina à micropolímeros. Conseqüentemente, o medicamento será entregue ao tecido de forma gradual, evitando efeitos adversos prejudiciais ao paciente ²².

Por sua vez, entre os micropolímeros utilizados como carreadores de fármacos, os dendrímeros se destacam nessa função por serem moléculas altamente ramificadas, de acordo com o número de gerações, de forma arborescente em torno de um núcleo central, as quais são biocompatíveis com as células humanas. Essas características permitem a formação de complexos com moléculas hidrofóbicas, tal qual a ivermectina ²⁴.

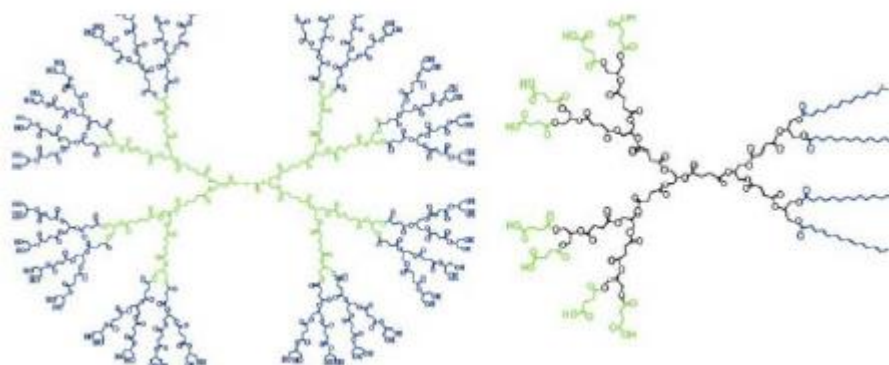
Os dendrímeros, conforme a Figura 17 demonstra, são macromoléculas simétricas cujos núcleos funcionam como molde para que os pontos de ramificações surjam, como camadas, variando a forma, direção e multiplicidade conforme as ligações covalentes que fazem, aumentando, assim, a cada camada nova o número

correspondente da geração. Ainda, esse crescimento divergente permite a formação de uma camada externa, como se fosse uma cápsula, contendo grupos funcionais que modelam a funcionalidade e aplicação da molécula ²⁵.

Além disso, diferente dos polímeros convencionais, é um polímero de síntese altamente controlada a qual produz moléculas de baixa polidispersão, apresentando estrutura globular. Essa característica permite o encapsulamento de fármacos no interior do dendrímero, através de ligações covalentes ²⁴.

Entretanto, o fármaco pode ser encapsulado através da conjugação do fármaco na periferia do dendrímero, constituindo uma ligação considerada mais estável e eficaz. Isso porque a liberação do fármaco ocorre por difusão, mecanismo controlado, devido às ligações éster-amida do fármaco com os grupos funcionais de alta densidade periférica do dendrímero ²⁴.

Figura 17: Representação do dendrímero de poliglicerol funcionalizado (G₃).

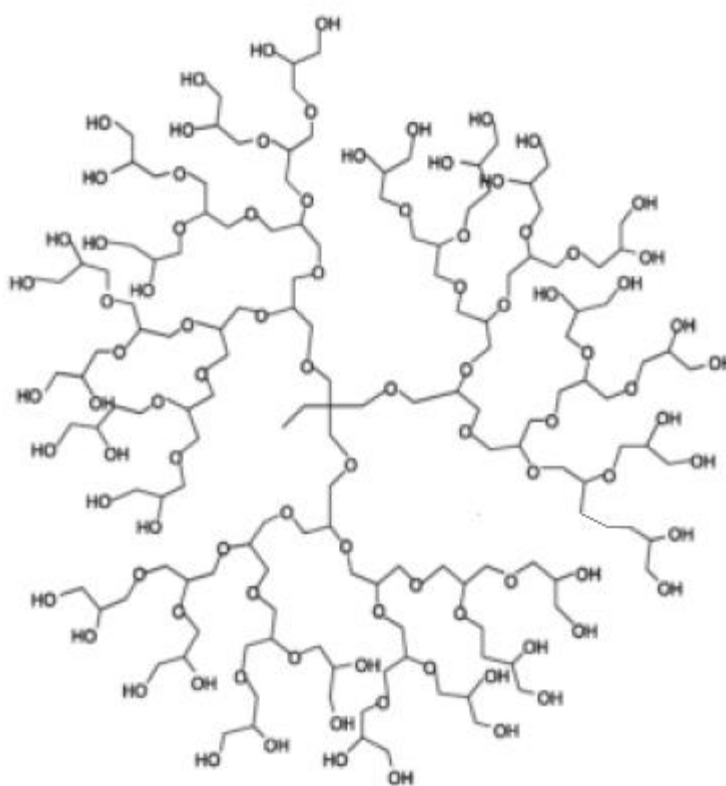


Fonte: Gai, 2016 ²⁵.

Os dendrímeros de poli (amido amina) (PAMAM) e o dendrímero de poli (propileno imina) (PPI) foram os primeiros dendrímeros a serem comercializados. A partir deles, surgiram vários outros também com vantagens nas aplicações biomédicas, como é o caso das microesferas do poliglicerol que foi aprovado pela *FDA* para uso industrial nas áreas alimentícias e farmacêutica. As microesferas dos dendrímeros de poliglicerol (PGLD) são eleitos bons transportadores de fármacos e isso se deve à funcionalidade alta da molécula conferida pelos grupos hidroxilas e ligações éter. Além disso, a microesfera de PGLD é uma molécula biocompatível, com baixa citotoxicidade e, nas gerações mais baixas, possui solubilidade em água ²⁶.

Nesse trabalho, com vista das características pertinentes à essa geração, será utilizada a geração 4, que está representada na Figura 18: polímero com três gerações de pontos de ramificação que partem do núcleo central ramificado (núcleo G0 somado a 3 gerações). Essa geração é mais estável, sólida e esferoide, a qual possui solubilidade moderada tanto aquosa quanto em solventes orgânicos, afinando com a proposta para o fármaco em questão ^{24, 26}.

Figura 18: Estrutura do MPGLD_{G4}.



Fonte: Militão, 2013 ²⁴.

4.3 Referências Bibliográficas

1. RANGEL, V. Resistência de *Haemonchus Placei* (PLACE, 1893), *Cooperia Punctata* (Von LINSTOW, 1907) e *Oesophagostomum Radiatum* (RUDOLPHI, 1803) às avermectinas em bovinos, em propriedade rural de Minas Gerais. 2008. 76 f. Tese (Escola Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2008.
2. TEIXEIRA, LS. Métodos para determinação de avermectinas em diferentes matrizes. 2008. 30 f. Monografia (Coordenadoria de Química) - Universidade Federal de São João del-Rei. São João del-Rei, 2015.
3. SANTOS, FCM. Estudo de pré-formulação da ivermectina: caracterização e estabilidade do fármaco. 2013. 102 f. Dissertação (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.
4. MOREIRA, N. Influência da exposição à ivermectina na esfera sexual de ratos e ratas. 2014. 91 f. Dissertação (Patologia Experimental e Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) Universidade de São Paulo. São Paulo. 2014.
5. CORDEIRO, F. *et al.* Ivermectin acute administration impaired the spermatogenesis and spermiogenesis of adult rats. *Research in Veterinary Science*, v 117, 2018, p 178–186.
6. ELSTON, DM. Demodex mites: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology*, v 28, 2010, p 502–504.
7. MOUSTAFA, FA.; SANDOVAL, LF.; FELDMAN, SR. Rosacea: New and Emerging Treatments. *Drugs*, v 14, 2014, p 1457–1465.
8. CI, X., *et al.* Avermectin exerts anti-inflammatory effect by downregulating the nuclear transcription factor kappa-B and mitogen-activated protein kinase activation pathway. *Fundam Clin Pharmacol*. 2009; v 23, ed 4, p 449–55.
9. MACHADO, SSC. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFKB. *Revista da biologia*, v 4, 2010, p 40-43.
10. SCHALLER, M., BELGE, K. Systemische Therapie der Rosazea. *Der Hautarzt*, v 64, ed 7, 2013, p 500-505.
11. ANZENGRUBER, F *et al.* Swiss S1 guideline for the treatment of rosacea. *European Academy of Dermatology and Venereology*, v 31, 2017, p1775-1791.
12. SOOLANDRA®: Ivermectina tópica 1%. Laboratorios Galderma S.A. - Sucursal em Portugal. Bula de remédio.
13. LAYTON, AM. Pharmacologic treatments for rosacea. *Clinics in Dermatology*, v 35, 2017, p 207–212.
14. KÄSER, S., *et al.* EGFRI-induced papulopustular rosacea-like rash successfully treated with topical ivermectin. Case. *European Academy of Dermatology and Venereology*, v 31, 2017, e273–e306.
15. RUINI, C., *et al.* Monitoring structural changes in Demodex mites under topical Ivermectin in rosacea by means of reflectance confocal microscopy: a case series. Case. *European Academy of Dermatology and Venereology*, v 31, 2017, p e273–e306.
16. STEIN GL, *et al.* Long-term safety of ivermectin 1% cream vs azelaic acid 15% gel in treating inflammatory lesions of rosacea: results of two 40-week controlled, investigator-blinded trials. *J Drugs Dermatol*, v 13, 2014, p 1380–1386.

17. TAIEB, A., *et al.* Superiority of ivermectin 1% cream over metronidazole 0.75% cream in treating inflammatory lesions of rosacea: a randomized, investigator-blinded trial. *Br J Dermatol*, v 172, n 4, 2015, p 1103-1110.
18. SIDDIQUI, K., *et al.* The efficacy, safety, and tolerability of ivermectin compared with current topical treatments for the inflammatory lesions of rosacea: a network meta-analysis. *Springerplus*, v 5, n 1, 2016, p 1151.
19. TAIEB, A., *et al.* Cost-Effectiveness of Ivermectin 1% Cream in Adults with Papulopustular Rosacea in the United States. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy*, v 22, n 6, 2016, p 654-665a.
20. TAIEB, A., *et al.* Ivermectin Phase III Study Group. Maintenance of remission following successful treatment of papulopustular rosacea with ivermectin 1% cream vs. metronidazole 0.75% cream: 36-week extension of the ATTRACT randomized study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v 30, ed 5, 2016, p 829–836.
21. SCHALLER, M., Dirschka, T., Kemény, L. *et al.* Superior Efficacy with Ivermectin 1% Cream Compared to Metronidazole 0.75% Cream Contributes to a Better Quality of Life in Patients with Severe Papulopustular Rosacea: A Subanalysis of the Randomized, Investigator-Blinded ATTRACT Study. *Dermatology and Therapy*, v 6, ed 3, set 2016, p 427, 436.
22. OLIVEIRA, A.G. *et al.* Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. *Quím. Nova*, v 27, n 1, 2004, p 131-138.
23. OLIVEIRA R. B., LIMA E. M. Polymers in drug delivery systems *Revista Eletrônica de Farmácia* v 3, n 1, 2006, p 29-35.
24. MILITAO, L.V. Análise Físico-Química e Fotodinâmica de Clorofila em Dendrímeros de Poliglicerol. 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2013.
25. GAUI, R. Modelagem matemática e computacional de sistemas de liberação controlada de fármacos baseado em nanoestruturas. 2016. 124 f. Dissertação (Mestrado em Processos Industriais) – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. São Paulo, 2016.
26. MOURA, RM. Avaliação do potencial citotóxico e antitumoral do dendrímero de poliglicerol salicilado em diferentes linhagens celulares. 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2011.

Capítulo 5 -

Materiais e Métodos

Os materiais e métodos utilizados como ferramentas para a produção das microesferas arborescentes, além das técnicas e instrumentos, estão descritas nesta seção.

5.1 Materiais e Métodos

A ivermectina pura foi adquirida na farmácia de manipulação Bioflora, localizada no bairro BPS em Itajubá. O aspecto era de pó branco cristalino, na quantidade de 5 g e foi realizada a caracterização físico-química do fármaco, seguido da sua imobilização nas microesferas de PGLD_{G4}. Posteriormente, foi feita a caracterização e o estudo da liberação desse fármaco nesse sistema transportador.

Por sua vez, a síntese divergente das microesferas de PGLD de quarta geração foi realizada conforme a de Williamsom, descrita por Moura (2011)¹ e Militão (2013)².

A produção de microesferas de PGLD transportadoras de IVE foi realizada utilizando os princípios da técnica de fotoreticulação³. Foi feita a partir de uma emulsão de MPGLD_{G4} previamente funcionalizado com metacrilato de glicidila (MAG) disperso em uma fase aquosa.

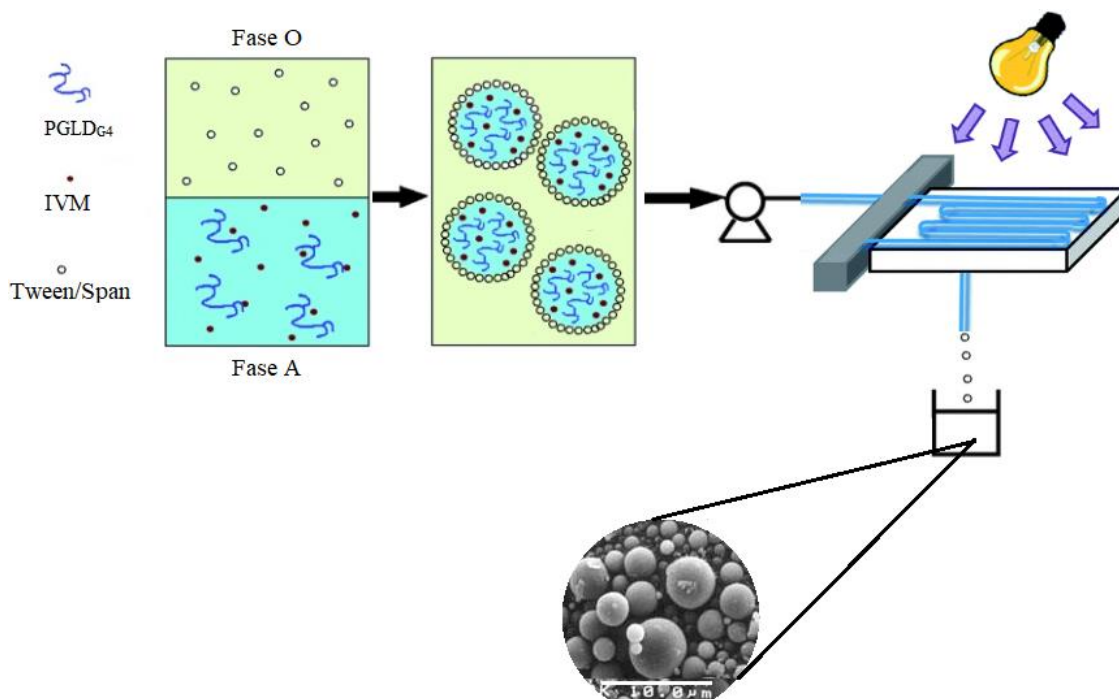
O procedimento para o preparo dessa fase aquosa se iniciou com a agitação de 100 ml de água desmineralizada em agitador mecânico (IKA), com velocidade de 900 gpm, por meio de uma hélice dentada com alto poder de cisalhamento. Para a integração do fármaco, adicionou-se à água desmineralizada em agitação constante 0,500 g de ivermectina, 2,0 g de MPGLD_{G4} e 3,0% (m/m) de monooleato de sorbitan etoxilado (Tween 80). Esse procedimento de dispersão foi realizado em 30 minutos e a temperatura de irradiação foi a temperatura ambiente (25°C).

Em adição, foi preparada uma fase oleosa formada por 100 ml de óleo mineral da empresa União Química, contendo 1,5% (m/m) de monooleato de sorbitan (Span 80). Sob agitação a 1200 gpm, bombeou-se a fase oleosa para a fase aquosa gota a gota e, após a adição da fase oleosa, a agitação foi mantida por 30 minutos. A emulsão O/A obtida foi bombeada para um reator fotoquímico “*home made*” de espessura de 1000 µm na velocidade de 200 µL/min com o auxílio de uma bomba peristáltica monocanal (Sigma-Aldrich). O tempo de exposição sob a lâmpada UV monocromática de 280 nm e 36 W foi de 15 min, sendo esse o período de rendimento máximo para a produção das microesferas contendo ivermectina.

As microesferas obtidas foram centrifugadas, lavadas com solução de PBS pH 7,4 e liofilizadas. Para obtenção do tampão fosfato pH 7,4 foi preparada uma solução de

KH_2PO_4 0,1 mol/L cujo pH foi ajustado pela adição de solução de NaOH 0,1 mol/L. A seguir a Figura 19 ilustra o procedimento experimental utilizado para obtenção das microesferas transportadoras de IVE (MPGLD_{G4}-IVE).

Figura 19: Ilustração do processo de obtenção das microesferas PGLD_{G4}-IVE utilizando o processo de fotoreticulação de emulsão.



Fonte: Autora.

5.2 Equipamentos Utilizados

Para a elaboração desse estudo foram utilizadas ferramentas analíticas e equipamentos de laboratório. As pesagens de todos os reagentes foram feitas na balança analítica Marte AY220. Para a melhor solubilização do fármaco em etanol foi utilizado o agitador magnético Cientee, modelo 103 e termômetro químico de escala externa.

Foi realizada a caracterização termogravimétrica para entender a estabilidade do fármaco e das microesferas. Para isso, foi utilizado um aparelho de análise termogravimétrica (TGA) modelo 50 da Shimadzu Corporation demonstrado na Figura

20. Já as curvas de calorimetria diferencial exploratória (DSC), por sua vez, foram realizadas no equipamento modelo 60 Plus da Shimadzu Corporation, Figura 21.

Figura 20: TGA 50 Shimadzu Corporation.



Fonte: Autora.

Figura 21: DSC 60 Plus Shimadzu Corporation.



Fonte: Autora.

A análise dos espectros de absorção na região do infravermelho foi realizada para garantir a pureza do material e observar o tipo de ligação que as microesferas fazem

com o fármaco. O aparelho de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) utilizado nesse trabalho foi o da marca Shimadzu Corporation modelo eletrônico IRT Tracer 100, o mesmo da Figura 22.

Figura 22: Aparelho de FTIR Tracer 100.



Fonte: Autora.

Para a realização da curva de calibração e determinação da região do comprimento de absorção máxima da IVE (245 nm^{-1}) foi utilizado o aparelho espectrofotômetro UV-Vis da Varian, modelo Cary 50, mostrado na Figura 23. O solvente escolhido para essa análise foi o etanol, porém, mesmo com as diluições seriadas até atingir a concentração de $0,083 \text{ mg.mL}^{-1}$, não foi possível realizar uma medição precisa, pois caracterizou um desvio a Lei de Lambert-Beer ^{4, 5}. Para contornar essa problemática, as curvas e as análises pertinentes ao estudo da liberação foram realizadas com o CLAE.

Figura 23: Aparelho de UV-vis Cary 50.



Fonte: Autora.

Para realizar a análise morfológica do complexo MPGLD_{G4}-IVE foi utilizado o aparelho microscópio eletrônico de varredura (MEV) Carls Zeiss Modelo EVO MA 15 do Laboratório de Caracterização Microestrutural (LCE) da UNIFEI, Figura 24.

Figura 24: MEV.



Fonte: UNIFEI.

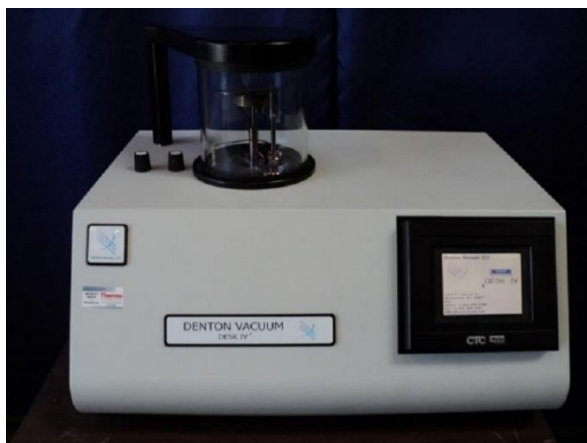
A visualização das microesferas liofilizadas no liofilizador modelo LJJ04, fabricado pela JJ Científica, o mesmo representado na Figura 25, se deu através da prévia metalização com ouro utilizando o aparelho Denton Vacuum Disk IV, Figura 26.

Figura 25: Liofilizador de bancada LJJ04.



Fonte: <https://www.jjcientifica.com.br/>

Figura 26: Metalizador de ouro Denton Vacuum IV.



Fonte: UNIFEI.

Os ensaios de eficiência de encapsulamento foram feitos utilizando um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), Figura 27, da marca Shimadzu Corporation modelo SPD-20A.

Figura 27: CLAE.



Fonte: IPEN.

5.3 Metodologia das Caracterizações

5.3.1 TGA

5.3.1.1 IVE

A análise termogravimétrica da IVE foi realizada sob o fluxo de ar atmosférico, o mais indicado para a técnica segundo o manual do equipamento, a $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e o aquecimento da amostra foi desde a temperatura ambiente até 800°C , para observação da degradação térmica. O cadinho utilizado foi de alumina com $8,977\text{mg}$ de amostra.

5.3.1.2 MPGLD_{G4}

A análise termogravimétrica do MPGLD_{G4} foi realizada sob o fluxo de ar atmosférico a $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, o mais indicado para a técnica segundo o manual do equipamento, utilizando a taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ com aquecimento da amostra até 800°C , caracterizando a degradação térmica. O cadinho utilizado foi o de platina e foi utilizado $3,632\text{mg}$ de amostra. Para a determinação da energia de ativação, foi realizada as análises nas taxas de aquecimento de 5, 10, 15 e 20°C , todas em um fluxo de ar atmosférico a $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, dados pela Tabela 2:

Tabela 2: Dados para obtenção da energia de ativação

Taxa de aquecimento	Pesagem da amostra (mg)	Cadinho
$5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	4,883	Alumina
$10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	3,632	Platina
$15^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	4,573	Alumina
$20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	4,222	Alumina

Fonte: Autora.

5.3.2 DSC

5.3.2.1 IVE

Para a análise por DSC, a IVE foi pesada já no cadinho de alumínio na balança de precisão do próprio aparelho TGA 50, conforme é rotina estabelecida no laboratório de físico-química. A quantidade de amostra usada foi de 5,193mg e, após o fechamento de forma hermética do cadinho, a análise foi realizada sob o fluxo de nitrogênio, o mais indicado para a técnica e para o processo de transferência térmica segundo o manual do equipamento, a $25 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, conforme a literatura ⁴. Primeiramente, foi realizado o aquecimento de até 210°C para evaporação dos solventes orgânicos presentes na estrutura da amostra, seguido do resfriamento até -10°C . Após esse procedimento, foi feito um novo aquecimento, na mesma corrida, até 210°C .

5.3.2.2 MPGLD_{G4}

Para a análise por DSC, o MPGLD_{G4} foi pesado também no cadinho de alumínio na balança de precisão do próprio aparelho TGA 50, uma quantidade de 8,748 mg. O cadinho foi hermeticamente fechado e a análise correu sob o fluxo de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹, com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Foi feito primeiro um aquecimento da amostra até 250°C seguido do resfriamento até -10°C, isso para apagar o histórico de processamento do polímero e, em seguida, foi feita a corrida de aquecimento até 250°C para análise.

5.3.3 FTIR

As caracterizações feitas por FTIR foram registradas no intervalo de 4000 a 400 cm⁻¹ com resolução de 2 cm⁻¹. As amostras foram analisadas pela dispensação do pó de IVE, MPGLD_{G4} e do gel de MPGLD_{G4}-IVE acima do cristal do acessório atenuador de reflectância acoplado ao aparelho.

5.3.4 MEV

A amostra foi depositada em uma fita, a qual imobilizou a amostra adequadamente no porta amostras e, assim, realizado o preparo para a visualização no aparelho através do recobrimento com ouro no metalizador. Feito isso, as análises foram focadas e analisadas morfológicamente pelo técnico do laboratório de química da UNIFEI. Em seguida, foram selecionadas seis micrografias, conforme a reprodutibilidade das mesmas, para o uso no Image J.

Esse é um software livre desenvolvido por Wayne Rasband do Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland.

5.3.5 Software de Tratamento de Imagem

A distribuição de tamanhos das microesferas foi determinada com o auxílio do software Image J, através do tratamento das imagens obtidas por MEV. Esse é um software livre desenvolvido por Wayne Rasband do Research Services Branch, National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland. Depois de feita a seleção das imagens obtidas por MEV e seu posterior tratamento, foi utilizado o algoritmo do software Matlab (MATrix LABoratory) para o cálculo da área das esferas, da circularidade e do diâmetro médio do MPGLD_{G4}-IVE.

Com os dados em mãos, foi realizada a análise de variância ANOVA, fator único, a qual comparou a distribuição das seis micrografias, ou grupos, em ampliação igual, mas em regiões da amostra diferentes. Essa análise foi feita para validar o estudo em questão.

5.3.6 Estudo da Cinética

O estudo da cinética de liberação do IVE das microesferas PGLD_{G4}-IVE foi determinado utilizando-se a técnica de diálise, utilizando-se membranas de acetato de celulose (Sigma-Aldrich). Desta maneira, 200 mg de microesferas de PGLD_{G4}-IVE foram adicionadas em um saco de diálise e imerso em 100 mL de solução tampão PBS pH 7,4 e pH 6,8.

A fim de se simular as condições da pele humana adicionou-se à solução tampão 0,2 % (m/v) de lauril sulfato de sódio (SLS). Os ensaios de liberação foram realizados à $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ sob agitação suave com o auxílio de agitadores magnéticos. Foram coletadas alíquotas de 300 μL em tempos pré-determinados (15min, 30min, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 e 24h), sendo substituídas pela mesma quantidade retirada de meio, para que se mantivesse o volume inicial do meio de liberação. As amostras foram analisadas utilizando a metodologia de CLAE ⁶ e o experimento foi realizado em triplicata.

As análises de CLAE foram realizadas no centro de Biotecnologia, localizado no Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo (IPEN/USP). Os ensaios foram feitos utilizando um cromatógrafo líquido de alta

eficiência (CLAE) da marca Shimadzu modelo SPD-20A e empregando-se detector ultravioleta (UV/VIS) configurado para o comprimento de onda de 245 nm.

Para realizar a separação cromatográfica foi utilizada como coluna analítica uma Agilent Zorbax C18® de fase reversa de 150 x 4,6 mm (5 µm de tamanho de partícula). Por seu turno, a fase móvel foi composta por acetonitrila: água acidificada com ácido acético glacial a 2% e metanol na proporção 90mL:10mL:250mL. A fase móvel foi bombeada a um fluxo de 1 mL/min e o volume de injeção foi de 20 µL.

5.4 Referências Bibliográficas

1. MOURA, RM. Avaliação do potencial citotóxico e antitumoral do dendrímero de poliglicerol salicilado em diferentes linhagens celulares. 2011. 139 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2011.
2. MILITAO, L.V. Análise Físico-Química e Fotodinâmica de Clorofila em Dendrímeros de Poliglicerol. 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2013.
3. KAMOUN, E.A., OMER, A.M., ABU-SERIE, M.M. *et al.* Photopolymerized PVA-g-GMA Hydrogels for Biomedical Applications: Factors Affecting Hydrogel Formation and Bioevaluation Tests. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2018, pp 1–11.
4. ROLIM, LA., *et al.* Preformulation study of ivermectin raw material. *J Therm Anal Calorim*, 2014, 11f.
5. ROCHA, FRP., TEIXEIRA, LSG. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria uv-vis. *Quim. Nova*, v 27, n 5, 2004, p 807-812.
6. ROMERO, A. *et al.* Utilización de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) para determinar consumo de substrato. *Informe Científico Técnico UNPA*, v 8, n 2, 2016, p 52-59.

Capítulo 6 -

Resultados e Discussão

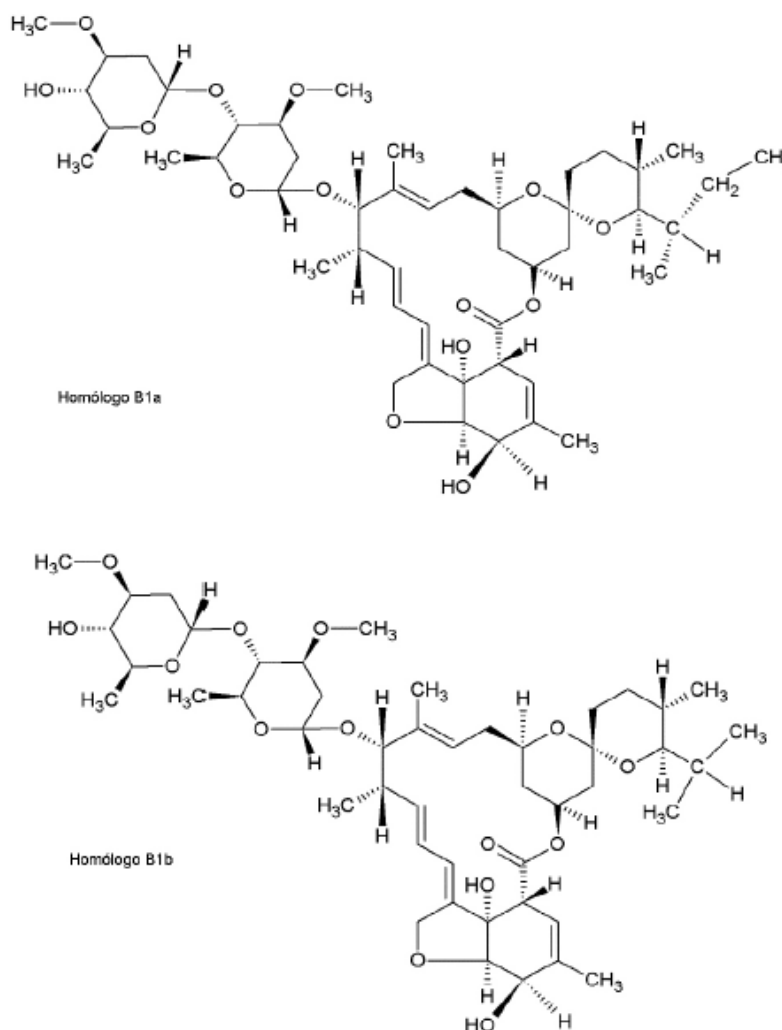
O Capítulo 6 contém os resultados obtidos da caracterização físico-química da ivermectina, do MPGLD_{G4} e também do composto sintetizado MPGLD_{G4}-IVE, bem como as discussões pertinentes às análises. Somado a isso é exposto o estudo da liberação do fármaco e sua viabilidade.

6.1 Caracterização Físico-química da IVE e do MPGLD_{G4}

A caracterização por FTIR é das principais ferramentas de identificação e avaliação das estruturas, principalmente na área biomédica. Dessa forma, com base nos espectros de absorção obtidos, é possível verificar a força e a natureza das ligações contidas nos fármacos, prevendo o comportamento da substância no corpo humano, bem como funcionalidades no transporte, ativação, liberação, absorção e a degradação ¹. Ainda, é possível analisar e entender o mecanismo das ligações fracas do tipo Van der Waals entre o medicamento e as micropartículas poliméricas, dentro da ótica da liberação controlada de fármacos. Por sua vez, essas ligações visam melhorar a solubilidade ou atuar na vetorização do medicamento ².

A ivermectina possui dois tipos de moléculas misturadas (B1a e B1b), mostrados na Figura 28, as quais são diferenciados por um grupo CH₃ na estrutura. A separação dessas moléculas na indústria ainda é inviável, entretanto as atividades biológicas desses dois grupos são semelhantes entre si. As impressões esperadas dos espectros de absorção da IVE são bandas características da presença de ligações C-O, pela presença de grupamentos éteres no fármaco. Além disso, a molécula de ivermectina é composta apenas de átomos de carbono, oxigênio e hidrogênio, formando anéis e grupamentos hidroxilas, éteres e 1 grupamento éster ^{3, 4}.

Figura 28: Estrutura química da Ivermectina.

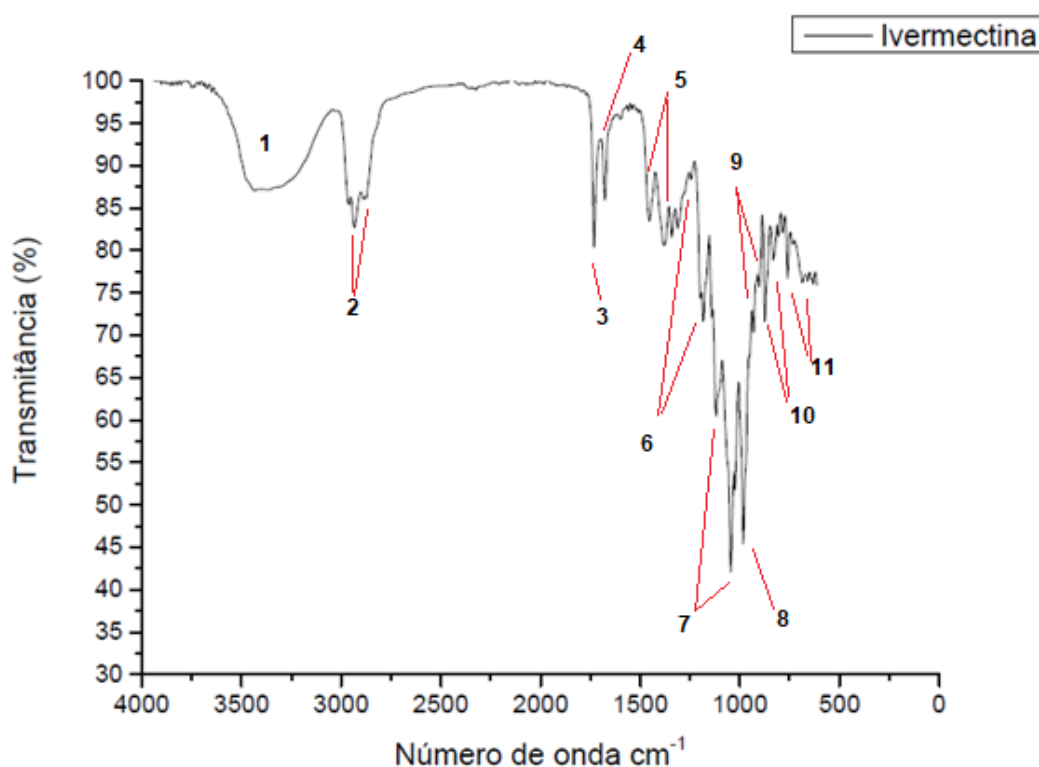


Fonte: Costa (2012) ⁴.

A representação dos espectros obtidos por FTIR da ivermectina (Figura 29) permite comparar com os dados disponíveis na literatura e observar a concordância do espectro obtido com as regiões características da molécula da IVE apresentadas na literatura ⁵. Analisando a Figura 29 percebe-se a banda (1) 3500 cm⁻¹ do espectro comum à deformação axial de O-H. Já os picos (2) 2964 e 2936 cm⁻¹ são comuns aos grupamentos metila, deformação axial de C-H. A banda (3) 1728 cm⁻¹ é uma região característica de carbonila de éster ou de lactona. As lactonas insaturadas com ligação dupla adjacente ao grupo -O-, devido ao grupo C=C está visível em (4) 1676 cm⁻¹. As bandas entre (5) 1384 e 1314 cm⁻¹ mostram absorção moderada de cetonas, provavelmente em decorrência das vibrações axial e angular ^{4, 5, 6}.

Por sua vez, em (6) 1198 e 1182 cm^{-1} são típicos da absorção pela ligação C-O-C=O e entre (7) 1142 e 1022 cm^{-1} compreende a absorção de éteres alifáticos, por causa da deformação axial assimétrica de -C-O-C-. O pico que compreende a região de (8) 982 e 970 cm^{-1} são correspondentes as duas bandas de deformação angular simétrica fora do plano de =C-H de alcenos terminais. No caso das bandas (9) 950 e 930 cm^{-1} ocorrem devido à deformação angular de -O-H externo ao plano. As bandas entre (10) 808 a 706 cm^{-1} apontam deformação angular exterior ao plano da ligação -C-H. Por fim, as regiões (11) 686 e 660 cm^{-1} demonstram deformação angular fora do plano de -C=C- dos anéis ^{4, 5, 6}.

Figura 29: FTIR IVE.

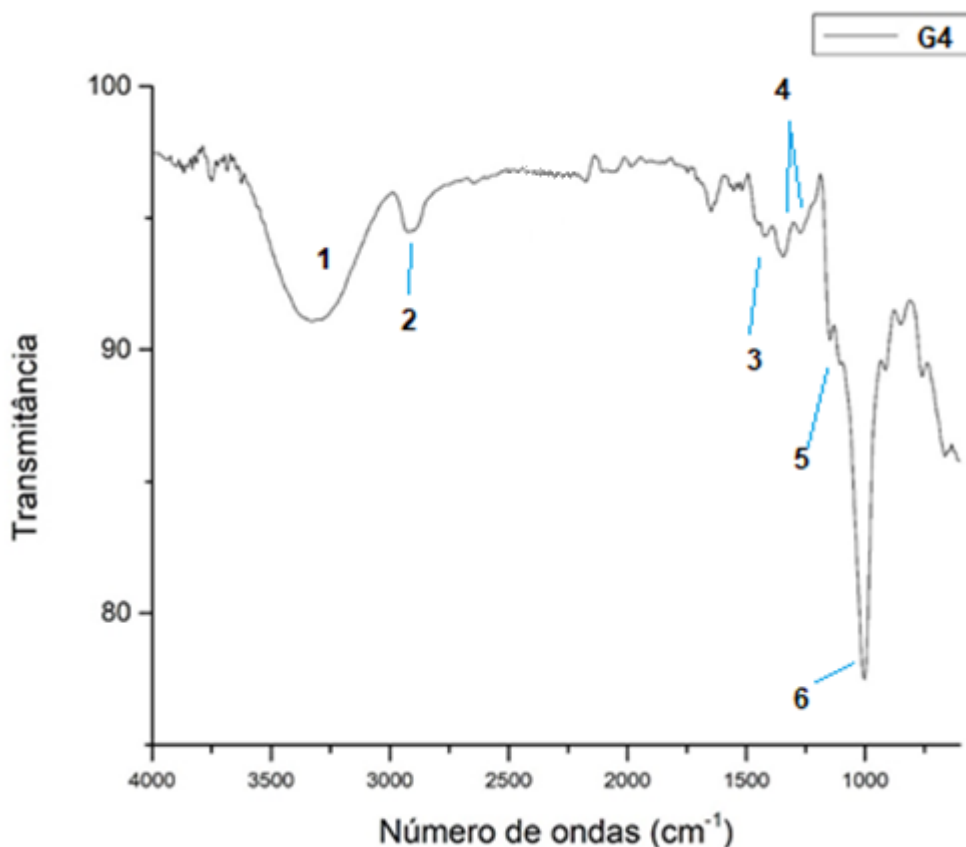


Fonte: Autora.

Os espectros do dendrímero de poliglicerol mostrado na Figura 30 apresentam estruturas comuns às moléculas emulsificantes, como a presença de grupos hidroxilas e ligações éter. Em conformidade com a literatura, a análise do espectro das microesferas de PGLD_{G4} permite localizar seis regiões marcantes. A região de (1) 3306 cm^{-1} compreende as vibrações de estiramento nas ligações O-H. Na banda (2) 2930 cm^{-1} ocorre a vibração assimétrica de CH₃CH₂ e em (3) 1416 cm^{-1} deformação angular de CH₂. Já os picos em (4) 1330 cm^{-1} e 1210 cm^{-1} se referem ao estiramento

e deformação axial da ligação C-O, em (5) 1108 cm^{-1} ao estiramento da ligação C-C e (6) 1032 cm^{-1} o estiramento C-O de ligação éter ⁷.

Figura 30: FTIR MPGLD_{G4}.



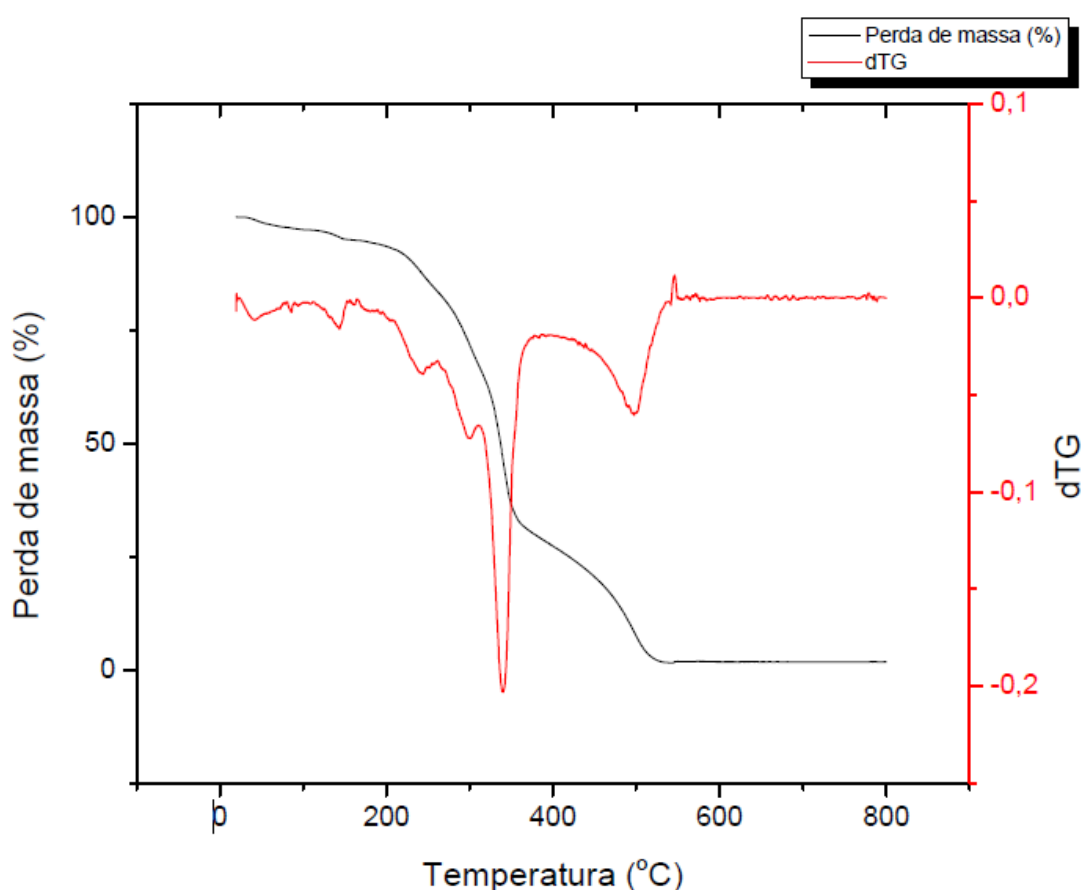
Fonte: Autora.

No que diz respeito às análises termogravimétricas, dessas pode-se extrair dados importantes das amostras, como a estabilidade do fármaco e do polímero, os componentes da formulação e permite o cálculo estimado da energia de ativação da degradação do composto usando os dados das corridas analíticas do TGA. Já as informações sobre a temperatura de fusão e de degradação, são obtidas usando as análises por DSC ⁸. Essas análises são importantes para garantir que o complexo proposto tenha estabilidade à 37°C, temperatura média do corpo humano.

Os gráficos de TGA demonstrados na Figura 31 mostram o perfil de perda de massa (em porcentagem) por meio de uma termobalança, conforme há o aumento da

temperatura. Baseado no gráfico de TGA da IVE, o perfil de degradação é marcado por três etapas. A primeira região de perda é bem suave, ocorre na provável fusão do fármaco entre 153 a 164°C, onde marca também a liberação da metanamida e do etanol que estão aprisionados na rede cristalina da IVE. Esses compostos orgânicos são solventes utilizados para purificação e para a recristalização da mistura das avermectinas produzidas por microrganismos. Já na segunda perda de material, localizada entre 312 a 327°C, é onde de fato a IVE está sendo degradada e a última degradação entre 341 a 527°C é o momento em que provavelmente o fármaco é carbonizado ⁶.

Figura 31: TGA da IVE.

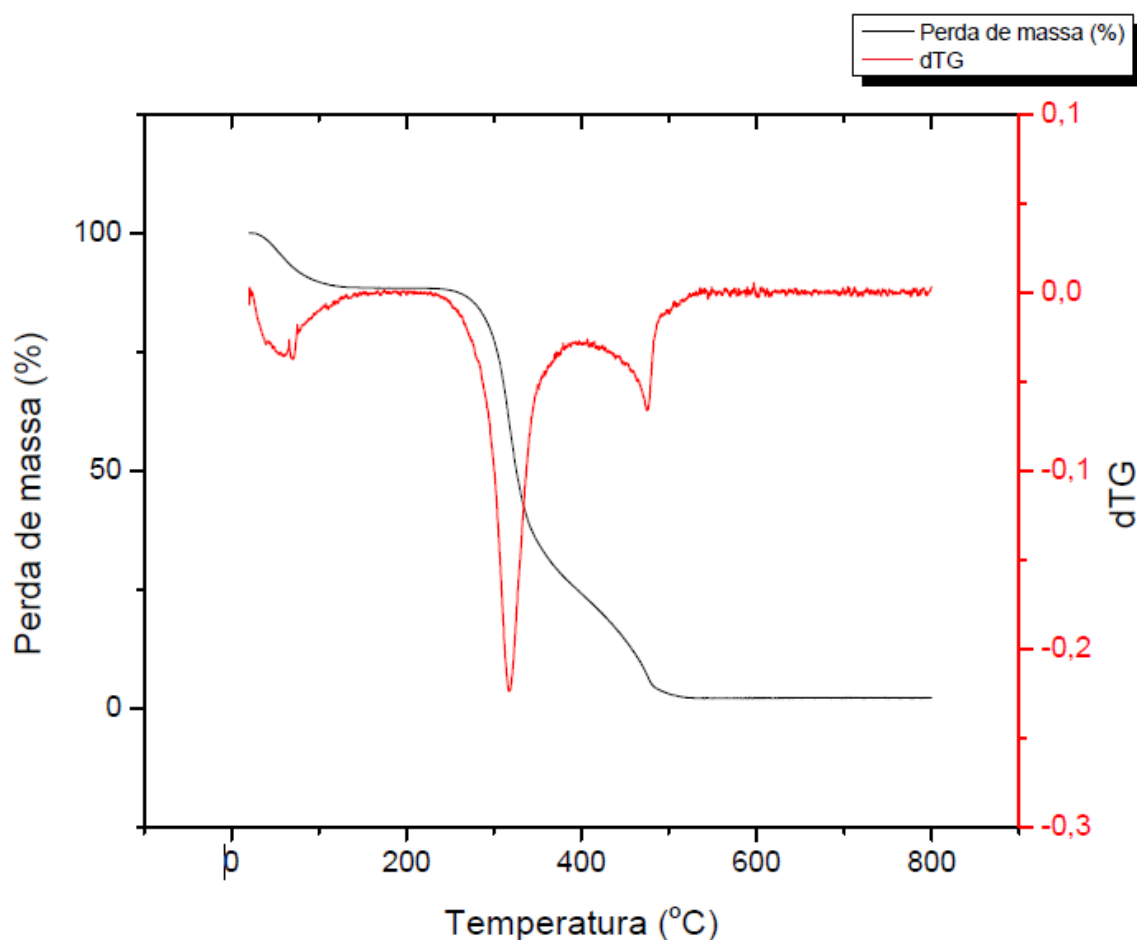


Fonte: Autora.

No que se refere à curva de TGA das microesferas de PGLD_{G4}, Figura 32, inicialmente, exibe perda aproximada de 10% de massa no intervalo de 25 a 120 °C. Nessa etapa ocorre a liberação de moléculas de água contidas no interior dos

dendrímeros ou presentes ao redor da estrutura por ligações de hidrogênio. Entre as temperaturas de 120 a 290 °C não há perda de massa e a decomposição térmica ocorre entre 290 a 490°C havendo perda total da massa. O MPGLD_{G4} apresenta entre as temperaturas 290 a 330°C um perfil de degradação mais acelerado, atingindo cerca de 70%, do total da amostra, degradado. Já a partir da temperatura 330°C, a perda de massa ocorre de maneira mais lenta até por volta de 500°C, onde atinge a carbonização ⁷.

Figura 32: TGA do MPGLD_{G4} reticulado.

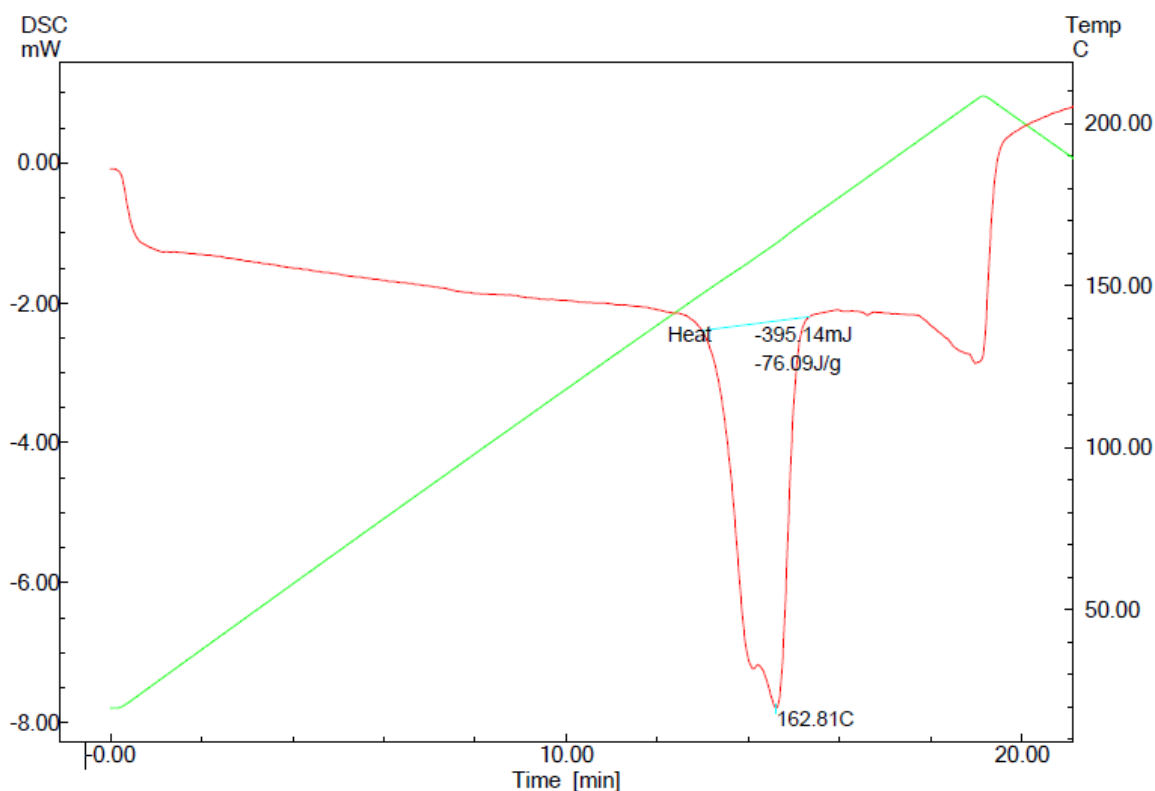


Fonte: Autora.

As análises de DSC são realizadas para a verificação da faixa de fusão da IVE e do MPGLD_{G4}. Para que isso aconteça, o equipamento de DSC compara a amostra em estudo com uma amostra referência, submetidas às mesmas condições, o mesmo material para o cadinho, sob uma fonte de calor. As diferenças entre os dois materiais são medidas por meio de termopares fixados abaixo dos cadinhos, e é realizada a compensação de potência. Com isso, é possível medir os valores de entalpia envolvidos nas reações ^{7, 8}.

Fundamentado na literatura e no perfil do DSC da IVE, Figura 33, é possível evidenciar a fusão do fármaco, em aproximadamente 162°C. Além disso, é notável um pico endotérmico na faixa aproximada de temperatura em 156,7°C, com entalpia de 76,09 J/g. Esse pico é característico do processo de fusão do fármaco e também da evaporação dos solventes orgânicos residuais ⁶.

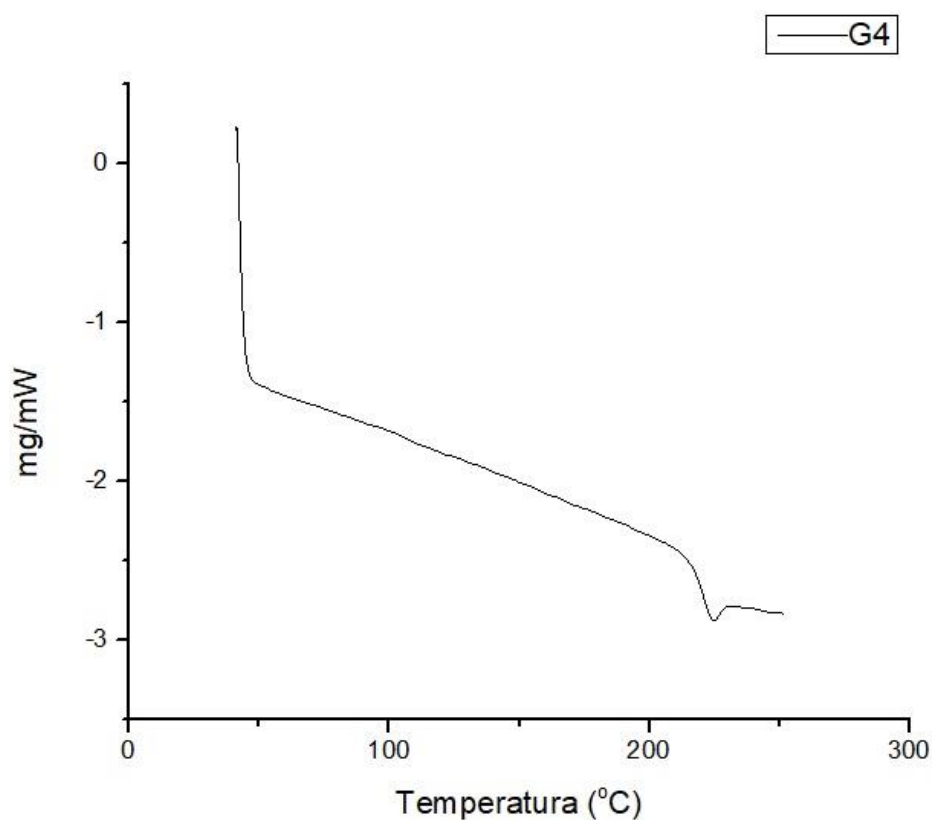
Figura 33: DSC da IVE.



Fonte: Autora.

Por seu turno, o gráfico da Figura 34 do perfil de DSC das MPGLD_{G4} exibe um discreto pico endotérmico de decomposição das microesferas, e, apesar da figura sugerir que a T_g esteja representada no grande deslocamento da linha de base, Militão (2013) comprovou que a temperatura T_g do MPGLD_{G4} é de -77°C nas microesferas reticuladas ^{4,7}.

Figura 34: DSC das MPGLD_{G4} reticuladas.



Fonte: Autora.

O cálculo estimado da energia de ativação aparente do MPGLD_{G4} é apoiado no fato que as condições termodinâmicas se assemelham com as condições de equilíbrio em cada temperatura, ao passo que os fatores cinéticos têm ênfase sobre a velocidade de reação. Foram feitas as análises das diferentes curvas de TGA e aplicados os métodos de tratamento de dados propostos por Kissinger e Ozawa ⁹.

Os dados obtidos com as diferentes rampas de TGA para o cálculo da energia de ativação da degradação estão na Tabela 3. Através dos resultados de R^2 e da boa correlação entre as quatro rampas de aquecimento e a energia de ativação da degradação calculada foi de $154,736 \text{ kJ.mol}^{-1}$, sendo o melhor método para este estudo o de Ozawa.

Tabela 3: Dados obtidos com as diferentes rampas de TGA para a energia de ativação do MPGLD_{G4}.

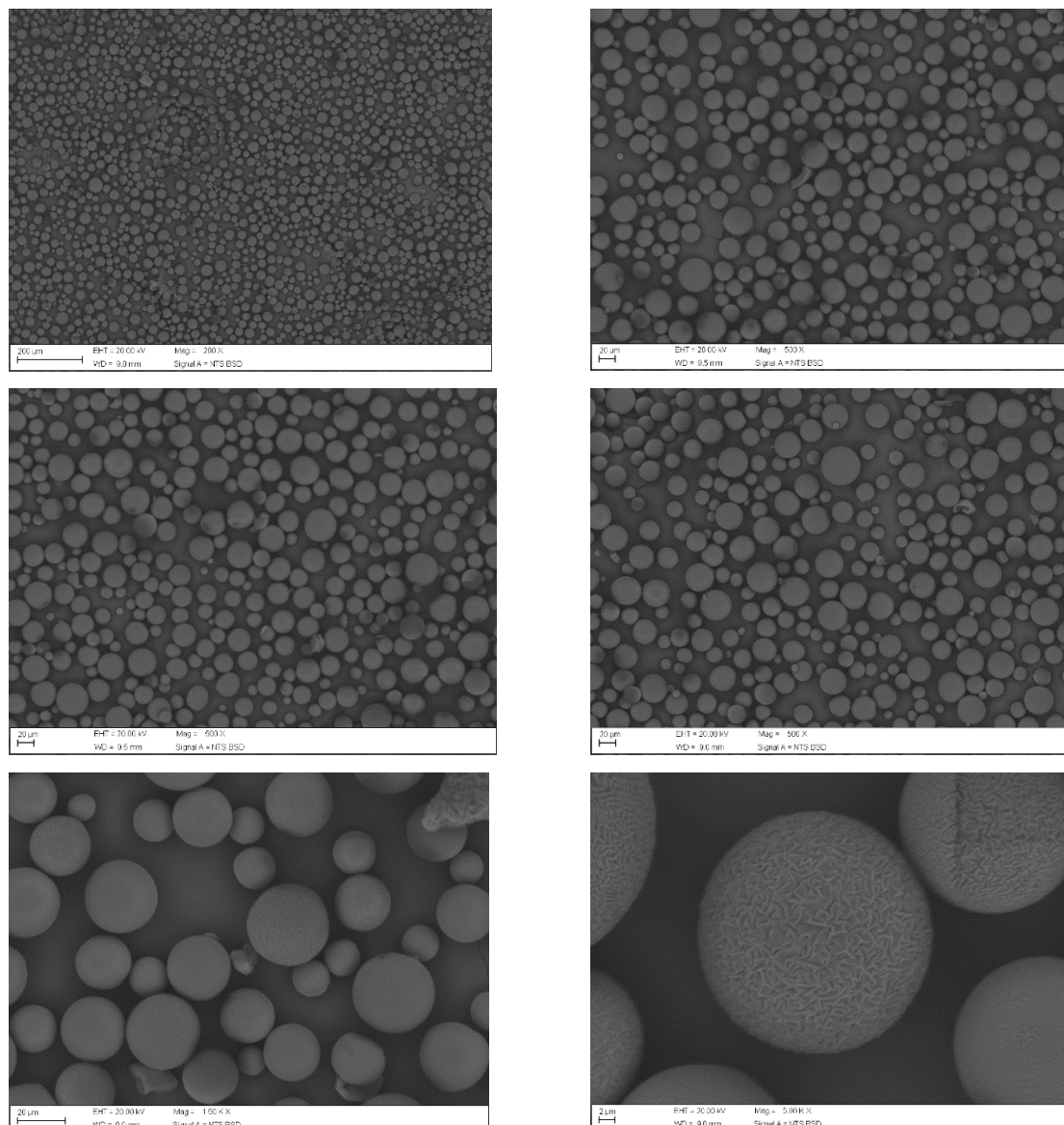
	<i>Kissinger</i>	<i>Ozawa</i>
<i>Slope</i>	-18381,7961	-8499,8749
<i>R²</i>	0,96256	0,96691
<i>Energia de Ativação</i>	152826,2524 J.mol ⁻¹	154736,0621 J.mol ⁻¹

Fonte: Autora.

6.2 Análise Morfológica do MPGLD_{G4}-IVE

A morfologia, bem como o tamanho das microesferas PGLD_{G4}-IVE, foi observada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As microesferas PGLD_{G4}-IVE são realmente esferoides e possuem tamanhos regulares. Além disso, apresentam superfície com poros e rugosidades (Figura 35).

Figura 35: Micrografias obtidas por MEV das microesferas de PGLD_{G4}-IVE funcionalizadas com MAG 20% (m/m) .



Fonte: Autora.

A validação do estudo foi realizada com o teste estatístico de ANOVA, resultando no valor de p , que é o nível descritivo ou probabilidade de significância, menor que 0,05. O valor de p na estatística é a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema que aquela observada em uma amostra, sob a hipótese nula. Neste trabalho esse valor de p se deve ao fato das médias de cada micrografia serem estatisticamente diferentes ^{8, 10}.

A seguir, as Tabelas 4 e 5 apresentam os dados estatísticos obtidos após o tratamento das imagens no Image J e

Tabela 4: Compilado de dados obtidos a partir das micrografias.

<i>Grupos</i>	<i>Contagem de microesferas</i>	<i>Soma dos Tamanhos</i>	<i>Média de tamanho</i>	<i>Variância</i>
Micrografia 1	261	88600,68	339,4662	40933,41
Micrografia 2	248	83712,66	337,551	47776,44
Micrografia 3	213	75966,23	356,649	39923,76
Micrografia 4	237	85904,41	362,4658	65522,96
Micrografia 5	209	78031,87	373,3582	47977,31
Micrografia 6	235	93158,51	396,4192	56772,14

Fonte: Autora.

Tabela 5: Aplicação da análise ANOVA nos dados obtidos.

<i>Fonte da variação</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>QM</i>	<i>F</i>	<i>valor-P</i>	<i>F crítico</i>
Entre micrografias	587788,3	5	117557,7	2,358423	0,0383	2,220504
Dentro das micrografias	69634684	1397	49845,87			
Total	70222472	1402				

Onde: SQ – Soma de Quadrados; GL – Grau de Liberdade; QM – Quadrado Médio; F – Estatística F.

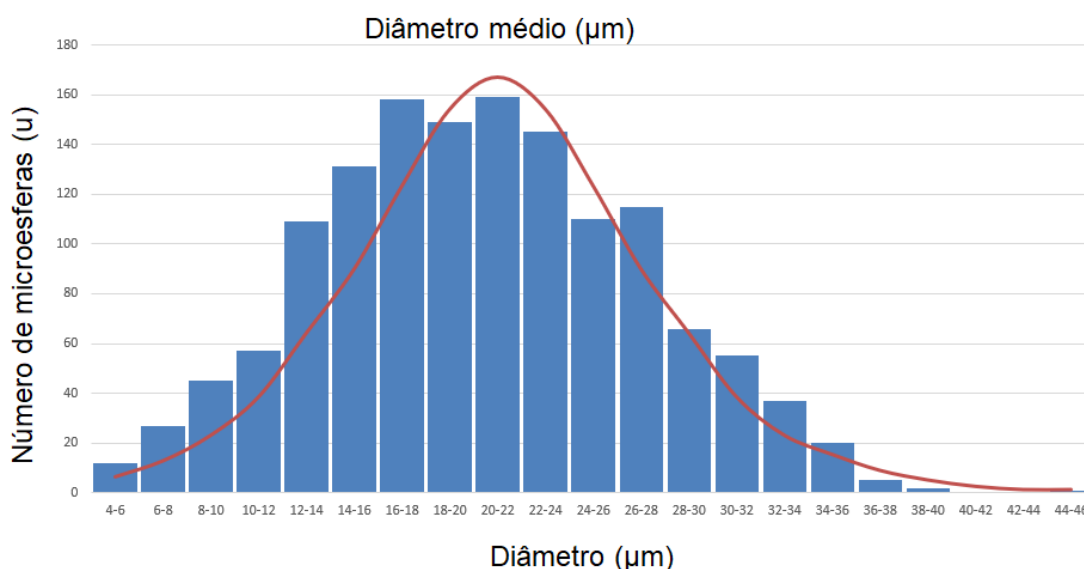
Fonte: Autora.

Com suporte das médias obtidas em cada grupo, os resultados mostraram que a emulsão obteve microesferas de circularidade média de 0,9, demonstrando validade analítica. Isso porque os valores de circularidade 1 têm a probabilidade de ser referente aos pixels da imagem e não das esferas em si, caracterizando uma tendência à falha analítica.

A área média das microesferas do PGLD_{G4}-IVE é de 360,2 μm^2 e o diâmetro médio de 20,3 μm , com desvio padrão de 6,7 μm , conforme pode ser evidenciado no

histograma da Figura 36. Esse valor obtido de diâmetro médio mostra compatibilidade para os sistemas micrométricos de liberação de fármacos ⁴.

Figura 36: Gráfico da frequência das microesferas e o diâmetro obtidos pela análise no Image J através da ferramenta MatLab.



Fonte: Autora.

6.3 Encapsulação da Ivermectina (EE) e o Estudo da Imobilização do Fármaco

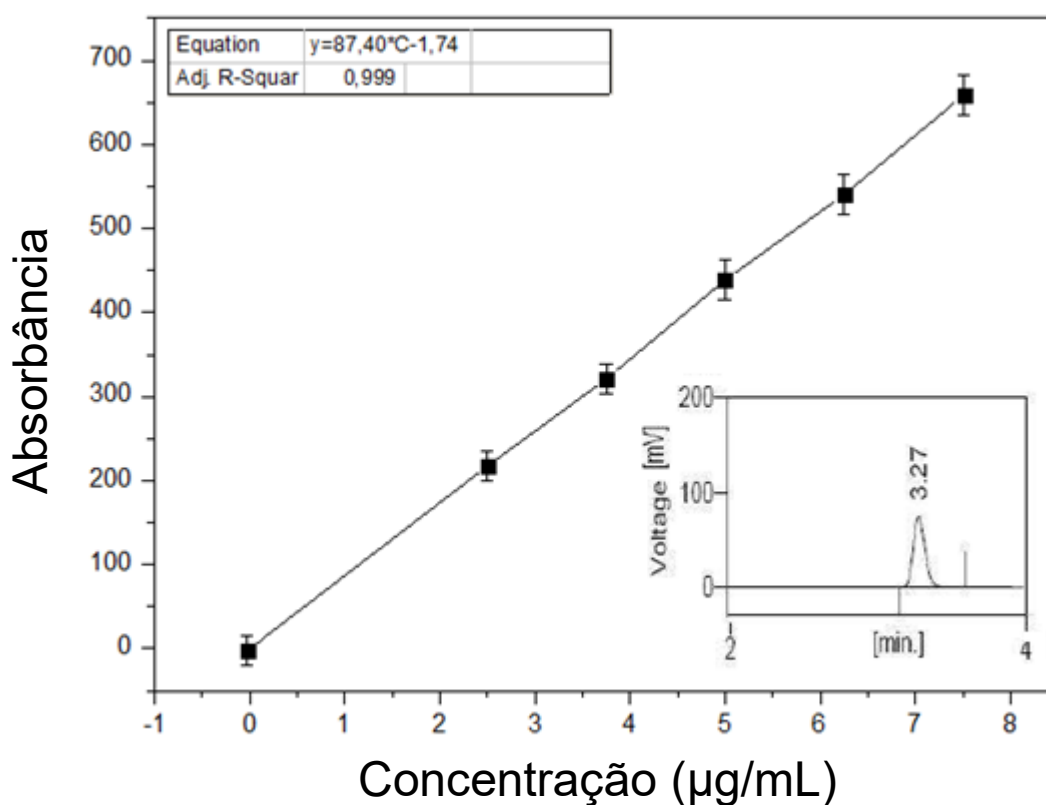
A eficiência de encapsulação da ivermectina (EE) foi determinada através da quantificação da concentração do fármaco livre em emulsão por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ^{5, 10, 11}. Feito isso foi calculada a EE através da seguinte equação:

$$EE(\%) = \frac{IVM_T - IVM_S}{IVM_T} \times 100$$

sendo IVM_T a quantidade do fármaco inicial utilizada na formulação e IVM_S a quantidade do fármaco livre no sobrenadante após a centrifugação.

Uma curva analítica foi preparada a partir de uma solução de IVE diluída em HCl 0,1N. Foram realizadas diluições em série através de uma solução tampão fosfato de pH 7,4 e pH 6,8 a fim de serem obtidas as soluções nas concentrações de 2,5 µg/mL, 3,75 µg/mL, 5,0 µg/mL, 6,25 µg/mL e 7,5 µg/mL. Ademais, o procedimento foi feito em triplicata e o resultado da curva de calibração obtida para o fármaco IVE na cromatografia CLAE pode ser observado na Figura 37.

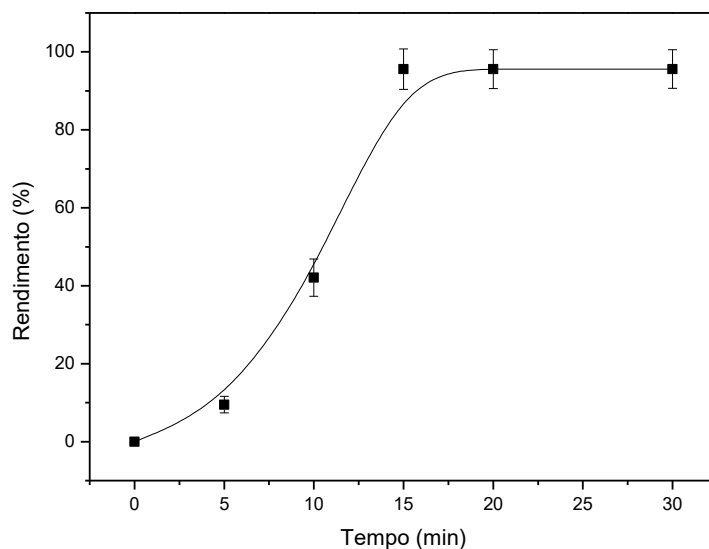
Figura 37: Curva de calibração para a IVE diluída em solução tampão pH 7,4. Internamente é ilustrado o cromatograma CLAE da IVE. O tempo de retenção do fármaco é igual a 3,27 min.



Fonte: Autora.

A partir da obtenção desta curva de calibração, foi realizado o estudo da imobilização da ivermectina nas microesferas de PGLD_{G4} com a CLAE. Conforme a Figura 38, pode-se perceber que foi atingido o período de rendimento máximo (97%) para a produção das microesferas em 15 minutos de exposição da emulsão de IVE com MPGLD_{G4} sob a lâmpada UV monocromática de 280 nm e 36 W.

Figura 38: Influência do tempo no rendimento da produção de microesferas através da técnica de fotoreticulação da emulsão de MPGLD_{G4}-IVE.

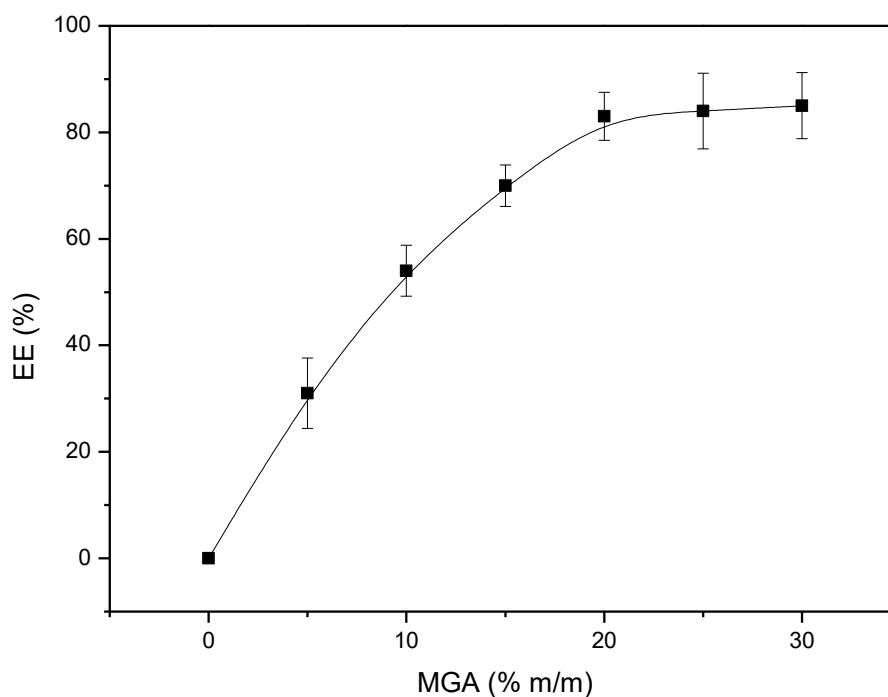


Fonte: Autora.

6.4 Estudo da Funcionalização do MPGLD_{G4}

Neste estudo foi proposto a funcionalização do MPGLD_{G4} com o MAG, um reticulante que confere maior resistência em blendas poliméricas¹². Inicialmente, foram avaliados a influência do percentual de funcionalização do MPGLD_{G4} com MAG na eficiência de encapsulamento (EE) da IVE. A Figura 39 mostra a EE (%) da IVE nas microesferas PGLD_{G4} em função do percentual de funcionalização das microesferas PGLD_{G4} com MAG.

Figura 39: Influência da concentração de MAG (% m/m) na eficiência de encapsulamento (EE) da IVE.



Fonte: Autora.

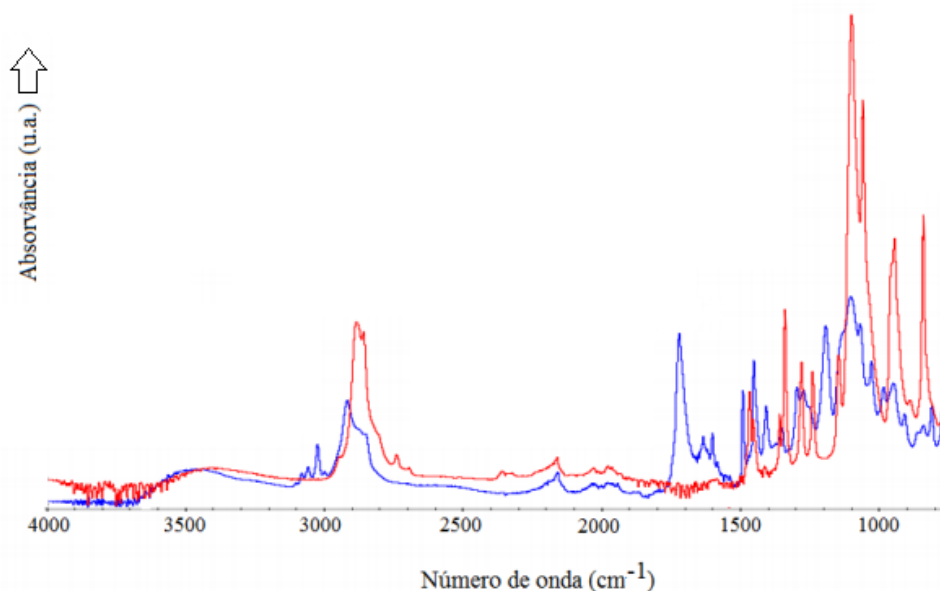
As maiores eficiências de encapsulamento foram obtidas para a concentração de MAG em torno de 20% (m/m) em que pode ser observada uma influência positiva no encapsulamento de IVE nas microesferas de PGLD_{G4}.

6.5 Caracterização do MPGLDG₄-IVE

A espectroscopia FTIR foi utilizada para caracterizar a microestrutura das microesferas reticuladas de PGLDG₄. Os resultados dos espectros FTIR obtidos são apresentados na Figura 40. Observa-se que o espectro FTIR apresenta características do espectro vibracional de um poliálcool-poliéster. Isso porque apresenta bandas de absorção no intervalo de 3500 - 3000 cm⁻¹, as quais são devido ao estiramento do grupamento O-H e das ligações de hidrogênio, e também a uma banda intensa em 1036 cm⁻¹ em consequência do estiramento assimétrico C-O-C.

Ao mesmo tempo é importante observar o desaparecimento da banda a 1700 cm^{-1} após o processo de reticulação quando as microesferas PGLD_{G4} funcionalizadas com MAG são submetidas à luz UV. O desaparecimento da banda de absorção a 1700 cm^{-1} corresponde ao processo de reticulação da banda C=C do MAG incorporado ao MPGLD_{G4} , garantindo assim a estabilidade mecânica das microesferas obtidas.

Figura 40: Espectroscopia FTIR de microesferas obtidas a partir da irradiação com luz UV do $\text{MPGLD}_{\text{G4-IVE}}$. Em vermelho observa-se o FTIR do MPGLD_{G4} antes da reticulação e em azul o FTIR após o processo de reticulação.



Fonte: Autora.

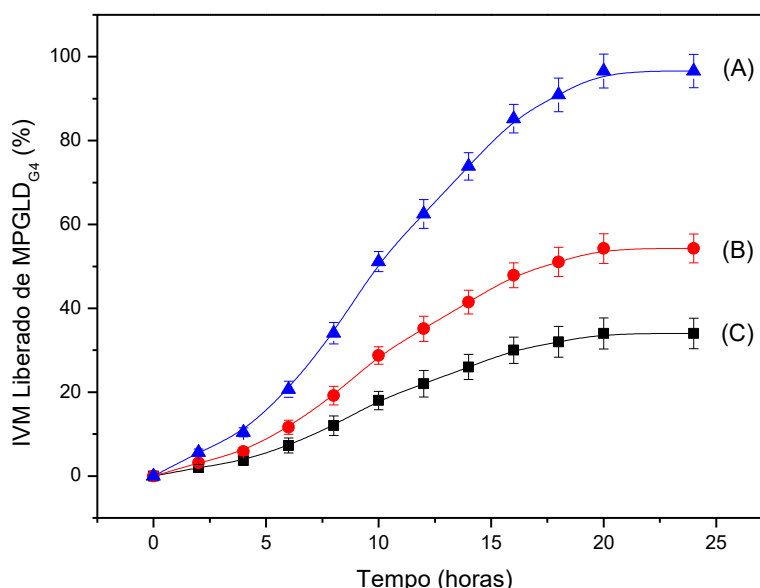
6.6 Estudo da Liberação da IVE do $\text{MPGLD}_{\text{G4-IVE}}$

O estudo da liberação *in vitro* da IVE das microesferas transportada pelas microesferas de $\text{PGLD}_{\text{G4-IVE}}$ visa avaliar a quantidade do fármaco IVE liberado das microesferas de PGLD_{G4} por unidade de tempo. As informações obtidas permitem um controle qualitativo do sistema de liberação de IVE as informações obtidas poderão ser úteis para a realização das etapas posteriores futuras como o estudo *in vivo* e

estudos clínicos, além de permitir redução significativa no número de amostras necessárias para esses testes *in vivo* ¹³.

O perfil de liberação da IVE contida nas microesferas PGLD_{G4}-IVE produzidas com diferentes concentrações de MAG são apresentados na Figura 41. Este perfil foi determinado através das medidas, ao longo do tempo, das concentrações de IVE utilizando-se CLAE.

Figura 41: Estudo da liberação *in vitro* de IVE das microesferas PGLD_{G4} em solução tampão PBS pH 7,4 a 37 °C: 5% MAG (A), 20% MAG (B) e 30 % MAG (C).



Fonte: Autora.

A análise da Figura 41 permite observar que as menores taxas de liberação foram apresentadas pelas microesferas de PGLD_{G4}-IVE com elevada concentração do reticulante MAG. Já nas primeiras horas de teste pode-se observar a liberação de cerca de 5% do fármaco, para todas as concentrações de MAG. Ainda, em 20 horas de teste alcançou-se a saturação na cinética de liberação de IVE contido nas microesferas PGLD_{G4}-IVE e demonstra que a quantidade de fármaco liberada pode ser modulada através da concentração de MAG.

As microesferas de PGLD_{G4}-IVE obtidas com baixa concentração de MAG exibiram taxa de liberação superior àquelas obtidas com as amostras com elevada concentração do reticulante. O processo de reticulação promovido nas cadeias do MPGLD_{G4} pelo reticulante MAG leva à formação de uma estrutura de MPGLD_{G4} mais rígida, devida à formação de novas ligações intercadeias, impedindo o livre deslizamento das cadeias poliméricas^{14, 15, 16}.

Portanto, esse aumento da rigidez da estrutura dificultaria a difusão da IVE, resultando, assim, numa menor taxa de liberação do fármaco. Outro importante fator a ser considerado é que o processo de reticulação deve, ainda, permitir a formação de uma rede polimérica com malhas mais reduzidas, que podem permitir o encaixe mais adequado da molécula do fármaco e, conseqüentemente, sua liberação de forma mais lenta e gradual^{17, 18}. Logo, a partir dessas observações, a concentração que seria melhor aproveitada de MAG nas microesferas de PGLD_{G4}-IVE é a de 20%.

Acrescentando a esse aspecto, a liberação de fármacos é controlada através de vários mecanismos destacando-se entre eles a difusão, a erosão do polímero, a geometria e a pressão osmótica sendo que modelos matemáticos podem ser utilizados para descrever o perfil de liberação da IVE¹⁹.

Em vista dos dados obtidos apresentados na Figura 41, foram construídos gráficos considerando os modelos cinéticos de ordem zero, primeira-ordem, segunda-ordem e Peppas e Higuchi²⁰:

a) Cinética de ordem zero

$$\frac{C_t}{C_\infty} = K \cdot t \quad (1)$$

Sendo C_t a quantidade de fármaco liberada no tempo t , C_∞ a concentração do fármaco no equilíbrio e K a constante cinética.

b) Cinética de primeira ordem

$$\log\left(\frac{C_t}{C_\infty}\right) = \frac{K}{2,303} \cdot t$$

c) Cinética de Higuchi

$$\log \frac{C_t}{C_\infty} = K_H \sqrt{t} \quad (3)$$

Sendo K_H a constante cinética de Higuchi, que descreve a liberação do fármaco como um processo de difusão baseado na Lei de Fick.

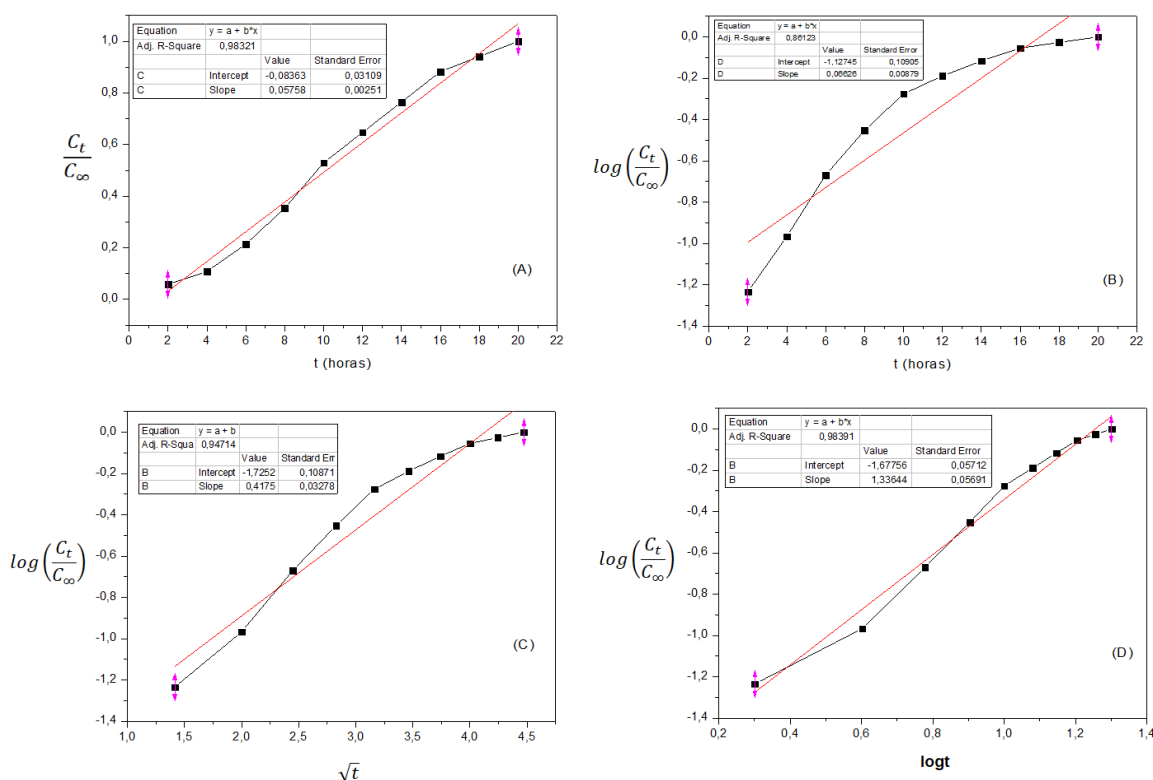
d) Cinética de Peppas

$$\log \left(\frac{C_t}{C_\infty} \right) = n \log t + \log a$$

Sendo a uma constante que está relacionada às características geométricas e estruturais do sistema polímero/fármaco; e n representa o expoente de liberação e é indicativo do mecanismo de transporte.

Considerando o sistema contendo 20% MAG, foram construídos a partir da Figura 41, os gráficos para os modelos cinéticos de ordem zero, primeira-ordem, Higuchi e Peppas. As curvas obtidas são apresentadas na Figura 42.

Figura 42: Modelos cinéticos para a liberação de IVE das microesferas PGLD_{G4} à temperatura ambiente (25 °C): ordem zero (A), primeira ordem (B), Higuchi (C) e Peppas (D).



Fonte: Autora.

Assim sendo, de acordo com os dados da Figura 41, o modelo mais adequado para explicar a liberação de IVE pelas microesferas PGLD_{G4} foi o modelo de Peppas, conforme R² exibido (0,98391). O expoente de liberação, n, caracteriza o mecanismo de liberação predominante. Neste caso, o valor de n obtido foi de 1,33 sendo indicativo de um transporte por difusão não Fickiana, onde a velocidade de transporte da IVE é igual a mobilidade do polímero. Portanto, conforme o ajuste obtido, o fármaco IVE foi liberado a uma velocidade de 1,68 µg/mL por minuto.

Essa velocidade implica em absorção efetiva e ideal para o tratamento tópico, além de garantir a diminuição da frequência de aplicação do produto na pele, aumentando a eficácia do medicamento ^{5, 8}.

Entretanto, é necessário observar também que a aproximação matemática faz com que o modelo cinético de Ordem Zero também tenha emprego pertinente para o entendimento do estudo da liberação desse fármaco, embora o modelo Peppas tenha sido o eleito para este trabalho.

6.7 Referências Bibliográficas

1. KÄPPLER, A., *et al.* Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v 408, n 29, 2016, p 8377-8391.
2. SANTOS, VMR. *et al.* Síntese e caracterização de novos copolímeros fosforilados. *Polímeros*, v 25, 2015, p 19-24.
3. ROLIM, LA., *et al.* Preformulation study of ivermectin raw material. *J Therm Anal Calorim*, 2014, 11f. DOI: 10.1007/s10973-014-3691-9.
4. COSTA, FM., PEREIRA, ADN. Development and application of methods for the determination of ivermectin in veterinarian medications. *Quim. Nova*, 2012, v 35, n 3, p 616-622.
5. LU, M., *et al.* Sustained release ivermectin-loaded solid lipid dispersion for subcutaneous delivery: in vitro and in vivo evaluation. *Drug delivery*, v 24, n 1, p 622-631.
6. SANTOS, FCM. Estudo de pré-formulação da ivermectina: caracterização e estabilidade do fármaco. 2013. 102 f. Dissertação (Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.
7. MILITAO, L.V. Análise Físico-Química e Fotodinâmica de Clorofila em Dendrímeros de Poliglicerol. 2013. 126 f. Dissertação (Mestrado em Materiais para Engenharia) – Universidade Federal de Itajubá. Itajubá, 2013.
8. GUMIENICZEK, A. *et al.* DSC, FT-IR, NIR, NIR-PCA and NIR-ANOVA for determination of chemical stability of diuretic drugs: impact of excipients. *Open Chemistry*, v 16, n 1, 2018, p 116-132.
9. KIM, HT., OH, SC. Kinetics of thermal degradation of waste polypropylene and high-density polyethylene. *J. Ind. Eng. Chem.*, v 11, n 5, 2005, p 648-656.
10. ESPIRITO SANTO, MHA, DANIEL, F. Calculating and reporting effect sizes on scientific papers (3): Guide to report regression models and ANOVA effect sizes. *Revista Portuguesa de Investigação Comportamental e Social*, v 4, n 1, 2018, p 43-60.
11. ALVINERIE M., SUTRA J.F., GALTIER P., TOUTAIN P.L. Determination of ivermectin in milk by high performance liquid chromatography. *Annales de Recherches Veterinaires*, INRA Editions, 1987, 18 (3), pp.269-274.
12. ARAÚJO, EM., HAGE, EJ., CARVALHO, AJ. Compatibilization of Polyamide 6/ABS blends using MMA-GMA and MMA-MA reactive acrylic copolymers. Part 2: Thermal-mechanical and morphological behavior of blends. *Polímeros*, v 14, n 1, 2004, p 22-30.
13. GORDON, L. A.; LENNERNÅS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, New York, v. 12, n. 3, p. 413- 420, 1995.
14. MOUSSA, I. S.; CARTILIER, L. H. Evaluation of cross-linked amylose press-coated tablets for sustained drug delivery. *Int. J. Pharm.*, v.149, p. 139-149, 1997.
15. MULHBACHER, J.; ISPAS-SZABO, P.; LENAERTS, V.; MATEESCU, M. A. Cross-linked high amylose starch derivatives as matrices for controlled release of high drug loadings. *J. Control. Release*, v.76, p.51-58, 2001.

16. LOPES, CM. *et al.* Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v 5, n 2, 2005, p 143-154.
17. CURY, B. S. F.; KLEIN, S.I.; EVANGELISTA, R.C. Modeling a system of phosphated cross-linked high amylose for controlled drug release. Part 1: synthesis and polymer characterization. *React. Funct. Polym.*, v.68, p.1200-1206, 2008.
18. CURY, B. S. F; CASTRO, A. D; KLEIN, S. I.; EVANGELISTA, R. C. Modeling a system of phosphated cross-linked high amylose for controlled drug release. Part 2: Physical parameters, cross-linking degrees and drug delivery relationships. *Int. J. Pharm.*, v.37, p: 8-15, 2009.
19. SINGHAVI, G. Review: In vitro drug release characterization models, *international journal of Pharmaceutical studies and research*, January 2: 77-84, 2011.
20. SHAIKH, HK., KSHIRSAGAR, RV., PATIL, SG. Mathematical models for drug release characterization: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v 4, ed 04, 2015, p 324-338.

Capítulo 7 -

Conclusões

Nesse ponto, através da coleta de dados obtidas, alguns apontamentos foram realizados e, conseqüentemente, foram elaboradas conclusões acerca da comprovação da viabilidade das microesferas no transporte da ivermectina para o tratamento da rosácea.

O presente estudo utilizou microesferas de poliglicerol dendrítico como sistema de transporte da ivermectina para o tratamento de rosácea. Através da análise dos dados obtidos com esse trabalho torna-se possível concluir:

- O estudo permitiu a elaboração de um protótipo promissor para o tratamento da rosácea do subtipo 2, 3 e da variante granulomatosa.
- Através da avaliação da caracterização físico-química do MPGLD_{G4}, da IVE e do complexo MPGLD_{G4}-IVE:
 - Foi uma escolha adequada do transportador e do fármaco;
 - MPGLD_{G4} biocompatível e multifuncional;
 - IVE amplamente indicada, com sucesso, para o tratamento dos principais subtipos de rosácea cutânea.
 - O uso do MPGLD_{G4} como transportador da ivermectina favoreceu a lipossolubilidade natural do fármaco.
 - Provável aumento da absorção da substância pela barreira epidérmica.
 - O tamanho das microesferas (diâmetro médio de 20,3 µm) mostra compatibilidade para os sistemas de liberação de fármacos micrométricos.
 - O MPGLD_{G4} possui caráter hidrofílico o que leva a crer que a formulação de um gel com MPGLD_{G4} pode ser um agente melhorador/hidratante da pele sensível do indivíduo com rosácea.
- A obtenção das microesferas por fotoreticulação da emulsão de MPGLD_{G4}-IVE foi garantida satisfatoriamente (~97%).
- O tempo de exposição sob a lâmpada UV (280nm, 36W) para o rendimento máximo na produção das esferas reticuladas foi de 15 min.
- O estudo da cinética de liberação do MPGLD_{G4}-IVE permitiu constatar que a quantidade de fármaco liberada pode ser modulada através da concentração de MAG, quanto maior a concentração, maior a liberação. Ainda:
 - O reticulante confere estabilidade mecânica, porém aumenta a rigidez da cadeia polimérica, dificultando a liberação.

- Para permitir o melhor deslizamento a concentração ideal de MAG nesse composto é de 20%.
- O tipo de transporte de liberação desse fármaco é não Fickiano e a velocidade de 1,68 $\mu\text{g/mL}$ por minuto.
-
- Os resultados estéticos/funcionais, obtidos com a terapêutica, são atingidos quando o paciente segue à risca as recomendações diárias de cuidados. Esse protótipo promete uma rotina de cuidados com a pele reduzida, onde será necessária apenas uma aplicação diária do medicamento, ou quando for lavada a região. Isso implica:
 - Maior conforto nas atividades diárias do paciente, sem a preocupação com a reaplicação compulsiva do medicamento.
 - Redução do contingente de dermocosméticos e fármacos utilizados da pele, aumentando, assim, a qualidade de vida do indivíduo.
 - Logo, possivelmente haverá maior sucesso do tratamento, através da diminuição e simplificação dessa rotina de cuidados. Assim, diminuindo a chance de esquecimento e evasão do tratamento por parte dos pacientes, principalmente do grupo senil, grupo alvo da terapêutica/doença.

Capítulo 8 -

Perspectivas Futuras

A partir das conclusões obtidas neste trabalho, pode-se almejar novos objetos de estudo dentro do espectro desse produto. Além de tudo, considera-se o aprimoramento e maiores pesquisas para o desenvolvimento e comercialização das microesferas com ivermectina para o tratamento da rosácea.

Com o avanço da biociência, é crescente o uso de materiais de engenharia na farmacologia. Dessa forma, esse estudo permitiu a elaboração de um protótipo de um fármaco promissor no tratamento da rosácea do subtipo 2, 3 e da variante granulomatosa. Entretanto, é necessário um aprofundamento do estudo das aplicações do MPGLD_{G4}-IVE, principalmente avaliar a atuação *in vivo* desse medicamento, definir melhor a dose terapêutica para garantir a absorção cutânea segura da ivermectina.

Em adição, se faz necessário o estudo da citotoxicidade e investigação de alguma atividade teratogênica desse complexo. A fim de melhorar o espectro de ação desse composto, é interessante a integração de algum outro fármaco que tenha ação específica sobre o eritema, servindo de tratamento para rosáceas do subtipo 1, em formulações mais baixas.