

Catarina Robert

**“Análise comparativa entre terapia fotodinâmica
com ácido 5-aminolevulínico *versus* crioterapia no
tratamento da queratose actínica – estudo
prospectivo randomizado.”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Médica da Faculdade de Medicina da UNESP – Botucatu, para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. René Aloísio da Costa Vieira

Botucatu – SP

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Robert, Catarina.

Análise comparativa entre terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico *versus* crioterapia no tratamento da queratose actínica : estudo prospectivo randomizado / Catarina Robert. – Botucatu : [s.n.], 2012

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

Orientador: René Aloísio da Costa Vieira

Capes: 40101029

1. Pele – Doenças. 2. Crioterapia. 3. Fotoquimioterapia.

Palavras-chave: Ácido 5-aminolevulínico; ALA; Crioterapia; Dimetilsulfóxido; Queratose actínica; Terapia fotodinâmica.

Dedicatória

Dedico esta dissertação aos meus pais, Letícia Marcondes Rezende e Euclides Robert Filho, que me ensinaram desde cedo a olhar o mundo com curiosidade científica.

Dedico também ao meu companheiro Luiz Felipe Nasser Carvalho, pela presença, paciência e carinho durante esta jornada

E, por último dedico à Nina, companheirinha de toda hora, cuja presença e alegria suavizou meu cansaço.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a algumas pessoas importantíssimas, sem as quais essa pesquisa não teria logrado êxito com a qualidade e ética almejadas:

Ao Prof. Dr. René Aloísio da Costa Vieira, ao Prof. Dr. André Lopes Carvalho, e à Prof^a. Dr^a. Fernanda Scarmato De Rosa, pelas profícuas discussões, que nortearam e lapidaram o caminho do projeto de pesquisa, da coleta dos dados, e da dissertação em si.

Aos médicos do Departamento de Oncologia Cutânea e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Dr Cleyton Dias de Souza, Dr Domingos Boldrini Júnior, Dr Carlos Roberto dos Santos, Dr Renato de Castro Capuzzo, e novamente ao Dr André Lopes Carvalho, pelo empenho na alocação dos pacientes.

Às auxiliares de enfermagem do Departamento de Oncologia Cutânea e Cirurgia de Cabeça e Pescoço Roselei Aparecida Baptista, Nely Aparecida da Silva e Cintia Regina Ceribelli, pelo auxílio durante as avaliações clínicas.

Ao pessoal do laboratório de biologia molecular, que formulou o creme de 5-ALA com profissionalismo e dedicação, Marcos Vilela, Maicon Zanon, e novamente à Prof^a. Dr^a., e amiga, Fernanda Scarmato De Rosa

À equipe do Departamento de Pequenas Cirurgias Enf^a Beatriz Adriana Freitas, e auxiliares de enfermagem Eliana de Jesus Ramos, Carmem Martins Silva Marques, Marco Antônio Bispo, Maria Auxiliadora Casimiro Hoft, Mariana Pereira Teixeira, Marli Aparecida da Silva Gonsalves, Iara Cristina Costa, Francine Roberta Pereira e Milene Cristina Melo, pela organização durante as fototerapias e biópsias

À equipe do Núcleo de Apoio ao Pesquisador (NAP): ao Dr. José Humberto Tavares Guerreiro Fregnani pelo cuidado ético e científico com que acompanhou o desenrolar da pesquisa; aos enfermeiros e funcionárias Ligia Zampieri de Brito, Julio Cesar de Souza, Livia Hostalacio Mega, Livia Loami Ruyz Jorge de Paula e Tauani Zampieri Fermino, pelo auxílio inestimável nas avaliações clínicas; à Allini Mafra da Costa, pela organização e tabulação dos dados; e a Cleyton Zanardo de Oliveira pelas horas infindáveis de consultoria durante a análise estatística.

Aos médicos do Departamento de Patologia, especialmente o Dr Cristovan Scapulatempo Neto e o Dr. Cristiano Ribeiro Viana, pela agilidade na avaliação das biópsias e pelas fotografias da histologia.

Resumo

A queratose actínica (QA) é uma lesão cutânea de importância na saúde pública pelo seu potencial de malignização para carcinoma espinocelular. Há diversas terapias estabelecidas, sendo a crioterapia o tratamento de referência. A terapia fotodinâmica (TFD) com precursores tópicos de protoporfirina IX (PpIX): o ácido 5-aminolevulínico (ALA) ou o metiléster do ácido 5-aminolevulínico (MAL) vêm destacando-se na prática clínica como tratamento de primeira linha. O número de estudos prospectivos controlados comparando o TFD com o ALA na queratose actínica é limitado, e os critérios de avaliação não são uniformes. Este estudo visa comparar a eficácia, dor, resultado estético e preferência do paciente entre as técnicas de crioterapia e TFD com ALA no tratamento da queratose actínica. Foi delineado um ensaio clínico fase III prospectivo, randomizado, aberto, controlado intra indivíduo. Queratoses semelhantes, uma em cada braço de cada indivíduo, foram randomizadas e tratadas, sem curetagem prévia, com crioterapia, ou com TFD com ALA associado a dimetilsulfóxido (DMSO). Após quatro meses, as lesões, se residuais, tiveram seu tratamento inicial repetido. A dor foi avaliada através de escala visual analógica (EVA) e escala numérica (EN), aos zero e quinze minutos pós- tratamento (na primeira e, se necessário, na segunda consulta). No oitavo mês (terceira consulta), foram avaliados eficácia, resultado estético subjetivo do ponto de vista do paciente e do pesquisador, resultado estético objetivo, e preferência do paciente pela técnica. Ao fim, as lesões residuais foram biopsiadas. Foram analisadas 248 lesões em 124 pacientes. A eficácia encontrada foi de 48,4% para TFD com ALA contra 96,8% para a crioterapia ($p < 0,001$). A dor, aos quinze minutos pós-tratamento, foi de maior intensidade para a TFD (25 EVA e 28 numérica) do que para a crioterapia (18 EVA e 20 numérica) na primeira sessão ($p < 0,001$), padrão esse repetido na segunda sessão: TFD (21 EVA e 23 numérica) e crioterapia (5 EVA e 5 numérica) ($p < 0,05$). Em relação à avaliação estética subjetiva, a crioterapia obteve 82,8% de resultados bons/ ótimos do pesquisador e 94,8% do paciente, enquanto que a TFD obteve 94,8% de resultados bons/ ótimos do pesquisador e 100% do paciente ($p > 0,05$). A avaliação objetiva evidenciou uma incidência de hipocromia de 24% para a crioterapia contra 3,4% para a TFD ($p = 0,002$); e apenas 50% das lesões submetidas à crioterapia contra 82,8% das lesões submetidas à TFD cicatrizaram sem alteração estética alguma ($p < 0,001$). Em termos de preferência, 53,4% dos pacientes preferiram crioterapia enquanto que 46,6% preferiram TFD. Concluindo, a

crioterapia mostrou-se mais eficaz e menos dolorosa que a TFD com ALA no tratamento da queratose actínica, no entanto causou maior taxa de alteração estética objetiva e hipocromia. A avaliação estética subjetiva e a preferência final do paciente foram estatisticamente iguais para as duas técnicas.

Palavras chave: Ácido 5-aminolevulínico, ALA, Crioterapia, Dimetilsulfóxido, Queratose actínica, Terapia fotodinâmica.

Abstract

Actinic keratosis (AK) is a skin lesion relevant in public health for its potential for malignant transformation to squamous cell carcinoma. There are several established therapies, cryotherapy being the benchmark treatment for the disease. Photodynamic therapy (PDT) with topical precursors of protoporphyrin IX (PpIX): 5-aminolevulinic acid (ALA) or 5-aminolevulinic acid methylester (MAL) has also gained importance in clinical practice as a first-line treatment. The number of prospective controlled studies comparing cryotherapy *versus* ALA PDT in actinic keratosis is limited, and evaluation criteria are not uniform. The present study aims at comparing the efficacy, pain, cosmetic results and patient's preference resulting from cryotherapy with those resulting from ALA PDT techniques, employing for this a phase III, prospective, randomized, open, and intra patient controlled clinical trial. Similar keratosis, one on each arm of each patient, were randomized and treated, without prior curettage, with either cryotherapy, or ALA PDT associated with dimethylsulfoxide (DMSO). Four months later, any residual queratosis was treated once again. Patient's pain was assessed through a visual analog scale (VAS) as well as a numeric scale (EN) at zero and fifteen minutes after treatment (in the first, and second treatment session if necessary). Eight months after the beginning the following aspects were evaluated: effectiveness, aesthetic results from the patients' and from the investigator's subjective standpoints, objectively evaluated aesthetic results (*i.e.* hyperemia, hypochromia, hyperpigmentation, scar retraction), and patient preference for each technique. At the end, the residual lesions were biopsied. In total, 248 lesions in 124 patients were analyzed. The effectiveness for ALA PDT was found to be of 48.4% against 96,8% for cryotherapy ($p < 0.001$). Pain, as measured fifteen minutes after the treatment, was more intense for PDT (25 VAS and 28 numeric) than for cryotherapy (18 VAS and 20 numeric) ($p < 0.001$) in the first session, with the similar pattern being repeated in the second session: PDT (21 VAS and 23 numerical) and cryotherapy (5 VAS and 5 numerical) ($p < 0.05$). Regarding the subjective aesthetic assesment, cryotherapy was judged good/ excellent by the researcher in 82.8% of the cases and 94.8% by the patients, whereas PDT was judged good/ excellent by the researcher in 94.8% of the cases and 100% by the patients ($p > 0.05$). The objective aesthetic assessment revealed an incidence of hypochromia of 24% for cryotherapy *versus* 3.4% for PDT ($p = 0.002$), and only 50% of lesions subjected to cryotherapy healed without aesthetic damages against 82.8% of lesions subjected to PDT (p

< 0.001). In terms of patient's final preference, 53.4% indicated preferring cryotherapy while 46.6% indicated preferring PDT. In sum, cryotherapy was more effective and less painful than ALA PDT in actinic keratosis treatment, but had a greater incidence of objective aesthetic damage as well as hypochromia. Assessment of subjective aesthetic outcomes and final patient's preference was statistically similar for both techniques.

Keywords: Actinic keratosis, ALA, Cryotherapy, Dimethylsulfoxide, 5-aminolevulinic acid, Photodynamic therapy.

Lista de ilustrações e gráficos

Figura 1	Fototipos de pele	3
Figura 2	Aspectos histológicos.....	4
Figura 3	Crioterapia com spray de nitrogênio líquido.....	7
Figura 4	Lesão em antebraço sendo submetida a terapia fotodinâmica.....	8
Figura 5	O ciclo do heme.....	10
Figura 6	Material utilizado na crioterapia.....	23
Figura 7	Material utilizado na TFD.....	24
Figura 8	Escalas de mensuração de dor.....	25
Figura 9	Escolha de lesões simétricas.....	27
Figura 10	Resumo esquemático do estudo.....	28
Figura 11	Método de aplicação da crioterapia.....	29
Figura 12	Método de aplicação da TFD com ALA.....	30
Figura 13	Hiperemia.....	31
Figura 14	Hipocromia.....	32
Figura 15	Hipercromia.....	32
Figura 16	Retração cicatricial.....	33
Figura 17	Evolução sem sequela.....	33
Figura 18	Fluxo de seguimento de pacientes - CONSORT 2010.....	37
Gráfico 1	Distribuição amostral de áreas iniciais das queratoses.....	39
Gráfico 2	Intervalo de foto oclusão	40

Lista de tabelas

Tabela 1	Principais ensaios clínicos	19
Tabela 2	Variáveis relacionadas ao paciente.....	38
Tabela 3	Comparação de eficácia entre as técnicas, de acordo com o grau clínico.....	41
Tabela 4	Intensidade de dor – comparação entre técnicas.....	42
Tabela 5	Comparação dolorosa entre primeira e segunda sessão.....	42
Tabela 6	Avaliação estética subjetiva.....	43
Tabela 7	Avaliação estética objetiva.....	44
Tabela 8	Comparação da preferência do paciente entre as técnicas.....	44
Tabela 9	Histologia da lesões residuais biopsiadas.....	45
Tabela 10	Distribuição da queratose por graus, nos principais estudos.....	49
Tabela 11	Eficácia total da crioterapia e da TFD nos principais estudos.....	50
Tabela 12	Eficácia por graus de queratose.....	53
Tabela 13	Comparação da avaliação estética subjetiva entre os principais ensaios clínicos e o estudo atual.....	62
Tabela 14	Comparação da avaliação estética objetiva entre os principais ensaios clínicos e o estudo atual.....	63

Lista de abreviaturas e siglas

ALA = ácido 5-aminolevilínico

CEC = carcinoma espinocelular

CEP = comitê de ética em pesquisa

DMSO = dimetilsulfóxido

DP = desvio-padrão

EN = escala numérica (de dor)

EVA = escala visual analógica (para dor)

FDA= Food and Drug Administration (Orgão federal norte-americano para controle de novas drogas)

HE = corantes histológicos hematoxilina/eosina

MAL = metiléster do ácido 5-aminolevulínico

LED = light emitting diode

PVC = cloreto de polivinila

PDT = photodynamic therapy

PpIX = protoporfirina IX

TFD = terapia fotodinâmica

UV = ultravioleta

UV B = radiação ultravioleta do tipo B

Lista de símbolos

Cm = centímetro

cm² = centímetro quadrado

λ = comprimento de onda

n = espaço amostral

h = hora

J = joule

> = maior que

® = marca registrada

< = menor que

ml = mililitro

mW = miliwatt

min = minuto

nm = nanômetro

p = nível de significância

π = Pi (constante matemática com valor aproximado de 3,14)

% = por cento

r = raio (de circunferência)

Sumário

Resumo	V
Abstract	VII
Lista de figuras e gráficos.....	IX
Lista de tabelas	X
Abreviaturas e siglas.....	XI
Lista de símbolos.....	XII
1. Introdução	1
1.1 Queratose actínica	2
1.2 Tratamentos para queratose actínica.....	4
1.2.1 Imunomoduladores.....	5
1.2.2 Quimioterápicos tópicos	5
1.2.3 Anti-inflamatórios não hormonais.....	6
1.2.4 Crioterapia.....	6
1.2.5 Terapia fotodinâmica.....	7
1.2.5.1 Mecanismos de ação.....	8
1.2.5.2 Apoptose induzida pelo 5- ALA tópico.....	8
1.2.5.3 Otimização do tratamento.....	10
1.2.5.3.1 Dimetisulfóxido.....	11
1.2.5.3.2 Ácido etileno-diaminotetraacético	11
1.2.5.3.3 Curetagem.....	11
1.2.5.4 Fontes de luz	12
1.2.5.4.1 Tipos de fonte de luz.....	12
1.2.5.4.2 Dose total.....	13
1.2.5.4.3 Taxa de fluência.....	13
1.3 Ensaios clínicos entre os métodos de tratamento da queratose actínica.....	14
2 Objetivos.....	20
3 Material e métodos.....	22
3.1 Material.....	23
3.1.1 Material para crioterapia.....	23
3.1.2 Material para terapia fotodinâmica.....	23
3.1.3 Arquivos digitais.....	24

3.1.4 Escalas de dor.....	25
3.2 Métodos.....	26
3.2.1 Delineamento do estudo.....	26
3.2.2 Técnica de crioterapia.....	29
3.2.3 Técnica de terapia fotodinâmica.....	29
3.2.4 Parâmetros.....	30
3.2.4.1 Eficácia.....	30
3.2.4.2 Dor.....	31
3.2.4.3 Estética.....	31
3.2.4.4 Preferência do paciente.....	34
3.2.5 Análise estatística.....	34
4 Resultados.....	35
4.1 Fluxo de pacientes.....	36
4.2 Variáveis relacionadas ao paciente.....	37
4.3 Variáveis relacionadas à lesão.....	38
4.3.1 Intervalo de foto-oclusão.....	39
4.4 Resultados do tratamento.....	40
4.4.1 Eficácia.....	40
4.4.2 Dor.....	41
4.4.3 Avaliação estética.....	43
4.4.4 Técnica preferida.....	44
4.4.5 Biópsias.....	45
5 Discussão.....	46
5.1 Fatores relacionados ao paciente.....	47
5.1.1 Idade dos pacientes.....	47
5.1.2 Gênero da população estudada.....	47
5.1.3 Nível de escolaridade e socioeconômico	48
5.1.4 Fototipo de pele.....	48
5.2 Fatores relacionados à lesão.....	49
5.2.1 Distribuição das queratoses por grau.....	49
5.3 Eficácia.....	49
5.3.1 Eficácia total da TFD e crioterapia.....	49
5.3.2 Eficácia por tamanho das lesões.....	52

5.3.3 Eficácia por graus de queratose.....	53
5.3.4 Eficácia por sítio anatômico	54
5.3.5 Eficácia em relação à curetagem.....	54
5.3.6 Influência do dimetilsulfóxido na eficácia	56
5.3.7 Proporção de lesões com diagnóstico clínico errado de queratose e sua influência sobre a eficácia.....	57
5.3.8 Parâmetros da luz e foto-oclusão influenciando na eficácia.....	57
5.4 Dor.....	59
5.5 Avaliação estética.....	61
5.5.1 Avaliação estética subjetiva do paciente e do pesquisador.....	61
5.5.2 Avaliação estética objetiva	62
5.6 Preferência de técnica.....	63
6 Conclusão.....	64
Apêndices.....	66
Anexos.....	73
Referências bibliográficas.....	78

Introdução

1 Introdução

1.1 Queratose actínica

Nos Estados Unidos, a queratose actínica corresponde à terceira causa (11,5%) de consultas dermatológicas, tem prevalência de 11 a 26% da população geral, e tem uma incidência de 19% ao ano na população acima de 40 anos sem queratoses prévias, fato que sobe para 60% ao ano na população que já possui alguma queratose prévia (86). Na Austrália, ela está presente em 45% da população acima de 40 anos (66), e na Europa tem prevalência de 15% em homens e de 6% em mulheres (86).

No Brasil, corresponde à quarta causa das consultas dermatológicas, com 5,1% das consultas, e, se for considerada a população acima de 65 anos, é a primeira causa, com 17% das consultas dermatológicas (19). Os poucos dados sobre prevalência na população brasileira são de 13,4% numa subpopulação de nipo-brasileiros (49).

A queratose actínica é uma lesão cutânea induzida por exposição solar crônica, que clinicamente pode se apresentar de aspecto eritematodescamativo até francamente queratótica. Alguns autores a consideram como uma lesão pré-maligna (10) (99), enquanto outros já a consideram uma neoplasia maligna intraepitelial (103) (82) (48).

A taxa de malignização da queratose actínica para o carcinoma espinocelular é variável, sendo descritas taxas de 6 a 10% em 10 anos (22), 20% em 10 anos (83), 14% em 5 anos para indivíduos com mais de 10 queratoses prévias (73), 10% ao ano para imunocompetentes e 40% ao ano para imunocomprometidos (40). Por outro lado, Marks também descreve que há uma taxa de remissão espontânea da lesão de 26% (65).

Os fatores de risco que aumentam a chance de aparecimento de queratose actínica são os mesmos que influenciam no aparecimento do carcinoma espinocelular. Podem ser divididos em:

-Fatores relacionados à exposição crônica e cumulativa à radiação ultravioleta (principalmente a irradiação UV B), como idade avançada (tempo acumulado de exposição), sexo masculino (mais atividades abertas, principalmente nas primeiras décadas de vida), atividades ocupacionais e recreativas abertas, cultura (roupas e hábitos), latitudes baixas e áreas de diminuição da camada de ozônio (maior taxa de irradiação solar).

-Fatores inerentes a sensibilidade pessoal, como fototipo de pele (30), susceptibilidade genética, mutações gênicas (como do gene supressor de tumor P53 (70, 105)), e presença de queratoses prévias.

Fitzpatrick, em 1988 (30), publicou uma classificação de fototipos de pele em função da tendência pessoal à queimadura ou bronzeamento após exposição solar aguda, organizados de I a VI. Nesta classificação, quanto maior o grau, mais a pele está protegida pela melanina contra os danos solares. Assim os pacientes mais predispostos a lesões actínicas são aqueles com “Fitzpatrick” I, II e III (99). Os exemplos dos fototipos de Fitzpatrick são mostrados na Figura 1, e distribuídos em:

- Tipo I: Pele que sempre queima e nunca bronzeia (pele branca, pacientes ruivos, ou louros, de olhos claros ou não, geralmente nórdicos, germânicos).
- Tipo II: Pele que quase sempre queima e raramente bronzeia (pele branca, cabelos louros ou não, olhos escuros ou não, caucasianos).
- Tipo III: Pele que geralmente queima (pele branca, hispânicos, latinos)
- Tipo IV: Pele que geralmente bronzeia (pele branca, asiáticos, hispânicos, latinos).
- Tipo V: pele que quase sempre bronzeia e raramente queima (morenos e mulatos).
- Tipo VI: pele que sempre bronzeia e nunca queima (negros).

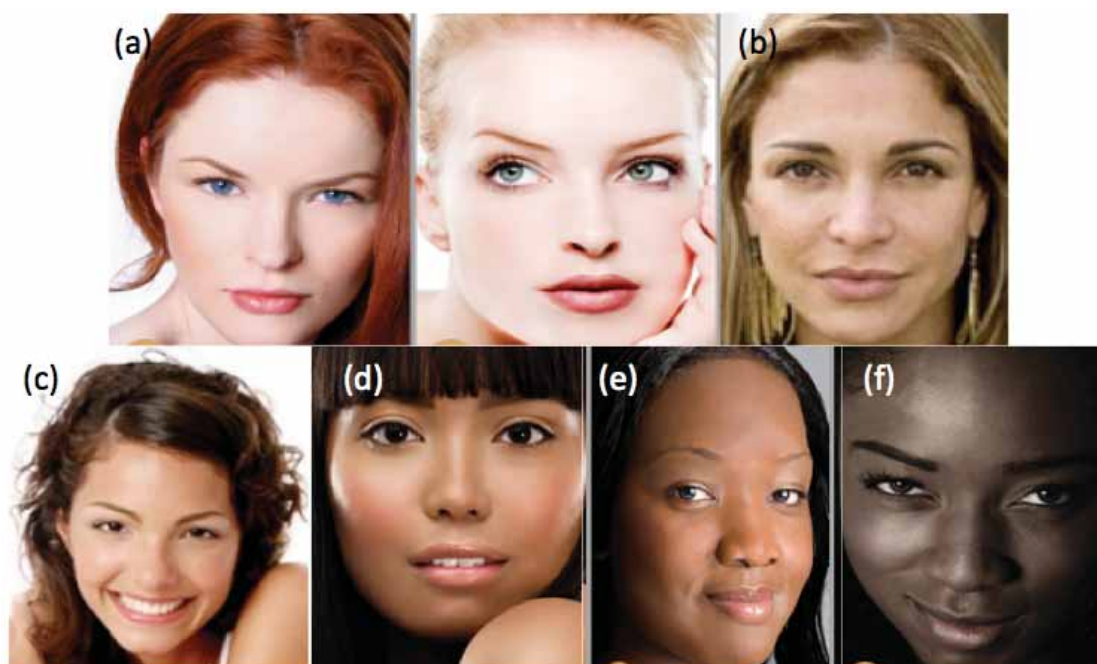


Figura 1 - Fototipos de pele (Classificação de Fitzpatrick, 1988) a) Tipo I; b) Tipo II; c) Tipo III; d) Tipo IV; e) Tipo V; f) Tipo VI

Do ponto de vista clínico (83) é classificada em:

- Grau 1: difícil de ver, mas dá para palpar.
- Grau 2: fácil de ver e de palpar.
- Grau 3: hiperqueratótica.

Histologicamente, a queratose compartilha alterações com o carcinoma espinocelular (CEC) (Figura 2), tais como a presença de queratinócitos atípicos com perda da polaridade, pleomorfismo nuclear, aumento do número de figuras mitóticas, além de marcadores tumorais e mutações da proteína p53 (105) (70). É classificada, do ponto de vista histológico, em (103):

- Tipo 1: Queratose macular, apresenta leve atipia da camada basal, com paraqueratose mínima ou ausente.
- Tipo 2 a: Queratose usual, apresenta atipia da camada basal com menos de dois terços da espessura total da epiderme, com paraqueratose.
- Tipo 2 b: Queratose avançada, apresenta atipia da camada basal com mais de dois terços da espessura total da epiderme, com presença de queratinócitos atípicos ao longo dos anexos epidérmicos e na derme superficial, e de queratinócitos acantolíticos.

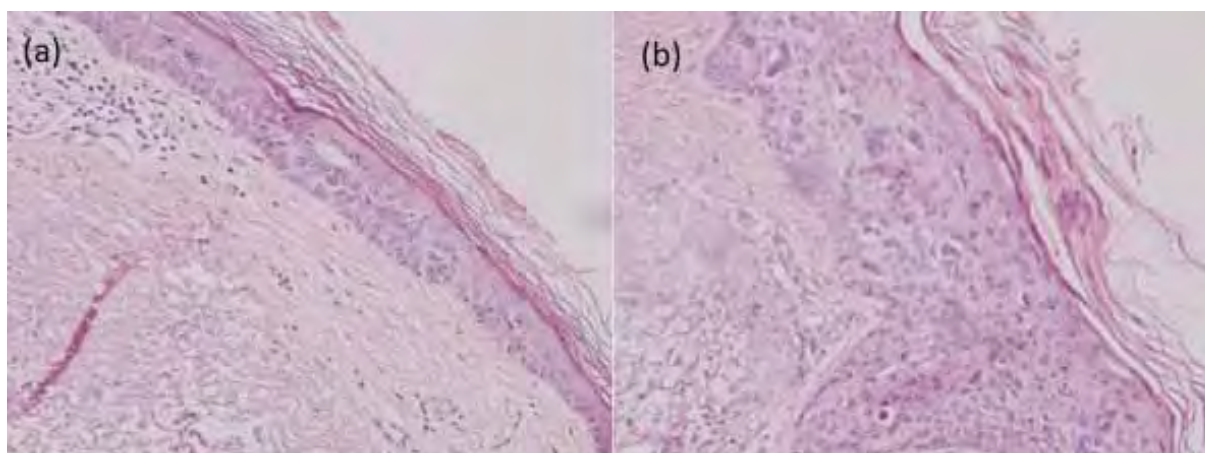


Figura 2 - Aspecto histológicos (HE 200X) a) Queratose actínica; b) CEC *in situ*

1.2 Tratamentos para queratose actínica

O tratamento da queratose visa uma destruição tecidual superficial. Porém, esta não é seletiva, destruindo também o tecido sadio perilesional. Os tratamentos mais seletivos também têm a capacidade de tratar campo cancerizável.

O conceito de campo cancerizável foi descrito inicialmente para câncer do trato gastrointestinal superior (89) e, atualmente, aplicado a outros sistemas, correspondendo na pele à área periférica à queratose clínica, que também foi exposta cronicamente ao fator oncogênico (irradiação ultravioleta), mas que apresenta, do ponto de vista subclínico, células displásicas e com mutações genéticas, com potencial para tornar-se queratose e depois carcinoma espinocelular invasivo.

Os tipos de tratamentos para a queratose podem ser:

- Farmacológicos tópicos: imunomoduladores como o imiquimod, quimioterápicos como o 5-fluorouracil, gel de diclofenaco de sódio a 3%.
- Físicos: ressecção cirúrgica, curetagem, dermoabrasão, ablação com laser, eletrocauterização, e crioterapia.
- Físico-farmacológicos: cremes tópicos precursores de porfirinas como o ácido 5-aminolevulínico (ALA), e seu metiléster (MAL), associados à irradiação com luz provocando fotodestruição, tem caráter mais seletivo.

1.2.1 Imunomoduladores

O Imiquimod é um modulador de resposta imunológica celular tópico, e seu efeito antineoplásico local é mediado por recrutamento e ativação de linfócitos T e alteração da sinalização celular via citocinas (69) (91). Dessa forma, trata também o campo cancerizável. Tem eficácia um pouco menor, em torno de 65% de resposta completa para queratoses de graus I e II em membros superiores após 6 meses e 2 ciclos de aplicação (3 vezes por semana por 4 semanas cada ciclo). O desconforto durante o tratamento (coceira 21%, queimação 11% e dor 3,3%) é menos intenso e frequente do que na terapia fotodinâmica (TFD) e crioterapia. No entanto, a duração do tratamento (2 ciclos de 4 semanas) é um fator de baixa aderência do paciente, além do alto custo da medicação. Do ponto de vista estético, Soutiriu *et al.* (2009) encontraram 95% de resultados excelentes e bons (91).

1.2.2 Quimioterápicos tópicos

O 5-fluorouracil é um antineoplásico de uso tópico que interfere na síntese de ácidos nucleicos, levando à morte celular. Existe nas concentrações de 5% e 0,5%. Seu tratamento é longo (4 semanas) e com efeitos adversos incômodos o suficiente, como eritema, dor, úlceras e crostas, para levar a maioria dos pacientes a manter um uso irregular durante o ciclo de

tratamento, e uma minoria a abandoná-lo. Também é utilizado para tratamento de campo cancerizável. A eficácia do 5-fluorouracil a 5% é de 98% de clareamento das lesões após tratamento de 4 semanas (5).

1.2.3 Anti-inflamatórios não hormonais

O gel de diclofenaco 3% em ácido hialurônico 2.5% (Solaraze®, Shire Pharmaceuticals, Basingstoke - Reino Unido) age contra a queratose actínica de forma não totalmente clara, mas parece que o principal mecanismo é a inibição da enzima ciclo oxigenase-2 (que catalisa a síntese de prostagandinas) que está com sua expressão aumentada em alterações cutâneas induzidas por radiação ultravioleta e tumores epiteliais, levando à indução de apoptose por ativação da via das caspases (28). Deve ser aplicado topicamente sobre a queratose 2 vezes por dia por 6 meses, tratamento também demorado, com efeitos adversos como eritema, prurido, pele seca. A taxa de eficácia é de 81% (68).

1.2.4 Crioterapia

Consiste na utilização de um spray de nitrogênio líquido, a -196 graus centígrados, sobre a lesão, causando um dano superficial pelo frio de toda superfície almejada (Figura 3). Não é seletivo, portanto não é indicada para tratar campo cancerizável. Tem boa eficácia: 75% de resposta completa em 3 meses, sendo melhor ainda em queratoses de graus I (80%) e fora de face e escalpe (92%). Do ponto de vista estético, a crioterapia tem resultados excelentes e bons em torno de 81 a 91%, e pobres em torno de 9 a 19%, sendo mais comuns a hipopigmentação e a retração cicatricial (94). É um tratamento doloroso, porém com tempo de aplicação curto, isto é, segundos. Do ponto de vista de custo, é relativamente barato, pois o litro de nitrogênio custa em torno de R\$ 6,50 e o tambor de armazenamento de 20 litros por volta de R\$ 2.500,00 (orçamento fornecido pela empresa Nitrovet/Barretos – SP em 01/11/11).



Figura 3 - Crioterapia com spray de nitrogênio líquido

1.2.5 Terapia fotodinâmica (TFD)

De maneira geral, é um método onde ocorre a aplicação de pró drogas tópicas precursoras sobre uma lesão de pele, e após um tempo de incubação produzem a substância ativa protoporfirina IX (PpIX), que, ao sofrer ativação luminosa, provoca a morte de células preferencialmente displásicas (Figura 4). A TFD é vista na literatura como um tratamento promissor, pois é menos destrutiva por ser mais seletiva, além de poder ser usada também para tratar campo cancerizável. A maior seletividade dos precursores de porfirina (5-ALA e MAL) pelas células doentes é crucial nos resultados estéticos superiores deste método, com 96% (94) a 99% (91) de resultados bons e ótimos. A eficácia do método varia de 51% a 100% de resposta completa (29). A TFD também gera desconforto em forma de dor e queimação por alguns minutos durante fotoativação e por algumas horas depois por reação inflamatória, cerca de 2 horas para o MAL e 6 horas para o 5-ALA (47) (72). A dor durante a foto ativação é mais frequente e intensa com 5-ALA, reconhecido por receptores gabaérgicos que medeiam dor (47), do que com MAL, e não tem correlação com a concentração de PpIX (56). Ainda avaliando dor, outro estudo encontrou maior intensidade com 5-ALA do que com MAL, e o sítio mais doloroso foi o escalpe (93). Considerando-se custos, este é um método onde as drogas precursoras 5-ALA (Levulan Querastic® - Dusa Pharmaceuticals, Wilmington, Massachusetts), e MAL (Metvix® - PhotoCure ASA, Norway; Galderma, Fort Worth, Texas), e as fontes de luz (Aktilite 128® - PhotoCure ASA, Oslo, Noruega; e Blu-U® - Dusa

Pharmaceuticals, Wilmington, Massachusetts) liberadas para uso comercial, ainda são caras, embora haja grupos empenhados no desenvolvimento e produção nacional a um custo mais acessível, visando principalmente o problema de saúde pública (87)



Figura 4 - Lesão em antebraço sendo submetida a terapia fotodinâmica

1.2.5.1 Mecanismos de ação

A TFD leva à morte celular tumoral através de vários processos concomitantes:

- Lesão vascular peritumoral (44).
- Efeito imunológico (58).
- Efeito na divisão celular por lesão nos microtúbulos nucleares (9).
- A apoptose por lesão de membranas lipídicas celulares e intracelulares via ativação de radicais livres de oxigênio (2) (17), principalmente na mitocôndria (57) e no lisossomo (71). É o mecanismo mais estudado atualmente.

1.2.5.2 Apoptose induzida pelo 5- ALA tópico

O 5-ala é o primeiro intermediário no ciclo do heme (Figura 5), sendo formado na mitocôndria através da ação da enzima 5-ala-sintase. Duas moléculas de 5-ala se condensam no citosol para formar porfobilinogênio, sendo esta uma reação catalisada pela enzima 5-ala-dehidratase. Na sequência, 4 moléculas de porfobilinogênio formam uroporfirinogênio III, pela atividade da enzima porfobilinogênio deaminase. Depois de várias reações, ocorre

formação da PpIX que é convertida em heme pela enzima ferroquelatase na presença de ferro (Fe^{2+}). Normalmente, a produção de 5-ala é controlada por mecanismo de *feedback* negativo, onde a presença de heme livre inibe sua síntese (21) (55). Quando um excesso de 5-ala exógeno é aplicado topicamente, o mesmo passa através da epiderme anormal, e a inibição por *feedback* pode ser evitada, levando à produção de porfirinas endógenas no interior da mitocôndria, principalmente a PpIX. Como a conversão de PpIX em heme é um processo relativamente lento, e ainda mais lento nas células tumorais, os tecidos cancerosos acumulam PpIX em concentrações fotossensibilizantes (21). A enzima porfobilinogênio deaminase pode ter um papel regulatório no ciclo do heme após administração de 5-ala (39). A baixa atividade da enzima ferroquelatase e a alta atividade da porfobilinogênio deaminase nas células tumorais podem determinar a seletividade na produção e acúmulo de PpIX nos tecidos tumorais (17).

A PpIX é uma molécula fotolábil que absorve luz na região do espectro ultravioleta e visível. Após a excitação luminosa num espectro específico chamado Banda de Soret, as moléculas de PpIX são transferidas do estado singleto para o tripleto (*intersystem crossing*). Pela transferência de energia do estado tripleto da PpIX para uma molécula de oxigênio próxima, que está no seu estado tripleto fundamental, o oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) é então formado. O oxigênio singleto assim formado parece ser o principal agente citotóxico na TFD com 5-ALA. Entretanto, os danos biológicos podem também ser causados por outras espécies reativas do oxigênio tais como o ânion superóxido e o radical hidroxila, formados pelo oxigênio singleto (33, 98).

O 5-ALA é uma molécula hidrofílica, que tem maior dificuldade de atravessar barreiras biológicas como as membranas celulares e camada córnea da pele. Provoca maior concentração tecidual de PpIX e clareamento mais rápido. Tem menor seletividade para a célula queratótica, lesando maior quantidade de tecido normal. Já o MAL (metil éster do 5-ALA) permeia a camada córnea, e deve sofrer hidrólise para ativar-se. Tem maior seletividade para o tecido displásico, o que talvez justifique menor desconforto durante fotoativação, e produz menor concentração tecidual de PpIX que 5-ALA (32).

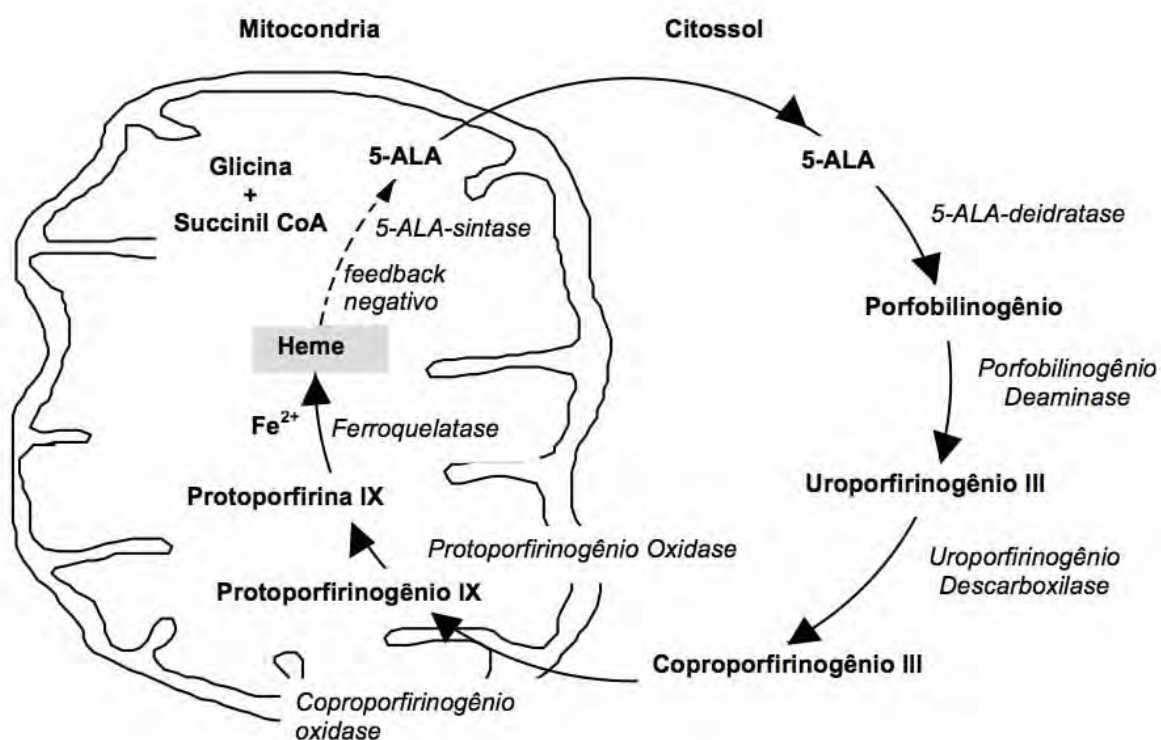


Figura 5 - O ciclo do heme: a síntese ocorre parte na mitocôndria (à esquerda) e parte no citosol (à direita) (17)

1.2.5.3 Otimização do tratamento

O ALA é uma molécula hidrofílica, ou seja, com características de cargas elétricas que limitam sua capacidade de atravessar barreiras biológicas, e aqui entende-se a bicamada lipídica das membranas celulares, por exemplo, a camada córnea da pele, ou ainda a camada córnea espessada de uma queratose actínica (17).

A TFD pode ter prejuízo de eficiência por entrada limitada do 5-ALA ou do MAL aplicados topicamente, ou ainda por uma produção menor de protoporfirina IX. A hiperqueratose é um fator a ser considerado, pois dificulta a entrada dessas pró-drogas. Uma vez que a atividade da PpIX depende de sua biodisponibilidade e concentração no tecido alvo, é preciso otimizar a penetração do 5-ALA e a produção da PpIX, tanto farmacologicamente, como fisicamente. Os métodos que podem ser usados para tal finalidade são: uso de promotores de absorção, fármacos que atuam no ciclo do heme, curetagem, fitas adesivas, microdermoabrasão, ablação a laser, uso de patches adesivos. Porém, atualmente ainda não se tem claro qual o pré-tratamento mais seguro e eficaz para aumentar-se a biodisponibilidade da PpIX (37).

1.2.5.3.1 Dimetilsulfóxido (DMSO)

O DMSO é um fármaco que pode ajudar nesse processo de otimização da ação do 5-ALA através dos seguintes mecanismos:

- Atua como promotor de absorção e formação de reservatório no estrato córneo para algumas substâncias aplicadas topicamente, provocando distúrbios na organizada estrutura da matriz lipídica que envolve os queratinócitos. Constitui, assim, um dos melhores veículos em termos de permeabilidade cutânea (18), e com baixa toxicidade (12) (11).
- Aumenta a produção de PpIX estimulada pelo 5-ALA, através da indução das 4 primeiras vias enzimáticas do ciclo do heme (14) (63) via alterações dos RNA mensageiros para essas enzimas (35).
- Pode ser efetivo na analgesia, via bloqueio da condução nas fibras nervosas do tipo C, que medeiam a sensação de dor (27).

1.2.5.3.2 Ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA)

A ferroquelatase é a enzima responsável pela última etapa do ciclo de heme, convertendo, de forma ferrodpendente, a protoporfirina IX em heme. O ácido etilenodiaminotetra-acético 3% (EDTA) é um quelante de ferro (37) e, embora já tenha sido especulado seu efeito inibidor da ferroquelatase, com conseqüente menor conversão de heme e maior concentração da protoporfirina IX, o que se observou foram elevações sutis ou nulas da protoporfirina pós EDTA. Além disso, é um fármaco comumente usado como estabilizador de formulações tópicas, e que poderia auxiliar na menor degradação do 5-ALA durante o período de foto-oclusão (18).

1.2.5.3.3 Curetagem

A curetagem é um método de pré-tratamento físico para otimização da TFD, que consiste na utilização de uma cureta cirúrgica para retirar mecanicamente as crostas e a camada córnea das queratoses. Jeffes *et al.* (2000) a utilizam para tratamento de queratose grau III associada a cauterização elétrica (51). Muitas vezes, também usada em tumores de pele não melanoma para diminuir volume pré-TFD e até para tratamento exclusivo desses tumores (8).

1.2.5.4 Fontes de luz

Conforme comentado anteriormente, decorrido um período de incubação suficiente para a síntese induzida de porfirinas, a lesão cutânea deve ser irradiada por uma fonte de luz para ativar o tratamento. Para que isso ocorra, a escolha do tipo de fonte de luz, do comprimento de onda utilizado, sua taxa de fluência, tempo de exposição à luz e dose total são parâmetros de suma importância.

As porfirinas têm um pico maior de absorção de energia luminosa no espectro de comprimento de onda de 360 a 400 nm (também chamado de banda de Soret), e depois apresentam picos menores, entre 500 e 635 nm (chamadas bandas Q). A PpIX, que é a droga ativa formada após aplicação do 5-ALA, tem um pico maior de absorção em 417 nm (luz azul) e depois um menor em 650 nm (luz vermelha) (3).

Já em relação à profundidade de penetração da energia no tecido, quanto maior o comprimento de onda (λ), maior a penetração luminosa tecidual, e quanto mais colimada ou coerente for a luz, também maior a profundidade de penetração, devido à diminuição da absorção pela hemoglobina e melanina e à maior dispersão tecidual (3).

1.2.5.4.1 Tipos de fonte de luz

Existem protocolos tanto para queratose como para câncer de pele com ambos espectros, e ainda sem definição se a luz azul ou vermelha é melhor para qual tipo de lesão cutânea. Os sistemas de luz utilizados na TFD cutânea podem ser divididas em 2 grandes grupos (que, do ponto de vista de eficácia no clareamento das lesões, são similares (13)):

- Fontes incoerentes ou também chamadas convencionais, por apresentarem luz difusa.
- E as fontes coerentes ou colimadas, que são os sistema de laser.

As fontes de luz incoerente podem ser divididas em:

- Lâmpadas incandescentes: são as lâmpadas comuns, com espectro em ampla faixa desde 400 nm até o infravermelho. Exemplo: PDT 1200L® (Waldmann Medizintechnik, Villingen-Schwenningen, Alemanha).
- Arc-lamps: contêm gás, que conduz eletricidade a altas temperaturas, como mercúrio, xenônio ou materiais fluorescentes.

Essas duas primeiras categorias de fontes incoerentes são facilmente disponíveis e têm sido usadas por vários grupos de pesquisadores, que consideram essas fontes superiores aos sistemas laser, com relação ao seu custo-benefício. Uma vez que a coerência da luz não é

necessária para a TFD, tais fontes têm várias vantagens como a facilidade no manuseio e seu baixo custo. Podem-se usar filtros para alcançar o espectro de comprimento de onda almejado, ou estreitar o espectro. Babilas *et al.* (2008) mostram eficácias similares entre luz incoerente de espectro amplo *versus* de espectro mais estreito, como o LED (7).

-LED (light emitting diode): os diodos são semicondutores que apresentam espectro estreito de emissão, sem a faixa do infravermelho. Exemplo: Aktilite 128® (Photocure, Oslo, Noruega).

-LIP (luz intensa pulsada): emite luz incoerente em pulsos. Embora tenha eficácia menor que a luz contínua, é versátil pois tem baixo custo, e alta difusão entre os dermatologistas, pois tem também outras indicações que não a TFD (41).

Os sistemas laser, ao contrário, são monocromáticos, com fontes de luz colimadas, com foco pontual ou coerente. O laser diodo (632 e 670 nm) e o laser pulsátil (585-595 nm) têm sido usados na TFD. São sistemas extremamente potentes e precisos; entretanto, esses equipamentos são relativamente caros e difíceis de manusear, além de exigirem espaço físico adequado para sua instalação.

1.2.5.4.2 Dose total

A dose de luz é um dos parâmetros mais relevantes na TFD, apesar de não haver um consenso quanto à dose ideal. A dose total aplicada na TFD com 5-ALA, desde 1990, varia dentro de uma larga escala de 60-250 J/cm² para sistemas laser e 30-540 J/cm² para fontes de luz incoerentes. Existem trabalhos que avaliaram o clareamento da fluorescência da PpIX durante a fotoativação, e que, após 40 J/cm², não visualizaram mais grandes clareamentos, indicando essa dose total no tratamento de queratose com luz incoerente (26).

1.2.5.4.3 Taxa de Fluência

É a vazão de energia por tempo, ou fluxo de energia luminosa que vai sendo irradiada até que se atinja a dose total planejada. Ericson *et al.* (2004) mostraram que taxas de fluência menores produzem maiores níveis de oxigênio tecidual e, portanto, uma TFD mais eficaz (26).

Resumidamente, os parâmetros fonte de luz, comprimento de onda, taxa de fluência, dose total de luz, número de sessões, intervalo de tempo entre sessões, e fracionamento de luz

ainda não foram completamente estabelecidos e padronizados, havendo, portanto, muito espaço para novas pesquisas.

1.3 Ensaios clínicos entre os métodos de tratamento da queratose actínica

O uso do nitrogênio líquido para tratamento da queratose actínica começou com Alington *et al.* (1950), que realizavam a crioterapia com um cotonete (4). Porém, o aparato atualmente utilizado para vaporizar o nitrogênio foi desenvolvido por Zacarian *et al.* (1969) (104). A crioterapia é o tratamento de referência para queratose actínica, na literatura (20) (94) (31) (74) (43).

No que tange à TFD, embora haja descrições do uso da fototerapia associada a substâncias fotoativas já na Índia e Egito antigos (psoralenos derivados de plantas para o tratamento de vitiligo), as primeiras publicações mais modernas datam do começo do século XIX. Em 1900, um estudante chamado Oscar Raab, de um grupo alemão de Munique, liderado por Herman Von Tappeiner, que estudava o efeito de corantes em paramécios, notou que em dois experimentos idênticos com o corante acridina, houve sobrevida diferente dos paramécios, e que a única diferença entre os experimentos é que o que teve menor sobrevida ficou a noite toda exposto na bancada do laboratório, durante uma tempestade elétrica. Uma das explicações poderia ser a ativação da acridina pela luminosidade dos relâmpagos, e maior toxicidade ao protozoário (79) (100). Nesse mesmo ano, um neurologista francês, Prime (1900) descreveu dermatite em áreas expostas de uma paciente após administração oral de eosina para epilepsia (78). Desde então, foram feitas identificações de substâncias derivadas das porfirinas que tinham a capacidade de fotoativação e de seletividade tumoral (61) e que, após purificadas pelo grupo de Dougherty na década de 70, levaram à primeira droga de administração sistêmica, para uso em terapia fotodinâmica, o porfirmer sódio ou photofrin® (Pinnacle Biologics Inc) (24) (23). Posteriormente, a ideia de usar 5-ALA exógeno como precursor endógeno de protoporfirina IX, experimentalmente, foi de Malik *et al.* (1987) no tratamento de células eritroleucêmicas *in vitro* (64). A aplicação tópica em humanos para tratamento de câncer de pele foi descrita por Kennedy *et al.* (1990), com a vantagem de causar menor fotossensibilidade pós-tratamento (56). Os primeiros ensaios clínicos fase I, II e III, prospectivos, randomizados e controlados com terapia fotodinâmica com 5-ALA tópico para tratamento de queratose actínica, foram feitos por Jeffes *et al.* (2002), que iniciaram com 5-ALA 30%, e após foto-oclusão de 3 horas, fizeram 1 sessão de foto ativação com laser numa dose total de 150 J/cm², conseguindo 91% de eficácia. Depois, aplicando 5-ALA 20% e

irradiando em 2 sessões com luz de LED azul numa dose total já abaixada para 10 J/cm², após incubação de 14 a 18 horas, conseguiram uma eficácia de 83%. Foi a partir destes estudos que foi aprovada a liberação do Levulan-Kerastic® pelo FDA, para uso comercial nos Estados Unidos (50).

Paralelamente, começaram estudos básicos com um metiléster do 5-ALA, chamado MAL, também de aplicação tópica e, portanto, com menor fotossensibilidade pós-tratamento, que parecia provocar uma maior produção endógena de PpIX, tanto em cultura celular (36), como também em pele humana (32). O primeiro ensaio clínico com TFD com MAL foi de Pariser *et al.* (2003), que obteve eficácia de 89%, quando comparado com TFD com placebo, que obteve 38% de eficácia, ensaio esse que introduziu o MAL no mercado sob o nome comercial Metvix® (Photocure Asa, Oslo, Noruega) (77).

Desde então, os estudos vêm se preocupando com a tentativa de padronizar, com dificuldade e ainda sem consenso, a grande quantidade de parâmetros da TFD cutânea, como: indicações (queratose, tumores de pele, acne, líquen plano, *etc*), qual pró-droga (porfirmer sistêmico, 5-ALA, MAL, *etc*), concentração da pró-droga, pré-tratamentos possíveis (curetagem, associação de promotores de absorção à formulação, *etc*), luz (espectro, coerência, potência, taxa de fluência, tempo de exposição, dose total, fracionamento de dose), tempo de foto-oclusão, número de sessões de tratamento, e intervalo de tempo entre elas. Porém, a maioria desses artigos é insuficiente para comparação, por não serem ensaios clínicos randomizados, prospectivos, controlados, ou ainda por não serem endereçados ao estudo dos parâmetros avaliados nesta dissertação. Os ensaios clínicos passíveis de comparação serão descritos a seguir e depois resumidos na Tabela 1.

Os dois primeiros compararam crioterapia e TFD com 5-ALA, mas no tratamento de câncer de pele não melanoma. Depois, há 4 artigos que estudaram o tratamento da queratose actínica comparando a crioterapia com a TFD, mas utilizando MAL, e não 5-ALA. E há um quinto e único artigo que comparou a crioterapia *versus* TFD com 5-ALA na queratose.

Morton *et al.* (1996) publicaram um estudo comparando crioterapia e terapia fotodinâmica com 5-ALA para a doença de Bowen. Avaliaram 40 lesões com diagnóstico histológico positivo, em 19 pacientes, e os seguiram de 2 em 2 meses até 1 ano. Para a crioterapia não curetaram, e fizeram 2 a 3 sessões de 1 ciclo de congelamento cada. Para a TFD, fizeram 2 sessões e pré-trataram as lesões com curetagem, foto-ocluíram por 4 horas e depois irradiaram com luz de xenônio numa dose total de 125 J/cm² e com uma taxa de fluência de 70 mW/cm². Obtiveram eficácias similares entre os grupos (90% para a crioterapia e 100% para a TFD), e dor maior para a crioterapia. Não foi feita avaliação estética subjetiva,

mas, em relação à avaliação estética objetiva, foi encontrada uma taxa significativamente maior de retração cicatricial para a crioterapia (20%) do que para a TFD (0%). As lesões recorrentes foram confirmadas com biópsia, e recorreram apenas em 10% das lesões tratadas com crioterapia (76).

Wang *et al.* (2001) fez uma pesquisa onde compararam também crioterapia com TFD com 5-ALA, mas trataram carcinomas basocelulares (CBC). Avaliaram 88 CBCs confirmados histologicamente em 88 pacientes, seguindo-os aos 0, 1, 2, 3 e 12 meses. Para a crioterapia não curetaram, e fizeram 1 a 2 sessões de tratamento com 2 ciclos de congelamento cada. Fizeram 1 ou 2 sessões de TFD, com prévia curetagem e, após foto-oclusão de 6 horas, irradiaram com laser Nd: YAG numa taxa de fluência de 60 a 100 mW/cm² e uma dose total de 60 J/cm². Como resultados, obtiveram taxas de eficácia (75% crioterapia e 80% TFD) e de dor similares entre os métodos. Os pacientes avaliaram subjetivamente o resultado estético com maior taxa de bom ou ótimo para a TFD (93%) do que para a crioterapia (54%). A avaliação médica subjetiva não foi feita, mas a objetiva revelou que a crioterapia teve maior incidência de retração, hipocromia e hiperpigmentação do que a TFD. A preferência final dos pacientes foi pela TFD. A crioterapia teve 15% de recorrência confirmada por biópsia, enquanto que a TFD teve uma taxa maior, de 25% (101).

Um estudo multicêntrico de Szeimies *et al.* (2002) avaliou 699 queratoses com diagnóstico clínico ou histológico, em 193 pacientes, e os seguiu por 3 meses, com consultas aos 0, 7 e 90 dias. Para a crioterapia, curetaram 36% das lesões, e fizeram 1 sessão de 2 ciclos de congelamento em cada uma. Para a TFD, fizeram 1 a 2 sessões, onde curetaram 42% das lesões, ocluíram por 3 horas e depois foto ativaram com luz incoerente vermelha, numa dose total de 75 J/cm², a uma taxa de fluência de 70 a 200 mW/cm². Os resultados foram similares para eficácia (75% para crioterapia e 69% para TFD). A dor não foi avaliada. E no que diz respeito aos resultados estéticos, foram avaliados apenas subjetivamente, encontrando-se resultados bons ou ótimos para a TFD, numa taxa estatisticamente maior (98%) do que para a crioterapia (91%). O estudo referiu uma preferência pela terapia fotodinâmica de 74%. E as recorrências ou lesões residuais não foram biopsiadas (94).

Outro trabalho que também avaliou o tratamento de queratose com crioterapia e TFD com MAL é o de Freeman *et al.* (2003). Foi um estudo multicêntrico com 588 queratoses com diagnóstico clínico, em 172 pacientes, também seguidos aos 0, 7 e 90 dias. Para a crioterapia, não fizeram curetagem, e fizeram apenas 1 sessão de tratamento com 1 ciclo de congelamento. Já para a TFD, fizeram sempre 2 sessões com intervalo de 1 semana entre elas, curetaram todas as queratoses previamente à foto ativação, ocluíram por 3 horas e irradiaram

com luz incoerente vermelha numa taxa de fluência de 50 a 250 mW/cm², perfazendo uma dose total de 75J/cm². Como resultados, obtiveram-se uma eficácia da TFD (91%) estatisticamente superior à da crioterapia (68%). A dor não foi avaliada neste estudo. Esteticamente, a avaliação subjetiva do paciente foi superior para a TFD, com 76% de resultados ótimos, contra 56% para a crioterapia; e a do médico também, com 83% de resultados ótimos para a TFD contra 51% para a crioterapia. E a avaliação objetiva mostrou superioridade para a TFD, com 5% de incidência de hipocromia contra 29% para a crioterapia. Em relação à preferência subjetiva do paciente, a TFD obteve 61% dos votos. E neste estudo também não foram biopsiadas as lesões sem resposta completa (31).

Morton *et al.* (2006) também estudaram o tratamento da queratose, comparando crioterapia *versus* TFD com MAL, mas o que muda aqui é que os grupos de comparação são no mesmo paciente, com lesões comparadas em cada lado da face ou escalpe, e não mais interpacientes. Foi uma pesquisa multicêntrica, abrangendo 1.501 queratoses em 108 pacientes, seguidos por 6 meses, com consultas aos 0, 3 e 6 meses. Para a crioterapia, não houve curetagem e houve 1 a 2 sessões de 2 ciclos de congelamento cada. Para a TFD, foram realizadas 1 a 2 sessões, onde foram curetadas 85% das lesões. Após 3 horas de foto-oclusão, as queratoses foram fotoativadas com luz de LED vermelha (Aktilite CL 128® PhotoCure ASA, Oslo, Noruega), numa dose total de 37 J/cm² (não refere qual a taxa de fluência utilizada). Obtiveram eficácias similares para TFD (82,5%) e para a crioterapia (85,8%). Quanto à dor, esta foi similar para os dois grupos na primeira sessão, e, para as lesões que precisaram de uma segunda sessão, ela foi menor para a crioterapia. Foi feita somente avaliação estética subjetiva, onde tanto a opinião do paciente como a do pesquisador mostraram maior taxa de resultados bons ou ótimos para a TFD em relação à crioterapia. A preferência de métodos foi de 64,8% para a TFD. E também não houve biópsia das lesões sem resposta completa (74).

Já Kaufmann *et al.* (2008) nos mesmos moldes, publicou uma pesquisa multicêntrica que comparou o tratamento da queratose actínica com crioterapia ou com TFD com MAL, com controle de grupos intrapacientes também, mas desta vez em membros superiores. Para tal, foram seguidas 1.346 lesões em 106 pacientes, durante 6 meses, com consultas aos 0, 3 e 6 meses. Para a crioterapia não houve curetagem e foram realizadas 1 ou 2 sessões de 2 ciclos de congelamento cada. E para a TFD, que foi feita em 1 ou 2 sessões, 88% das queratoses foram curetadas, e, após aplicação do MAL, foram foto-ocluídas por 3 horas e depois irradiadas com luz de LED vermelha (Aktilite CL 128®, PhotoCure ASA, Oslo, Noruega), também na dose total de 37J/cm² (o estudo não relatou a taxa de fluência). Como resultados,

obteve uma eficácia estatisticamente maior para a crioterapia (88%), do que para a terapia fotodinâmica (78%). Não foram avaliados dor ou resultados estéticos subjetivos do paciente. Subjetivamente, o médico avaliou a TFD com maior taxa de resultados ótimos (79%) do que a crioterapia (56%). Não foi feita avaliação estética objetiva, nem biopsiadas as lesões sem resposta completa. A preferência de técnica foi maior para a TFD (54).

Hauschild *et al.* (2009), em estudo abrangendo 1.950 queratoses em 349 pacientes, seguidos por 3 meses, compararam o tratamento da queratose com crioterapia versus TFD, desta vez com 5-ALA, mas numa apresentação diferente: em adesivos transdérmicos de 2mg de 5-ALA por cm². A crioterapia foi feita em 1 sessão de 1 ciclo, com tempo de congelamento médio de 7 segundos. A terapia fotodinâmica, em 1 sessão, foi feita sem curetagem, com foto-oclusão de 4 horas e com fotoativação com luz de LED vermelha com dose total de 37J/cm² (também não referiram taxa de fluência). Foi encontrada eficácia superior do TFD (89%) em relação à crioterapia (77%). Em relação aos resultados estéticos subjetivos do ponto de vista do paciente, a TFD obteve estatisticamente uma maior taxa (98%) de resultados bons e ótimos do que a crioterapia (92%), e objetivamente a crioterapia teve 33% de hipocromia, e a TFD 9% de hiperpigmentação. Não foram feitas avaliações subjetivas pelo pesquisador, nem avaliações de dor, ou preferência de método, ou biópsias das lesões não responsivas (43).

Portanto, ainda há na literatura poucas publicações de qualidade científica endereçadas ao tratamento da queratose actínica, comparando o tratamento de referência que é a crioterapia, com outros métodos, menos ainda com TFD, e menos ainda com TFD com 5-ALA (Tabela 1).

Tabela 1 - Principais ensaios clínicos

Autor/ ano	Morton, 1996	Wang, 2001	Szeimies, 2002	Freeman, 2003	Morton, 2006	Kaufmann, 2008	Hauschild, 2009
Tratamentos	Crio x ALA	Crio x ALA	Crio x MAL	Crio x MAL	Crio x MAL	Crio x MAL	Crio x MAL (patch)
Patologia (graus)	Bowen	CBC	Queratose	Queratose (I e II)	Queratose	Queratose (I e II)	Queratose (I e II)
Nº de centros	Uni	Uni	Multi	Multi	Multi	Multi	Multi
Diagnóstico	Patológico	Patológico	Clínico e patológico	Clínico	Clínico	Clínico	Clínico
Nº de pacientes	19	88	193	172	108	106	349
Nº de lesões	40	88	699	588	150	1.346	1.950
Graus lesões % (I/II/ III)	Não se aplica	Não se aplica	(40,4/ 52,15/ 7,45)	(56,5/ 43,5/ 0)	(60,1/ 39,9/ 0)	(51,15/ 48,85/ 0)	(43,5/ 56,5/ 0)
Tipo de controle	Interpaciente	Interpaciente	Interpaciente	Interpaciente	Intrapaciente	Intrapaciente	Intrapaciente
Seguimento(frequência)	1 a (2/2 m)	1ª (0,1,3,12 m)	3m (0,7,90 d)	3m (0,7,90 d)	6m (0,3,6 m)	6m (0,3,6 m)	3m (0, 3 m)
Crioterapia							
Curetagem	Não	Não	Sim (36%)	Não	Não	Não	Não
Nº sessões	2 a 3	1 a 2	1	1	1 a 2	1 a 2	1
Ciclos por sessão	1	2	2	1	2	2	1
TFD							
Nº sessões	1 a 2	1 a 2	1 a 2	2	1 a 2	1 a 2	1
Curetagem	Sim	Sim	Sim (42%)	Sim	Sim (85%)	Sim (88%)	Não
Foto oclusão (horas)	4	6	3	3	3	3	4
Tipo de luz	Xenônio	Laser Nd:Yag	Incoerente vermelha	Incoerente vermelha	LED Vermelha	LED Vermelha	LED Vermelha
Dose total	125	60	75	75	37	37	37
Taxa de fluência	70	60 a 100	70 a 200	50 a 250			
Eficácia	90% Crio ≈ 100%TFD	75% Crio ≈ 80% TFD	75% Crio ≈ 69% TFD	68% Crio < 91% TFD	82,5% Crio ≈ 85,8% TFD	88% Crio > 78% TFD	77% Crio< 89% TFD
Dor	Crio >TFD	Crio ≈ TFD			Crio x TFD: 1ª ≈; 2ª >		
Est. subj. paciente		O/B: 54% Crio < 93%TFD	O/B 91% Crio < 98% TFD	O: 56% Crio < 76% TFD	O: 10% Crio < 45% TFD		B/O: 92% Crio < 98% TFD
Est. subj.pesquisador			81% Crio < 96% TFD	51% Crio < 83%TFD	11% Crio < 43%TFD	56% Crio < 79% TFD	
Est. obj. pesquisador	Crio < TFD	Crio < TFD		Hipocr: 29% Crio < 5%			Crio 33% hipocromia
	20% retr 0%	r/ hipoc/ hiperc		TFD			TFD 9% hiperchromia
Método preferência		TFD	TFD (74,7%)	TFD (61%)	TFD (64,8%)	TFD	
Biópsia: lesões s/ resposta	10% recidiva pós-crio	Recidiva: 15% pós-crio; 25% pós-TFD					

Referências: 31, 43, 54, 74, 76, 94, 101

Objetivos

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

- O objetivo geral deste estudo é comparar a eficácia da crioterapia em relação à terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico associado a dimetilsulfóxido no tratamento da queratose actínica.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Comparar dor entre técnicas e sessões.
- Comparar resultados estéticos subjetivos reportados pelo pesquisador e pelo paciente, e resultados estéticos objetivos encontrados pelo pesquisador.
- Avaliar a técnica terapêutica preferida pelo paciente.

Material e métodos

3 Material e métodos

3.1 Material

3.1.1 Material para crioterapia

Para a crioterapia, foi utilizado nitrogênio líquido (do fornecedor Nitrovet-Borella® - Barretos/Brasil), que foi armazenado em tambor específico para tal fim. O aplicador utilizado foi uma garrafa Cry-ac® (Brymill Cryogenic Systems, Basingstoke, U.K.). de 500 ml e sempre a mesma ponteira tamanho B (Figura 6).

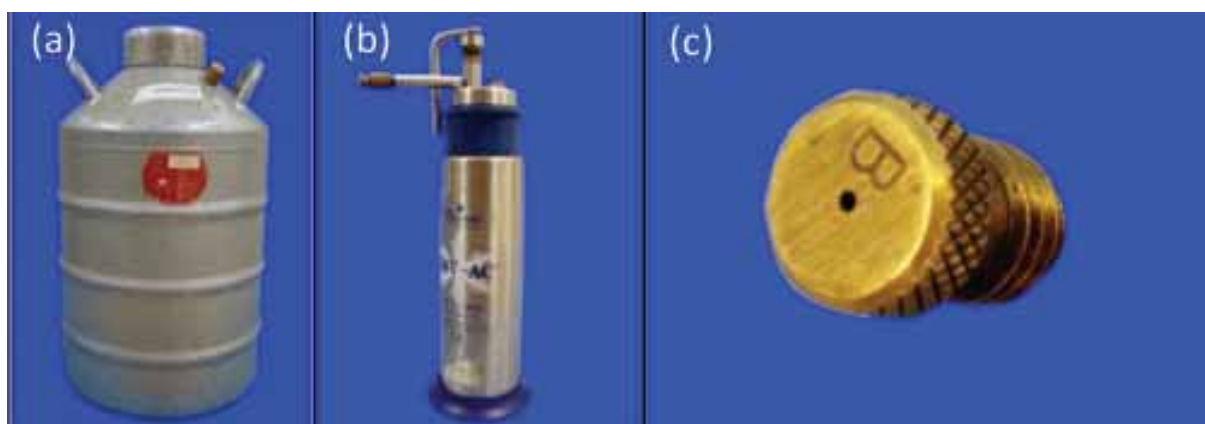


Figura 6 - Material utilizado na crioterapia a) Tambor de armazenagem de nitrogênio líquido; b) Garrafa para aplicação da crioterapia; c) Ponteira para aplicação da crioterapia

3.1.2 Material para terapia fotodinâmica

Para a terapia fotodinâmica, foi manipulado um creme de 5-ALA no laboratório da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos, pela farmacêutica responsável Fernanda Scarmato de Rosa, com a seguinte formulação:

- 20% de sal de 5-ALA: cloreto de ácido 5-aminolevulínico (Shangai Optical Rotation – Shangai/ China).
- 20% de DMSO: dimetilsulfóxido (Henrifarma Produtos Químicos – São Paulo/ Brasil).
- 3% de EDTA: ácido etilenodiaminotetra-acético (Henrifarma Produtos Químicos – São Paulo/ Brasil).
- Base: emulsão óleo e água não iônica.

Além disso, foi utilizada uma fonte de luz não coerente Aktelite CS 128® (Photocure ASA - Oslo/ Noruega) de lâmpada do tipo LED (light emitting diode) vermelha, de espectro de ação estreito com comprimento de onda médio de 630 nm. Óculos de proteção foram usados tanto pelo paciente quanto pelo pesquisador (Figura 7).

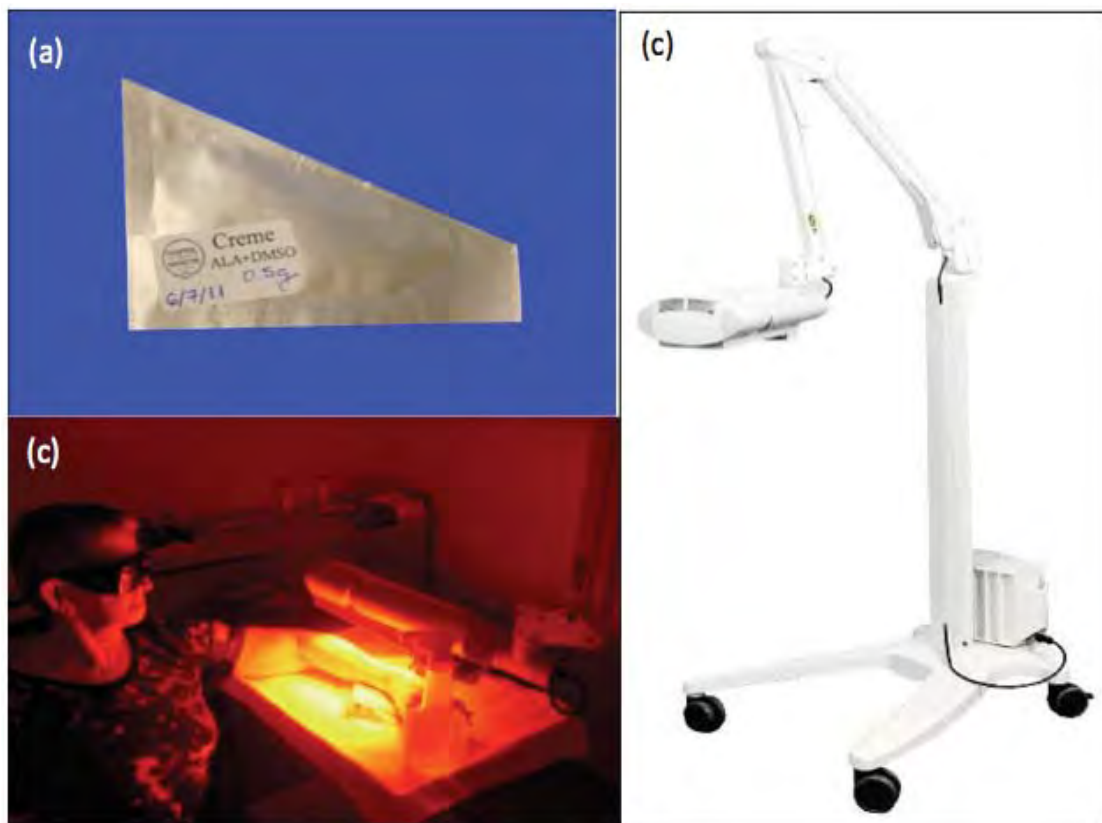


Figura 7 - Material utilizado na TFD: a) Creme de 5- ALA; b) LED Actilite CS 128®; c) Uso dos óculos de proteção

Foi usado material para o curativo foto-oclusivo: filme de PVC (cloreto de polivinila), papel alumínio, faixa crepe e fita crepe. Além de aspersor para água gelada, para diminuir sensação de queimação durante a foto ativação.

3.1.3 Arquivos digitais

Para armazenamento dos arquivos e registro fotográfico, foram usados um notebook Toshiba Satellite U-305® e uma câmera digital Sony Cyber-shot DSC-W7 ®.

3.1.4 Escalas de dor

Para a medida do parâmetro dor, utilizou-se uma régua com cursor, onde de um lado havia uma escala visual analógica, não graduada (cega), apenas com a ausência de dor em uma extremidade e a pior dor possível na outra extremidade (Figura 8a). No verso da mesma régua, havia uma escala numérica graduada de 0 a 100 mm (Figura 8b).



Figura 8 - Escalas de mensuração de dor: a) Escala visual analógica (EVA); b) Escala numérica de dor (END).

3.2 Métodos

3.2.1 Delineamento do estudo

Foi delineado um ensaio clínico fase III, prospectivo, randomizado, controlado (com controle intrapaciente), e aberto, em pacientes com queratose actínica, onde foram realizados 2 tipos de tratamento: utilizando a crioterapia ou a TFD

Obteve-se aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Pio XII - Hospital de Câncer de Barretos sob o registro 401/2010 (Anexos A, B e C), e no site Clinical Trials sob o registro NTC01459393 (Anexo D)

A randomização foi feita através do programa Random 3.0 – Procedures using random numbers, que permite randomização em blocos, ou seja, caso não se chegasse ao total de pacientes previamente designado, não haveria comprometimento da randomização.

Foram levados em conta o lado, técnica e ordem, de tal forma que a randomização permitiu quatro grupos possíveis, a saber:

- Primeiro TFD no braço direito, e segundo crioterapia no braço esquerdo.
- Segundo TFD no braço direito, e primeiro crioterapia no braço esquerdo.
- Primeiro TFD no braço esquerdo, e segundo crioterapia no braço direito.
- Segundo TFD no braço esquerdo, e primeiro crioterapia no braço direito.

A escolha das lesões usou o critério de que deveriam ser “simétricas” e, portanto, comparáveis, ou seja, de mesmo grau clínico e áreas aproximadas (produto da medida do comprimento do maior eixo da queratose vezes o menor eixo) semelhantes (Figura 9).

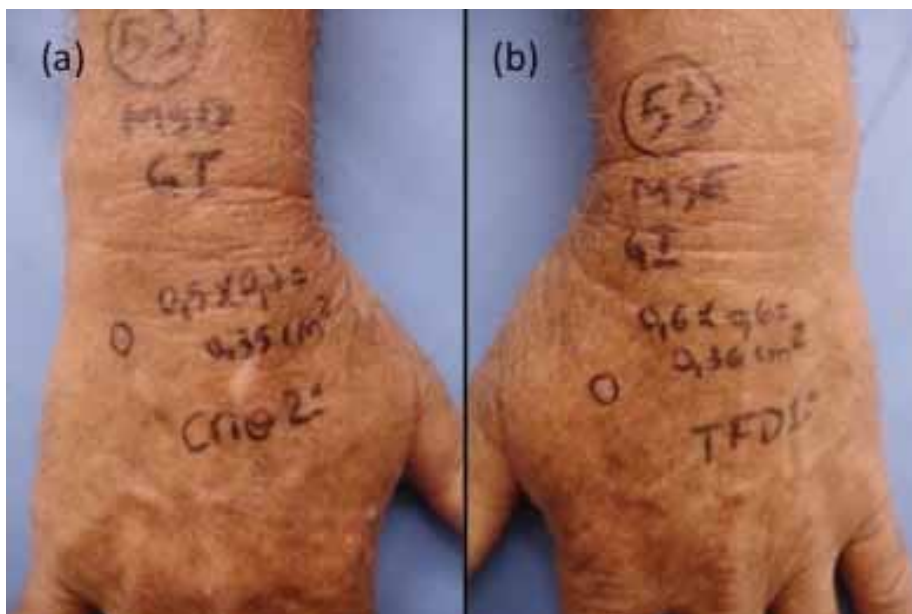


Figura 9 - Escolha de lesões simétricas: a) Lesão escolhida para crioterapia em membro superior direito; b) Lesão escolhida para TFD em membro superior esquerdo

Portanto, na primeira consulta, foram escolhidas as lesões, medidas áreas e graus clínicos, feitos os registros fotográficos, e colhidos os dados descritivos como nome, registro hospitalar, data de nascimento, sexo, fototipo de pele (30), nível socioeconômico (a avaliação foi feita com base na ferramenta de pesquisa “Critério de Classificação Econômica Brasil - 2008” (1)), e escolaridade.

Nessa hora, foram feitas, conforme a randomização, as primeiras sessões de cada terapia escolhida para cada braço. Cada paciente foi visto três vezes, com intervalos de aproximadamente 4 meses entre cada consulta, e portanto com um seguimento total de aproximadamente oito meses.

Critérios de inclusão:

- Pacientes maiores de 18 anos.
- Portadores de queratoses actínicas “simétricas”, ou seja, comparáveis, em membros superiores.
- Pacientes de acordo com termo de consentimento livre e esclarecido.

Critérios de exclusão:

- Pacientes que não concordem com o termo de consentimento, inicialmente, ou durante o protocolo.
- Pacientes com déficit cognitivo.
- Pacientes com imunossupressão (HIV, transplantados, etc).

- Portadores de porfiria.
- Presença de lesões pigmentadas próximas às queratoses. ou portadores de outras doenças de pele concomitantes, congênitas ou adquiridas (como albinismo, vitiligo, xeroderma, Gorlin).
- Gravidez ou lactação.
- Pacientes que tenham sido submetidos, há menos de 2 meses, a algum tipo de tratamento para queratose nos membros superiores ou a terapia UV (bronzamento artificial).

A casuística inicial foi calculada em 140 pacientes, alocados pelos médicos do Departamento de Oncologia Cutânea da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos durante a rotina de atendimento, como segue esquematizado no resumo do estudo (Figura 10).

Os pacientes que se adequaram aos critérios de inclusão e exclusão e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A), aplicado pela enfermeira do Departamento de Oncologia Cutânea ou pelo pesquisador principal, foram randomizados e iniciaram a pesquisa.

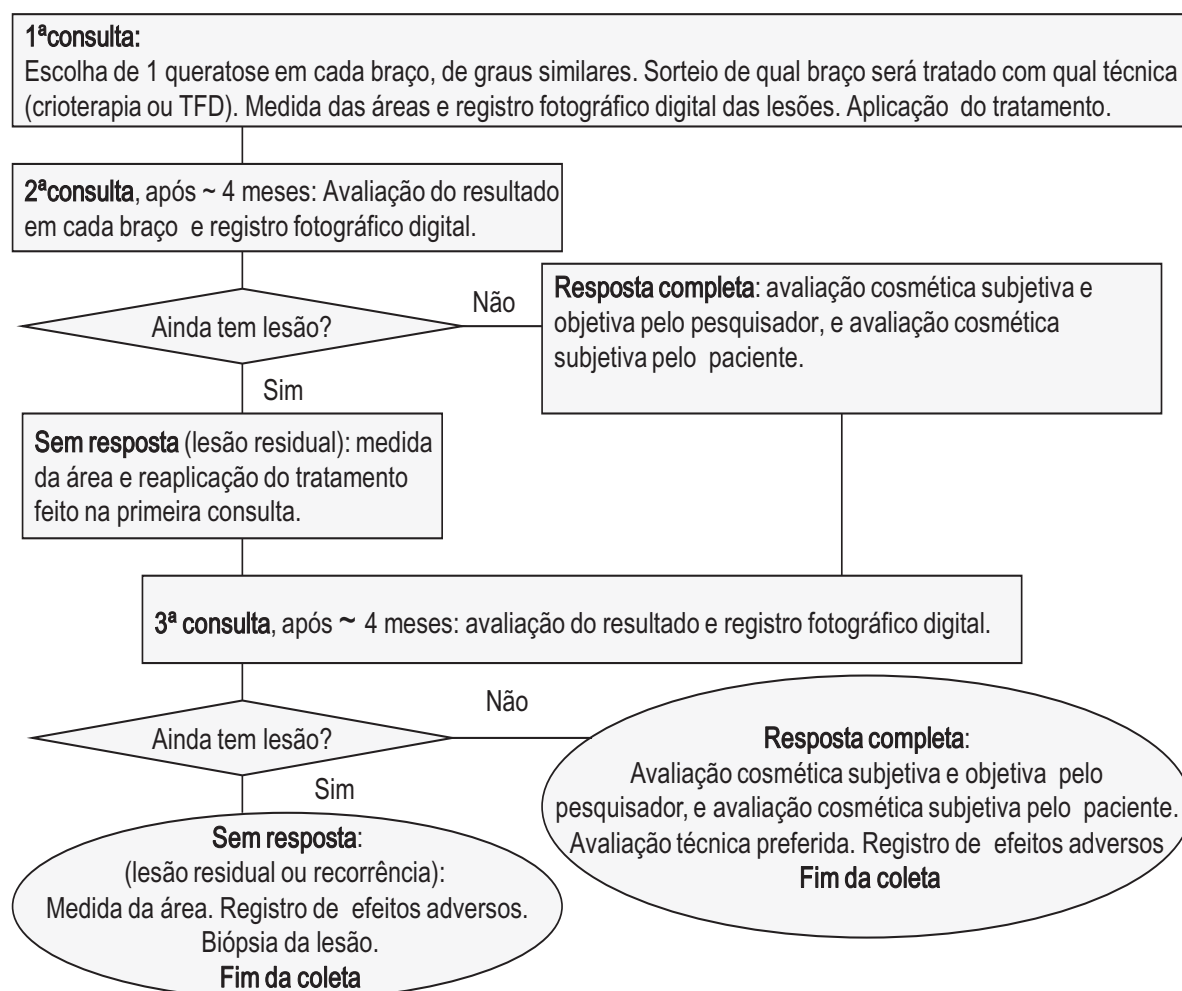


Figura 10 - Resumo esquemático do estudo

3.2.2 Técnica de crioterapia

Para a crioterapia, usando-se a ponteira B na garrafa Cry-ac®, a área da lesão, mais uma margem de 0,5 cm ao entorno, foi aspergida com nitrogênio líquido sem um tempo definido, até que houvesse clinicamente uma cristalização de toda a superfície. Foi realizado apenas um ciclo de crioterapia por sessão clínica. Foi feita orientação pós-operatória de que poderiam formar-se bolhas e depois crostas e que se deveria lavar a área tratada com água e sabão neutro até a cicatrização completa, que se daria em torno de 2 a 3 semanas (Figura 11).



Figura 11 – Método de aplicação da crioterapia: a) Lesão durante crioterapia; b) Lesão iniciando cristalização da superfície

3.2.3 Técnica de terapia fotodinâmica

Para a terapia fotodinâmica não houve curetagem prévia, e a lesão escolhida e novamente uma margem de 0,5 cm no seu entorno foram cobertas com uma camada de 2 mm do creme de ALA com DMSO (Figura 12a). Tudo foi protegido, por sua vez, com um curativo foto-oclusivo com, primeiramente, um filme plástico de PVC, seguido de papel alumínio (Figura 12b), e por fora fixado com faixa crepe (Figura 12c). Após um tempo de aproximadamente 5 horas de incubação, tempo necessário para a formação de protoporfirina IX intralesional, o curativo foi aberto, o excesso de creme retirado com gaze úmida em soro fisiológico, e a foto ativação iniciada com os seguintes parâmetros: luz de LED vermelha (630 nm) a uma distância de 5 cm da lesão durante 8 minutos com uma taxa de fluência de 70 a 100 mW por cm², perfazendo uma dose total de aproximadamente 41 J por cm². Caso o paciente sentisse dor intensa durante a foto ativação, poderia utilizar, a seu critério, um aspersor de água gelada para suavizar essa sensação dolorosa (Figura 12d). Ao término da irradiação foi feito

novo curativo com gaze não aderente, seguida de gaze normal e faixa crepe, com orientação de abri-lo após 24 horas e, a partir de então, deixar a área tratada exposta, e fazendo higiene frequente com água e sabão.

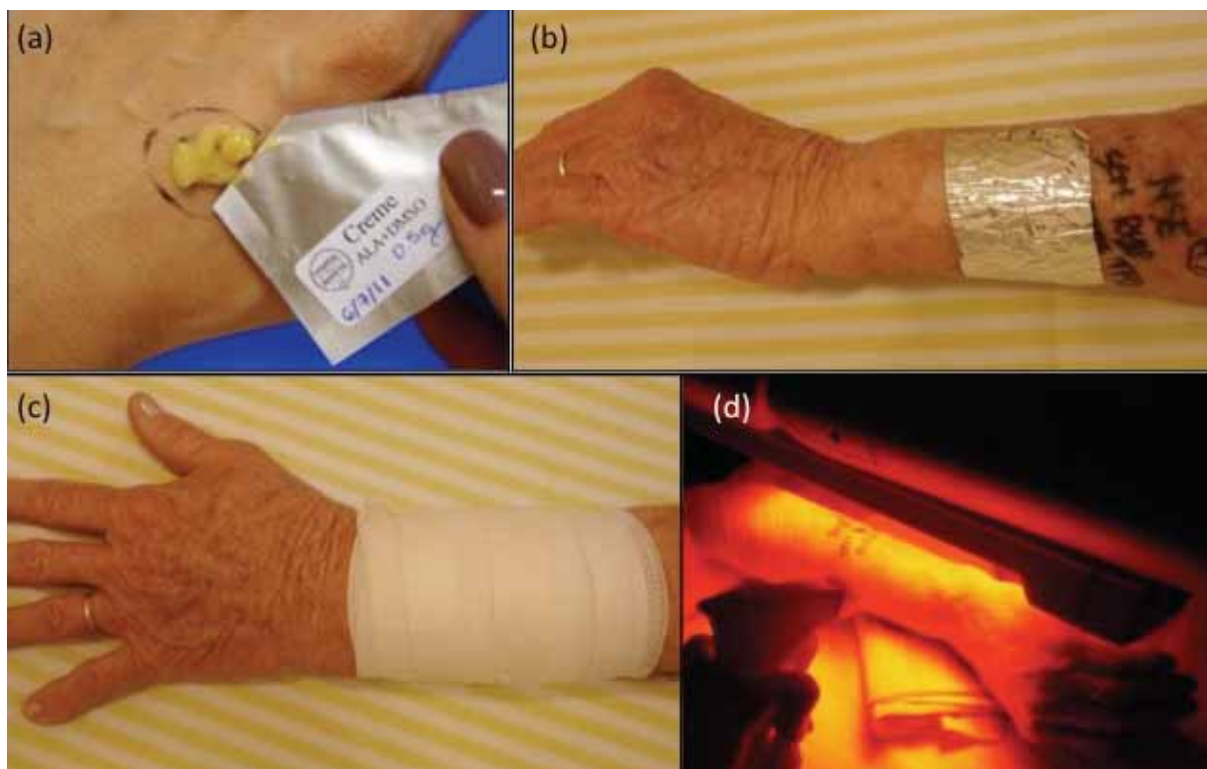


Figura 12 – Método de aplicação da TFD com 5-ALA: a) Creme de 5-ALA em embalagem foto protetora; b) Curativo foto-oclusivo: camadas de PVC e papel alumínio; c) Curativo foto oclusivo: camada de faixa crepe; (d) Fotoativação e aspersão de água gelada

3.2.4 Parâmetros

3.2.4.1 Eficácia

A área aproximada, definida pelo produto do maior diâmetro da queratose pelo menor, foi usada como unidade de medida de eficácia das terapias avaliadas. As áreas de todas as lesões foram medidas nas três consultas, e foi considerada “*resposta completa*” quando a área na terceira consulta foi igual a zero, e “*sem resposta*” quando a área nesta última consulta foi maior que zero, incluindo aqui as lesões que recidivaram após resolução na segunda consulta e também aquelas que não sumiram em nenhum período.

3.2.4.2 Dor

A dor foi avaliada já na primeira sessão, ao término de cada terapia e após 15 minutos de cada uma delas. Foram usadas as escalas visual analógica e escala numérica de dor, e pedido para o paciente colocar o cursor da régua específica para esse fim na posição que achasse equivalente à intensidade dolorosa que sentia.

Na segunda consulta, as lesões residuais tiveram indicação de segunda sessão terapêutica, e nesse caso a dor foi avaliada novamente, seguindo o mesmo protocolo descrito anteriormente. Foi também perguntado ao paciente que necessitou de duas sessões, em qual das sessões sentiu dor mais intensa, se na primeira ou segunda.

3.2.4.3 Estética

As avaliações estéticas foram feitas durante a segunda e terceira consultas, a partir de um ponto de vista subjetivo do paciente, e subjetivo e objetivo do pesquisador. Assim, tanto o médico quanto o paciente escolheram subjetivamente o resultado estético entre: péssimo, ruim, regular, bom e ótimo. Já objetivamente, o médico observou presença ou não de um ou mais dos seguintes quesitos: hiperemia (Figura 13), hipocromia (Figura 14), hipercromia (Figura 15), retração cicatricial (Figura 16), ou, ainda, ausência de qualquer alteração estética (Figura 17).



Figura 13 – Hiperemia: a) Queratose prévia; b) Hiperemia pós-tratamento com crioterapia

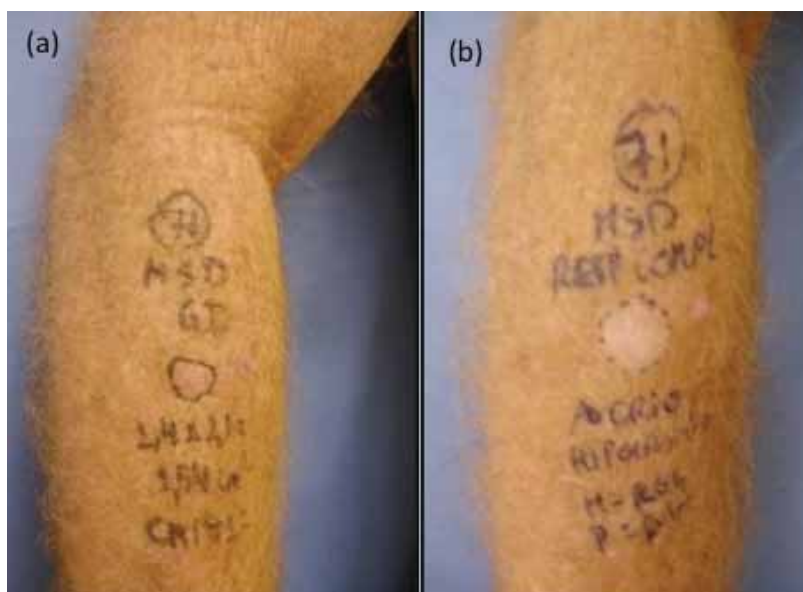


Figura 14 – Hipocromia: a) Queratose prévia; b) Hipocromia pós-tratamento com crioterapia



Figura 15- Hiperchromia: a) Queratose prévia; b) Hiperchromia pós-tratamento com TFD



Figura 16 - Retração cicatricial: a) Queratose prévia; b) Retração cicatricial pós-tratamento com crioterapia



Figura 17 - Evolução sem sequela: a) Queratose prévia; b) Pele sem alterações cicatriciais estéticas pós-TFD.

3.2.4.4 Preferência do Paciente

Na terceira consulta, aos pacientes que obtiveram resposta completa nos dois braços, foi perguntado, se em vigência de uma nova lesão queratótica, qual seria o tratamento de opção?

Por fim, as lesões que não tiveram resposta completa após a terceira consulta, quer tenham sido submetidas a TFD, quer tenham sido tratadas com crioterapia, foram biopsiadas.

3.2.5 Análise estatística

Todas as informações, tanto as descritivas quanto as obtidas durante as medidas dos parâmetros previamente descritos, foram computadas numa ficha de coleta padronizada (Apêndice B) e tabuladas no programa SPSS for Windows, versão 19.

Foi realizada análise estatística considerando-se as variáveis dependentes entre si, pelo fato de serem grupos comparados no mesmo paciente.

As variáveis descritivas foram computadas e avaliadas em gráficos de frequência. As variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste de Mc Nemar, enquanto que as contínuas foram submetidas ao teste de Wilcoxon.

Foi considerada significância estatística quando o nível de significância **p** foi menor que 0,05. Para avaliar preferência pela técnica terapêutica, foi aplicado um teste binomial avaliando a hipótese de qualquer uma das opções ser estatisticamente igual a 0,5, ou 50% de preferência. Se qualquer dos grupos assim o fosse, então não haveria diferença estatística entre as preferências.

Resultados

4 Resultados

4.1 Fluxo de pacientes

Dos 140 pacientes previstos inicialmente, foram alocados para a triagem 167, que concordaram em participar do estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Houve uma perda inicial de 20 pacientes, sendo 2 por não preencherem os critérios de inclusão e exclusão (1 paciente com déficit cognitivo e 1 paciente com tratamento prévio para queratoses em braço há menos de dois meses) e 18 por falta na primeira consulta.

Os 137 pacientes que chegaram na primeira consulta foram randomizados: 137 braços receberam a primeira sessão de TFD (69 braços direitos e 68 braços esquerdos) e 137 braços receberam crioterapia (68 braços direitos e 69 braços esquerdos).

Com 1 paciente excluído já na primeira consulta por dor durante a fotoativação da TFD, mais 6 faltosos na segunda consulta, e ainda 2 pacientes que se recusaram a fazer a segunda sessão de TFD pois tinham sentido muita dor na primeira fotoativação, houve um montante de 128 pacientes (256 braços) que compareceram à segunda consulta, sendo que 14 braços precisaram ser submetidos a uma segunda sessão de crioterapia e 81 pacientes precisaram de uma segunda sessão de TFD. Com o óbito de 2 pacientes aparentemente sem relação com o estudo (1 por câncer de próstata e insuficiência renal, e outro por edema agudo de pulmão), somados a 1 faltoso, e ainda com 1 paciente que saiu do estudo por um quadro cutâneo eczematoso em tronco, face e membros superiores (cerca de 2 semanas antes da terceira consulta, e também aparentemente sem relação com as terapias estudadas), contabilizaram-se, então, 124 pacientes (248 braços) presentes na terceira e última consulta, ou seja, ao final, foram analisados os dados completos de 90,6% dos pacientes, dos quais 13, ou 9,5%, foram excluídos ao longo de todo o trabalho.

De acordo com a normas do Consort 2010, esse fluxograma de seguimento descrito anteriormente está exposto esquematicamente a seguir (Figura-18).

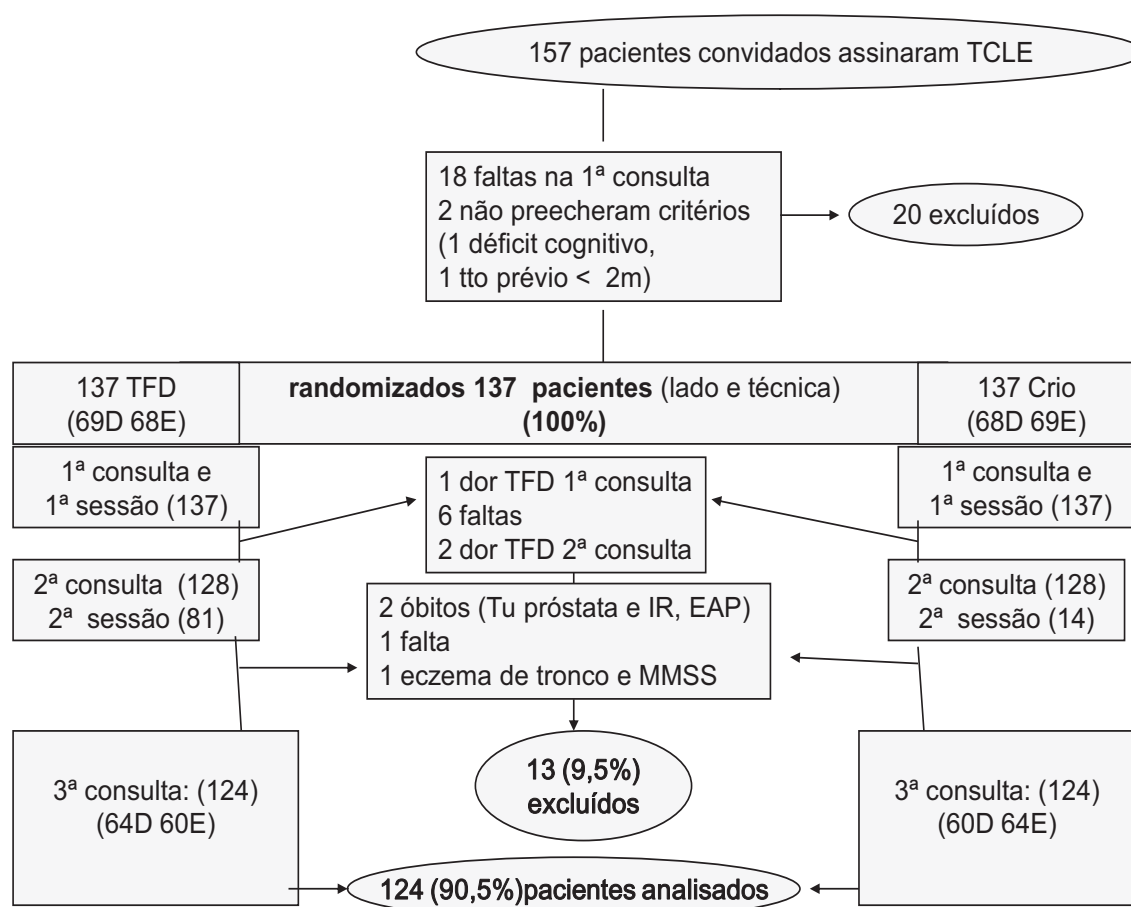


Figura 18 - Fluxo de seguimento de pacientes - CONSORT 2010 (15)

4.2 Variáveis relacionadas ao paciente

A distribuição por sexos foi semelhante, sendo a idade média de 72 anos (mínima de 49 e máxima de 94 anos, com desvio-padrão de 10 anos).

Frente ao fototipo de pele (30), os principais tipos foram: 32,8% do tipo I, 35% do tipo II e 31,4% do tipo III.

80,2% dos pacientes eram da classe socioeconômica C+D, e 86,9% eram analfabetos ou possuíam o ensino fundamental incompleto.

A distribuição específica das variáveis encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Variáveis relacionadas ao paciente

Variável	Categoria	%
Sexo	Masculino	51,1%
	Feminino	48,9%
Fototipo de Fitzpatrick	I	32,8%
	II	35%
	III	31,4%
	IV	0,8%
	V e VI	0%
Nível socioeconômico	A	1,5%
	B	16,8%
	C	48,9%
	D	31,3%
	E	1,5%
Escolaridade	Analfabeto	21,2%
	Fundamental incompleto	65,7%
	Médio incompleto	4,4%
	Superior incompleto	6,5%
	Superior completo	2,2%

4.3 Variáveis relacionadas à lesão

A média de creme de 5-ALA 20% utilizada foi de 53 mg de creme por cm², ou ainda 10,6 mg de 5-ALA por cm².

Em relação ao grau clínico, as queratoses foram distribuídas da seguinte forma: 15,3% de grau I, 65,3% de grau II, e 19,4% de grau III.

As lesões queratóticas de cada braço do estudo tiveram suas áreas iniciais comparadas, e a média das áreas iniciais das lesões submetidas à crioterapia foi de 1,58 cm², enquanto que a média das áreas iniciais das lesões que foram tratadas com TFD foi de 1,65 cm². Essas áreas iniciais são estatisticamente semelhantes ($p=0,868$), e o Gráfico 1 mostra a distribuição amostral.

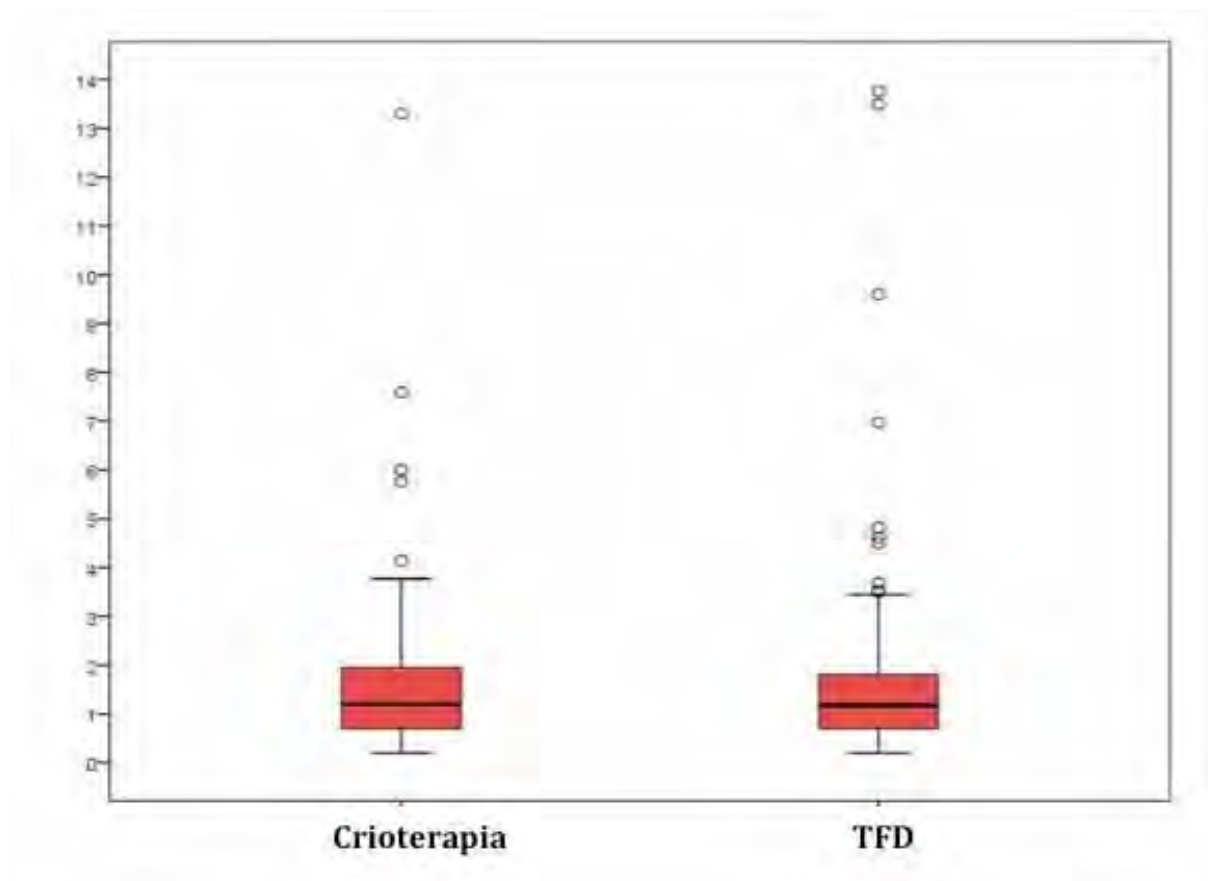


Gráfico 1 - Distribuição amostral de áreas iniciais das queratoses nos grupos crioterapia e TFD

4.3.1 Intervalo de foto-oclusão

O período sem luz entre a aplicação do creme de ALA e a formação da protoporfirina IX com sua conseguinte fotoativação é chamado de tempo de foto-oclusão ou de incubação. As média desses intervalos de foto-oclusão foram semelhantes do ponto de vista estatístico, com 5h 1min para as primeiras sessões, e 4h 56 min para as segundas sessões de TFD (Gráficos 2a e 2b).

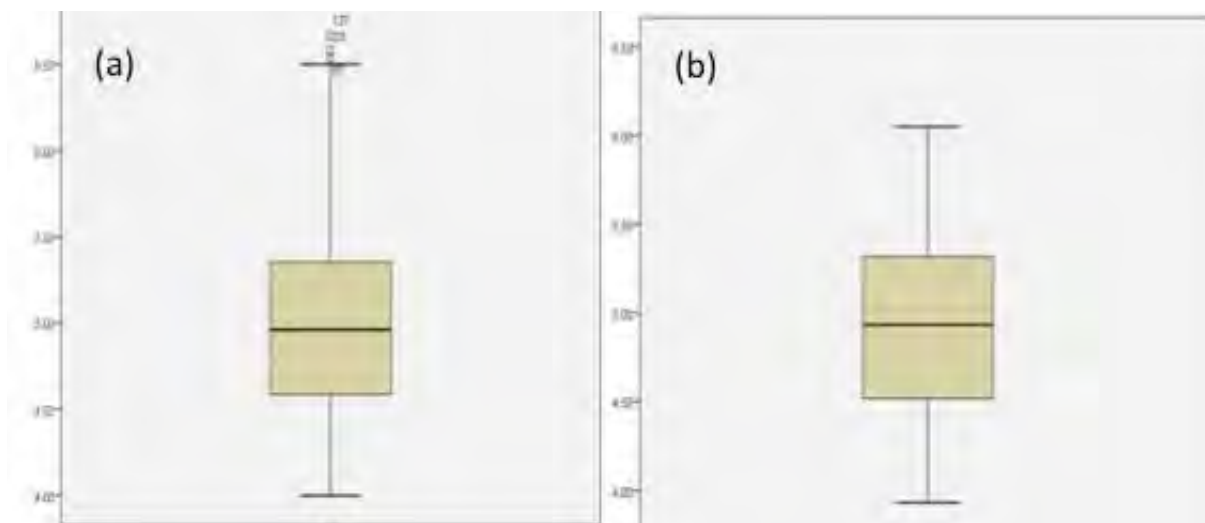


Gráfico 2 - Intervalo de foto-oclusão a) Foto-oclusão na primeira consulta; b) Foto-oclusão na segunda consulta

4.4 Resultados do tratamento

4.4.1 Eficácia

Os resultados para a variável eficácia foram subdivididos em três grupos: eficácia para todos os graus de queratose (I, II, e III), eficácia apenas para as lesões de graus I e II, e eficácia para as lesões de grau III.

Houve 124 pacientes com lesões graus I, II e III que foram analisados, portanto com crioterapia em um braço e TFD no braço contralateral. Dos 124 braços submetidos a crioterapia, 120 tiveram resposta completa (96,8%), enquanto que dos 124 braços tratados com TFD, 60 obtiveram resposta completa (48,4%). Essa diferença de eficácia foi estatisticamente significativa, com $p < 0,001$ (Tabela 3).

No subgrupo de pacientes com lesões I e II, encontravam-se 100 pacientes. Dos 100 braços submetidos a crioterapia, 96 tiveram resposta completa (96%), enquanto que dos 100 braços tratados com TFD, 53 obtiveram resposta completa (53%). Essa diferença de eficácia também foi estatisticamente significativa, com $p < 0,001$ (Tabela 3).

Ainda, no grupo de lesões grau III, havia 24 pacientes. Dos 24 braços submetidos a crioterapia, 24 tiveram resposta completa (100%), enquanto que dos 24 braços tratados com TFD, 7 obtiveram resposta completa (29,2%). Novamente, foi uma diferença de eficácia estatisticamente significativa, com $p < 0,001$ (Tabela 3).

Tabela 3 - Comparação de eficácia entre as técnicas de crioterapia e TFD para queratoses de diferentes graus

Eficácia	Número de pacientes (N)	N resposta completa	% resposta completa	p
Eficácia I, II e III				
Crioterapia	124	120	96,8%	<0,001
TFD	124	60	48,4%	
Eficácia I, II				
Crioterapia	100	96	96%	<0,001
TFD	100	53	53%	
Eficácia III				
Crioterapia	24	24	100%	<0,001
TFD	24	7	29,2%	

4.4.2 Dor

Dos 137 pacientes que iniciaram o estudo, a média de dor ao término da primeira aplicação, pela EVA, nos braços submetidos à crioterapia foi de 39 mm (com desvio-padrão (DP) de 26 mm), enquanto que nos braços com TFD foi de 41 mm (DP 27 mm) ($p=0,357$). Já pela END, no mesmo momento, foi de 37 mm (DP 22 mm) para os braços submetidos à crioterapia, e 41 mm (DP 24 mm) para os braços tratados com TFD ($p=0,185$).

Após 15 minutos do término das técnicas, a dor referida pela EVA, nos braços submetidos à crioterapia, foi de 18 mm (DP 19 mm), enquanto que nos braços com TFD foi de 25 mm (DP 20 mm) ($p<0,001$). Já pela END, no mesmo momento, foi de 20 mm (DP 20 mm) para os braços submetidos à crioterapia, e 28 mm (DP 22 mm) para os braços tratados com TFD ($p<0,001$).

Dos pacientes que precisaram de segunda sessão terapêutica, 14 braços precisaram de crioterapia, onde a média de dor ao término da aplicação, pela EVA, foi de 33 mm (DP 21 mm), enquanto que 81 braços precisaram de TFD, onde a média de foi de 30 mm (DP 22 mm) ($p=0,789$). Já pela END, no mesmo momento, foi de 31 mm (DP 21 mm) para os braços submetidos à crioterapia, e 36 mm (DP 22 mm) para os braços tratados com TFD ($p=0,192$).

Nessa segunda sessão, após 15 minutos do término das técnicas, a dor referida pela EVA, nos braços submetidos a crioterapia foi de 5 mm (DP 7 mm), enquanto que nos braços

com TFD foi de 21 mm (DP 18 mm) ($p=0,028$). Já pela END, no mesmo momento, foi de 5 mm (DP 8 mm) para os braços submetidos à crioterapia, e 23 mm (DP 19 mm) para os braços tratados com TFD ($p=0,021$). Um resumo esquemático pode ser apreciado na tabela a seguir (Tabela 4).

Tabela 4 - Intensidade de dor aos 0 e 15 minutos pós crioterapia e TFD, medidas por EVA e END, tanto na primeira quanto na segunda sessão terapêutica

Dor		1ª Sessão				2ª Sessão			
Tempo		0		15		0		15	
Escala		EVA	END	EVA	END	EVA	END	EVA	END
Crio	Média	39	37	18	20	33	31	5	5
	DP	26	22	19	20	21	21	7	8
	N	137	137	137	137	14	14	14	14
TFD	Média	41	41	25	28	30	36	21	23
	DP	27	24	20	22	22	22	18	19
	N	137	137	137	137	81	81	81	81
p		0,357	0,185	<0,001	<0,001	0,789	0,192	0,028	0,021

Já, se compararmos a intensidade dolorosa entre a primeira e segunda sessão das duas técnicas, dos 11 pacientes que foram submetidos a 2 sessões das duas técnicas, 81,8% acharam que a primeira sessão de crioterapia doeu mais que a segunda, e 63,6% desses mesmos pacientes acharam que a primeira sessão de TFD doeu mais que a segunda sessão (Tabela 5).

Tabela 5 - Comparação dolorosa entre primeira e segunda sessão

Dor entre sessões	1ª sessão	2ª sessão
Crioterapia	81,8%	18,2%
Terapia fotodinâmica	63,6%	36,4%

n = 11

4.4.3 Avaliação estética

A avaliação estética foi feita nos 58 pacientes que obtiveram resposta completa das duas terapias.

A avaliação subjetiva feita pelo paciente revelou que 55 deles (94,8%) acharam os resultados da crioterapia bons ou ótimos, enquanto que 58 (100%) acharam os resultados da TFD bons ou ótimos ($p=0,250$). Já, a avaliação subjetiva, sempre do mesmo médico, encontrou resultados bons ou ótimos em 48 (82,8%) dos braços tratados com crioterapia, enquanto que encontrou 55 (94,8%) de resultados bons ou ótimos nos braços tratados com TFD ($p=0,092$).

Na avaliação objetiva do médico, o resultado comparativo nos 5 quesitos examinados foi que 29 lesões (50%) tratadas com crioterapia tiveram um aspecto estético sem alterações, enquanto que 48 lesões (82,8%) submetidas à TFD tiveram o mesmo resultado favorável ($p=0,001$). Ainda, a crioterapia apresentou 14 hipocromias (24%), contra 2 hipocromias na TFD (3,4%), ($p=0,002$). A crioterapia não causou nenhum caso de hiperpigmentação (0%), enquanto que houve 2 casos (3,4%) nas lesões tratadas com TFD ($p=0,500$). Hiperemia foi encontrada em 9 lesões (15,5%) tratadas com crioterapia contra 5 lesões (8,6%) submetidas à TFD ($p=0,388$). E por último, foi encontrada retração cicatricial em 8 lesões (13,8%) tratadas com crioterapia e em 2 lesões (3,4%) tratadas com TFD ($p=0,109$) (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 - Avaliação estética subjetiva pelo paciente e pelo médico

	Bom/ótimo Paciente	Bom/ótimo Médico
Crioterapia	55 (94,8%)	48 (82,8%)
TFD	58 (100%)	55 (94,8%)
p	0,250	0,092

Tabela 7 - Avaliação estética objetiva

Avaliação Estética	Sem alterações	Hipocromia	Hipercromia	Hiperemia	Retração cicatricial
Crioterapia	29 50%	14 24%	0 0	9 15,5%	8 13,8%
TFD	48 82,8%	2 3,4%	2 3,4%	5 8,6%	2 3,4%
p	0.001	0,002	0,500	0,388	0,109

n=58

4.4.4 Técnica preferida

A pergunta “Na eventualidade de uma nova lesão queratótica, qual seria a técnica escolhida para o tratamento, crioterapia ou terapia fotodinâmica?”, feita aos 58 pacientes que obtiveram resposta completa nos dois braços de estudo, obteve 53,4% (31 pacientes) de resposta favorável à crioterapia e 46,6% (27 pacientes) à TFD.

Foi realizado um teste binomial, que mostrou que as porcentagens são estatisticamente iguais a 50%, ou seja, são iguais entre si ($p=0,694$)(Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação da preferência do paciente entre as técnicas

Técnica preferida (teste binomial)	Nº pacientes	%
Crioterapia	31	53,4%
Terapia fotodinâmica	27	46,6%
Total	58	100%

 $p=0,694$

4.4.5 Biópsias

Dos 124 pacientes e 248 lesões analisadas ao final da terceira consulta, não obtiveram resposta completa 4 lesões (3,2%) submetidas à crioterapia, e 64 lesões (51,6%) tratadas com TFD ($p<0,001$). Essas lesões residuais foram todas biopsiadas, revelando as seguintes histologias: das 4 não responsivas à crioterapia, 3 (75%) eram queratose actínica, e 1 (25%) era carcinoma espinocelular (CEC); enquanto que das 64 lesões não responsivas à TFD, 48 (75%) eram queratose actínica, 13 eram CEC, e 3 (5%) delas tinham outros diagnósticos (Tabela 9).

Tabela 9 - Histologia da lesões residuais biopsiadas

Método	Nº Biópsia	Histologia	Nº por Histologia	% por Histologia
Crioterapia	4 (3,2%)	Queratose actínica	3	75%
		CEC	1	25%
Terapia	64 (51,6%)	Queratose actínica	48	75%
fotodinâmica		CEC	13	20%
		Outros	3	5%
No total=124; p<0,001				

Discussão

5 Discussão

5.1 Fatores relacionados ao paciente

5.1.1 Idade dos pacientes

A média de idade dos pacientes com queratose actínica analisados neste estudo foi de 72 anos, com desvio-padrão de 10 anos. Como a queratose é uma lesão provocada por dose acumulativa de insolação ultravioleta, e esse acúmulo se dá ao longo dos anos de exposição solar crônica, é entendível por que a prevalência de queratose actínica aumenta com a idade avançada, sendo esta um dos principais fatores de risco (88). Entre pacientes caucasianos, a taxa de prevalência encontrada na terceira década de vida foi de 10%, enquanto que subia para mais de 80% na sétima década de vida (86). Nos principais trabalhos com queratoses, que foram utilizados como base comparativa para esta dissertação, dados compatíveis com o trabalho atual foram encontrados, com idades médias de 71 ± 9 anos para TFD e 72 ± 10 anos para a crioterapia (Szeimies *et al.* (2002)) (94), 65 anos (Freeman *et al.* (2003) (31), 75 ± 7 anos para a população total estudada (Morton *et al.* (2006) (74), 69 ± 10 anos para a população total estudada. (Kaufmann *et al.* (2008) (54), 70 ± 8 anos para TFD e 71 ± 9 anos para crioterapia (Hauschild *et al.* (2009) (43).

5.2.2 Gênero da população estudada

A queratose é mais prevalente em homens, provavelmente devido a maior diferença de exposição solar profissional e/ou recreacional entre homens e mulheres nessas idades. Já em pessoas mais idosas essa diferença cai e as taxas de prevalência são praticamente iguais entre os dois sexos (86) (88). Holman, num estudo tipo coorte, encontrou prevalências de queratose actínica em pacientes de 16 a 49 anos, de 27% em homens e de 13% em mulheres, *versus* taxas de prevalência mais semelhantes em pacientes de 50 a 86 anos, de 66% em homens e de 56% em mulheres (45). A população estudada nesta pesquisa apresentou uma distribuição por sexo com 51,1% de homens e 48,9% de mulheres, taxas estatisticamente iguais e que corroboram com os dados da literatura, uma vez que a média de idade dos pacientes deste estudo foi bem avançada, como já comentado previamente.

5.1.3 Nível de escolaridade e socioeconômico

Este estudo encontrou em sua amostra populacional 80,2% de analfabetismo e ensino fundamental incompleto, e 86,9% das pessoas pertencendo às classes socioeconômicas mais desfavorecidas, como C e D. O serviço hospitalar no qual a pesquisa se desenrolou tem como característica o atendimento quase que exclusivamente público, através do Sistema Único de Saúde; dessa forma, tendo um perfil de atendimento predominantemente de classes mais pobres, e portanto seria esperado que o perfil de população do estudo fosse semelhante

Seria natural, ainda, tentar explicar o baixo índice de nível socioeconômico relacionando-o com o fato de ser uma população que, em sua maioria, é descendente de imigrantes europeus, e portanto brancos, e que trabalhou a vida toda como empregada em lavoura, exposta a sol crônico. Embora Rocha *et al.* (2004), num estudo do tipo caso-controle, para rastrear fatores de risco para lesões de pele pré-malignas e malignas, feito no sul do Brasil, não tenham encontrado associação de risco significativa entre queratoses e as variáveis socioeconômicas analisadas (81).

5.1.4 Fototipo de pele

A manifestação da queratose actínica se dá após a pele atingir uma dose crítica de irradiação solar através de uma combinação de exposição solar acumulativa e sensibilidade pessoal (traduzida principalmente no fototipo de Fitzpatrick (30), ou, ainda, na quantidade de melanina que está protegendo essa pele). Essa dose crítica de irradiação é menor quanto mais desprotegida for essa pele, ou seja, quanto menor for a classificação do fototipo. E os tipos de pele que são mais susceptíveis aos danos solares são o I, II e III (86). Freeman *et al.* (2003) e Hauschild *et al.* (2009) encontraram em suas casuísticas 99,5% de pacientes de pele branca (fototipos I, II, III e IV), dos quais 97,5% fototipos I, II e III (31) (43). Tschen *et al.* (2006) relataram seus números com 99% de pacientes de pele branca, sendo 88% dentro dos fototipos I, II e III, e referiram ser essa a distribuição típica da queratose (99). Morton *et al.* (2006) descrevem que 100% de sua amostragem era de “raça branca”, mas não dão mais detalhes (74), assim como Kaufmann *et al.* (2008), que descrevem 100% de caucasianos entre seus pacientes (oriundos da Europa e Austrália) (54). Szeimies *et al.* (2002) não comentam nada sobre tipo de pele em seu estudo (94).

Este estudo encontrou 100% dos pacientes dentro dos fototipos de Fitzpatrick considerados de pele branca, estando 92,8% dos casos dentro dos fototipos mais susceptíveis,

I, II e III. São resultados compatíveis com a literatura, e que refletem e reconfirmam a fotoproteção que o pigmento melanina confere à pele contra os danos da radiação UV.

5.2 Fatores relacionados à lesão

5.2.1 Distribuição das queratoses por graus

A distribuição das queratoses por graus clínicos neste estudo foi a mesma para o grupo de crioterapia e para o grupo de TFD, uma vez que as lesões foram escolhidas de forma simétrica também em graus, para serem comparáveis. E essa proporção foi de 15,3% de queratoses grau I, 65,3% de grau II, e 19,4% de grau III. Esses números, se comparados aos ensaios clínicos mais relevantes sobre o assunto, mostram uma maior proporção de queratoses de graus mais avançados e uma menor proporção de queratoses de graus mais leves no estudo em questão, conforme pode ser confirmado na tabela 10.

Tabela 10 – Distribuição da queratose por graus, nos principais estudos.

	Grau I	Grau II	Grau III
Szeimies, 2002	40,4 %	52,15 %	7,45 %
Freeman, 2003	56,5 %	43,5 %	0 % (critério de exclusão)
Morton, 2006	60,1 %	39,9 %	0 % (critério de exclusão)
Kaufmann, 2008	51,15 %	48,85 %	0 % (critério de exclusão)
Hauschild, 2009	43,5 %	56,5 %	0 % (critério de exclusão)
Estudo em questão	15,3 %	65,3 %	19,4%

5.3 Eficácia

5.3.1 Eficácia total da TFD e crioterapia

Szeimies *et al.* (2002) e Morton *et al.* (2006) encontraram eficácias estatisticamente semelhantes entre as duas técnicas tratando queratose com MAL (94) (74); e Morton *et al.* (1996) também relataram eficácias estatisticamente iguais entre as técnicas, tratando doença de Bowen com TFD com ALA (76).

Já Freeman *et al.* (2003) e Hauschild *et al.* (2009) observaram eficácia superior da TFD em relação à crioterapia. Freeman *et al.* (2003) relataram 91% para a TFD contra 68% para a crioterapia ($p < 0,001$) (31); e Hauschild *et al.* (2009) descreveram valores de eficácia total de 89% para TFD e 77% para a crioterapia ($p = 0,007$) (43). (Tabela 11).

Tabela 11 – Eficácia total da crioterapia e da terapia fotodinâmica nos principais estudos

Autores, ano (patologia)	Crioterapia	Estatística	Terapia fotodinâmica
Morton, 1996 (Bowen)	90 %	=	100 %
Szeimies, 2002 (queratose)	75 %	=	69 %
Freeman, 2003 (queratose)	68 %	< ($p < 0,001$)	91 %
Morton, 2006 (queratose)	82,5 %	=	85,8 %
Kaufmann, 2008 (queratose)	88 %	> ($p = 0,002$)	78 %
Hauschild, 2009 (queratose)	77 %	< ($p = 0,007$)	89 %
Estudo em questão (queratose)	96,8 %	> ($p < 0,001$)	48,4 %

A eficácia total neste estudo foi maior para a crioterapia (96,8%) do que para a TFD (48,8%), com uma significância estatística de $p < 0,001$

Os resultados são semelhantes, embora com números mais contundentes, aos de Kaufmann *et al.* (2008), estudo que tem delineamento semelhante ao estudo atual, porém usando MAL, com 88% de eficácia para crioterapia e 78% para TFD ($p = 0,002$) (54).

Embora os resultados dos principais ensaios clínicos e dos outros artigos da literatura sejam diferentes, o que se pode perceber é que a eficácia da crioterapia deste estudo é a maior entre os ensaios analisados, e a eficácia da TFD deste mesmo estudo atual é a menor entre eles. Um possível motivo poderia ser a maior área média inicial das lesões aqui tratadas; outro poderia ser a maior proporção de queratoses grau III, que, por sua maior espessura de camada córnea, teria menor penetração da pró-droga, e, portanto, menor eficácia. Alguns autores, mas nem todos, preconizam pré-tratamentos com curetagem da camada córnea, outros ainda utilizam promotores de absorção, como é o caso deste trabalho, através da associação do dimetilsulfóxido (DMSO) à formulação. Outros motivos, ainda, poderiam ser a escolha do sítio anatômico a ser estudado, no caso os membros superiores; ou os parâmetros de luz utilizados pelo estudo atual. Ou, ainda o tempo de congelamento ou tamanho das margens, na crioterapia. Embora, mais uma vez, a literatura não entre em consenso com todas as variáveis acima, elas serão discutidas detalhadamente a seguir.

Frente a estudos não controlados só sobre TFD, ou de TFD sem comparação com a crioterapia, ou ainda artigos de revisão sobre TFD, a literatura também relata 71 a 91% de resposta completa em face e escalpe pós-sessão única de TFD com ALA (52) (95), 94% de resposta completa em face e escalpe após 2 sessões de TFD com ALA, e 51% a 100% de clareamento dependendo dos parâmetros luz e do sítio anatômico tratado com TFD (29), 65% de resposta completa após 6 meses e 2 sessões de TFD com ALA em extremidades (91), e 86% de resposta completa após 4 meses de TFD com ALA (99).

Os ensaios clínicos discutem menos sobre a crioterapia do que sobre da TFD, provavelmente porque, na crioterapia, apesar de haver também muita variação nos parâmetros, como tamanho da ponteira, margem ao redor da lesão, número de sessões, número de ciclos por sessão, e tempo de congelamento (sendo este último aparentemente o mais importante), geralmente os dados de eficácia são sempre altos, motivo pelo qual o método é referência para a queratose. Os estudos com menores eficácias foram: o de Szeimies, *et al.* (2002), que não comentou os 75% de eficácia (94); o de Freeman *et al.* (2003), que fez 1 sessão de 1 ciclo por sessão, com margem e 2mm e sem tempo específico de congelamento, referindo que aplicava até congelar a lesão e a margem, e obteve 68% de eficácia; e o de Hauschild *et al.* (2009), que fez também 1 ciclo por sessão, usou a ponteira C e tempo de congelação de 5 a 10 segundos, com 77% de eficácia. Todos os outros ensaios clínicos de comparação obtiveram eficácias maiores que 80%, inclusive o estudo atual, com 96,8%, tendo utilizado ponteira C, margem de 5mm, e sem tempo de congelação definido, mas aplicado até congelar a lesão toda mais a margem. Talvez o fato de a margem ter sido maior que os outros estudos, levou a um maior tempo de congelação e a uma alta eficácia.

Em relação aos estudos não controlados, ou de revisão, sobre crioterapia, há o estudo de Lubritz *et al.* (1982), que seguiu 1.018 queratoses tratadas com crioterapia por 1 ano e obteve eficácia de 99%, com tempos de congelação entre 20 e 45 segundos. Refere que a eficácia do nitrogênio líquido é diretamente proporcional ao tempo de congelamento, pois gera dano tecidual mais profundo; no entanto, é esse mesmo fator que influencia a maior taxa de alterações de pigmentação (62). Há também um trabalho de Thai *et al.* (2004), que seguiu 421 queratoses por 3 meses e encontrou que a eficácia era menor (39%) quando o tempo de congelamento era menor que 5 segundos, e que a eficácia era maior quando o tempo de congelamento era maior de 20 segundos (96).

5.3.2 Eficácia por tamanho das lesões

No que se refere ao tamanho das lesões, geralmente descreve-se sobre diâmetros máximo ou mínimo de queratoses, presumindo-se talvez um arredondamento para a figura de um círculo, mas não se comenta nada sobre área. Se considerarmos a área da circunferência como “ πr^2 ” podemos transformar em área as informações dadas como diâmetro. Assim, Morton *et al.* (2006) encontraram diâmetro médio de 8,5 mm (área média de 0,57 cm²) para as lesões tratadas com TFD, e 8,4 mm (área média de 0,55 cm²) para as lesões tratadas com crioterapia (74). Já Kaufmann *et al.* (2008) descrevem diâmetro médio das lesões tratadas com TFD e com crioterapia, de 7,7 mm (área média de 0,46 cm²) (54). Ainda, Hauschild *et al.* (2009) relatam em seu estudo, como critério de inclusão, lesões com diâmetro maior de no mínimo 1,8 cm, e, em seus resultados mostram diâmetros médios de 1,1 cm (áreas médias de 0,95 cm²) para as lesões tratadas com TFD, e de 0,97 cm (área média de 0,74 cm²) para as lesões tratadas com crioterapia (43). Freeman *et al.* (2003) descrevem como critério de inclusão lesões com maior diâmetro de pelo menos 5 mm, mas depois não apresentam os resultados obtidos com esse quesito (31). Szeimies *et al.* (2002) não comentam nada sobre tamanho de lesão (94).

Para que as lesões analisadas por este estudo fossem pareadas de forma adequada, foi necessária a escolha de lesões semelhantes em ambos os braços. Semelhança essa traduzida, entre outros quesitos, pela área aproximada. A distribuição amostral das áreas das lesões nos 2 grupos foi estatisticamente semelhante, como mostrou o Box Plot do gráfico 1, confirmando que são grupos adequados para confronto de dados.

Pelo fato de a queratose ser uma figura irregular, a medida de sua área exata, embora possível através programas específicos, aumentaria muito o custo, tempo e complexidade do estudo, com um ganho pequeno de informação; portanto, a forma escolhida para medi-la foi o produto do maior diâmetro pelo seu diâmetro perpendicular, aproximando, assim, a figura à de um retângulo ou quadrado, para todas as lesões. Assim, a área média encontrada para as lesões tratadas com TFD foi de 1,65 cm², e para as tratadas com crioterapia foi de 1,58 cm², tamanhos cerca de duas vezes maiores que os das lesões avaliadas pelo autores acima descritos. Talvez esse seja um fator a somar para tentar explicar o porquê dos menores resultados de eficácia, neste estudo, para a TFD do que os da literatura. No entanto, as lesões tiveram as mesmas áreas maiores para a crioterapia e a melhor eficácia entre os ensaios.

5.3.3 Eficácia por graus de queratose

Alguns artigos preconizam que a espessura da camada córnea influencia na taxa de resposta completa, e que lesões hiperqueratóticas são mais resistentes ao tratamento com TFD (6) (75). Desta forma, para melhor comparação entre os estudos, pode-se dividir a eficácia em 2 grupos (tabela 12):

- Eficácia para queratoses grau I + II: pois a maioria dos autores (31) (74) (54) (43) considera queratose grau III como critério de exclusão e seus resultados totais são às custas apenas dos graus de queratose mais leves.
- Eficácia para queratoses grau III: pois o estudo atual e o de Szeimies *et al.*(2002) (94) incluem queratoses grau III em suas casuísticas.

Tabela 12 - Eficácia por graus de queratose

	Grau I + II	Grau III	Grau I + II	Grau III
	Crioterapia	Crioterapia	TFD	TFD
Szeimies, 2002	75,75 %	69 %	70,5 %	52,2 %
Freeman, 2003	68 %	Não se aplica	91 %	Não se aplica
Morton, 2006	82,5 %	Não se aplica	85,8 %	Não se aplica
Kaufmann, 2008	88 %	Não se aplica	78 %	Não se aplica
Hauschild, 2009	77 %	Não se aplica	89 %	Não se aplica
Estudo em questão	96 %	100 %	53 %	29,2 %

Analisando-se em conjunto as tabelas 11 e 12, nota-se que a eficácia da TFD no estudo de Szeimies *et al.* (2002) sobe de 69% para 70,5% quando se consideram apenas graus I e II, e cai para 52,2% quando se analisam apenas as queratoses grau III (94). Da mesma forma, no estudo atual, a eficácia da TFD sobe discretamente de 48,4% para 53 %, quando consideradas somente as lesões graus I e II, e tem uma queda acentuada, de 48,8 para 29,2%, quando consideradas apenas as queratoses grau III, fato que se mostrou concordante.

Já, os resultados da crioterapia deste estudo não têm o mesmo padrão que o ensaio clínico que incluiu grau III: no estudo de Szeimies *et al.*(2002), a eficácia da crioterapia é semelhante entre o grupo I, II e II e o grupo I e II (75 % e 75,75 %), diminuindo um pouco quando são considerados os 7,5% de queratoses grau III (de 75% para 69%), mesmo este autor tendo curetado 36% das lesões antes da crioterapia e tendo feito dois ciclos de

congelamento por sessão (94). No estudo atual, a eficácia cai muito pouco (de 96,8% para 96%) quando consideradas queratoses graus I e II, e sobe um pouco mais (de 96,8 para 100%), quando se consideram os 19,4% de queratoses grau III, sem curetagem prévia alguma, e feito apenas 1 ciclo de congelamento por sessão. Embora Jeffes *et al* (2000) achem que a camada de hiperqueratose isole o resto da lesão dos efeitos terapêuticos também da crioterapia (51), os valores acima encontrados talvez sugiram, ao contrário, que a espessura da camada córnea não seja um fator que influencie tanto na ação física da crioterapia.

5.3.4 Eficácia por sítio anatômico

A opção de escolha dos membros superiores para a pesquisa foi devida às seguintes razões: são estruturas pares, e que portanto permitiriam um grupo controlado contralateral, com a mesma incidência de exposição solar e com as mesmas características da pele; além disso é o lugar mais prevalente desse tipo de lesão. A distribuição anatômica das queratoses correlaciona-se diretamente com as áreas expostas que recebem insolação de forma mais crônica e intensa, mais de 80% das queratoses incidem nos membros superiores, face e couro cabeludo, sendo que a maioria está no dorso das mãos e antebraços (86). Frost *et al.* (1994) descrevem a taxa de distribuição dessas lesões por sítio anatômico assim: 63 a 67% de queratoses em membros superiores, e 19 a 32% em face e couro cabeludo (34).

A desvantagem de se utilizar os membros superiores, e aqui possivelmente esteja mais um fator que explique as taxas menores de eficácia da TFD deste estudo em relação à maioria dos trabalhos da literatura, que analisaram face e escalpe, é que essa região é um pouco mais resistente ao tratamento com a TFD do que a face e o couro cabeludo, talvez pela menor frequência de unidades pilossebáceas, uma vez que essas unidades poderiam contribuir para uma melhor absorção da pró-droga, e, portanto, uma melhor eficiência (95) (59) (75) (54).

5.3.5 Eficácia em relação à curetagem

A curetagem é um método amplamente empregado como pré-tratamento na terapia fotodinâmica, tanto de queratoses actínicas como de câncer de pele não melanoma. Os autores que a utilizam como pré-tratamento na TFD o fazem com o argumento de que, com a retirada da camada córnea espessada, aumentaria a eficácia da fotoativação. Souza *et al.* (2007) avaliaram a TFD com dose total de 300 J/ cm² de fonte de laser, pós porfirina via sistêmica,

para tratamento de 18 cânceres de pele não melanoma, descreve um aumento de eficácia de 58%, sem curetagem prévia, para 83%, com curetagem associada (92). Alguns autores preconizam o uso da curetagem prévia à TFD de maneira sistemática (16).

Porém, uma das técnicas mais antigas de tratamento de queratose actínica é a curetagem associada à eletrodissecação (essa última é utilizada para prover hemostasia, ou mesmo para aumentar um pouco a destruição tecidual da lesão), que tem sua indicação no tratamento de lesões grandes, hipertróficas e de margens imprecisas, porém tem desvantagens de causar dor (muitas vezes com necessidade de anestesia local), e pode gerar alterações de pigmentação e retração cicatricial (51) (102). Holmes *et al.* (2007) também descrevem que a curetagem sozinha é um método usado comumente para a remoção mecânica do tecido anormal da queratose solar, e que é um tratamento efetivo para algumas queratoses, mas referem igualmente que é um método capaz de acarretar dor e/ou retração cicatricial, e recomendam anestesia local (46). Alguns autores recomendam apenas curetagem ou excisão cirúrgica para o tratamento de queratoses resistentes a outros métodos (25).

A curetagem sozinha também pode ser utilizada para tratamento de câncer de pele não melanoma. Mc Daniel *et al.* (1983) encontraram 95,3% de eficácia no tratamento de 644 carcinomas basocelulares com curetagem exclusiva (67). E Reymann *et al.* (1985) encontraram 90% de taxa de cura em 5.000 carcinomas basocelulares tratados somente com curetagem (80). Barlow *et al.* (2006), num estudo retrospectivo comparando o tratamento de 302 carcinomas basocelulares superficiais ou nodulares pequenos, com curetagem sozinha *versus* curetagem mais eletrodissecação, encontraram 96% de cura em 5 anos para a curetagem exclusiva, e disseram que é taxa comparável à eficácia da curetagem associada à eletrodissecação (8).

Este trabalho não curetou nenhuma queratose, previamente à fotoativação, e encontrou 48,4% de resposta completa para TFD e 96,8% de eficácia para crioterapia em queratose actínica. A linha de raciocínio desta dissertação entende que o fato de a curetagem ser um método que, se usado exclusivamente, já tem uma competitiva eficiência, tiraria parte do mérito da eficácia da TFD quando usada como método associado. Assim, da eficácia referida à TFD, qual porcentagem é devida à curetagem, e qual porcentagem é realmente devida à fotoativação propriamente dita? Talvez a proporção da importância da curetagem seja grande, principalmente em lesões mais hiperqueratóticas, o que talvez explique a menor eficácia encontrada nesta dissertação.

Um dos poucos ensaios clínicos comparando TFD com crioterapia que não utiliza a curetagem nem nenhum pré-tratamento para queratose, usa um adesivo oclusivo especial de

ALA pré-fotoativação (chamado PD P 506 A), e descreve uma alta eficácia, de 89%, para a TFD (43). Essa alta eficácia poderia ser explicada pela proporção de 43,5 % de lesões grau I e 0% de lesões grau III, enquanto que o estudo atual apresentou 15,3% de lesões grau I e 19,4% de lesões grau III; ou, ainda, devido a alguma diferença na formulação da medicação do adesivo que não esteja especificada no artigo.

5.3.6 Influência do dimetilsulfóxido na eficácia

Clinicamente, Harth *et al.* (1998) fizeram uma formulação com 5-ALA 20%, DMSO 2% e EDTA 2%, seguida de foto-oclusão por 12 horas e fotoativação com luz incoerente também, para tratamento de 26 cânceres de pele não melanoma, obtendo 84% de taxa de cura em CBCs nodulares e 80% em doença de Bowen (CEC *in situ*) (42). Já Soler *et al.* (1999) fizeram como pré-tratamento curetagem e aplicação tópica de DMSO 99%, e depois aplicaram creme de 5-ALA 20% associado com DMSO 2% e, então, fotoativaram a lesão com luz incoerente, obtendo 95% de resposta total após 1 ano de tratamento de CBCs nodulares (90). Esses estudos, apesar de terem obtido altas taxas de cura, não foram controlados com grupos que não utilizaram o DMSO, logo sendo impossível associar o fator DMSO à eficácia aumentada.

Entretanto, laboratorialmente, De Rosa *et al.* (2000) conseguiram identificar um aumento da permeação do ALA, *in vitro* e *in vivo*, em pele de camundongos, após 3 horas de aplicação de uma formulação de ALA, após associação com DMSO 20% em emulsão óleo em água. Aumento esse traduzido por um crescimento da fluorescência vermelha deste tecido quando avaliado por microscopia confocal (18).

O presente estudo utilizou o dimetilsulfóxido a 20% associado à formulação de creme de 5-ALA, como otimização da TFD. Com isso, a intenção seria, como já discutido na introdução, implementar a produção da PpIX intracelular e, assim, aumentar a eficácia da fotoativação (17); além de evitar a curetagem que é dolorosa e tem maior risco de alterações de pigmentação. De qualquer forma, talvez a influência da ação do DMSO não tenha sido, neste estudo, forte o suficiente para compensar a falta de curetagem e a maior proporção de hiperqueratoses encontradas na pesquisa em questão, mantendo a eficácia encontrada para a TFD baixa (48,4%).

5.3.7 Proporção de lesões com diagnóstico clínico errado de queratose e sua influência sobre a eficácia

Tschen *et al.* (2006), através de biópsias, encontraram 9% de lesões sem resposta completa após TFD que não eram queratoses. Destas, 7% eram CEC, 0,7% eram CBC e 1,3% tinha outros diagnósticos histológicos (99), valores semelhantes aos encontrados pela pesquisa atual.

Como já comentado na contextualização, um ensaio clínico de Morton *et al.* (1996), curetando previamente, além de usar uma dose total de luz de quase o triplo da que foi usada no trabalho atual, estudou a eficácia da crioterapia *versus* TFD com 5-ALA para tratamento da doença de Bowen, ou CEC *in situ*, e encontrou valores estatisticamente semelhantes para os dois métodos (76), com a eficácia da crioterapia (90%) semelhante a este estudo atual (96,8%), e da TFD (100%) mais uma vez bem acima da eficácia do mesmo estudo atual (48,8%).

Neste estudo, de 124 lesões com diagnóstico clínico de queratose actínica submetidas a TFD, das 64 que não curaram, 16 não eram queratoses (sendo 13 CEC e 3 outros diagnósticos). Já no outro grupo, de 124 lesões com diagnóstico clínico de queratose actínica submetidas a crioterapia, das 4 que não curaram, 1 não era queratose, mas CEC. Como o delineamento da pesquisa foi feito para criar dois grupos iguais estatisticamente, esperar-se iam porcentagens iguais de CEC nos dois grupos. Porém, o encontrado nas biópsias das lesões residuais ou recorrente, ou seja, sem resposta completa, foi de 1 em 124 (ou 0,8%) de CEC para o grupo submetido à crioterapia, e 13 em 124 (ou 10,4%) de CEC para o grupo submetido a TFD. Este trabalho vê duas formas possíveis de se explicar essa diferença: ou os grupos de comparação não são estatisticamente iguais, ou, mais plausível, a incidência de CEC nos dois grupos é igual, porém a crioterapia tem um poder de tratamento importante sobre não só as queratoses como também sobre o CEC.

5.3.8 Parâmetros da luz e foto-oclusão influenciando na eficácia

A TFD é uma técnica, que embora não seja tão recente, ainda está longe de ter todos os seus parâmetros (intervalo de foto-oclusão, tipo de fonte de luz, distância entre a luz e a lesão, tempo de fotoativação, taxa de fluência, dose total de irradiação luminosa) padronizados, de forma que não há consenso na literatura.

Este estudo encontrou uma baixa taxa de eficácia da TFD (48,8%) em relação à literatura, e entre os outros motivos possíveis já discutidos a priori, os mais prováveis parâmetros luminosos que poderiam contribuir para a efetividade encontrada seriam a baixa dose total utilizada, de 41 J/cm², e a baixa taxa de fluência, de 70 a 100 mW/cm².

Porém Fink-Puches *et al.* (1997) estudaram o tratamento de queratose com até 2 sessões de TFD, após 4h de foto-oclusão do creme de 5-ALA 20% em membros superiores com dose total de 35 J/cm², e também em face e escalpe com dose total de 50 J/cm², emitidas com diversas fontes de luz diferentes (luz visível de amplo espectro, e também diferentes comprimentos de onda de luz visível filtrada). Encontraram eficácia de 85 a 100% em face e escalpe e de 33% a 51 % em membros superiores (valores semelhantes ao estudo desta dissertação). Concluíram então que, quanto mais amplo o espectro de luz, e quanto maior a dose total, melhor a eficácia (29).

Ericson *et al.* (2004) estudaram TFD com 5-ALA para queratoses em face e escalpe, variando a taxa de fluência em 30, 45, 50 ou 75 mW/cm², e espectros mais amplos ou mais estreitos de luz incoerente, com dose total fixa em 100 J/cm², e analisaram eficácia e dor. Seus dados mostraram que as menores taxas de fluência (30 mW/cm²) resultaram em melhores taxas de resposta inicial, avaliadas com 2 meses, e maiores taxas de clareamento durante a fotoativação. E que, após uma dose total de 40 J/cm², não era mais evidenciado nenhum clareamento, sugerindo, portanto, que doses totais maiores seriam excessivas (26).

Clark *et al.* (2003), num artigo comparando TFD com 5-ALA com fontes de laser *versus* fontes de luz de largo espectro, encontraram eficácias estatisticamente semelhantes e de cerca de 93% no tratamento da queratose actínica (13).

Do ponto de vista de tempo de foto-oclusão, encontra-se também uma enorme variação na literatura da TFD com 5-ALA. Jeffes *et al.* (1997) aplicaram ALA 30%, foto-ocluíram por 3 horas, fotoativaram com 150 J/cm² de laser e obtiveram 91% de eficácia em queratoses (52). Depois, Jeffes *et al.* (2002) aplicaram 5-ALA 20% sobre queratoses, foto-ocluíram por 14 a 18 horas e fotoativaram com 10 J/cm² de luz incoerente azul, obtendo 83% de eficácia (50). Ainda com luz azul, Touma *et al.* (2004) o fizeram por 1, 2 ou 3 horas, com dose total de 10 J/cm², obtendo 87 a 94% de eficácia (97). Ruiz Rodrigues *et al.* (2002) obtiveram 100% de eficácia após 3 horas de foto-oclusão e depois fotoativação com luz intensa pulsada (85).

Entre os ensaios clínicos controlados tratando queratoses e que estão servindo de comparação com o estudo atual (94) (31) (74) (54) (43), todos utilizaram luz incoerente vermelha, com doses totais de 75 J/cm², e nos mais recentes 37 J/cm², com taxas de fluência

de 50 a 250 mW/cm² (sendo que os mais recentes não descreveram taxa de fluência), e com tempos de foto oclusão entre 3 e 4 horas, valores esses todos semelhantes aos parâmetros utilizados pelo estudo atual.

5.4 Dor

Neste estudo, a dor foi avaliada através de 2 escalas diferentes: uma cega, chamada escala visual analógica (EVA), e outra aberta, ou escala numérica. Como não foi encontrada diferença estatística entre as medidas das duas escalas, e como a maioria dos trabalhos da literatura utiliza apenas a EVA, as comparações serão feitas com base nas medidas da EVA.

Na tentativa de categorização da dor, a partir da EVA, Morton *et al.* (1996) classificaram a dor como leve ($0 < \text{dor} \leq 30$), moderada ($30 < \text{dor} \leq 70$) ou intensa ($70 < \text{dor} \leq 100$), fato que facilita a discussão sobre o assunto (76).

Utilizando-se este critério, observou-se neste trabalho, nos momentos de avaliação dolorosa, diferença estatística significativa entre os métodos de crioterapia, apenas após 15 minutos do tratamento, sugerindo que as dores foram semelhantes no momento da aplicação e que a sensação dolorosa da TFD demoraria mais para passar do que a dor da crioterapia. Uma possibilidade seria o desencadeamento de uma reação inflamatória mais importante na TFD do que na crioterapia, para explicar essa queda mais demorada. Ainda, é de se considerar que a dor, aos 0 minutos de tratamento, foi de intensidade moderada para os dois métodos e para as duas sessões. E, aos 15 minutos, a dor passou a ser inferior e de intensidade suave para ambos os métodos, porém observou-se diferença significativa na escala EVA entre os dois métodos, sendo inferior na crioterapia.

Szeimies *et al.* (2002), ao comparar TFD com MAL e crioterapia em queratoses, observaram que 42% dos pacientes submetidos a TFD com MAL tiveram dor ou queimação (1 paciente desistiu do tratamento) *versus* 22% dos pacientes submetidos a crioterapia que se queixaram de dor ou queimação (2 pacientes desistiram por dor), mas não descreveram a intensidade e o momento em que a dor foi avaliada (94). Freeman *et al.* (2003) também descreveram pouco sobre dor, relatando apenas que 46% dos pacientes submetidos a TFD com MAL sentiram queimação e dor, mas, destes, apenas 12% graduaram como de forte intensidade, e que 1 paciente desistiu por dor durante a TFD (31). Morton *et al.* (2006), num estudo comparando tratamento de queratose com TFD com MAL em relação à crioterapia, avaliaram a dor com EVA, e encontraram valores para a primeira sessão um pouco mais altos para dor do que o estudo atual, porém estatisticamente iguais entre si para a TFD (EVA = 52)

e para a crioterapia (EVA=49) ($p=0,24$). Já, na segunda sessão, encontraram valores menores que na primeira sessão, porém com a crioterapia sendo mais dolorosa (EVA = 44) que a TFD (EVA 37) (não fornecido p). Neste estudo, 1 paciente também desistiu por dor no grupo da TFD (74). Kaufmann *et al.* (2008) falam de efeitos adversos, mas não comentam dor (54). E, por último, Hauschild *et al.* (2009), comparando tratamento de queratose com crioterapia e adesivo oclusivo de 5-ALA, encontraram dor referida como intensidade leve a moderada igualmente nos dois métodos, e em proporções estatisticamente iguais nos dois grupos (38% dos pacientes submetidos a TFD tiveram dor e 42% no grupo de crioterapia). Dois pacientes (1,4%) desistiram da TFD por dor. (43)

Ainda, a impressão subjetiva dos pacientes pesquisados neste trabalho atual, que precisaram ser submetidos a duas sessões dos dois métodos, quando indagados sobre qual sessão tinha doído mais, responderam que foi a primeira, tanto para a TFD (com 81,8% para a primeira sessão *versus* 18,2% para a segunda) como para a crioterapia (com 63,6% para a primeira sessão *versus* 36,4% para a segunda). Resultado interpretado por este estudo como esperado, uma vez que na segunda sessão, além de a área da queratose já estar provavelmente menor, o paciente já estaria acostumado com o método e não haveria mais o fator ansiedade colaborando para o processo doloroso. Apesar disso, embora com uma casuística menor, Lindeburg *et al.* (2007) encontraram resultados diferentes, visto que dos 38 pacientes submetidos a duas sessões de TFD, 21 (ou 55,3 %) referiram a segunda sessão como mais dolorosa, 6 (ou 15,8 %) referiram dor igual nas 2 sessões, e 11 (ou 28,9 %) referiram dor maior na primeira sessão, sendo a média de dor de todos os pacientes na primeira consulta de 40 na EVA, subindo com significância estatística para 47,5 na segunda consulta (60).

Com relação aos parâmetros luminosos, Clark *et al.* (2003), num estudo que comparou TFD com luz incoerente *versus* coerente, encontraram que 16 a 21% dos pacientes submetidos a TFD com laser e luz coerente de alta taxa de fluência referiram dor intensa, enquanto que 2% dos pacientes que foram submetidos a TFD com luz incoerente de baixa taxa de fluência referiram dor intensa, sugerindo, assim, que a taxa de fluência seria mais importante do que o tipo de luz na gênese da dor (13). Entretanto, Ericson *et al.* (2004) avaliaram dor na TFD à medida que aumentavam a taxa de fluência entre 30, 45, 50 e 75 mW/cm², e não observaram aumento de dor; por outro lado, em relação à dose total, perceberam que a dor começou a ficar mais intensa a partir da dose total acumulativa de 20 J/cm² (26).

Comparando-se a pró-droga utilizada, existem estudos que sugerem que o 5-ALA

causaria maior dor durante a fotoativação do que o MAL (38, 72). A explicação seria que a terminações nervosas de dor dos nervos sensitivos periféricos teriam receptores de ácido gama-aminobutírico, um neurotransmissor conhecido por GABA, e que o ALA, mas não o MAL, também é transportado por esses receptores gabaérgicos aumentando, portanto, a sensação dolorosa da fotoativação (84). Outra possível explicação seria a de um estudo feito por Juzeniene *et al.* (2006), que demonstrou que, em concentrações equivalentes, o ALA induziria, em pele normal, maiores concentrações teciduais de PpIX que o MAL, e a lesão tecidual eventualmente poderia ser de maior monta justificando a dor mais intensa (53). Os resultados de dor ao fim da fotoativação (aos 0 minutos) do estudo atual são compatíveis com os valores apresentados no estudo de Moloney *et al.* (2007), que aos 16 minutos (ou final da fotoativação), registraram na EVA uma dor média maior estatisticamente para a TFD com ALA, de $37,3 \pm 25,6$ do que a dor média de $22,3 \pm 15,7$ encontrada para a TFD com MAL ($p = 0,029$) (72).

A associação do DMSO 20% à formulação, embora, como previamente comentado, apenas sugira um aumento de eficácia em nível de pesquisa básica e de estudos clínicos não controlados, também tem influência na dor, de duas formas: evitando a dor do procedimento de curetagem (que deixa de existir no trabalho atual em função do uso do promotor de absorção), e, além disso, através de um mecanismo de bloqueio de condução de fibras nervosas do tipo C, que medeiam a sensação dolorosa, sugerido por Evans *et al.* (1993), bloqueio esse quase que imediato com concentrações de DMSO a partir de 15% (27).

5.5 Avaliação estética

5.5.1 Avaliação estética subjetiva do paciente e do pesquisador

Os ensaios clínicos controlados que avaliaram estes mesmos quesitos encontraram, em sua maioria, diferença estatística sugerindo melhores resultados estéticos subjetivos para a TFD, mas alguns não forneceram o nível de significância, dificultando assim os resultados para comparação, e nestes, os números parecem sugerir semelhança estatística de avaliação subjetiva entre os métodos, da mesma forma que o estudo atual (Tabela 13) (31, 43, 54, 74, 94). Neste estudo, os pacientes e, igualmente, o pesquisador encontraram resultados estéticos subjetivos semelhantes entre os métodos.

Tabela 13 – Comparação da avaliação estética subjetiva entre os principais ensaios clínicos e o estudo atual

	% de resultados ótimos e bons entre TFD X crioterapia (p)	
	Paciente	Pesquisador
Szeimies, 2002	98,2% > 91,1 % (p = 0,035)	96,3% X 80,9% (p não fornecido)
Freeman, 2003	76% > 56% (p = 0,013)	83% > 51% (p < 0,001)
Morton, 2006	Não avaliado	99,3% X 95,3% (p não fornecido)
Kaufmann, 2008	Não avaliado	98% X 92% (p não fornecido)
Hauschild, 2009	98% > 92% (p < 0,001)	Não avaliado
Estudo atual	100% = 94,8% (p = 0,250)	94,8% = 82,8% (p = 0,092)

5.5.2 Avaliação estética objetiva

O trabalho atual encontrou diferença estatística na porcentagem maior de alterações de cicatrização da crioterapia em relação à TFD (hiperemia, hipocromia, hiperpigmentação, retração cicatricial). E destas alterações, a mais evidente foi a hipocromia. Dos ensaios clínicos utilizados como base de comparação que avaliaram o quesito de estética objetiva, Freeman *et al.* (2003) também encontraram a hipocromia como a alteração mais incidente após a crioterapia, assim com Hauschild *et al.* (2009) (Tabela 15) (31) (43).

Tabela 14 - Comparação da avaliação estética objetiva entre os principais ensaios clínicos e o estudo atual

	TFD X crioterapia (p)
Szeimies, 2002	Não avaliada estética objetiva
Freeman, 2003	Hipocromia 5% TFD < 29% crioterapia (p não fornecido)
Morton, 2006	Não avaliada estética objetiva
Kaufmann, 2008	Não avaliada estética objetiva
Hauschild, 2009	- Hiperpigmentação 4,9% TFD < hipocromia 33% crioterapia (p não fornecido), (comparadas alterações de pigmentação de forma geral)
Estudo atual	- Cicatrização perfeita 82% TFD > 50% crioterapia (p = 0,001) - Hipocromia 3,4% TFD < 24% crioterapia (p = 0,002) - Hiperpigmentação, hiperemia e retração foram estatisticamente iguais para ambos os métodos

5.6 Preferência de técnica

Caso precisassem de um novo tratamento de queratose, entre os 58 pacientes desta pesquisa que obtiveram resposta completa bilateralmente, não houve preferência direcionada a nenhum dos dois métodos avaliados, ficando 53,4% a favor da crioterapia e 46,6% a favor da TFD (p = 0,694). Comparando-se com os principais ensaios clínicos: dos pacientes de Szeimies *et al.* (2002), 74,4% preferiram TFD com MAL, 23,3% não preferiram nenhum método, e 2,3% preferiram outros métodos como a crioterapia e 5- fluorouracil tópico (94). Freeman *et al.* (2003) encontraram resultados parecidos, com 61% preferindo TFD, 24% sem preferência, e 15% preferindo tratamento prévio (31). E Morton *et al.* (2006) encontraram 68,4% a favor da TFD *versus* 31,5% a favor da crioterapia (74). Kaufmann *et al.* (2008) encontraram 59% de preferência para a MAL TFD e 25% para a crioterapia, diferença estatisticamente significativa (com p < 0,001), e descrevem que os principais quesitos na escolha da TFD foram conforto da técnica e resultado de cicatrização; mesmo que a TFD tenha tido eficácia estatisticamente menor que a crioterapia neste estudo (54). Apenas Hauschild *et al.* (2009) não comentam nada sobre preferência do método (43).

Conclusão

6 Conclusão

A crioterapia mostrou-se mais eficaz do que a terapia fotodinâmica com 5-ALA associada a dimetilsulfóxido no tratamento da queratose actínica.

A crioterapia mostrou-se menos dolorosa do que a terapia fotodinâmica, tanto na primeira quanto na segunda sessão, mas somente aos 15 minutos após o final da fotoativação. E que a primeira sessão doeu mais do que a segunda, para ambas as técnicas

Do ponto de vista estético, a terapia fotodinâmica mostrou-se estatisticamente igual à crioterapia quanto à avaliação subjetiva tanto do pesquisador quanto do paciente. Revelando-se superior à crioterapia apenas na avaliação médica objetiva, nos quesitos hipocromia e sem alterações.

Não houve preferência específica dos pacientes por um dos métodos de tratamento, sendo ela estatisticamente igual para as duas técnicas avaliadas.

Apêndices

Apêndice A - Termo de consentimento livre e esclarecido

“Análise comparativa entre terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico *versus* crioterapia no tratamento da queratose actínica – estudo prospectivo randomizado.”

1) Que tipo de estudo é este e por que ele está sendo realizado?

Você está sendo convidado a participar deste estudo que tem por objetivo avaliar a eficácia de um novo tratamento para a queratose actínica, chamado Terapia Fotodinâmica, onde serão usados cremes contendo a associação do ácido 5-aminolevulínico, dimetilsulfóxido (DMSO) e EDTA, com posterior aplicação de uma fonte de luz, e que será feito em pacientes atendidos pelo Hospital de Câncer de Barretos-Fundação Pio XII.

2) Eu sou obrigado a participar do estudo?

A decisão de participar desse estudo é única e exclusivamente sua. Você pode desistir do estudo a qualquer momento, sem que isto afete seu atendimento neste hospital ou seus direitos legais. Se você decidir participar, você ficará com uma cópia deste documento e deverá assinar uma via para indicar o seu consentimento.

3) O que realmente eu farei participando deste estudo?

No momento de sua visita ao ambulatório de pele do Hospital de Câncer de Barretos, será encaminhado para uma sala (do próprio hospital) onde, após tomar conhecimento deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, será esclarecido sobre as eventuais dúvidas referentes ao procedimentos da pesquisa, e, após, este termo deverá ser assinado.

A partir disso, no dia agendado, você participará da pesquisa recebendo a aplicação do creme contendo ácido 5-aminolevulínico, DMSO e EDTA na lesão da pele, sua pele será coberta com um curativo e irá aguardar durante 4 horas, quando então as feridas tratadas receberão aplicação de uma luz vermelha durante aproximadamente 7 minutos. Após dois meses, será feita uma reavaliação e, dependendo dela, poderá ser repetido o tratamento inicial. Após mais dois meses, será agendada uma última consulta para avaliação dos resultados finais.

4) Quem realizará estes procedimentos?

Todos os procedimentos serão realizados pelos médicos do departamento de pele deste hospital.

5) Riscos e desconfortos:

O tratamento pode gerar um desconforto (dor), que varia de paciente para paciente, quando for aplicada luz na lesão. Após a aplicação, pode ocorrer reação inflamatória no local de tratamento, resultado da destruição das células doentes, sendo que estes sintomas vão desaparecer em poucos dias. Caso haja necessidade, os pacientes poderão entrar em contato com os médicos deste hospital, e será dada toda assistência necessária. Caso sinta qualquer dificuldade, você poderá interromper sua participação a qualquer momento sem acarretar qualquer dano à continuidade do seu tratamento neste hospital. A sua assinatura neste espaço abaixo significa que você teve a oportunidade de ler este documento, fazer perguntas sobre ele e entender todas as informações nele contidas e que você concorda que sejam registrados seus dados relativos a esta pesquisa (sem identificação do seu nome).

Você entende que não há qualquer direito sobre os resultados do estudo, nem a qualquer retorno financeiro com base nestes resultados.

Para esclarecimento de eventuais dúvidas. Caso necessite de orientações adicionais você poderá entrar em contato com a Dra. Catarina Robert (CRM 90.762) ou Dr André Lopes Carvalho (CRM 79.352) no telefone (17) 3321-6600, Departamento de Oncologia Cutânea.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), no Hospital de Câncer de Barretos – Av. Antenor Villela, 1331 – Bairro Paulo Prata – Fone: (17) 3321-6600 (ramal 6894).

Toda a informação obtida deste estudo será confidencial e nem o seu nome ou outras informações e dados referentes à sua doença serão revelados a pessoas diferentes, apenas aos pesquisadores envolvidos no estudo. Os autores se responsabilizam por utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **“Análise comparativa entre terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico versus crioterapia no tratamento da queratose actínica – estudo prospectivo randomizado.”**

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos

permanentes. Fui informado(a) que eu posso me retirar do estudo em qualquer momento e que isto não irá interferir na qualidade ou continuidade do meu tratamento na Instituição.

Eu declaro que aceito participar deste estudo de forma livre e espontânea. Assim sendo, assino na presença de uma testemunha que eu escolhi livremente.

_____ Data ____/____/____

Assinatura do paciente/responsável legal

_____ Data ____/____/____

Assinatura da testemunha

_____ Data ____/____/____

Assinatura do pesquisador

Apêndice B - Ficha de coleta padronizada

1	Identificação	
2	Nome	
3	Registro hospitalar	
4	Telefone	
5	Sexo 1- Feminino; 2- Masculino	
6	Data de nascimento DD/MM/AAAA	
7	Escolaridade 1- Analfabeto; 2- Ensino fundamental incompleto; 3- Ensino fundamental Completo; 4- Ensino médio incompleto; 5- Ensino médio completo; 6- Ensino superior incompleto; 7- Ensino superior completo; 8- Pós-graduação; 9- Ignorado	
8	Nível socioeconômico 1- A1; 2- A2; 3- B1; 4- B2; 5- C1; 6- C2; 7- D; 8- E	
9	Fototipo 1- I; 2- II; 3- III; 4- IV; 5- V; 6- VI	
10	Data 1ª consulta DD/MM/AAAA	
11	DIREITO	Técnica 1- Crio; 2- TFD
12		Horário da aplicação do creme ou do crio HH:MM
13		Horário da luz, se TFD HH:MM
14		Área da lesão cm ²
15		Grau 1- I; 2- II; 3- III
16		Dor EVA - 0 MINUTOS 0 a 100 mm
17		Dor Numérica - 0 MINUTOS 0 a 100 mm
18		Dor EVA - 15 MINUTOS 0 a 100 mm
19		Dor Numérica - 15 MINUTOS 0 a 100 mm
20	ESQUERDO	Técnica 1- Crio; 2- TFD
21		Horário da aplicação do creme ou do crio HH:MM
22		Horário da luz, se TFD HH:MM
23		Área da lesão cm ²
24		Grau 1- I; 2- II; 3- III
25		Dor EVA - 0 MINUTOS 0 a 100 mm
26		Dor Numérica - 0 MINUTOS 0 a 100 mm
27		Dor EVA - 15 MINUTOS 0 a 100 mm
28		Dor Numérica - 15 MINUTOS 0 a 100 mm

29	Data 2ª consulta		DD/MM/AAAA	
30	DIREITO	Área da lesão	cm²	
31		Resposta	0- Sem resposta; 1- Resposta completa	
32		Nova sessão	0- Não; 1- Sim	
33		Técnica	1- Crio; 2- TFD	
34		Horário da aplicação do creme ou do crio	HH:MM	
35		Horário da luz, se TFD	HH:MM	
36		Doeu mais	1- 1ª sessão; 2- 2ª sessão	
37		Dor EVA - 0 MINUTOS	0 a 100 mm	
38		Dor Numérica - 0 MINUTOS	0 a 100 mm	
39		Dor EVA - 15 MINUTOS	0 a 100 mm	
40		Dor Numérica - 15 MINUTOS	0 a 100 mm	
41		Avaliação cosmética subjetiva do paciente	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo; 6- Não sabe	
42		Avaliação cosmética subjetiva do médico	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo	
43		Avaliação cosmética objetiva do médico	0- Sem alterações; 1- Hiperemia; 2- Hipocromia; 3- Retração cicatricial; 4- Hiperemia	
44		ESQUERDO	Área da lesão	cm²
45			Resposta	0- Sem resposta; 1- Resposta completa
46	Nova sessão		0- Não; 1- Sim	
47	Técnica		1- Crio; 2- TFD	
48	Horário da aplicação do creme ou do crio		HH:MM	
49	Horário da luz, se TFD		HH:MM	
50	Doeu mais		1- 1ª sessão; 2- 2ª sessão	
51	Dor EVA - 0 MINUTOS		0 a 100 mm	
52	Dor Numérica - 0 MINUTOS		0 a 100 mm	
53	Dor EVA - 15 MINUTOS		0 a 100 mm	
54	Dor Numérica - 15 MINUTOS		0 a 100 mm	
55	Avaliação cosmética subjetiva do paciente		1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo; 6- Não sabe	
56	Avaliação cosmética subjetiva do médico		1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo	
57	Avaliação cosmética objetiva do médico		0- Sem alterações; 1- Hiperemia; 2- Hipocromia; 3- Retração cicatricial; 4- Hiperemia	

58	Data 3ª consulta		DD/MM/AAAA	
59	DIREITO	Área da lesão	cm²	
60		Resposta	0- Sem resposta; 1- Resposta completa, 2- Recorrência	
61		Avaliação cosmética subjetiva do paciente	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo; 6- Não sabe	
62		Avaliação cosmética subjetiva do médico	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo	
63		Avaliação cosmética objetiva do médico	0- Sem alterações; 1- Hiperchromia; 2- Hipocromia; 3- Retração cicatricial; 4- Hiperemia	
64	ESQUERDO	Área da lesão	cm²	
65		Resposta	0- Sem resposta; 1- Resposta completa, 2- Recorrência	
66		Avaliação cosmética subjetiva do paciente	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo; 6- Não sabe	
67		Avaliação cosmética subjetiva do médico	1- Péssimo; 2- Ruim; 3- Regular; 4- Bom; 5- Ótimo	
68		Avaliação cosmética objetiva do médico	0- Sem alterações; 1- Hiperchromia; 2- Hipocromia; 3- Retração cicatricial; 4- Hiperemia	
69	Se houver novas queratoses, qual o tratamento que o paciente prefere?			1- Crio; 2- TFD
70	Reações adversas:			



Anexo A - Parecer do CEP ao projeto de pesquisa**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Catarina Robert

De: Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 12/11/2010

Projeto de Pesquisa: **401/2010**

Prezado (a) Senhor (a),

Vimos, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou em reunião Extraordinária de 11/11/2010 o projeto de pesquisa **401/2010 "Avaliação da formulação de ácido 5-aminolevulínico com dimetilsulfóxido na terapia fotodinâmica para tratamento de queratose actínica"** e decidiu que o mesmo encontra-se **Aprovado**.

Solicitamos que sejam encaminhados ao CEP, relatórios semestral e final, bem como possíveis emendas e novos termos de consentimento livre e esclarecido, notifique qualquer evento adverso sério ocorrido no centro e novas informações sobre a segurança do estudo a fim de se fazer o devido acompanhamento.

Atenciosamente,

Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos

Adendo B - Parecer do CEP ao adendo de alteração da ficha de coleta de dados**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Catarina Robert

De: Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 18/03/2011

Projeto de Pesquisa: **401/2010**

Prezado (a) Senhor (a),

Venho, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos aprovou o adendo ao projeto **401/2010 "Avaliação da formulação de ácido 5-aminolevulínico com dimetilsulfóxido na terapia fotodinâmica para tratamento de queratose actínica"**.

Atenciosamente,

*Dr. Renato José Affonso Junior
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos*

Anexo C – Parecer do CEP ao adendo de mudança de título para melhor adequação ao conteúdo



**Comitê de Ética em Pesquisa
CEP**

Para: Catarina Robert

De: Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa

Data: 20/01/2012

Projeto de Pesquisa: **401/2010**

Prezado (a) Senhor (a),

Venho, por meio desta, informar que o Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos analisou os documentos referentes ao projeto **401/2010** “Avaliação da formulação da formulação de ácido 5-aminolevulínico com dimetilsulfóxido na terapia terapia fotodinâmica para tratamento de queratose actínica”, e:

- Está ciente da justificativa de alteração de título do projeto de pesquisa, submetido em 10/01/2012;

Atenciosamente,


Dr. Sergio Vicente Serrano
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital de Câncer de Barretos

Fundação Pio XII – Hospital de Câncer de Barretos

Rua Antônio Duarte Villela, 1331 – B. Dr. Paulo Prata – Barretos – SP CEP 14784-400 – CNPJ 49.150.352/0001-11
Tel: 17 33216600 B. 8894

Anexo D – Protocolo de registro no site Clinical Trials



catarina robert <catarobert@ig.com.br>

ClinicalTrials.gov Protocol Record 5-ALAAK

1 mensagem

ClinicalTrials.gov Registration <register@clinicaltrials.gov>
Para: catarobert@ig.com.br
Cc: register@clinicaltrials.gov

24 de outubro de 2011 16:52

Message generated by ClinicalTrials.gov Protocol Registration System

Hospital de Cancer de Barretos - Fundacao Pio XII Protocol Record 5-ALAAK,
Comparison between 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy versus cryotherapy for actinic keratosis treatment,
has been reviewed and will be published on the ClinicalTrials.gov
public site.

RECORDS USUALLY APPEAR ON ClinicalTrials.gov WITHIN 2 BUSINESS DAYS
of the receipt of this message.

If the address list on this message does not include the appropriate
individual(s), or if there are any problems or questions regarding this
record, contact us at register@clinicaltrials.gov.

Thank you,

Quality Assurance Team
ClinicalTrials.gov

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01459393

Referências bibliográficas

Referências bibliográficas

1. (ABEP) ABdEdP. Critério de Classificação Econômica Brasil. Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (ABEP); 2008 [updated 2008; cited 23/01/2012]; Available from: <http://www.abep.org/novo/FileGenerate.ashx?id=252>.
2. Agarwal ML, Clay ME, Harvey EJ, Evans HH, Antunez AR, Oleinick NL. Photodynamic therapy induces rapid cell death by apoptosis in L5178Y mouse lymphoma cells. *Cancer Res.* 1991 Nov 1;51(21):5993-6.
3. Alexiades-Armenakas M. Laser-mediated photodynamic therapy. *Clin Dermatol.* 2006 Jan-Feb;24(1):16-25.
4. Allington HV. Liquid nitrogen in the treatment of skin diseases. *Calif Med.* 1950 Mar;72(3):153-5.
5. Askew DA, Mickan SM, Soyer HP, Wilkinson D. Effectiveness of 5-fluorouracil treatment for actinic keratosis--a systematic review of randomized controlled trials. *Int J Dermatol.* 2009 May;48(5):453-63.
6. Babilas P, Schreml S, Landthaler M, Szeimies RM. Photodynamic therapy in dermatology: state-of-the-art. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* Jun;26(3):118-32.
7. Babilas P, Travník R, Werner A, Landthaler M, Szeimies RM. Split-face-study using two different light sources for topical PDT of actinic keratoses: non-inferiority of the LED system. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2008 Jan;6(1):25-32.
8. Barlow JO, Zalla MJ, Kyle A, DiCaudo DJ, Lim KK, Yiannias JA. Treatment of basal cell carcinoma with curettage alone. *J Am Acad Dermatol.* 2006 Jun;54(6):1039-45.
9. Berg K, Moan J, Bommer JC, Winkelman JW. Cellular inhibition of microtubule assembly by photoactivated sulphonated meso-tetraphenylporphines. *Int J Radiat Biol.* 1990 Sep;58(3):475-87.
10. Berner A. Actinic keratosis and development of cutaneous squamous cell carcinoma. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 2005 Jun 16;125(12):1653-4.
11. Brayton CF. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *Cornell Vet.* 1986 Jan;76(1):61-90.
12. Brobyn RD. The human toxicology of dimethyl sulfoxide. *Ann N Y Acad Sci.* 1975 Jan 27;243:497-506.
13. Clark C, Bryden A, Dawe R, Moseley H, Ferguson J, Ibbotson SH. Topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for cutaneous lesions: outcome and comparison of light sources. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2003 Jun;19(3):134-41.
14. Conder LH, Woodard SI, Dailey HA. Multiple mechanisms for the regulation of haem synthesis during erythroid cell differentiation. Possible role for coproporphyrinogen oxidase. *Biochem J.* 1991 Apr 15;275 (Pt 2):321-6.

15. Consort. Consort Statement. Consort Group; 2010 [updated 2010; cited 2011 20/02/2011]; Available from: <http://www.consort-statement.org/>.
16. de Berker D, McGregor JM, Hughes BR. Guidelines for the management of actinic keratoses. *Br J Dermatol*. 2007 Feb;156(2):222-30.
17. De Rosa FS, Bentley MV. Photodynamic therapy of skin cancers: sensitizers, clinical studies and future directives. *Pharm Res*. 2000 Dec;17(12):1447-55.
18. De Rosa FS, Marchetti JM, Thomazini JA, Tedesco AC, Bentley MV. A vehicle for photodynamic therapy of skin cancer: influence of dimethylsulphoxide on 5-aminolevulinic acid in vitro cutaneous permeation and in vivo protoporphyrin IX accumulation determined by confocal microscopy. *J Control Release*. 2000 Apr 3;65(3):359-66.
19. Dermatologia SBd. Censo Dermatológico da Sociedade Brasileira de Dermatologia. Sociedade Brasileira de Dermatologia; 2006 [updated 2006; cited 23/01/2012]; Available from: http://www.sbd.org.br/down/censo_dermatologico2006.pdf.
20. Dinehart SM. The treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Jan;42(1 Pt 2):25-8.
21. Divaris DX, Kennedy JC, Pottier RH. Phototoxic damage to sebaceous glands and hair follicles of mice after systemic administration of 5-aminolevulinic acid correlates with localized protoporphyrin IX fluorescence. *Am J Pathol*. 1990 Apr;136(4):891-7.
22. Dodson JM, DeSpain J, Hewett JE, Clark DP. Malignant potential of actinic keratoses and the controversy over treatment. A patient-oriented perspective. *Arch Dermatol*. 1991 Jul;127(7):1029-31.
23. Dougherty TJ. A brief history of clinical photodynamic therapy development at Roswell Park Cancer Institute. *J Clin Laser Med Surg*. 1996 Oct;14(5):219-21.
24. Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res*. 1978 Aug;38(8):2628-35.
25. Drake LA, Ceilley RI, Cornelison RL, Dobes WL, Dorner W, Goltz RW, et al. Guidelines of care for actinic keratoses. Committee on Guidelines of Care. *J Am Acad Dermatol*. 1995 Jan;32(1):95-8.
26. Ericson MB, Sandberg C, Stenquist B, Gudmundson F, Karlsson M, Ros AM, et al. Photodynamic therapy of actinic keratosis at varying fluence rates: assessment of photobleaching, pain and primary clinical outcome. *Br J Dermatol*. 2004 Dec;151(6):1204-12.
27. Evans MS, Reid KH, Sharp JB, Jr. Dimethylsulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: a possible mechanism of analgesia. *Neurosci Lett*. 1993 Feb 19;150(2):145-8.
28. Fecker LF, Stockfleth E, Nindl I, Ulrich C, Forschner T, Eberle J. The role of apoptosis in therapy and prophylaxis of epithelial tumours by nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Br J Dermatol*. 2007 May;156 Suppl 3:25-33.

29. Fink-Puches R, Hofer A, Smolle J, Kerl H, Wolf P. Primary clinical response and long-term follow-up of solar keratoses treated with topically applied 5-aminolevulinic acid and irradiation by different wave bands of light. *J Photochem Photobiol B*. 1997 Nov;41(1-2):145-51.
30. Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol*. 1988 Jun;124(6):869-71.
31. Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Nguyen R, Fergin P, et al. A comparison of photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate (Metvix) with single cycle cryotherapy in patients with actinic keratosis: a prospective, randomized study. *J Dermatolog Treat*. 2003 Jun;14(2):99-106.
32. Fritsch C, Homey B, Stahl W, Lehmann P, Ruzicka T, Sies H. Preferential relative porphyrin enrichment in solar keratoses upon topical application of delta-aminolevulinic acid methylester. *Photochem Photobiol*. 1998 Aug;68(2):218-21.
33. Fritsch C, Verwohlt B, Bolsen K, Ruzicka T, Goerz G. Influence of topical photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid on porphyrin metabolism. *Arch Dermatol Res*. 1996 Aug;288(9):517-21.
34. Frost CA, Green AC. Epidemiology of solar keratoses. *Br J Dermatol*. 1994 Oct;131(4):455-64.
35. Fujita H, Yamamoto M, Yamagami T, Hayashi N, Bishop TR, De Verneuil H, et al. Sequential activation of genes for heme pathway enzymes during erythroid differentiation of mouse Friend virus-transformed erythroleukemia cells. *Biochim Biophys Acta*. 1991 Nov 11;1090(3):311-6.
36. Gaullier JM, Berg K, Peng Q, Anholt H, Selbo PK, Ma LW, et al. Use of 5-aminolevulinic acid esters to improve photodynamic therapy on cells in culture. *Cancer Res*. 1997 Apr 15;57(8):1481-6.
37. Gerritsen MJ, Smits T, Kleinpenning MM, van de Kerkhof PC, van Erp PE. Pretreatment to enhance protoporphyrin IX accumulation in photodynamic therapy. *Dermatology*. 2009;218(3):193-202.
38. Gholam P, Weberschock T, Denk K, Enk A. Treatment with 5-aminolaevulinic acid methylester is less painful than treatment with 5-aminolaevulinic acid nanoemulsion in topical photodynamic therapy for actinic keratosis. *Dermatology*. 2006;222(4):358-62.
39. Gibson SL, Cupriks DJ, Havens JJ, Nguyen ML, Hilf R. A regulatory role for porphobilinogen deaminase (PBGD) in delta-aminolaevulinic acid (delta-ALA)-induced photosensitization? *Br J Cancer*. 1998;77(2):235-42.
40. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Jan;42(1 Pt 2):23-4.
41. Haddad A, Santos ID, Gragnani A, Ferreira LM. The effect of increasing fluence on the treatment of actinic keratosis and photodamage by photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light. *Photomed Laser Surg*. 2006 Jun;29(6):427-32.

42. Harth Y, Hirshowitz B, Kaplan B. Modified topical photodynamic therapy of superficial skin tumors, utilizing aminolevulinic acid, penetration enhancers, red light, and hyperthermia. *Dermatol Surg*. 1998 Jul;24(7):723-6.
43. Hauschild A, Stockfleth E, Popp G, Borrosch F, Bruning H, Dominicus R, et al. Optimization of photodynamic therapy with a novel self-adhesive 5-aminolaevulinic acid patch: results of two randomized controlled phase III studies. *Br J Dermatol*. 2009 May;160(5):1066-74.
44. Henderson BW, Waldow SM, Mang TS, Potter WR, Malone PB, Dougherty TJ. Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumors following photodynamic therapy. *Cancer Res*. 1985 Feb;45(2):572-6.
45. Holman CD, Armstrong BK, Evans PR, Lumsden GJ, Dallimore KJ, Meehan CJ, et al. Relationship of solar keratosis and history of skin cancer to objective measures of actinic skin damage. *Br J Dermatol*. 1984 Feb;110(2):129-38.
46. Holmes C, Foley P, Freeman M, Chong AH. Solar keratosis: epidemiology, pathogenesis, presentation and treatment. *Australas J Dermatol*. 2007 May;48(2):67-74; quiz 5-6.
47. Holmes MV, Dawe RS, Ferguson J, Ibbotson SH. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the efficacy of tetracaine gel (Ametop) for pain relief during topical photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2004 Feb;150(2):337-40.
48. Hurwitz RM, Monger LE. Solar keratosis: an evolving squamous cell carcinoma. Benign or malignant? *Dermatol Surg*. 1995 Feb;21(2):184.
49. Ishioka P, Marques SA, Hirai AT, Marques ME, Hirata SH, Yamada S. Prevalence of precancerous skin lesions and non-melanoma skin cancer in Japanese-Brazilians in Bauru, Sao Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2009 May;25(5):965-71.
50. Jeffes EW. Levulan: the first approved topical photosensitizer for the treatment of actinic keratosis. *J Dermatolog Treat*. 2002;13 Suppl 1:S19-23.
51. Jeffes EW, 3rd, Tang EH. Actinic keratosis. Current treatment options. *Am J Clin Dermatol*. 2000 May-Jun;1(3):167-79.
52. Jeffes EW, McCullough JL, Weinstein GD, Fergin PE, Nelson JS, Shull TF, et al. Photodynamic therapy of actinic keratosis with topical 5-aminolevulinic acid. A pilot dose-ranging study. *Arch Dermatol*. 1997 Jun;133(6):727-32.
53. Juzeniene A, Juzenas P, Ma LW, Iani V, Moan J. Topical application of 5-aminolaevulinic acid, methyl 5-aminolaevulinate and hexyl 5-aminolaevulinate on normal human skin. *Br J Dermatol*. 2006 Oct;155(4):791-9.
54. Kaufmann R, Spelman L, Weightman W, Reifenberger J, Szeimies RM, Verhaeghe E, et al. Multicentre intraindividual randomized trial of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy vs. cryotherapy for multiple actinic keratoses on the extremities. *Br J Dermatol*. 2008 May;158(5):994-9.
55. Kennedy JC, Pottier RH. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B*. 1992 Jul 30;14(4):275-92.

56. Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B*. 1990 Jun;6(1-2):143-8.
57. Kessel D, Luo Y. Mitochondrial photodamage and PDT-induced apoptosis. *J Photochem Photobiol B*. 1998 Feb;42(2):89-95.
58. Korbelik M. Induction of tumor immunity by photodynamic therapy. *J Clin Laser Med Surg*. 1996 Oct;14(5):329-34.
59. Kurwa HA, Yong-Gee SA, Seed PT, Markey AC, Barlow RJ. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol*. 1999 Sep;41(3 Pt 1):414-8.
60. Lindeburg KE, Brogaard HM, Jemec GB. Pain and photodynamic therapy. *Dermatology*. 2007;215(3):206-8.
61. Lipson RL, Baldes EJ, Gray MJ. Hematoporphyrin derivative for detection and management of cancer. *Cancer*. 1967 Dec;20(12):2255-7.
62. Lubritz RR, Smolewski SA. Cryosurgery cure rate of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol*. 1982 Nov;7(5):631-2.
63. Malik Z, Kostenich G, Roitman L, Ehrenberg B, Orenstein A. Topical application of 5-aminolevulinic acid, DMSO and EDTA: protoporphyrin IX accumulation in skin and tumours of mice. *J Photochem Photobiol B*. 1995 Jun;28(3):213-8.
64. Malik Z, Lugaci H. Destruction of erythroleukaemic cells by photoactivation of endogenous porphyrins. *Br J Cancer*. 1987 Nov;56(5):589-95.
65. Marks R, Foley P, Goodman G, Hage BH, Selwood TS. Spontaneous remission of solar keratoses: the case for conservative management. *Br J Dermatol*. 1986 Dec;115(6):649-55.
66. Marks R, Jolley D, Lertsas S, Foley P. The role of childhood exposure to sunlight in the development of solar keratoses and non-melanocytic skin cancer. *Med J Aust*. 1990 Jan 15;152(2):62-6.
67. McDaniel WE. Therapy for basal cell epitheliomas by curettage only. Further study. *Arch Dermatol*. 1983 Nov;119(11):901-3.
68. Merk HF. Topical diclofenac in the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol*. 2007 Jan;46(1):12-8.
69. Miller RL, Gerster JF, Owens ML, Slade HB, Tomai MA. Imiquimod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *Int J Immunopharmacol*. 1999 Jan;21(1):1-14.
70. Mittelbronn MA, Mullins DL, Ramos-Caro FA, Flowers FP. Frequency of pre-existing actinic keratosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol*. 1998 Sep;37(9):677-81.
71. Moan J, Iani, V. , Ma, L.W. , and Peng, Q. Photodegradation of sensitizers in mouse skin during PCT. *Proc SPIE*. 1996;2625.

72. Moloney FJ, Collins P. Randomized, double-blind, prospective study to compare topical 5-aminolaevulinic acid methylester with topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for extensive scalp actinic keratosis. *Br J Dermatol*. 2007 Jul;157(1):87-91.
73. Moon TE, Levine N, Cartmel B, Bangert JL, Rodney S, Dong Q, et al. Effect of retinol in preventing squamous cell skin cancer in moderate-risk subjects: a randomized, double-blind, controlled trial. Southwest Skin Cancer Prevention Study Group. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1997 Nov;6(11):949-56.
74. Morton C, Campbell S, Gupta G, Keohane S, Lear J, Zaki I, et al. Intraindividual, right-left comparison of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy and cryotherapy in subjects with actinic keratoses: a multicentre, randomized controlled study. *Br J Dermatol*. 2006 Nov;155(5):1029-36.
75. Morton CA. Methyl aminolevulinate (Metvix) photodynamic therapy - practical pearls. *J Dermatolog Treat*. 2003;14 Suppl 3:23-6.
76. Morton CA, Whitehurst C, Moseley H, McColl JH, Moore JV, Mackie RM. Comparison of photodynamic therapy with cryotherapy in the treatment of Bowen's disease. *Br J Dermatol*. 1996 Nov;135(5):766-71.
77. Pariser DM, Lowe NJ, Stewart DM, Jarratt MT, Lucky AW, Pariser RJ, et al. Photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinate for actinic keratosis: results of a prospective randomized multicenter trial. *J Am Acad Dermatol*. 2003 Feb;48(2):227-32.
78. Prime J. Les Accidentes Toxiques par L'eosinate de Sodium. Jouve & Boyer. 1900.
79. Raab O. Ueber die Wirkung Fluorescierenden Stoffe auf Infusorien. *Z Biol*. 1900;39:524 - 46.
80. Reymann F. 15 years' experience with treatment of basal cell carcinomas of the skin with curettage. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*. 1985;120:56-9.
81. Rocha FP, Menezes, A.M.B., Almeida Junior, H.L., Tomasi, E. Risk markers and risk factors for actinic keratosis and basal cell carcinoma: a case-control study. *An Bras Dermatol*. [case control study]. 2004; vol.79 (no.4):441-54.
82. Roewert-Huber J, Stockfleth E, Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis - an update. *Br J Dermatol*. 2007 Dec;157 Suppl 2:18-20.
83. Rowert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, Ulrich C, Eberle J, Kerl H, et al. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol*. 2007 May;156 Suppl 3:8-12.
84. Rud E, Gederaas O, Hogset A, Berg K. 5-aminolevulinic acid, but not 5-aminolevulinic acid esters, is transported into adenocarcinoma cells by system BETA transporters. *Photochem Photobiol*. 2000 May;71(5):640-7.
85. Ruiz-Rodriguez R, Sanz-Sanchez T, Cordoba S. Photodynamic photorejuvenation. *Dermatol Surg*. 2002 Aug;28(8):742-4; discussion 4.
86. Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Jan;42(1 Pt 2):4-7.

87. Salvio AG, Bagnato, V. Esperança de cura. Da Agência Imprensa Oficial e da Assessoria de Imprensa da USPSC; 2011 [updated 2011; cited 2012 04.02.2012]; Volume 121 • Número 170 • São Paulo, quarta-feira, 7 de setembro de 2011:[Available from: <http://www.jusbrasil.com.br/diarios/30339366/dosp-executivo-caderno-2-07-09-2011-pg-i/pdfView>].
88. Schwartz RA, Bridges TM, Butani AK, Ehrlich A. Actinic keratosis: an occupational and environmental disorder. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008 May;22(5):606-15.
89. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953 Sep;6(5):963-8.
90. Soler AM, Warloe T, Tausjo J, Berner A. Photodynamic therapy by topical aminolevulinic acid, dimethylsulphoxide and curettage in nodular basal cell carcinoma: a one-year follow-up study. *Acta Derm Venereol*. 1999 May;79(3):204-6.
91. Sotiriou E, Apalla Z, Maliamani F, Zappas N, Panagiotidou D, Ioannides D. Intraindividual, right-left comparison of topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy vs. 5% imiquimod cream for actinic keratoses on the upper extremities. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009 Sep;23(9):1061-5.
92. Souza CS, Neves AB, Felicio LA, Ferreira J, Kurachi C, Bagnato VS. Optimized photodynamic therapy with systemic photosensitizer following debulking technique for nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg*. 2007 Feb;33(2):194-8.
93. Steinbauer JM, Schreml S, Babilas P, Zeman F, Karrer S, Landthaler M, et al. Topical photodynamic therapy with porphyrin precursors--assessment of treatment-associated pain in a retrospective study. *Photochem Photobiol Sci*. 2009 Aug;8(8):1111-6.
94. Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, et al. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol*. 2002 Aug;47(2):258-62.
95. Szeimies RM, Karrer S, Sauerwald A, Landthaler M. Photodynamic therapy with topical application of 5-aminolevulinic acid in the treatment of actinic keratoses: an initial clinical study. *Dermatology*. 1996;192(3):246-51.
96. Thai KE, Fergin P, Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, et al. A prospective study of the use of cryosurgery for the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol*. 2004 Sep;43(9):687-92.
97. Touma D, Yaar M, Whitehead S, Konnikov N, Gilchrest BA. A trial of short incubation, broad-area photodynamic therapy for facial actinic keratoses and diffuse photodamage. *Arch Dermatol*. 2004 Jan;140(1):33-40.
98. Trepte O, Rokahr I, Andersson-Engels S, Carlsson K. Studies of porphyrin-containing specimens using an optical spectrometer connected to a confocal scanning laser microscope. *J Microsc*. 1994 Dec;176(Pt 3):238-44.
99. Tschien EH, Wong DS, Pariser DM, Dunlap FE, Houlihan A, Ferdon MB. Photodynamic therapy using aminolaevulinic acid for patients with nonhyperkeratotic actinic keratoses

- of the face and scalp: phase IV multicentre clinical trial with 12-month follow up. *Br J Dermatol*. 2006 Dec;155(6):1262-9.
100. Von Tappeiner H, Jesionek A. Therapeutische Versuche mit fluorescierenden Stoffe. *Munch Med Wochenschr*. 1903;47:2042 - 4.
 101. Wang I, Bendsoe N, Klinteberg CA, Enejder AM, Andersson-Engels S, Svanberg S, et al. Photodynamic therapy vs. cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial. *Br J Dermatol*. 2001 Apr;144(4):832-40.
 102. Wheeland RG. The pitfalls of treating all actinic keratoses as squamous cell carcinomas. *Semin Cutan Med Surg*. 2005 Sep;24(3):152-4.
 103. Yantsos VA, Conrad N, Zabawski E, Cockerell CJ. Incipient intraepidermal cutaneous squamous cell carcinoma: a proposal for reclassifying and grading solar (actinic) keratoses. *Semin Cutan Med Surg*. 1999 Mar;18(1):3-14.
 104. Zacarian SA. Cryosurgery in skin cancer. *Arch Dermatol*. 1969 Dec;100(6):775.
 105. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, Simon JA, Sharma HW, Kimmelman J, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature*. 1994 Dec 22-29;372(6508):773-6.