

Estudo comparativo, randomizado e duplo-cego do microagulhamento associado ao drug delivery para rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax

Comparative, randomized, double-blind study of microneedling associated with drug delivery for rejuvenating the skin of the anterior thorax region

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201573661>

RESUMO

Introdução: A pele fotodanificada da região anterior do tórax caracteriza-se por flacidez, rugas, hiperpigmentação, eritema, telangiectasias e atrofia. O microagulhamento tem sido usado para a entrega transdérmica de agentes ativos na pele através de microcanais, denominada *drug delivery*.

Objetivo: Avaliação clínica do rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax usando microagulhamento associado ao *drug delivery*.

Métodos: Estudo duplo-cego randomizado, placebo controlado, realizado com 22 mulheres submetidas a três sessões de microagulhamento seguidas da aplicação tópica de um produto teste contendo ácido hialurônico e outros ativos ou placebo. A avaliação, por comparação fotográfica, foi realizada por dermatologista alheio ao estudo e pela aplicação aos pacientes de questionários de autoavaliação.

Resultados: A avaliação clínica demonstrou melhora no rejuvenescimento global da pele da região anterior do tórax em 100% das pacientes. Sua análise estatística mostrou melhora de 28% ($p < 0,05$), com o uso do produto teste em comparação ao do placebo. A aplicação dos questionários às pacientes demonstrou melhora de 30% naquelas tratadas com microagulhamento e produto teste.

Conclusões: A técnica do microagulhamento associada à administração transdérmica de fármacos utilizada para rejuvenescimento proporciona melhora da aparência global da pele da região anterior do tórax com elevada tolerabilidade e satisfação.

Palavras-chave: rejuvenescimento; colágeno; administração cutânea

ABSTRACT

Introduction: Photodamaged skin of the anterior thorax region is characterized by flaccidity, wrinkles, hyperpigmentation, erythema, telangiectasia, and atrophy. Microneedling has been used for the transdermal drug delivery of active agents to the skin through microchannels.

Objective: To clinically evaluate the rejuvenation of the skin of the anterior thorax region resulting from the use of microneedling associated with drug delivery.

Methods: Double-blind randomized, placebo-controlled study conducted with 22 women who underwent three microneedling sessions followed by the topical application of a test product containing hyaluronic acid and other active principles or placebo. The evaluation was performed through photographic comparison carried out by a dermatologist oblivious to the study and the application of self-assessment questionnaires to patients.

Results: Clinical evaluation showed improvement in the overall skin rejuvenation of the anterior thorax region in 100% of the patients. The statistical analysis showed a 28% improvement ($p < 0.05$) with use of the test product as compared to the placebo. The responses to the questionnaires demonstrated an improvement of 30% in the patients treated with microneedling and the test product.

Conclusions: The microneedling technique associated with the transdermal administration of drugs used for rejuvenation provides improved overall appearance of the skin of the anterior thorax region, with a high degree of tolerability and satisfaction.

Keywords: *rejuvenation; collagen; administration; cutaneous*

Artigo Original

Autores:

Célia Luiza Petersen Vitello Kalil¹
Valéria Barreto Campos²
Christine Rachele Prescendo Chaves³
Luiza Helena Urso Pitassi⁴
Stela Cignachi⁵

¹ Preceptora responsável pelo Ambulatório de Cosmiatria do Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Porto – Porto Alegre (RS), Brasil.

² Pós-graduada em dermatologia e laser pela Harvard Medical School – Cambridge (Massachusetts), EUA.

³ Farmacêutica na Farmatec – São Paulo (SP), Brasil.

⁴ Preceptora do ambulatório especializado em cosmiatria da Universidade de Campinas (Unicamp) – Campinas (SP), Brasil.

⁵ Médica dermatologista – Caxias do Sul (RS), Brasil.

Correspondência para:

Célia Luiza Petersen Vitello Kalil
Rua Padre Chagas, 230 – Bairro Moinhos de Vento
90570-080 – Porto Alegre – RS
E-mail: clnicaceliakalil@via-rs.net

Data de recebimento: 25/06/2015

Data de aprovação: 22/09/2015

Trabalho realizado nos Departamentos de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre – Porto Alegre (RS); da Universidade de Jundiaí – Jundiaí (SP); e da Universidade de Campinas (Unicamp) – Campinas (SP), Brasil.

Suporte Financeiro: Todos os produtos de uso tópico utilizados durante o estudo foram fornecidos pela empresa Farmatec Farmácia de Manipulação Ltda., Porto Alegre (RS), Brasil.

Conflito de Interesses: Nenhum

INTRODUÇÃO

O envelhecimento da pele é o resultado das ações de fatores individuais geneticamente determinados e da ação de fatores externos, como tabagismo, poluição, radiação solar crônica, e outros adjuvantes, como estresse, uso de drogas, repercussão de doenças cutâneas e sistêmicas, e fatores hormonais.¹⁻³

A região anterior do tórax é área reveladora do envelhecimento da pele, já que é exposta ao sol e muitas vezes mantida sem tratamento algum.^{4,5} Existem poucos estudos publicados para o tratamento da pele dessa região. O envelhecimento da região anterior do tórax manifesta-se por flacidez muscular e cutânea, pigmentação difusa acastanhada e irregular, xerose, rítdes superficiais e profundas, efélides, poiquilodermia,^{6,7} hipomelanoses e lesões pré-neoplásicas e neoplásicas.^{8,9} Ademais, é sabido que o processo de cicatrização fica prejudicado, fazendo com que a reparação tecidual de injúrias espontâneas ou por procedimentos cirúrgicos nessa região seja mais lenta^{10,11} devido ao número reduzido de anexos.

Para corrigir essas alterações diversos procedimentos podem ser utilizados: *peelings* químicos, ácido hialurônico injetável, toxina botulínica, radiofrequência, radiação infravermelha, luz intensa pulsada, terapia fotodinâmica e *lasers* fracionados não ablativos e ablativos.^{12,13} Atualmente uma técnica promissora conhecida como microagulhamento é utilizada com sucesso para tratamento do envelhecimento cutâneo da face; não há, contudo, estudos que a tenham utilizado para rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax.^{14,15}

Além disso, podemos associar ao microagulhamento um procedimento que permite a entrega transdérmica de ativos selecionados (*drug delivery*), podendo otimizar os resultados desejados. Essa técnica utiliza o transporte de drogas através da pele tendo a vantagem de ser de fácil acesso, não invasiva, segura e efetiva. Entretanto, a aplicação clínica é limitada pelo estrato córneo, a principal barreira da pele. Devido a sua característica hidrofóbica e sua carga elétrica negativa, o transporte de moléculas hidrofílicas e ionizadas é um grande desafio.

Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a eficácia clínica e a segurança de uma nova e original abordagem para o tratamento da região da face anterior do tórax utilizando microagulhamento associado ao *drug delivery*.

MÉTODOS

Trata-se de estudo original, sem publicações similares, prospectivo, multicêntrico, comparativo, duplo-cego, randomizado por sorteio, e placebo controlado para avaliação da eficácia clínica de um produto teste aplicado na pele da região anterior do tórax em associação ao procedimento de microagulhamento. Sua realização ocorreu em dois centros de estudos de clínicas dermatológicas privadas em Porto Alegre (RS, Brasil) e em Jundiá (SP, Brasil) em 2014.

Foram incluídas 22 mulheres tratadas para rejuvenescimento da face anterior da pele do tórax com idade média de 55 anos, fototipo de Fitzpatrick de I a IV¹⁶ e escala de envelhecimento de Glogau 2 a 4.¹⁷ Os critérios de exclusão constam da quadro 1.

QUADRO 1: Critérios de Exclusão

Histórico prévio de cicatrizes hipertróficas e/ou queloidianas

Diabetes
Doença neuromuscular
Distúrbio hemorrágico
Doença vascular do colágeno
Corticoterapia aguda ou crônica
Terapêutica aguda ou crônica com anticoagulante
Presença de cânceres de pele
Verrugas na região do estudo
Ceratose solar na região do estudo
Infecção cutânea
Gravidez
Expectativa não realista sobre o estudo
Tratamento na região da face anterior do tórax menos de seis meses anterior ao início do estudo (feito com laser ablativo ou não ablativo, peeling profundo)
Uso de isotretinoína sistêmica inferior a três meses
História prévia de herpes na área tratada
História prévia de alergia a anestésicos, como lidocaína e/ou tetracaína

Foi realizada a avaliação dos resultados do tratamento antes (D0) e 30 dias após os três procedimentos mensais (D90) de microagulhamento com aplicação do produto teste ou placebo (D0, D30 e D60), segundo randomização por sorteio. O estudo foi realizado após assinatura do TCLE e segundo as diretrizes éticas da declaração de Helsinque.

O procedimento de microagulhamento foi realizado após aplicação de creme de anestésico tópico após demarcação da região (Figura 1).

O aparelho de microagulhamento utilizado no estudo foi um *roller* (Dr. Roller®, Moohan Enterprise, Coreia do Sul) composto de 192 microagulhas de aço cirúrgico de 0,07mm de espessura e 1,5mm de comprimento, registro Anvisa/MS: 80669600001, importado pela empresa MTO Importadora e Distribuidora Ltda., São Leopoldo (RS), Brasil. Para a realização do procedimento, o referido aparelho foi posicionado em uma das mãos, com o mínimo de pressão em ângulo de 45°, sobre a área a ser tratada, realizando-se movimentos de 10 passadas em

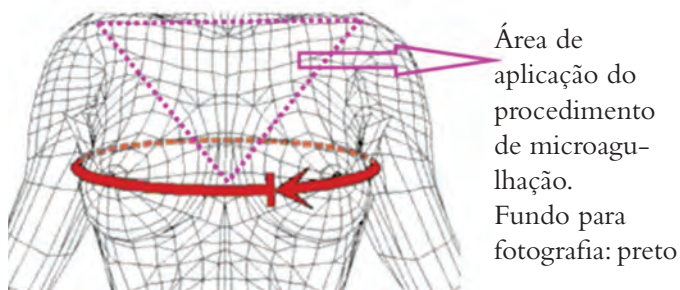


FIGURA 1: Demarcação da área de aplicação do microagulhamento

quatro direções: horizontal, vertical, diagonais direita e esquerda, causando microssufusões hemorrágicas de forma uniforme. Imediatamente após, foi realizada limpeza com gaze umedecida com água termal, aplicando-se então o produto teste ou o placebo. Essa aplicação foi orientada e realizada pelo técnico responsável pelo estudo no centro de investigação. Foram realizadas três sessões semelhantes com intervalo mensal (D0, D30, e D60).

O produto teste é uma formulação magistral composta de: Juvenile® 2%; Phytocelltec Malus Domestica® 0,5%; Cell to Cell® 2%; Homeostatine® 5%; Hyaluronic Acid 2,5%; e Sérum Anidro Fluido q.s.p. 30ml. A associação dessas substâncias de uso cosmético foi utilizada com os propósitos principais de aumentar o tempo de abertura dos poros e estimular a produção de colágeno e elastina contando com ação anti-inflamatória para evitar o desconforto durante a aplicação.

A partir do primeiro procedimento (D0), as pacientes foram orientadas a fazer aplicação domiciliar do mesmo produto, ou do placebo, com massagem suave com os dedos, até a completa absorção, uma vez ao dia, à noite, na região em tratamento, até as sessões e avaliações seguintes (D30, D60 e D90). Cada voluntária utilizou apenas um dos tratamentos até o final do estudo.

As avaliações realizadas foram: eficácia clínica (por meio de avaliação fotográfica do rejuvenescimento global da pele da região anterior do tórax de forma comparativa entre D0 e D90, feita por dermatologista sem o conhecimento de quais pacientes haviam aplicado a formulação teste ou placebo); avaliação subjetiva pela aplicação de questionários aos pacientes sobre a melhora dos seguintes fatores relacionados ao rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax: rugas, textura, luminosidade, maciez, tônus, firmeza e aparência geral. Foi feita também avaliação fotográfica digital pelo sistema Visia® (Canfield Imaging Systems, EUA), em alguns pacientes. A avaliação da segurança do procedimento e do produto aplicado foi realizada pela aceitabilidade e tolerância do paciente assim como para efeitos adversos observados.

Análise estatística da eficácia clínica

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e avaliados estatisticamente por análise do teste t de *Student*. Em todos os resultados foram adotados $p < 0,05$ como limite de significância. Os dados representam a média \pm EPM. * $P < 0,05$ vs. placebo dentro do mesmo grupo.

RESULTADOS

As 22 pacientes tratadas concluíram o estudo. O tempo de acompanhamento foi de três meses. Os resultados obtidos são descritos abaixo.

A avaliação da eficácia clínica demonstrou melhora significativa em 100% das pacientes tratadas. A análise estatística mostrou melhora de 28% no rejuvenescimento global da pele da região anterior do tórax ($p < 0,05$), com o uso do produto teste em comparação com o placebo, após três meses de tratamento (Gráfico 1).

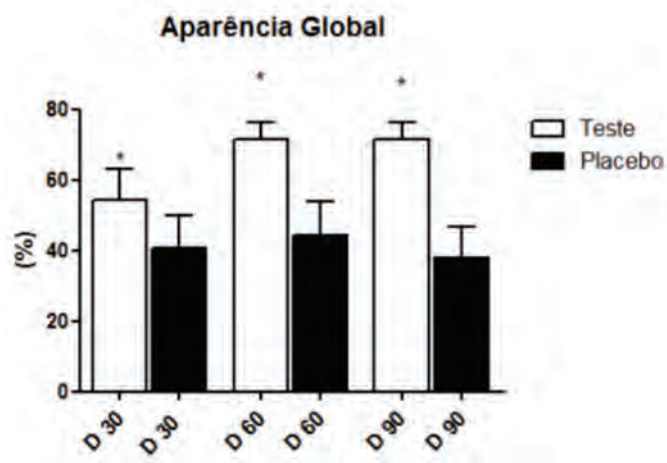


GRÁFICO 1: Avaliação estatística demonstrando comparativamente ao placebo a melhora clínica de 28% ($p \leq 0,05$) na aparência global da face anterior do tórax quando tratado com produto teste

A autoavaliação dos pacientes demonstrou melhora de 30% nos pacientes tratados com uso combinado do microagulhamento e produto teste nos aspectos textura da pele, suavidade e firmeza.

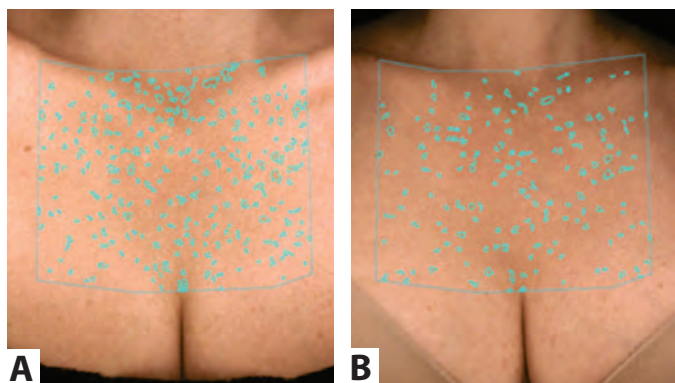
Foram realizadas fotografias de um grupo de pacientes com o equipamento Visia®, para estudo quantitativo e qualitativo comparativo da mesma região em D0 e D90 nos aspectos rugas e pigmentação. Apesar de não haver significância estatística entre os grupos, observou-se melhora clínica com o produto teste nos itens citados (Figuras 2 a 4). Não foram observados efeitos adversos nas pacientes tratadas.

DISCUSSÃO

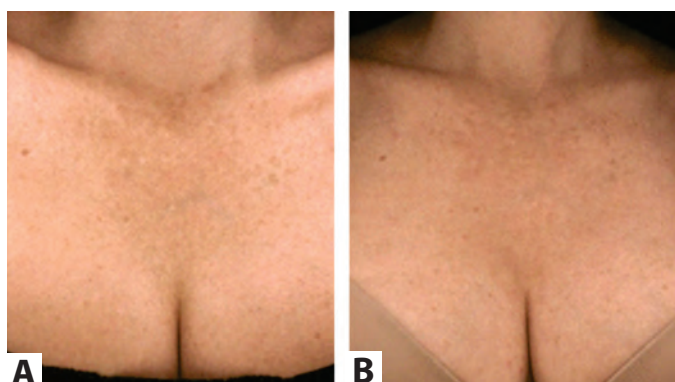
A pele apresenta excelente propriedade de barreira protegendo o organismo dos agentes físicos e químicos e assim é capaz também de restringir o acesso transdérmico de um grande número de drogas mesmo de baixo peso molecular ou lipofílicas.¹⁸ A aplicação tópica de compostos tem potencial para ser rota alternativa de administração acessível ao tecido de forma segura e ideal.^{19,20} O uso de técnicas que facilitam a permeação dos ativos aumenta seu potencial de ação.^{21,22} O uso combinado do microagulhamento com *drug delivery* mostra-se fundamental para os resultados positivos clínicos obtidos.

O microagulhamento tem sido descrito como técnica praticamente indolor, simples e de tecnologia minimamente invasiva.^{23,24} A aplicação do microagulhamento permite criação de um meio de transporte acessível de macromoléculas e outras substâncias hidrofílicas para a pele.²⁵ Assim, o microagulhamento é ferramenta fundamental para que o produto utilizado no estudo possa agir na derme em quantidade essencial e necessária para os resultados obtidos de maneira eficaz e rápida com apenas três sessões de tratamento.

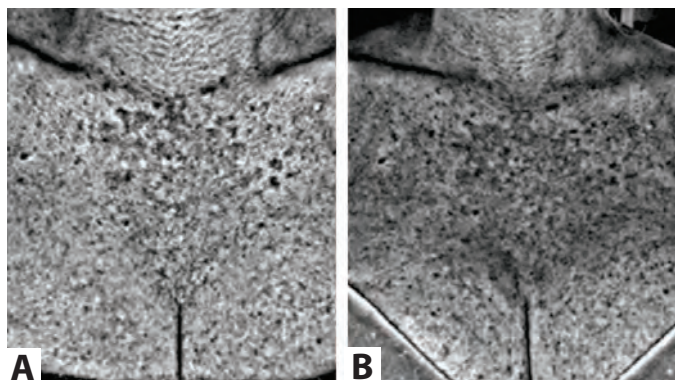
A técnica promove a ruptura do estrato córneo, e isto é comprovado microscopicamente pela visualização dos canais



Figuras 2 A e B: Pré-tratamento e pós-tratamento (90 dias) com o produto teste. Fotos realizadas com o equipamento Visia®



FIGURAS 3 A e B: Pré-tratamento e pós-tratamento: avaliação, mediante equipamento Visia®, das rugas tratadas com produto teste



FIGURAS 4 A e B: Pré-tratamento e pós-tratamento, avaliação pelo equipamento Visia® das manchas tratadas com o produto teste

e aumento da perda de água transepidermal (*transepidermal water loss - TEWL*).^{26,27} Consequentemente tem-se aumento na permeação de moléculas hidrofílicas e macromoléculas das formulações aplicadas depois das perfurações pelo microagulhamento.^{28,29} Assim, o comprimento das agulhas foi suficiente para perfurar as camadas mais superficiais da epiderme e curto o bastante para não excitar as terminações nervosas na

pele, com boa tolerabilidade e aceitação pelo paciente. Todas as pacientes do estudo mantiveram o tratamento até o final.

São poucos os recursos terapêuticos descritos para o tratamento do rejuvenescimento global da pele da região anterior do tórax. Conforme Peterson et al.,³⁰ as principais técnicas descritas na literatura são o uso do ácido polilático e ácido hialurônico injetáveis, toxina botulínica, escleroterapia, *peelings* químicos e, mais recentemente, lasers e terapias com luz, como a luz intensa pulsada (LIP), terapia fotodinâmica (PDT), lasers fracionados não ablativos e ablativos. São opções minimamente invasivas para o rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax, bem toleradas pelos pacientes e com baixa incidência de efeitos colaterais. Entretanto, o uso do laser fracionado ablativo pode aumentar o tempo de recuperação, visto que a pele da epiderme e derme é mais fina e com menores concentrações de unidades pilosebáceas. Dessa maneira, alguns desses procedimentos, se não realizados com critério, podem acarretar alterações cicatriciais e hiperpigmentares no local. Conforme os resultados obtidos em nosso estudo, o microagulhamento parece ser técnica mais segura e menos invasiva para o tratamento da face anterior do tórax do que esse laser; visamos realizar nova e original abordagem para o tratamento da pele da região anterior do tórax utilizando a técnica do microagulhamento mais *drug-delivery*.

A escolha dos componentes da formulação e características das substâncias usadas no *drug delivery* podem influenciar a permeação e o grau de irritação da pele. O uso de ácido hialurônico, por exemplo, tem sido indicado para aumentar o tempo de abertura do poro.³¹ Sistemas de liberação controlada podem ajudar no aumento da profundidade alcançada pelos ativos, como os lipossomas, que aumentam a concentração biodisponível do ativo que atravessa o estrato córneo para maior biodisponibilidade na pele.^{32,33} A escolha do veículo ideal para a formulação também é outro fator determinante para o bom desempenho.^{28,31} O sêrum anidro fluido é seguro e eficaz, sem causar ardência ou qualquer desconforto ao paciente no momento da aplicação, possuindo também a vantagem de formar um filme sobre a pele fazendo a oclusão de extrema importância por aumentar consideravelmente o tempo de abertura dos poros e reduzir a TEWL.

Nosso estudo buscou a utilização de um produto tópico que facilitasse a permeação de uma forma segura e que permitisse associar ativos para rejuvenescimento que fossem determinantes para os resultados positivos obtidos com o tratamento combinado.

Os ativos utilizados na formulação teste deste estudo alcançaram o objetivo principal do rejuvenescimento global da pele da região anterior do tórax. Os ativos utilizados evitam a quebra das fibras de colágeno; têm ação anti-inflamatória e inibem metaloproteínas (MMPs), ativam o metabolismo cutâneo celular.^{34,35} Além disso, o conjunto de ativos utilizados – Cell to Cell®, Juvenile®, Células-tronco da maçã e Homeostatine® – confere à formulação sinergia de ação, sem sinais de irritação ou ardor na pele, mesmo imediatamente após o procedimento.³⁶

A manutenção domiciliar com uso da fórmula teste no pós-procedimento foi fundamental para a melhora da

cicatrização, hidratação e menor perda de água transepidermica, com melhores respostas clínicas.

Durante o estudo observamos alterações importantes na melhora progressiva da área tratada da pele da região anterior do tórax – as diferenças nos resultados das pacientes tornaram-se evidentes a partir de 60 dias de tratamento –, na concordância com a avaliação subjetiva e clínica, e na análise estatística, que demonstrou melhora significativa de 28% entre o pré-tratamento e 90 dias após.

Este trabalho pode demonstrar que o uso de formulações no procedimento e após não só potencializa o resultado da técnica, mas também minimiza o potencial de efeitos adversos, como as alterações pigmentares. Após a avaliação estatística, pode-se demonstrar a veracidade dos dados subjetivos com a melhora significativa das pacientes tratadas com o produto teste em relação ao placebo.

O estudo multicêntrico utilizou amostra-padrão e de maior similaridade possível ao tipo de paciente de rotina no consultório dermatológico. Além disso, uma amostra coesa está associada à resposta comparativa adequada dos dados, e assim pode-se referir que os dados encontrados são devidos à eficiência dos ativos e não às respostas individualizadas. A técnica de

microagulhamento é considerada segura para qualquer fototipo (em especial fototipos mais altos).

Nossos achados demonstram a melhora clínica global do rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax com associação de técnicas de microagulhamento e *drug-delivery*. Contudo, mais estudos são necessários para estimar a melhora histológica com a aplicação da técnica.

CONCLUSÃO

A técnica de microagulhamento é bastante consagrada e segura, mas, para se obter resultado em grau de rejuvenescimento global avançado, é necessária a adição dos ativos específicos para *drug delivery*. Assim, podemos inferir que a técnica combinada de microagulhamento e *drug delivery* para rejuvenescimento da pele da região anterior do tórax promoveu melhora significativa na aparência global, demonstrando-se procedimento bem tolerado, com mínimos efeitos adversos e alto índice de satisfação das pacientes.

Além disso, são escassos os trabalhos científicos publicados sobre esse tipo de tratamento. Trata-se, pois, de estudo inovador e original. ●

REFERÊNCIAS

1. Beynet D, Neuhaus IM, Yu SS. Abordagem do paciente estético. In: Alam M, Gladstone HB, tung RC. *Dermatologia Cosmética*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2010. p.1-6.
2. Addor FAZ. Abordagem nutricional do envelhecimento cutâneo: correlação entre os efeitos em fibroblastos e os resultados clínicos. *Surg Cosmet dermatol* 2011;3(1):13-6.
3. Montagner S, Costa A. Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. *Ann Bras Dermatol* 2009; 84(3):263-9.
4. Montagna W, Carlisle K. Structural changes in aging skin. *Br J Dermatol* 1990;122s;(35): 61-72.
5. Lessa S, Nanei M, Flores E. Histologic study of the structural changes in fine palpebral skin following selective photothermolysis with CO2 laser. *Aesthetic Plast Surg* 2009; 33(1):66-71.
6. Bernstein EF. Aging skin: intrinsic aging and chronic photoaging. In: *Lasers and non Surgical Rejuvenation*. DibernardoEB, Pozner JN. Elsevier; 2009. p:1-9.
7. Do Nascimento LV. Tipos de envelhecimento. In: Kede MPV, Sabatovich O. *Dermatologia Estética*. São Paulo: segunda edição, Atheneu, 2009. p.53-6.
8. Kadunc BV. Cirurgia dermatológica. In: Azulay RD, Azulay DR, Abulafia LA, editores. *dermatologia*. rio de janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.773-7.
9. Bezerra SMC, Lima EA, Jardim MML. Eletrocirurgia. In: *Tratado de cirurgia dermatologica, cosmiatria e laser da sociedade brasileira de dermatologia*. Rio de janeiro: Elsevier; 2013. p.535-40.
10. Papaléo Netto M, Pontes JR. Envelhecimento: desafio na transição do século. In: Papaléo Netto M. *Gerontologia*. São Paulo, Atheneu, 1996.
11. Abulafia LA, Montagner S, Costa A. Envelhecimento cutâneo: bases fisiopatológicas. In: Kadunc B, Palermo E, Addor F, Metsavaht L. *Tratado de cirurgia dermatológica, cosmiatria e laser da Sociedade Brasileira de dermatologia*; Ed Elsevier; 2013. p:237-40.
12. Reilly MJ, Cohen M, Hokugo A, Keller GS. Molecular Effects of Fractional Carbon Dioxide Laser Resurfacing on Photodamaged Human Skin. *Arch Facial Plast Surg*. 2010;12(5):321-5.
13. Gabay MA, Curi MP. Peelings e procedimentos combinados para o rejuvenescimento do pescoço e do face anterior do tórax. In: Mateus A, Palermo E. *Cosmiatria e laser*: Editora Gen; 2012. p:193-205.
14. Hoesly FJ, Borovicka J, Gordon J, Nardone B, Holbrook JS, Pace N, Ibrahim O, et al. Safety of a novel microneedle device applied to facial skin. *Arch Dermatol* 2012; 148(6): 711-17.
15. Wermeling DP, Banks SL, Hudson DA. Et al. Microneedles permit transdermal delivery of skin-impermeant medication to humans. *PNAS*; 2008;12(105): 2058-63.
16. Glogau RG. Aesthetic and anatomic analysis of the aging skin. *Semin Cutan Med Surg*. 1996;15(3):134-8.
17. Fitzpatrick TB. Editorial: the validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1998;124(6):869-71.
18. Li G, Badkar A, Kalluri H, Banga AK. Microchannels Created by Sugar and Metal Microneedles: Characterization by Microscopy, Macromolecular Flux and Other Techniques. *J Pharm Sci*. 2010;99(4):1931-43.
19. Aust MC, Fernandes D, Kolokythas P, Kaplan HM, Vogt PM. Percutaneous collagen induction therapy: an alternative treatment for scars, wrinkles, and skin laxity. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121(4):1421-9.
20. Kumar R, Philip A. Modified transdermal technologies: Breaking the barriers of drug permeation via the skin. *Trop J Pharm Res*. 6(1):633-44.
21. Brogden NK, Milewski M, Ghosh P, Hardi L, Crofford I J, Stinchcomb A. Diclofenac delays micropore closure following microneedle treatment in human subjects. *J Control Release*. 2002;163(2):220-9.
22. Luo S, Zheng Y, Ni H, Liu, Y, Liu Y, Li X, et al. Effects of topical application of growth factors followed by microneedle therapy in women with female pattern hair loss: a pilot study. *J Dermatol*. 2012; 40(1): 81-3.
23. Benson HA, Namjoshi S. Proteins and peptides: Strategies for delivery to and across the skin. *J Pharm Sci*. 2008; 97(9):3591-610.
24. Al-Qallaf B, Das DB. Optimizing Microneedle Arrays to Increase Skin Permeability for Transdermal Drug Delivery. *Ann New York Acad Sci*. 2009; 1161: 83-94.
25. Schuetz YB, Naik A, Guy RH, Kalia YN. Emerging strategies for the transdermal delivery of peptide and protein drugs. *Expert Opin Drug Deliv*. 2005 2(3):533-48.
26. Harvinder S. Gill, Mark R. Prausnitz. Coated microneedles for transdermal delivery. *J Control Release*. 2007;117(2): 227-37.
27. Gill HS, Prausnitz MR. Pocketed Microneedles for Drug Delivery to the skin. *J Phys Chem Solids*. 2008; 69(5-6): 1537-41.
28. Paudel K S, Milewski M, Swadley C L, Brogden N K, Ghos, P, Stinchcom, A L. Challenges and opportunities in dermal/ transdermal delivery. *Ther Deliv*. 2011;1(1):109-131.
29. Gupta J, Gill HS, Andrews SN, Prausnitz MR. Kinetics of Skin Resealing After Insertion of Microneedles in Human Subjects. *J Control Release*. 2011; 154(2):148-55.
30. Petersen J D, Goldman M P. Rejuvenation of the Aging Chest: A review and our experience. *Dermatol Surg*. 2011; 37(5): 555-71.
31. Donnelly RF, Singh TR, Garland MJ, Migalska K, Majithiya R, McCrudden CM. Hydrogel- Forming Microneedle Arrays for Enhanced Transdermal Drug Delivery. *Adv Funct Mater*. 2012;22(23): 4879-90.
32. Barrak Al-Qallaf, Diganta Bhusan Das. Optimizing Microneedle Arrays to Increase Skin Permeability for Transdermal Drug Delivery. *Interdisciplinary Transport Phenomena: Ann N.Y. Acad Sci*. 2009; 1161(1):83-94.
33. Mark R. Prausnitz. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2004;56(5):581-7.
34. Badran, M M, Kuntsche, J, Fahr, A. Skin penetration enhancement by a microneedle device (Dermaroller®) in vitro: dependency on needle size and applied formulation. *Eur J Pharm Sci*. 2009;36(4-5):511-23.
35. Fabbrocini G, De Vita V, Fardella N, Pastore F, Annunziata MC, Mauriello MC, et al. Skin Needling to Enhance Depigmenting Serum Penetration in the Treatment of melasma. *Plast Surg Int*. 2011;2011:158241.
36. McAllister, D V, Ping, M W, Davis, S P, Park, J-H, Canatella, P J, Allen, M G, Prausnitz, M R. Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: fabrication methods and transport studies. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(24):13755-60.