



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

Anna Carolina Miola

Polypodium leucatomos VIA ORAL VERSUS
PLACEBO ASSOCIADO A MEBUTATO DE INGENOL
GEL 0,05% OU COLCHICINA CREME 0,5% NO
TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS E
CAMPO DE CANCERIZAÇÃO CUTÂNEO: UM
ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Helio Amante Miot

Botucatu

2021

Anna Carolina Miola

***Polypodium leucatomos* VIA ORAL VERSUS
PLACEBO ASSOCIADO A MEBUTATO DE
INGENOL GEL 0,05% OU COLCHICINA CREME
0,5% NO TRATAMENTO DE QUERATOSES
ACTÍNICAS E CAMPO DE CANCERIZAÇÃO
CUTÂNEO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de Botucatu, Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Botucatu, para
obtenção do título de Doutor em
Fisiopatologia em Clínica Médica.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Amante Miot

Botucatu

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Miola, Anna Carolina.

Polypodium leucatomos via oral versus placebo associado a mebutato de ingenol gel 0,05% ou colchicina creme 0,5% no tratamento de queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo : um ensaio clínico randomizado / Anna Carolina Miola. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Helio Amante Miot

Capes: 40101029

1. *Polypodium*. 2. Colchicina. 3. Ceratose actínica.
4. Carcinoma espinocelular. 5. Pele - Câncer.

Palavras-chave: Campo de cancerização; Carcinoma espinocelular; Ceratose actínica; Colchicina; *Polypodium leucatomos*.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	4
AGRADECIMENTOS ESPECIAIS	5
AGRADECIMENTOS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS / SIGLAS	8
LISTA DE SÍMBOLOS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	11
1.REVISÃO DE LITERATURA.....	13
Queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo.....	13
Tratamentos disponíveis	19
Tratamentos destrutivos	19
Tratamentos tópicos	20
Tratamentos sistêmicos	23
<i>Polypodium leucatomos</i>	26
Colchicina.....	28
Mebutato de ingenol	29
Referências.....	34
2. OBJETIVOS	39
OBJETIVO GERAL	39
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
3. MANUSCRITO.....	40
4. CONCLUSÕES.....	56
5. PERSPECTIVAS.....	57
ANEXO 1: Research letter ABD: Adaptação cultural e validação - AKQoL-BR.....	61
ANEXO 2: Editorial – Jornal Vascular Brasileiro: p-valor e dimensão do efeito	68
ANEXO 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	77
ANEXO 4: Randomização dos antebraços dos pacientes.....	78
ANEXO 5: Escala de fotoenvelhecimento dos antebraços.....	80
ANEXO 6: Escala de Gravidade das Queratoses Actínicas - AKSS.....	81
ANEXO 7: KIN – Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia.....	82
ANEXO 8 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	83

DEDICATÓRIA

Ao nosso Criador,

Por todo seu amor e bênçãos durante minha vida e por sempre guiar meu caminho. Por me iluminar e me manter em pé mesmo nas horas mais difíceis. Por mandar sinais e bênçãos todos os dias para que eu me lembre de que preciso seguir firme no meu propósito.

Aos meus pais, Claudio e Sueli,

Por todo o esforço e dedicação na minha formação. Nada seria possível sem seu apoio, sempre incondicional.

Ao meu marido, Arley,

Pelo apoio, compreensão e auxílio de inúmeros modos, indispensáveis durante todo o período, da coleta ao desenvolvimento da tese. Por ser meu braço direito (e às vezes esquerdo) tantas vezes todos esses anos.

Ao meu irmão, Daniel, e minha cunhada Fernanda,

Pelo apoio, amizade e carinho de sempre.

A todos familiares e amigos, especialmente meus tios José e Denise,

Por sempre me apoiarem, desde a adolescência, a continuar estudando e não desistir dos meus sonhos

Aos meus cães Marley e Úrsula,

Por todas as alegrias que me proporcionam todos os dias e carinho dispensados a mim do modo que lhes é possível.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao meu orientador, Prof. Hélio Amante Miot,

Por toda dedicação e incentivo à ciência. Por ser um exemplo de pesquisador e dermatologista, combinando excelência em pesquisa e em atenção e cuidado aos seus pacientes. Por todo o cuidado com nosso projeto. Por sempre me estimular a fazer o meu melhor. Por ser não só meu orientador, mas um querido amigo.

Aos médicos residentes e contratados da Divisão de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu,

Pelo apoio imensurável que recebi durante todo o projeto, principalmente no período da pandemia, com tantas ansiedades e dificuldades. Todos os dias, eles estavam lá, contribuindo com o estudo e oferecendo amizade e companheirismo.

Às minhas queridas amigas Nicole França Holmo, Laís Martins Moreira dos Anjos e Giovana Piteri Alcântara,

Por me darem apoio, ouvirem minhas preocupações e serem pessoas indispensáveis no meu dia a dia.

AGRADECIMENTOS

Aos voluntários que participaram do estudo,
Pela confiança que depositaram em mim.

Aos docentes da divisão de Dermatologia da Faculdade de Medicina de Botucatu,
Pelo apoio e aprendizado que sempre tenho com vocês. Como é bom estar com esse time!

À divisão de Dermatologia, seus contratados e docentes e à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da USP,
Pelo conhecimento e formação concedidos a mim. Anos vividos que jamais esquecerei.

Ao Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por Imagem e Radioterapia e
à Faculdade de Medicina de Botucatu,
Pelo acolhimento e pelas oportunidades únicas de crescimento profissional que têm me
proporcionado.

Ao Fundo de Apoio à Dermatologia (FUNADERM), por acreditarem no nosso projeto e nos
permitir a chance de performá-lo.

Trabalho desenvolvido no ambulatório de Dermatologia
HC-UNESP

Este trabalho foi realizado com o auxílio financeiro de:
Fundo de Apoio à Dermatologia – FUNADERM (aprovado em: 23/01/2019).

LISTA DE ABREVIATURAS / SIGLAS

5FU – 5-fluorouracil

AK – do inglês *Actinic Keratosis*: queratose actínica

ALA – ácido 5-delta aminolevulínico

AKSS – do inglês *Actinic Keratosis Severity Score*: escala de gravidade das queratoses actínicas

BAX – proteína homóloga à bcl-2

CCC – campo de cancerização cutâneo

CEC – carcinoma espinocelular

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

COL – colchicina

COX-2 – enzima ciclooxigenase-2

DNA – do inglês *deoxyribonucleic acid*: ácido desoxirribonucleico

dp – desvio-padrão

EUA – Estados Unidos da América

EMA – do inglês *European Medicines Agency*: Agência Europeia de Medicamentos

FMB-Unesp – Faculdade de Medicina de Botucatu - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

FPS – Fator de Proteção Solar

H&E – hematoxilina e eosina

IM – do inglês *Ingenol Mebutate*: mebutato de ingenol

ITT – do inglês *Intention To Treat*: análise tipo intenção de tratamento

Ki67 – proteína Ki67

KIN – do inglês *Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia*: neoplasia intraepitelial queratinocítica

MAL – do inglês *Methyl Aminolevulinate*: aminolevulinato de metila

MI – mebutato de ingenol

OCT – tomografia por coerência óptica

p53 – proteína p53

p.ex. – por exemplo

PL – *Polypodium leucatomos*

QA – queratose actínica

RUV – radiação ultravioleta

SCC – do inglês *Squamous Cell Carcinoma*: carcinoma espinocelular

sd – do inglês *standard deviation*: desvio padrão

SFC – do inglês *Skin Field Cancerization*: campo de cancerização cutâneo

SPF – do inglês *Sun Protection Factor*: Fator de Proteção Solar

TCNM – tumores cutâneos não-melanoma

TFD – terapia fotodinâmica

UNESP – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”

UVA – radiação ultravioleta tipo A

UVB – radiação ultravioleta tipo B

LISTA DE SÍMBOLOS

® - Marca Registrada

RESUMO

Fundamentos: Campo de cancerização cutâneo representa uma área com alterações genômicas induzidas pela radiação ultravioleta (RUV), cujo sinal clínico de atividade são as queratoses actínicas (QA). Tratamentos que visem sua estabilização podem reduzir a incidência de QA e de tumores cutâneos. *Polypodium leucatomos* (PL) contém compostos polifenólicos com atividade antioxidante e potencial papel na prevenção do desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas. A colchicina tópica apresentou redução de 77% das QAs faciais, com satisfatório resultado estético pós-tratamento, e em ensaio recente apresentou resultados semelhantes à terapia fotodinâmica no tratamento das QAs dos antebraços. O mebutato de ingenol é utilizado no tratamento de QAs e do campo de cancerização com forte grau de recomendação até então. Esse trabalho objetiva avaliar a eficácia do creme de colchicina 0,5%, do mebutato de ingenol 0,05% gel e do extrato de *Polypodium leucatomos* via oral, no tratamento de QA e campo de cancerização cutâneo em imunocompetentes.

Casuística e métodos: Ensaio clínico randomizado, fatorial, duplo-cego e placebo-controlado para o tratamento oral e aberto para o tratamento tópico. Foram incluídos 50 pacientes do ambulatório de Dermatologia da UNESP-Botucatu, com 3-10 QAs em cada antebraço, que receberam PL oral ou placebo (dois comprimidos de 250mg 12/12 horas por 60 dias), e tiveram seus antebraços tratados com creme de colchicina 0,5% (2x/dia por 7 dias – grupo COL), filtro solar FPS 30 (3x/dia – grupo FPS) ou mebutato de ingenol 0,05% gel (1x/dia por dois dias – grupo MI) e reavaliados após 15, 60 e 180 dias. A avaliação clínica foi realizada pela contagem de QAs, sua escala de gravidade (AKSS) e escala de fotoenvelhecimento dos antebraços (EFA). Dessa forma, os pacientes foram divididos em seis grupos: PL+COL, PL+MI, PL+FPS, PLAC+COL, PLAC+MI e PLAC+FPS. Em 12 dos 50 pacientes, os antebraços foram biopsiados (D0, D60 e D180) e foi realizada análise anatomopatológica do KIN (*Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia*), na coloração hematoxilina-eosina (H&E). Todos os pacientes incluídos no estudo e randomizados fizeram parte da população ITT (*intention to treat*). As contagens de QA, AKSS, EFA e o KIN foram comparados de acordo com o tempo e para os grupos (ao longo do tempo) pelo modelo linear generalizado de efeitos mistos. Os dados ausentes foram imputados por meio do modelo misto. A significância foi definida como valor de p unicaudal <0,05. O tamanho do efeito entre os grupos foi estimado pelo bootstrap (1000 reamostragens).

Resultados: A idade média dos indivíduos foi de 72 anos; 64% eram homens. No D60, o *clearance* total e parcial foi identificado em dois e 11 indivíduos (8% e 44%) no grupo PL, três e 11 (12% e 44%) no grupo PLAC, cinco e 18 (14,7% e 52,9%) no grupo COL, cinco e 17 (16,1% e 54,8%) no grupo MI; e um e nove (2,8% e 25,7%) no grupo FPS. Em relação ao tratamento oral, houve redução significativa na contagem de QA, AKSS e EFA no D60 e no D180 ($p < 0,05$), sem diferenças entre os grupos, exceto para o grupo PL em AKSS, superior no D180. Consequentemente, a análise foi realizada em relação aos tratamentos tópicos, de forma que houve redução significativa na EFA para COL, MI e FPS (-12% vs -14% vs -10%), AKSS (-56% vs -46% vs -35%) e contagem de QA (-43 % vs -39% vs -26%) 60 dias após as intervenções ($p < 0,05$). Em relação ao D180, houve uma redução na contagem de QA (-57% vs -53% vs -37%), AKSS (-60% vs -44% vs -35%) e EFA (-15% vs -14% vs -10%). COL foi superior aos outros grupos na contagem de QA e EFA ($p < 0,05$) no D60 e D180. Dois (8%) indivíduos

relataram epigastralgia no grupo PL e dois (8%) relataram diarreia no grupo PLAC. Os eventos adversos moderados observados em tratamentos tópicos no D15 foram de 13% no grupo MI, 23% no COL e 8% no FPS. COL reduziu significativamente o KIN no D60 e no D180, enquanto não houve o mesmo efeito com os outros tópicos ($p < 0,05$).

Conclusão: *Polypodium leucatomos* não se mostrou eficaz no tratamento do campo de cancerização cutâneo, enquanto colchicina 0,5% creme, mebutato de ingenol 0,05% e filtro solar FPS 30 são eficazes e seguros.

Palavras-chave: Campo de cancerização, Carcinoma espinocelular, Ceratose actínica, Colchicina, Dermatologia, Mebutato de ingenol, *Polypodium leucatomos*, Oncologia, Quimioprevenção.

ABSTRACT

Background: Skin field cancerization (SFC) represents an area with genomic mutations induced by ultraviolet radiation (UVR), whose clinical sign of activity is actinic keratoses (AK). Treatments which aim to stabilize SFC may reduce the incidence of AK and skin cancer. *Polypodium leucatomos* (PL) contains polyphenolic compounds with antioxidant activity and potential role in prevention of development of pre-neoplastic lesions. Topical colchicine reduced 77% of facial AKs, with a satisfactory aesthetic result, and in a recent trial presented similar results to photodynamic therapy in the treatment of AKs of the forearms. Ingenol mebutate is a modality of treatment of AKs and SFC with a strong degree of recommendation. This work aims to evaluate the effectiveness of 0.5% colchicine cream, 0.05% ingenol mebutate gel and PL extract orally, in the treatment of AK and SFC in immunocompetent individuals.

Methods: Randomized, factorial, double-blind, placebo-controlled clinical trial for oral treatment and open for topical treatment. Fifty patients from the Dermatology outpatient clinic at UNESP-Botucatu were included, with three up to ten AKs on each forearm, who received oral PL or placebo (two 250mg tablets bid for 60 days), and had their forearms treated with: 0.5% colchicine cream (bid for 7 days - COL group), SPF 30 sunscreen (three times a day - SC group) or 0.05% ingenol mebutate gel (once daily for two days - IM group) and reevaluated after 15, 60 and 180 days. The clinical evaluation was performed by AK count, the actinic keratosis severity scale (AKSS) and the forearms photoaging scale (FPS). Subjects were divided into six groups: PL+COL, PL+IM, PL+SC, PLAC+COL, PLAC+IM and PLAC+SC. In 12 of the 50 patients, forearms were biopsied (D0, D60 and D180) and an anatomopathological analysis of KIN (*Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia*) in hematoxylin-eosin staining (H&E) was performed. All patients included in the study and randomized were part of the ITT (*intention to treat*) population. AK count, AKSS, FPS and KIN were compared according to time and for groups (over time) by the generalized linear mixed effects model. The missing data were imputed using the mixed model. Significance was defined as a one-tailed p-value <0.05. The effect-size among the groups was estimated by (1,000 resamples) bootstrap with accelerated correction for bias.

Results: The mean age of the subjects was 72 years and 64% were male. At 60 days, total and partial clearance were observed in two and 11 subjects (8% and 44%) in the PL-group, three and 11 (12% and 44%) in PLAC-group, five and 18 (14.7% and 52.9%) in COL-group, five and 17 (16.1% and 54.8%) in IM-group; and one and nine (2.8% and 25.7%) in SC-group. Regarding oral treatment, there was a significant reduction in AK count, AKSS and FPS after 60 days and D180 ($p < 0.05$), with no differences between groups, except for the PL group in AKSS, superior at D180. There was a significant reduction in SPF for COL, IM and SC in FPS (-12% vs -14% vs -10%), AKSS (-56% vs -46% vs -35%), and AK count (-43% vs -39% vs -26%) 60 days after the interventions ($p < 0.05$). Regarding D180, there was a reduction in AK count (-57% vs -53% vs -37%), AKSS (-60% vs -44% vs -35%) and FPS (-15% vs -14% vs -10%). COL was superior to the other groups in the AK count and FPS ($p < 0.05$) at D60 and D180. Two (8%) subjects reported epigastralgia in PL group and two (8%) reported diarrhea in PLAC group. Moderate adverse events observed in topical treatments at D15 were 13% in IM group 23% in COL and 8% in SC. Only COL significantly reduced KIN at D60 and D180 ($p < 0.05$).

Conclusion: *Polypodium leucatomos* was not effective in treating SFC, while colchicine 0.5% cream, ingenol mebutate 0.05% gel and sunscreen SPF 30 are effective and safe, with superiority to colchicine.

Keywords: Actinic keratosis, Chemoprevention, Colchicine, Dermatology, Ingenol mebutate, *Polypodium leucatomos*, Oncology, Skin field cancerization, Squamous cell carcinoma.

1. REVISÃO DE LITERATURA

Queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo

As queratoses actínicas (QA), também chamadas ceratoses actínicas ou queratoses solares, são proliferações atípicas de células epiteliais, resultantes, principalmente, da fotoexposição crônica e consideradas pré-malignas.¹ Por serem lesões pré-neoplásicas, apresentam risco de evoluir para carcinoma espinocelular (CEC) de 0,025 a 20% ao ano.² Apesar de o dano solar crônico ser a principal causa, QAs também podem ocorrer ocasionalmente devido a outros tipos de radiação, como exposição a raios X, radioterapia e exposição à radiação UV artificial em tratamentos de fototerapia, por exemplo,³ o que justifica o maior uso do termo queratose actínica (de origem grega, *aktínes*: raios).⁴

Além do potencial risco de evolução para CEC, as QAs destacam-se também pela alta prevalência na população: no Brasil, é a quarta dermatose mais diagnosticada nos consultórios dermatológicos, sendo o diagnóstico mais frequente em pacientes com mais de 65 anos.⁵ Os indícios de aumento na incidência de QAs na população ao longo do tempo,⁶ visto o envelhecimento populacional e a exposição cumulativa à radiação ultravioleta (RUV),¹ são outro aspecto epidemiológico relevante, justificando a necessidade de realização de mais estudos relacionados à epidemiologia, fisiopatologia, seguimento e terapêutica das QAs.

Os grupos de maior risco de desenvolverem QAs são os pacientes de fototipos baixos (I e II de Fitzpatrick), idosos, pacientes com antecedente de exposição solar crônica sem fotoproteção,² principalmente se exposição ocupacional,⁷ pacientes do sexo masculino (fato provavelmente justificado pela maior exposição laboral),^{8,9} pacientes imunocomprometidos, destacando-se os transplantados de órgãos sólidos,^{10,11} e pacientes portadores de genodermatoses que apresentem defeitos nos genes de reparo ao DNA (xeroderma pigmentoso, síndrome de Rothmund-Thompson, síndrome de Bloom, entre outras).¹²

A RUV é o principal fator envolvido na fisiopatologia das QAs, visto que a radiação ultravioleta do tipo B (UVB) é absorvida pelo DNA celular, promovendo erros no reparo de dímeros de ciclobutano pirimidina e substituições de DNA do tipo citosina-timina (C-T), o que leva a mutações na proteína p53, mutações no gene da telomerase e aumento na produção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, outros mecanismos envolvidos são inflamação, estresse oxidativo, imunossupressão, apoptose prejudicada, desregulação do ciclo celular e da proliferação celular (figura 1).^{13,14}

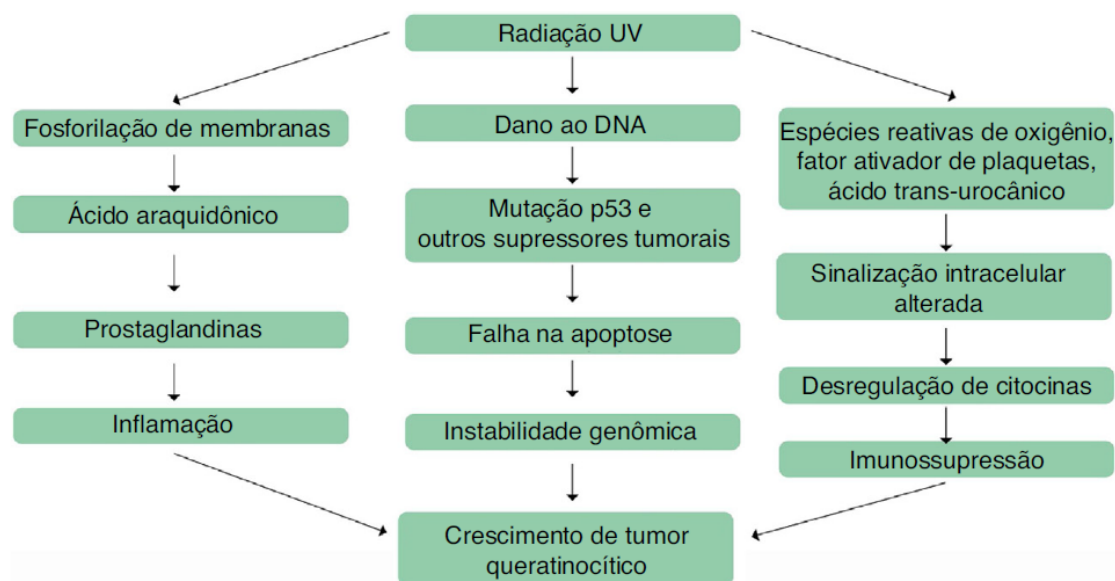


Figura 1. Mecanismos envolvidos na patogênese das QAS (fonte: Reinehr CPH, Bakos RM. Actinic keratoses: review of clinical, dermoscopic and therapeutic aspects. An Bras Dermatol 2019; 94:637-57).

Clinicamente, as QAs são identificadas como máculas, pápulas, máculo-pápulas ou placas, confluentes ou não, cobertas por escamas aderentes e hiperqueratósicas, podendo ou não apresentar base infiltrada (Figura 2), presentes principalmente nas áreas mais expostas à luz solar: 75% das QAs diagnosticadas encontram-se no colo, face, couro cabeludo, antebraços e dorso das mãos.¹⁵ No exame clínico dermatológico, faz-se necessário lembrar que algumas QAs podem ser mais palpáveis que visíveis, o que pode dificultar o diagnóstico de algumas lesões.



Figura 2. Queratoses actínicas: lesões eritematosas, hiperqueratósicas no dorso da mão e uma lesão hiperkeratósica e infiltrada no punho. Tais áreas foram cronicamente danificadas pela exposição solar crônica (Fonte: Arquivo dos pesquisadores).

As QAs podem ser classificadas através de diferentes métodos, como apresentação clínica,¹⁶ características evolutivas,¹⁷ características clínicas e anatomopatológicas,^{18,19} e dermatoscópicas, no caso das QAs faciais.²⁰ Porém, até o momento, as classificações clínicas não mostraram correlação com as classificações histológicas.²¹

A relação de maior risco de evolução para CEC em QAs que apresentam displasia na camada basal é uma das observações que podem justificar tal fato.^{22,23} Recentemente, foi desenvolvida um escore clínico de gravidade das queratoses actínicas (AKSS), que leva em consideração o diâmetro, a hiperqueratose e a ulceração, que se correlacionou positivamente com o grau de atipia dos queratinócitos na análise anatomopatológica em H&E das QAs biopsiadas.²⁴

Os sinais indicadores de possível progressão de QA para CEC são: infiltração, crescimento rápido, sangramento e ulceração, e devem ser um alerta ao dermatologista no momento do diagnóstico.^{1,25} A alta variabilidade para o risco de progressão para CEC encontrada na literatura deve-se, provavelmente, às heterogeneidades entre os desenhos dos estudos realizados até o momento. O risco de evolução de uma única QA para CEC é baixo (aproximadamente 1% em 10 anos, em estudos mais recentes)²⁶, porém, um mesmo paciente

com múltiplas QAs possui um risco muito maior de desenvolver CEC, carcinoma basocelular (CBC), e mesmo melanoma, em menores proporções.^{27,28} Tal fato, somado à dificuldade até o momento em determinar qual lesão realmente evoluirá ou não para CEC torna primordial o tratamento de todas as QAs e o seguimento do paciente com múltiplas lesões, na tentativa de reduzir a morbimortalidade relacionada às neoplasias cutâneas.

É comum que pacientes com diagnóstico de QA possuam mais de uma lesão em uma mesma área. Múltiplas QAs incidentes em uma mesma região caracterizam clinicamente um campo de cancerização cutâneo (CCC) em atividade.²⁹

Descrito pela primeira vez em 1953 por Slaughter em pacientes com CEC oral, o campo de cancerização compreende uma área de tegumento aparentemente normal, porém, com alterações subclínicas e multifocais, composta por células geneticamente alteradas, teoria que justificaria a recorrência de tumores considerados completamente excisados à histopatologia ou surgimento de novas neoplasias em áreas adjacentes.³⁰

O conceito de CCC sugere que a pele aparentemente normal que circunda as QAs seja a base da expansão clonal de células geneticamente alteradas (figura 3), o que explicaria a ocorrência de novas QAs ou outras neoplasias cutâneas em uma mesma área tegumentar, além da recorrência local de tumores considerados completamente excisados pela análise histopatológica.^{31,32}

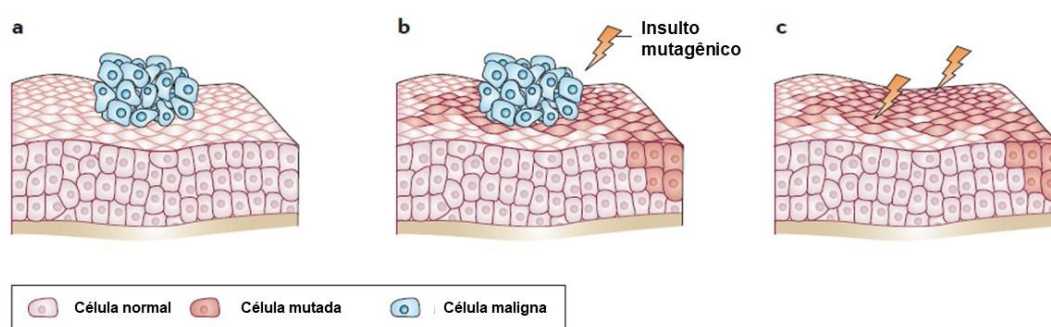


Figura 3. Caracterização do campo de cancerização: a) Desenvolvimento de um tumor esporádico, lesão que não compartilha mutações tumorigênicas com o tecido circunjacente; b) Desenvolvimento de um tumor em um campo cancerizado, iniciado a partir de uma célula com mutações tumorigênicas inicialmente compartilhadas e fenótipo alterado concomitante com o tecido circundante, que levam à expansão de sua linhagem ancestral para formar um campo de cancerização; c) Um campo de cancerização pode ser iniciado independentemente por muitas células após um insulto mutagênico. Tal insulto pode fornecer às células um fenótipo vantajoso como consequência de dano ao DNA dentro de um gene-chave e fornecer um microambiente favorável ao desenvolvimento de lesões neoplásicas e pré-malignas (Fonte: Curtius K, Wright NA, Graham TA. An evolutionary perspective on field cancerization. Nat Rev Cancer. 2017; 18(1):19–32).

Recentemente, o CCC vem sendo estudado devido a sua importância clínica, pois sua estabilização pode prevenir o surgimento de neoplasias, sua recorrência ou a evolução das lesões já existentes (Figura 4).³³



Figura 4. Campo de cancerização cutâneo: múltiplas queratoses actínicas (identificadas) nos antebraços de idoso exposto cronicamente ao sol. Em comparação, sua pele do tórax protegida pelo sol não apresenta lesões evidentes (Fonte: Arquivo dos pesquisadores).

Até o presente momento, a contagem de QAs é a principal medida clínica indireta de atividade no campo de cancerização cutâneo, sendo utilizada em pesquisas, geralmente associada a outros parâmetros, como diâmetro, ulceração e a erupção de novos tumores cutâneos não-melanoma (TCNM) na área estudada. Entretanto, a contagem de QAs em si é um método que pode ser não-reprodutível, principalmente em áreas extensas de campo de cancerização, com um grande número de QAs,³⁴ tornando-se necessária a procura por métodos mais acurados de medida de atividade do campo de cancerização cutâneo.

A exposição à RUV, bem como inflamação, estresse oxidativo, imunossupressão, apoptose prejudicada, desregulação do ciclo celular e da proliferação celular,^{13,14} são fatores presentes na fisiopatologia das QAs e comuns ao processo de fotoenvelhecimento, de forma que aspectos clínicos relacionados à senescência cutânea, como elastose solar, ríides e melanoses,

também são sinais clínicos presentes em áreas que apresentam um CCC em atividade e podem ser avaliados como parâmetros adjuvantes à caracterização da atividade do campo de cancerização cutâneo.

Vários marcadores foram testados ultimamente, como análise de dímeros de ciclobutano pirimidina, expressão imunohistoquímica de p53, Ki67, survivina, tenascina-C, entre outros, porém com resultados conflitantes. Estudo recente do nosso grupo em campo de cancerização evidenciou que atipias intraepiteliais, p53 e Ki67 conjuntamente podem auxiliar na caracterização de atividade do campo de cancerização cutâneo,³⁵ porém, mais estudos com outros marcadores necessitam ser realizados. Além disso, o uso de marcadores histológicos no campo de cancerização não é prático, visto a necessidade da realização de uma biópsia em um paciente muitas vezes sem queixas.

Técnicas de imagem, como a microscopia confocal e a tomografia por coerência óptica (OCT), podem ser aprimoradas como métodos de avaliação do campo de cancerização cutâneo. Em QAs, a microscopia confocal apresenta como sinais de maior especificidade o desarranjo estrutural e o pleomorfismo celular (figura 5);³⁶ entretanto, sua aplicabilidade ainda é pouco estudada no campo de cancerização em si e, portanto, incerta.²⁵ Logo, ainda não há consenso na literatura quanto a parâmetros clínicos ou histológicos que possam medir sua atividade.³⁰

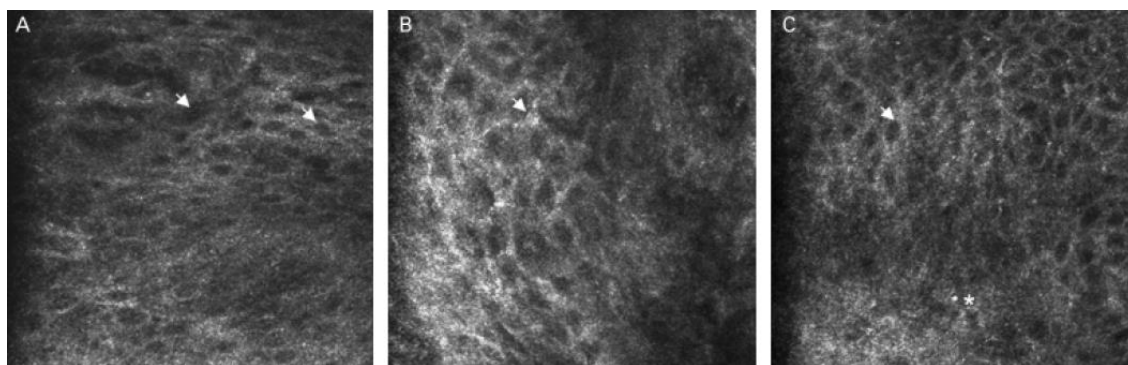


Figura 5. Microscopia confocal de uma QA. A) Ruptura da arquitetura epidérmica, pleomorfismo de queratinócitos e atipia, evidenciados pela desorganização estrutural dos queratinócitos. B e C). Os núcleos correspondem a áreas ovais escuras arredondadas centralmente colocados dentro dos queratinócitos, cercados por uma borda brilhante do citoplasma (setas brancas) e variando em tamanho e forma, indicando pleomorfismo (Fonte: Ulrich M, Maltusch A, Rius-Díaz F, Röwert-Huber J, González S, Sterry W, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatologic Surg.* 2008;34(5):610–9).

Tendo em vista o envelhecimento da população, a maior exposição à RUV e o consequente aumento da incidência de QAs e de neoplasias cutâneas, terapêuticas que visem à estabilização da atividade do campo de cancerização podem contribuir para a redução da incidência de QAs e outras neoplasias malignas da pele. Ademais, o tratamento do campo de

cancerização contribui na melhora da qualidade de vida dos pacientes,³⁷ visto que há evidências de piores índices de qualidade de vida em pacientes com múltiplas QA.³⁸

Tratamentos disponíveis

Tratamentos destrutivos

O objetivo dos tratamentos destrutivos ou cirúrgicos é a destruição completa das QAs, minimizando o risco de progressão das mesmas para CEC. Apesar de eficazes para o tratamento das QAS em si, métodos cirúrgicos não tratam o campo de cancerização; consequentemente, não previnem a ocorrência de novas QAs ou de lesões já invasivas. Além disso, não há estudos avaliando a redução da incidência de neoplasias cutâneas invasivas em pacientes com QAs tratadas por métodos cirúrgicos, devendo ser, desta forma, preferencialmente utilizados em associação com outros métodos voltados para o tratamento de campo.^{39,40}

A crioterapia com nitrogênio líquido é uma terapia de fácil acesso ambulatorial e consequentemente o tratamento mais utilizado para QAs até o momento.⁴¹ É bem tolerada e apresenta bons resultados clínicos e histopatológicos, com resposta clínica de 83% quando o tempo de congelação preconizado é superior a 20 segundos. Entretanto, podem ocorrer desconforto na aplicação e hipocromia persistente pós-procedimento.

A curetagem associada à eletrocirurgia é uma modalidade altamente eficaz para o tratamento de QAs. É utilizada especialmente para lesões hiperqueratóticas e infiltradas e apresenta a vantagem de permitir envio de material para análise anátomopatológica;⁴² todavia, necessita de anestesia local, o que permite o tratamento de um número limitado de QAs, além de apresentar tempo de cicatrização variável e risco de cicatriz inestética.⁴³

O laser de CO₂ também pode ser utilizado no tratamento de QAs. Com uma única sessão, após 90 dias, obteve-se taxa de resposta completa de 64%; entretanto, há recidiva da lesão de 71% em 12 meses.⁴⁴ Além disso, é operador dependente e apresenta alto custo operacional, podendo ser considerado como estratégia terapêutica para QAS, todavia com baixo grau de recomendação em relação aos procedimentos anteriores.

Tratamentos tópicos

A fotoproteção efetiva reduz a contagem de QAs. Em estudo controlado, usuários de filtro solar com fator de proteção solar (FPS) 17 reduziram em até 40% a incidência de novas QAs no período de seis meses.⁴⁵ Em outro estudo, houve redução de 50% do número de QAs em dois anos com o uso correto do filtro solar com FPS 29.^{46,47}

O 5-fluorouracil (5FU) é droga quimioterápica tópica, antimetabólica, inibidora da síntese do DNA. Utilizada em concentrações que variam de 0,5 a 5%, pode ser utilizado na forma de creme ou em *peelings* semanais. Apresenta boa resposta terapêutica, com redução de até 80% na contagem de QAs,⁴⁸ e ação concomitante no fotodano, estabilizando, consequentemente, o campo de cancerização. Entretanto, seus efeitos colaterais podem levar à interrupção do tratamento: eritema, dor, edema e ulceração nos casos mais graves e o limite de área tratada de 500cm² deve ser respeitado a fim de evitar toxicidade sistêmica.⁴⁸⁻⁵⁰

O imiquimode é um imunomodulador tópico, agonista dos receptores *toll-like* tipo 7. Age estimulando a imunidade celular local e, consequentemente, leva à destruição da lesão por apoptose. Apresenta taxa de *clearance* completo de QAs de 57,1% e parcial de 72,1%, *versus* placebo, com 2,2% e 4,3%, respectivamente.³³ É disponível nas formulações de 3,75% e 5%, pode causar eritema, edema e desconforto local variável, assim como o 5FU e também apresenta restrição de área e deve ser usado em áreas de até 25cm².⁵¹

A tretinoína, ou ácido retinoico, também pode ser utilizada na estabilização do campo de cancerização cutâneo, pois promove a redução de atipias nos queratinócitos, aumenta o número de células de Langerhans na área de aplicação, a espessura epitelial e reduz p53 e BAX, proteínas relacionadas à apoptose. Houve redução de 45% do número de QAs em estudo feito com tretinoína 0,05%, *versus* redução de 23% no grupo placebo, com filtro solar.^{52,53}

O fotoprotetor associado à enzima fotoliase pode ser usado como adjuvante no tratamento do campo de cancerização. A fotoliase é enzima reparadora do DNA, ativada por luz visível, que mostrou benefício no tratamento do campo de cancerização, pois leva à melhora dos parâmetros clínicos e histopatológicos, além de reduzir a expressão epitelial de p53 e Ki67, evidenciada através de imunohistoquímica.⁵⁴ Em estudos comparativos com filtro solar comum, o fotoprotetor associado à fotoliase demonstrou maior redução no grau de alterações moleculares relacionadas à fotoexposição.⁵⁵ Por outro lado, em estudo recente do nosso grupo de estudo, o fotoprotetor associado à fotoliase não demonstrou diferenças na redução da contagem de queratoses actínicas

e na redução da atividade do campo de cancerização dos antebraços quando comparado ao filtro solar comum.⁵⁶

Peelings químicos também podem ser utilizados no tratamento do campo de cancerização cutâneo, como peelings de média profundidade de ácido glicólico 70% ou solução de Jessner e 5FU 5% em propilenoglicol, em sessões quinzenais.⁵⁷ Peelings quinzenais de solução de Jessner associados ao 5FU 5% em solução levaram à redução de ao menos 80% das QAs dentro de 12 meses de tratamento em uma análise retrospectiva,⁵⁸ estimulando a condução de futuros ensaios clínicos com essa modalidade de tratamento. Estudo recente comparou peeling de ácido glicólico 70% + 5FU 5% com 5FU creme no tratamento do campo de cancerização dos antebraços, com resultados promissores, fortalecendo as evidências de peelings químicos como alternativas terapêuticas na estabilização do campo.⁵⁹

Apesar de pouco utilizada no Brasil, a terapia fotodinâmica (TFD) apresenta excelentes resultados no tratamento do campo de cancerização, com taxas de *clearance* total variando de 81 a 89%.^{60,61} Além da técnica tradicional, que necessita da exposição a uma fonte de luz de comprimentos de onda específicos, há a variação que utiliza a luz do dia (*daylight*-TFD) para a ativação das protoporfirinas acumuladas pelo aminolevulinato, com resultados muito próximos aos da técnica convencional (78%).^{60,62}

Um sumário de estudos clínicos randomizados e controlados que empregaram diferentes estratégias tópicos no tratamento das QAs está disposto na tabela 1. Dentre os tratamentos tópicos, destacaremos a colchicina e o mebutato de ingenol, elementos do nosso estudo, discutidos a seguir.

Tabela 1. Principais tratamentos tópicos disponíveis para queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo: ensaios clínicos randomizados.

Agente	Regime terapêutico (autor, ano)	Área de tratamento	Resultados
Fotoprotetor	Fotoprotetor FPS 17 diariamente por 6 meses <i>versus</i> placebo ⁴⁵ (Thompson, 1993)	Face, pescoço, antebraços e dorso das mãos	Redução de 25% Controle: redução de 18%
Fotoprotetor associado à fotoliase	Aplicação diária por 6 meses <i>versus</i> fotoprotetor comum ⁵⁵ (Carducci, 2015)	Face, couro cabeludo	Redução de dímeros de ciclobutano pirimidina (CPD) de 61% <i>versus</i> 35% com fotoprotetor comum
5-fluorouracil (5FU)	2x por dia por 3 semanas <i>versus</i> TFD 5-ALA única ⁶³ sessão (Kurwa, 1999)	Dorso das mãos (autocontrolado)	Redução da área lesionada de 70% <i>versus</i> 73% no grupo TFD*
	2x por dia, 2x na semana <i>versus</i> 2x por dia, 1x na semana ⁶⁴ (Labandeira, 2004)	Face	90% de redução na contagem de QAs <i>versus</i> 88,6%*

	2x por dia durante 4 semanas <i>versus</i> placebo ⁶⁵ (Pomerantz, 2015)	Face	<i>Clearance</i> completo de QAs de 38% <i>versus</i> 17% após seis meses
Imiquimod 5%	1x por dia, três vezes por semana por 16 semanas <i>versus</i> placebo ⁶⁶ (Szeimies, 2015)	Face	<i>Clearance</i> completo de QA: 57.1% <i>versus</i> 2.2% (placebo) <i>Clearance</i> parcial de QA: 72.1% <i>versus</i> 4.3% (placebo)
Terapia fotodinâmica (TFD)	TFD-MAL 2 sessões com intervalo de 1 semana <i>versus</i> TFD com placebo ⁶¹ (Pariser, 2003)	Face e couro cabeludo	<i>Clearance</i> completo de 89% <i>versus</i> 38% com placebo*
	TFD-MAL 2 sessões com intervalo de 1 semana <i>versus</i> imiquimod 5% 3x por semana durante 4 semanas ⁶⁷ (Sotirou, 2015)	Face e couro cabeludo	Sem diferenças entre os grupos no surgimento de novas QAs nas áreas tratadas
Terapia fotodinâmica com a luz do dia (Daylight TFD)	TFD-MAL sessão única <i>versus</i> Daylight-TFD sessão única ⁶⁰ (Sotirou, 2018)	Face (autocontrolado)	<i>Clearance</i> total de 78% <i>versus</i> 81% com TFD-MAL em 3 meses e 71% <i>versus</i> 74% em 12 meses*
	TFD-MAL sessão única na luz azul <i>versus</i> Daylight-TFD sessão única ⁶² (Assikar, 2020)	Face e couro cabeludo (autocontrolado)	Redução na contagem de QAs de 94% na TFD-MAL com luz azul <i>versus</i> 90% com Daylight-TFD*
Retinoides tópicos	Tretinoína 0,5% 1x ao dia durante 90 dias <i>versus</i> placebo ⁶⁸ (Euvrard, 1992)	Antebraços (autocontrolado)	Redução de 45% <i>versus</i> 23% no grupo placebo na contagem de QAs
	Tretinoína 0,05% 3x por semana durante seis meses <i>versus</i> peelings de tretinoína 5% quinzenais ⁶⁹ (Sumita, 2018)	Antebraços (autocontrolado)	Redução de 60% na contagem de QAs em ambos os grupos*
Diclofenaco 3%	1x ao dia por 90 dias <i>versus</i> placebo ⁷⁰ (Wolf, 2001)	Fronte, face, couro cabeludo, antebraços e mãos	Redução de 47% na contagem de QAs <i>versus</i> 19% com placebo
Colchicina	Colchicina 1% <i>versus</i> 0,5% 2x por dia durante 10 dias ⁷¹ (Akar, 2001)	Face, couro cabeludo, antebraços e dorso das mãos	Redução de 74% na contagem de QAs com 1% <i>versus</i> 78% com 0,5%*
	Colchicina 1% 2x ao dia por 45 dias <i>versus</i> diclofenaco 3% ⁷² (Faghihi, 2016)	Face, couro cabeludo e dorso das mãos	50% de redução da média do tamanho das lesões em ambos os grupos*
	Colchicina 0,5% 2x ao dia por 10 dias <i>versus</i> MAL-TFD única sessão ⁷³ (Miola, 2018)	Antebraços (autocontrolado)	<i>Clearance</i> total de QAs 17% <i>versus</i> 19% com MAL-TFD e <i>clearance</i> parcial (>50%) de 44% <i>versus</i> 69%*
Peelings	ATA 35% <i>versus</i> ALA-TFD ⁵⁶ (Holzer, 2016)	Face e couro cabeludo	Redução na contagem de QAs de 32% <i>versus</i> 58% com ALA-TFD (p<0,05)
	ATA 70% + 5FU 5% quinzenais <i>versus</i> 5FU creme 2x ao dia em ciclos quinzenais ⁵⁹ (Heuser, 2020)	Antebraços (autocontrolado)	Redução de 75% na contagem de QAs <i>versus</i> 85% com 5FU creme*

Mebutato de ingenol (MI)	MI 1x/dia por três dias <i>versus</i> sessão única de MAL-TFD ⁷⁴ (Jansen, 2020)	Face e couro cabeludo	30% do pacientes com <i>clearance</i> >75% sustentado <i>versus</i> 37% com MAL-TFD
---------------------------------	--	-----------------------	---

* $p > 0,05$ = ns; TFD = Terapia fotodinâmica

Tratamentos sistêmicos

Recentemente, novas alternativas além dos tratamentos tópicos e procedimentos vêm sendo estudadas como estratégias de tratamento do campo de cancerização cutâneo, visto que, apesar da quantidade considerável de opções terapêuticas tópicas, o número de alternativas sistêmicas é pequeno e ainda um campo pouco explorado. Todavia, torna-se essencial a procura por outras estratégias, visto o envelhecimento populacional e o consequente aumento do número de pacientes com múltiplas comorbidades, inclusive acamados, ou mesmo a existência de pacientes que tenham preferência por tratamentos por via oral, fatores esses que podem reduzir a aderência a tratamentos tópicos e, consequentemente, diminuir a efetividade da estabilização do campo de cancerização cutâneo.

Os retinoides são drogas derivadas da vitamina A, atualmente divididos em três gerações de retinoides sintéticos, que podem ser utilizados através das vias tópica e sistêmica.⁷⁵ Seu mecanismo de ação na prevenção e tratamento de QAs, campo de cancerização e tumores cutâneos ainda não foi completamente esclarecido; entretanto, os retinoides apresentam propriedades antiproliferativas, promovem a diferenciação celular, interferem no processo de iniciação tumoral, reduzem a regulação de proto-oncogenes, aumentam a expressão de p53 e caspases proapoptóticas estimulando a apoptose dos queratinócitos.⁷⁶⁻⁷⁹

Há vários ensaios clínicos utilizando retinoides tópicos ou sistêmicos no tratamento de QAs e prevenção de tumores cutâneos, com bons resultados em pacientes imunocompetentes e imunocomprometidos. A acitretina é um dos tratamentos orais mais eficazes na prevenção do surgimento de QAs e tumores cutâneos, especialmente nos pacientes transplantados de órgãos sólidos, nos quais o tratamento com acitretina apresenta o maior grau de recomendação (Grade A) nas revisões sistemáticas.⁸⁰ Recentemente, um ensaio comparando isotretinoína oral 10mg/dia *versus* tretinoína 0,05% creme, mostrou redução significativa de QAs em seis meses de tratamento, porém sem diferenças entre os grupos, fornecendo evidências de que ambas as formas são seguras e efetivas na estabilização do campo de cancerização cutâneo.⁸¹ Entretanto, retinoides sistêmicos possuem efeitos colaterais comuns, como xerose cutâneo-mucosa, elevação

de enzimas hepáticas, triglicérides e colesterol, que podem causar a descontinuidade do tratamento sistêmico ou mesmo contraindicá-lo.^{82, 83}

A nicotinamida é uma vitamina hidrossolúvel pertencente ao grupo de vitaminas do complexo B. Encontrada em alimentos de origem vegetal e animal,⁸⁴ atua no reparo do DNA, reduzindo os efeitos da imunossupressão cutânea causados pela RUV, modulando a produção de citocinas inflamatórias e restaurando os níveis de energia celular após a exposição ultravioleta.⁸⁵

A nicotinamida via oral mostrou ser efetiva na prevenção da fotocarcinogênese em ratos,⁸⁶ e também parece apresentar efeito protetor da fotoimunossupressão em humanos, reduzindo a contagem de QAs em ensaios randomizados.^{87,88} Em um ensaio clínico duplo-cego e randomizado realizado pelo nosso grupo de pesquisa, com 36 pacientes com 3 a 10 QAs nos antebraços, a nicotinamida oral na dose de 500mg a cada 12 horas não promoveu melhora clínica em 120 dias, mas apresentou redução na expressão de Ki67 na análise imunohistoquímica, indicando necessidade de novos ensaios clínicos para avaliar o possível efeito na estabilização do campo de cancerização cutâneo.⁸⁹

Além dos tratamentos descritos acima, o *Polypodium leucatomos* (PL), melhor discutido adiante, vem sendo estudado em desordens cutâneas pigmentares pela evidência de seu efeito fotoprotetor em ensaios envolvendo animais.⁹⁰ Entretanto, por ter poucos estudos robustos, seu grau de recomendação é baixo em dermatologia. Por sua vez, até o momento, há somente um ensaio clínico aberto avaliando o efeito da administração oral de PL na atividade do campo de cancerização cutâneo, e nenhum ensaio clínico randomizado e duplo-cego, o que torna inédito o estudo apresentado.

Um resumo dos principais ensaios clínicos randomizados relacionados a tratamentos sistêmicos no campo de cancerização cutâneo são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Principais tratamentos sistêmicos disponíveis para queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo: ensaios clínicos randomizados.

Agente	Regime terapêutico (autor, ano)	Resultados
Retinoides	Acitretina 30mg/dia <i>versus</i> placebo por 6 meses (Bavinck, 1995) ⁹¹	Redução de QAs em 13.4% dos pacientes do grupo acitretina <i>versus</i> aumento de QAs em 28.2% dos pacientes do grupo placebo ($p<0.05$)
	Acitretina 0.4mg/kg/ dia por 12 meses <i>versus</i> 0.4mg/kg/ dia por 3 meses + 0.2mg/kg/ dia por 9 meses (Des Sevaux, 2003) ⁹²	Redução significativa em ambos os grupos, sem diferenças entre si
	Acitretina 25mg/dia durante 6 meses, com aumento para 50mg/dia (se tolerância) por mais 18 meses em pacientes transplantados renais (George, 2002) ⁹³	Redução de 42% no surgimento de tumores cutâneos não-melanoma durante o uso de 25mg/dia
	Isotretinoína 10mg/dia via oral <i>versus</i> tretinoína 0.05% creme em dias alternados por 6 meses (Ilanhez, 2019) ⁸¹	Redução na contagem de QAs de 30% em ambos os grupos, sem diferenças entre si
Nicotinamida	Nicotinamida 500mg 1x/ <i>versus</i> placebo dia por 4 meses (Surjana, 2012) ⁸⁷	29% de redução na contagem de QA <i>versus</i> 13% ($p<0.05$)
	Nicotinamida 500 mg 2x/dia <i>versus</i> placebo for 4 meses (Surjana, 2012) ⁸⁷	35% de redução na contagem de QA <i>versus</i> 13% ($p<0.05$)
	Nicotinamida 500mg 2x/dia <i>versus</i> placebo por 12 meses (Chen, 2015) ⁸⁵	Número de QAs 11% menor após 12 meses no grupo usando nicotinamida ($p<0.001$)
<i>Polypodium leucatomos</i>	Duas sessões semanais de MAL-TFD <i>versus</i> duas sessões semanais de MAL-TFD +PL 960mg/dia por 30 dias e 480mg/dia por 5 meses (Auriemma, 2015) ⁹⁴	Redução em 71% da contagem de QAs do couro cabeludo em MAL-TFD <i>versus</i> 88% em MAL-TFD+PL ($p<0.05$)

Polypodium leucatomos

O *Polypodium leucatomos* (PL) é um ativo extraído de uma espécie de samambaia nativa da América do Sul e Central, da família *Polypodiaceae*, gênero *Phlebodium* (figura 6),⁹⁵ cuja primeira descrição de uso na dermatologia foi para pacientes com psoríase em placas.⁹⁶



Figura 6: Samambaia da família *Polypodiaceae*, de onde o PL é extraído (fonte: <http://www.ebiochem.com/product/polypodium-polypodium-leucotomos-root-extract-powder-5-1-14202>).

O PL destaca-se por conter compostos polifenólicos, conhecidos por apresentarem atividade antioxidante,⁹⁷ incluindo os ácidos ferúlico, vanílico e cafeico.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Recentemente, vem sendo estudado pela sua provável atividade antioxidante e pelo seu potencial papel na redução do fotoenvelhecimento¹⁰¹ e, atualmente, na prevenção no desenvolvimento de tumores cutâneos, principalmente através de estudos em modelos animais.^{102,103}

O efeito fotoprotetor do PL é modulado através de vários mecanismos de ação, envolvendo múltiplos aspectos (tabela 3).¹⁰⁴ Em estudos com ratos, a suplementação oral de PL levou à prevenção da perda de células de Langerhans na epiderme, importantes na resposta imune local,¹⁰⁵ além do aumento da expressão de p53 ativa e consequente redução da proliferação de células epidérmicas, o que levou ao retardo no desenvolvimento de tumores cutâneos e redução de lesões pré-neoplásicas, sugerindo possível efeito de atividade no campo de cancerização.¹⁰²

Tabela 3. Principais mecanismos de ação do *Polypodium leucatomos* envolvidos no efeito fotoprotetor

Ação	Efeito celular/molecular	Tipo de Estudo
Anti-inflamatória	Redução do infiltrado neutrofílico induzido por RUV ¹⁰⁶	Experimental em ratos
	Inibição da expressão de COX-2 UV induzida ¹⁰⁶	Experimental em ratos
	Bloqueio de TNF- α e NF- κ B ¹⁰⁷	<i>In vitro</i>
Redução da mutação do DNA	Expressão de p53 ativa ¹⁰⁶	Experimental em ratos
	Remoção de ciclobutanos de pirimidina ¹⁰⁶	Experimental em ratos
Regulação Imune	Manutenção das células de Langerhans epidérmicas ¹⁰⁶	Experimental em ratos
Integridade celular	Inibição de metaloproteinases ¹⁰⁸	<i>In vitro</i>

(adaptado de: El-Haj N, Bao MB, Goldstein N. Sun protection in a pill: the photoprotective properties of *Polypodium leucatomos* extract. Int J Dermatol 2015; 54:362-6.)

O PL, em conjunto com seu efeito epidérmico direto, inibe a expressão da enzima COX-2, induzida pela RUV através da ativação da via do ácido araquidônico, e ativamente envolvida no processo de diferenciação celular e apoptose.¹⁰⁹ Em estudos em modelos animais, a administração de PL levou a níveis de COX-2 4 a 5 vezes menores em ratos após exposição à RUV, reduzindo a inflamação aguda provocada pela RUV.¹¹⁰

Além de efeitos antiinflamatórios e epidérmicos diretos, o PL reduz a formação de dímeros de timina e de ciclobutanos de pirimidina após exposição à RUV,^{103,109,110} reduz a superexpressão de IL-2 e IL-10,¹⁰³ bloqueia a produção de radicais oxidativos induzidos pela exposição à RUV,^{96,103,105} com possível efeito mantido mesmo após interrupção da sua administração.¹¹²

Clinicamente, o uso de PL tem demonstrado, em estudos, redução significativa da reação eritematosa aguda 24 horas após exposição à RUV, mais pronunciada nas primeiras duas horas de exposição, associada à redução de ciclobutanos de pirimidina, *sunburn cells* e alterações histopatológicas RUV induzidas.¹¹³ Além disso, apresentou aumento da dose eritematosa mínima após 28 dias de administração oral em ensaio clínico placebo-controlado,⁹⁹ mostrando um possível efeito na fotoproteção crônica e, consequentemente, na prevenção da tumorigênese.

Estudo recente demonstrou que a terapia fotodinâmica associada à administração oral de PL durante seis meses apresentou redução de QAs na face de 88%, significativamente maior que o uso isolado da terapia fotodinâmica (71%);⁹⁴ entretanto, não há outros ensaios clínicos voltados

ao estudo do PL no tratamento de QAs e do campo de cancerização cutâneo, necessários para posicionar o PL como mais uma estratégia terapêutica de campo ou manter seu potencial apenas como agente antioxidante no tratamento do fotoenvelhecimento.¹⁰¹

Colchicina

A colchicina, alcaloide derivado da planta *Colchicum autumnale* (Figura 7),¹¹⁴ é uma droga muito antiga, conhecida historicamente pelo seu uso no tratamento da gota e outras dores articulares.¹¹⁵

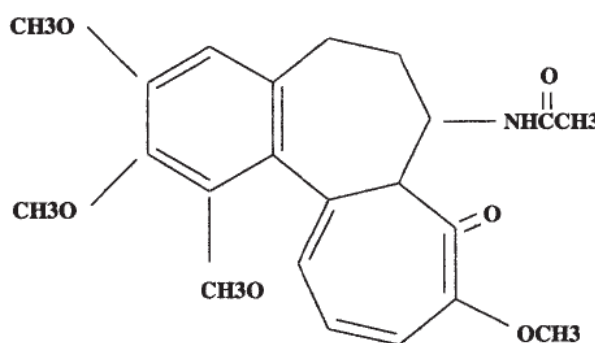


Figura 7: *Colchicum autumnale* e estrutura química da colchicina (Fonte: Grimaitre M, Etienne A, Fathi M. Topical Colchicine Therapy for Actinic Keratoses. Dermatology 2000; 200: 346-8.)

A colchicina se liga às proteínas microtubulares e interfere na função dos fusos mitóticos, interrompendo o processo de divisão celular. Por se acumular em concentrações muito maiores nos leucócitos, possui efeito mais intenso na interrupção de seus fusos mitóticos que em outros tipos celulares, apresentando potente efeito antiinflamatório.¹¹⁶

Na dermatologia, a colchicina foi empregada em diferentes indicações terapêuticas, principalmente em dermatoses inflamatórias, dentre elas: psoríase vulgar, psoríase pustulosa generalizada, pustulose palmo plantar, vasculite de pequenos vasos, reação tipo II da hanseníase, doença de Behçet, dentre outras.¹¹⁷

Como efeitos colaterais, pode causar dor abdominal, náuseas, vômitos, diarreia, anemia aplástica e agranulocitose. Apresenta meia-vida de 14 a 30 horas, janela terapêutica restrita e lenta eliminação pelas vias renal e biliar, sendo necessário muito cuidado na administração oral diária.¹¹⁸ Embora o grau de absorção cutânea seja desconhecido, não foram descritos efeitos colaterais sistêmicos com seu uso tópico.¹¹⁹

A primeira descrição do uso da colchicina tópica para QA foi em 1968 por Marshall.¹²⁰ O primeiro ensaio clínico foi realizado em 2000, com a aplicação de colchicina 1% creme nas QAs, por até 10 dias, quando efeitos colaterais localizados, como eritema, crostas e erosões foram encontrados a partir do sétimo dia de uso, e em sete dos dez pacientes estudados houve clareamento completo das QAs do couro cabeludo após 60 dias.¹²¹ Posteriormente, foi estudada nas concentrações de 0,5% e 1% em gel, sem diferenças estatísticas nos resultados e nos eventos adversos, além da boa tolerabilidade registrada. Apresentou redução da contagem de QAs em 77%, associada a satisfatório resultado estético pós-tratamento, com possibilidade de eritema discreto ou hipopigmentação.⁷¹ O primeiro ensaio clínico comparativo autocontrolado do uso da colchicina com outro tratamento para QAs e campo de cancerização foi realizado pelo nosso grupo de estudo, no qual o uso de colchicina 0,5% creme duas vezes na semana por 10 dias foi comparado a uma sessão de MAL-TFD nos antebraços, com redução na contagem de QAs em ambos os grupos, sem diferença estatística entre os tratamentos.⁷³ Entretanto, são necessários mais estudos com a droga, a fim de determinar a melhor posologia, bem como realizar comparações com outras drogas já consagradas no tratamento das QAs.

A tirbanibulina, assim como a colchicina, é um inibidor sintético da polimerização da tubulina, e mostrou resultados promissores no tratamento de QAs da face, com *clearance* completo em 54% dos pacientes avaliados sessenta dias após seu uso tópico a 1% durante cinco dias no tratamento do campo de cancerização¹²², fortalecendo as evidências positivas quanto ao uso de drogas antiproliferativas no tratamento do CCC.

Mebutato de ingenol

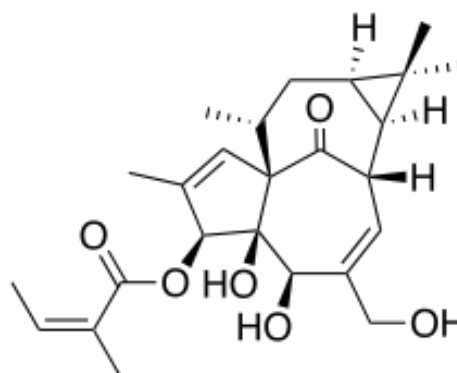


Figura 8: Planta *Euphorbia peplus*, fonte de extração do mebutato de ingenol, e sua estrutura química. (Fonte: https://projects.ncsu.edu/cals/plantbiology/ncsc/deployed/sliks/Euphorbia_peplus.htm).

O mebutato de ingenol (MI) é um éster diterpeno macrocíclico hidrofóbico, extraído da seiva da planta *Euphorbia peplus* (Figura 8), com mecanismo de ação pouco conhecido, porém com evidente efeito citotóxico direto (não apoptótico) e ação na resposta imune celular mediada por neutrófilos.¹²³

Sua resposta imune mediada é específica, com a ativação da proteína quinase C delta, que estimula linfócitos B a produzirem anticorpos específicos para células neoplásicas. Além disso, há também a indução de receptores de interleucinas nos queratinócitos, contribuindo para a resposta inflamatória e a diminuição da viabilidade das células neoplásicas tratadas.^{124,125} Tais anticorpos interagem com os neutrófilos, desencadeando a produção de superóxidos e resposta imune celular neutrofílica.¹²⁶ Já seu efeito citotóxico direto ocorre pela perda de potencial de membrana mitocondrial, com consequente necrose celular (figuras 9 e 10).¹²³ Tais mecanismos resultam na redução da expressão de p53 nos queratinócitos afetados, justificando seu uso não somente para o tratamento das QAs, mas também para a estabilização do CCC.⁷⁴

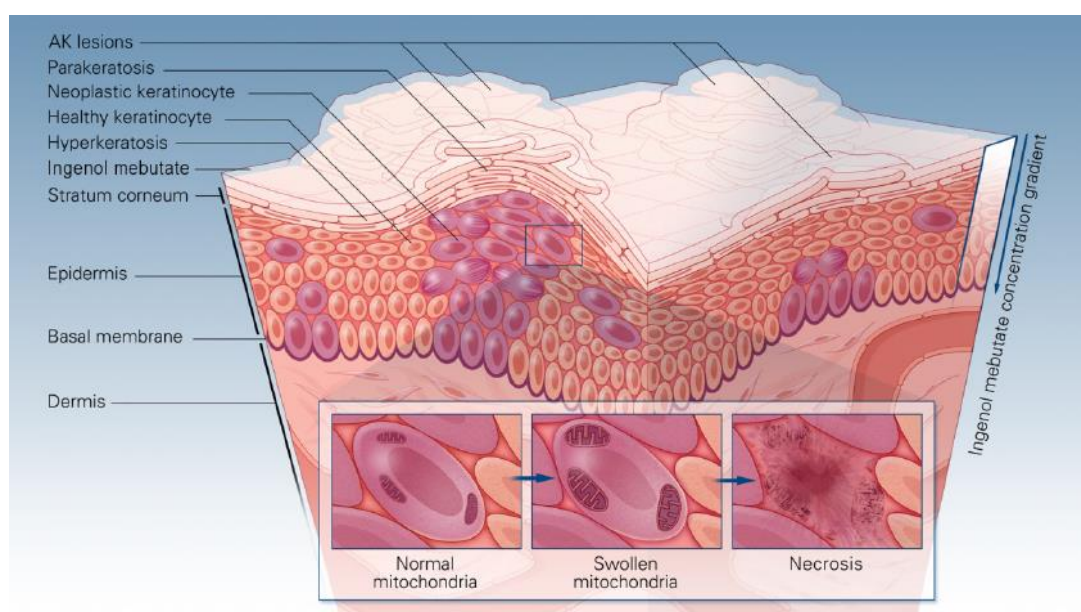


Figura 9. Mecanismo de ação do mebutato de ingenol: efeito citotóxico através da destruição da membrana mitocondrial (Fonte: Stockfleth E, Bastian M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ingenol mebutate for the treatment of actinic keratosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2018;14(9):911–8).

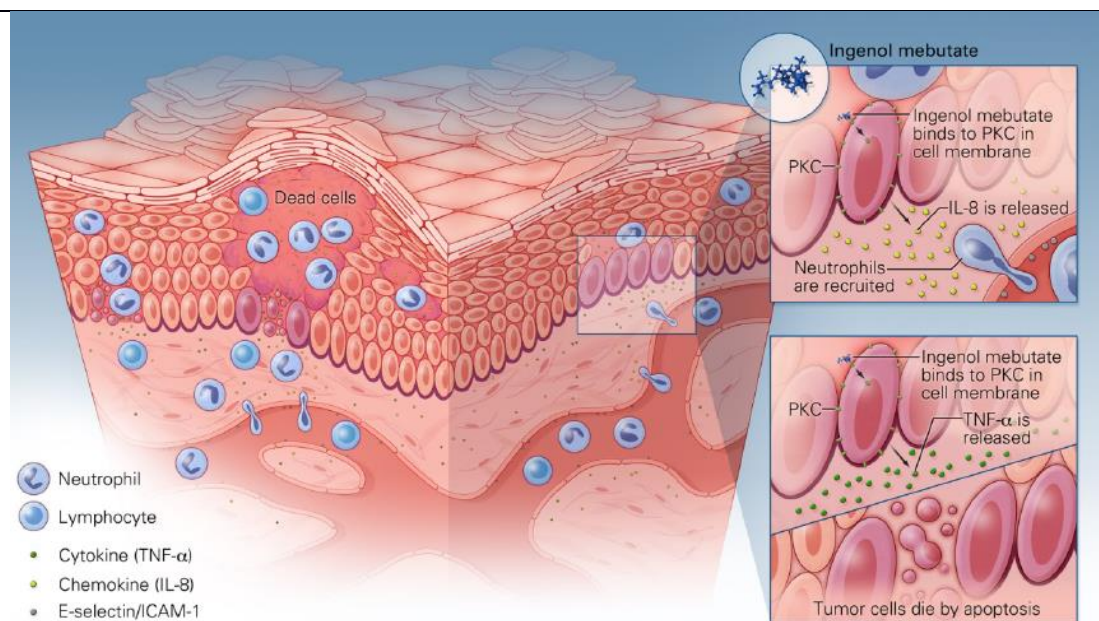


Figura 10: Mecanismo de ação dual do mebutato de ingenol: quimiotaxia de neutrófilos e liberação de interleucinas, contribuindo com a destruição tecidual (Fonte: Stockfleth E, Bastian M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ingenol mebutate for the treatment of actinic keratosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2018;14(9):911–8).

MI era produzido nas concentrações de 0,015% para face e 0,05% para tronco e extremidades, destaca-se pelo curto tempo de tratamento (três dias na face e dois dias no tronco) e por seus efeitos colaterais serem locais, leves a moderados e representados por irritação, eritema, dor, vesículas, pústulas e crostas, com rápida recuperação e sem deixar sequelas cicatriciais ou discrômicas.^{37,18} Como pontos negativos, apresenta seu alto custo e a liberação para uso em uma área de apenas 25 cm² de pele, por ciclo de tratamento.¹²⁷

Em um ensaio clínico de fase I, pacientes receberam MI 0,06% em uma área de tratamento de até 250 cm², nos quais foram encontrados níveis sanguíneos de MI em 2 dos 19 pacientes tratados nos antebraços, porém, com dosagem a nível subnanomolar, e apenas eventos adversos locais, temporários e moderados, oferecendo evidências que o MI pode ser usado em grandes áreas sem maiores riscos ou efeitos colaterais.¹²⁸ Além disso, um estudo de fase III com MI 0,027% em áreas com 250cm² mostram boa tolerabilidade, segurança e bons resultados no tratamento das QAs.¹²⁹

Quanto aos ensaios clínicos em campo de cancerização, o MI já foi comparado com alguns dos tratamentos disponíveis, apresentando clareamento parcial de 75% e total de 42% das QAs dos antebraços e, no tronco, 34% e 49%, respectivamente, apresentando eficácia semelhante ao uso de diclofenaco gel 3% durante 60 dias ou imiquimod 5% durante 16 semanas.¹³⁰ Além da boa

taxa de resposta, há persistência dos efeitos do tratamento em seis meses, com recorrência de somente 13% das lesões tratadas, associado a um alto nível de satisfação com o tratamento, tanto por dermatologistas como pelos pacientes.¹³¹

O uso de MI tem sido estudado preferencialmente na face e couro cabeludo, com poucos estudos nos antebraços e, até o momento, nenhum estudo comparativo com outro tratamento no controle da atividade do campo de cancerização dos antebraços em si.

Recentemente, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) recomendou a interrupção do uso de MI no tratamento de QAs, visto que, três anos após o tratamento das QAs em um estudo comparativo com MI *versus* imiquimod, 6,3% dos pacientes tratados com MI desenvolveram tumores cutâneos, predominantemente CEC, nas áreas tratadas, *versus* 2% dos pacientes tratados com imiquimod.¹³² Além disso, há, na literatura, relatos de casos de pacientes que desenvolveram CECs nas áreas tratadas com MI em um curto intervalo de tempo após o tratamento.^{133,134}

Além da EMA, a Agência Reguladora de Medicamentos e Produtos de Saúde do Reino Unido (MHRA) também orientou a suspensão da comercialização do MI no país, após análise de estudos de fase IV, que evidenciaram uma possível relação entre o uso de MI e um risco aumentado de desenvolvimento de câncer de pele. O *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) também iniciou investigação da segurança do uso de MI no tratamento de QAs, porém os resultados e seu parecer ainda não foram publicados. No Brasil, por outro lado, a comercialização do MI foi suspensa oito meses antes da suspensão pela EMA devido ao alto custo da droga, o que gerou dificuldades de comercialização.

Estudos realizados pela indústria farmacêutica mostraram, em um ensaio clínico aberto de fase III com 163 indivíduos com QAs tratados MI 0,06% gel, houve desenvolvimento de CEC em 8,6% dos participantes, enquanto nenhum paciente do grupo controle apresentou desfecho semelhante.¹³⁵ Entretanto, esses resultados foram apenas submetidos ao registro de ensaios clínicos dos EUA mas não foram divulgados na literatura acadêmica, sugerindo um provável viés de publicação.

Até o momento, portanto, ainda há poucas publicações mostrando a associação do uso do MI com o desenvolvimento de CEC, e não há estudos evidenciando relação causal e/ou possíveis vias metabólicas ou inflamatórias que justifiquem o surgimento de tais neoplasias. Por outro lado, o alto custo do medicamento, associado à disponibilidade de múltiplos tratamentos de

CCC com custo menor e maior perfil de segurança quanto ao surgimento de TCNM fez com que as agências regulatórias suspendessem sua comercialização na Europa, o que levou à posterior interrupção da produção e comercialização da droga.

Na Unesp de Botucatu, QAs são extremamente prevalentes e os tratamentos mais empregados atualmente são a criocirurgia com nitrogênio líquido e curetagem e eletrocoagulação como métodos destrutivos e, no tratamento do campo de cancerização, o 5FU a 5% creme é o mais prescrito, devido ao alto custo de outras drogas, o que dificulta a aderência do paciente atendido pelo Sistema Único de Saúde, geralmente de baixa renda familiar.

Estudar alternativas terapêuticas de baixo custo, como a colchicina, na tentativa de ampliar o rol terapêutico do paciente com campo de cancerização em atividade é necessário, visto que há o risco de hipersensibilidade ou intolerância aos tratamentos tópicos atualmente prescritos.

Referências

- Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol*. 2012;87:425-34.
- Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratosis and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:4-7.
- Eskelinen A, Halme K, Lassus A, et al. Risk of cutaneous carcinoma in psoriatic patients treated with PUVA. *Photodermatol*. 1985;2:10-4.
- Dicionário infopédia da Língua Portuguesa [em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2020. [data de acesso: 15/03/2021]. Disponível na Internet: <https://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/actinico>.
- Dermatologia SB, Miot HA, Penna GO, et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). *An Bras Dermatol*. 2018;93(6):916-28.
- Kim HS, Cho EA, Bae JM, et al. Recent trend in the incidence of premalignant and malignant skin lesions in Korea between 1991 and 2006. *JKorean Med Sci*. 2010;25:924-9.
- Hensen P, Müller ML, Haschemi R, et al. Predisposing factors of actinic keratosis in a North-West German population. *Eur J Dermatol*. 2009;19(4):345-54.
- Fargnoli MC, Altomare G, Benati E, et al. Prevalence and risk factors of actinic keratosis in patients attending Italian dermatology clinics. *Eur J Dermatol*. 2017;27(6):599-608.
- Schaefer I, Augustin M, Spehr C, et al. Prevalence and risk factors of actinic keratoses in Germany × analysis of multisource data. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28:309-13.
- Ulrich C, Jürgensen JS, Degen A, et al. Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case-control study. *Br J Dermatol*. 2009;161:78-84.
- O'Reilly Zwald F, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: Advances in therapy and management: Part II. Management of skin cancer in solid organ transplant recipients. *J Am Acad Dermatol*. 2011;65(2):253-61.
- Cleaver JE. Cancer in xeroderma pigmentosum and related disorders of DNA repair. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:564-73.
- Reinehr CPH, Bakos RM. Actinic keratoses: review of clinical, dermoscopic and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2019;94:637-57.
- Berman B, Cockerell CJ. Pathobiology of actinic keratosis: ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68:S10-S19.
- Harvey I, Frankel S, Marks R, et al. Non-melanoma skin cancer and solar keratoses II analytical results of the South Wales Skin Cancer Study. *Br J Cancer*. 1996;74:1308-12.
- Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C et al. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 24: 738-43.
- Goldberg LH, Joseph AK, Tschien JA. Proliferative actinic keratosis. *Int J Dermatol*. 1994;33:341-5.
- Röwert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, et al. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol*. 2007;156:8-12.
- Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:11-7.
- Zalaudek I, Piana S, Moscarella E, et al. Morphologic grading and treatment of facial actinic keratosis. *Clin Dermatol*. 2014;32:80-7.
- Schmitz L, Kahl P, Majores M, et al. Actinic keratosis: correlation between clinical and histological classification systems. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016; 30: 1303-7.
- Fernandez-Figueras MT, Carrato C, Saenz X, et al. Actinic keratosis with atypical basal cells (AK I) is the most common lesion associated with invasive squamous cell carcinoma of the skin. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015; 29: 991-7.
- Fernandez Figueras MT. From actinic keratosis to squamous cell carcinoma: pathophysiology revisited. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2017;31:5-7.
- Arruda, GO. Características clínicas das ceratoses actínicas e suas correlações histológicas: sugestão de uma escala de gravidade clínica. Dissertação. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/183361>.
- Moy RL. Clinical presentation of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42:8-10.
- Dodds A, Chia A, Shumack S. Actinic Keratosis: Rationale and Management. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2014;4(1):11-31.
- Werner RN, Sammain A, Erdmann R, et al. The natural history of actinic keratosis: a systematic review. *Br J Dermatol*. 2013; 169: 502-18.
- Guorgis G, Anderson CD, Lyth J, et al. Actinic Keratosis Diagnosis and Increased Risk of Developing Skin Cancer: A 10-year Cohort Study of 17,651 Patients in Sweden. *Acta Derm Venereol*. 2020;100(8):adv00128.
- Torezan LA, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2013; 88: 775-86.
- Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953; 6: 963-8.
- Szeimies RM, Torezan L, Niwa A, et al. Clinical, histopathological and immunohistochemical assessment of human skin field cancerization before and after photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2012; 167: 150-9.
- Curtius K, Wright NA, Graham TA. An evolutionary perspective on field cancerization. *Nat Rev Cancer*. 2017;18(1):19-32.
- Ulrich C. Topical treatment of field cancerization. *Cancer Treat Res*. 2009; 146: 439-46.
- Ilanhez M, Junior LFFF, Bagatin E, et al. The reliability of counting actinic keratosis. *Arch Dermatol Res*. 2013; 841-4.
- Miolo AC, Castilho MA, Schmitt JV, Marques MEA, Miot HA. Contribution to characterization of the skin field cancerization activity: morphometric, chromatin texture, proliferation, and apoptosis aspects. *An Bras Dermatol*. 2019;94:698-703.

36. Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatologic Surg.* 2008;34(5):610–9.
37. Esmann S, Vinding GR, Christensen KB, et al. Assessing the influence of actinic keratosis on patients' quality of life: the AKQoL questionnaire. *Br J Dermatol.* 2013; 168: 277–83.
38. Beatson M, Siegel JA, Chren MM, et al. Effects of increased actinic keratosis count on skin-related quality of life: results from the Veterans Affairs Keratinocyte Carcinoma Chemoprevention (VAKCC) Trial. *Eur J Dermatol.* 2019;29(5):507–10.
39. De Berker D, McGregor JM, Mohd Mustapa MF, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the care of patients with actinic keratosis 2017. *Br J Dermatol.* 2017;176:20–43.
40. Ianhez M, Miot HA, Bagatin E. Liquid nitrogen for the treatment of actinic keratosis: a longitudinal assessment. *Cryobiology.* 2014;69(1):140–3.
41. Kirby JS, Schamnitz T, Seiverling EV, et al. Actinic keratosis clinical practice guidelines: an appraisal of quality. *Dermatol Res Pract.* 2015;2015:456071.
42. Rossi R, Mori M, Lotti T. Actinic keratosis. *Int J Dermatol.* 2007;46:895–904.
43. Freeman RG, Knox JM, Heaton CL. The treatment of skin cancer. A statistical study of 1,341 skin tumors comparing results obtained with irradiation, surgery, and curettage followed by electrodesiccation. *Cancer.* 1964; 17:535–8.
44. Zane C, Facchinetti E, Rossi MT, et al. Cryotherapy is preferable to ablative CO2 laser for the treatment of isolated actinic keratoses of the face and scalp: A randomized clinical trial. *Br J Dermatol.* 2014; 170(5): 1114–21.
45. Thompson SC, Jolley D, Marks R. Reduction of solar keratoses by regular sunscreen use. *N Engl J Med.* 1993; 329: 1147–51.
46. Darlington S, Williams G, Neale R, et al. A Randomized Controlled Trial to Assess Sunscreen Application and Beta Carotene Supplementation in the Prevention of Solar Keratoses. *Arch Dermatol.* 2003;139:451–5.
47. Naylor MF, Boyd A, Smith DW, et al. High sun protection factor sunscreens in the suppression of actinic neoplasia. *Arch Dermatol.* 1995;131:170–5.
48. Segatto MM, Dornelles SI, Silveira VB, et al. Comparative study of actinic keratosis treatment with 3% diclofenac sodium and 5% 5-fluorouracil. *An Bras Dermatol.* 2013; 88: 732–8.
49. Hagele TJ, Levender MM, Davis SA, et al. Practice trends in the treatment of actinic keratosis in the United States: 0.5% fluorouracil and combination cryotherapy plus fluorouracil are underused despite evidence of benefit. *J Cutan Med Surg.* 2012; 16: 107–14.
50. Martin G. Prospective, case-based assessment of sequential therapy with topical Fluorouracil cream 0.5% and ALA-PDT for the treatment of actinic keratosis. *J Drugs Dermatol.* 2011; 10: 372–8.
51. Testerman TL, Gerster JF, Imbertson LM, et al. Cytokine induction by the immunomodulators imiquimod and S-27609. *J Leukoc Biol.* 1995; 58: 365–72.
52. Ianhez M, Fleury LF, Jr., Miot HA, et al. Retinoids for prevention and treatment of actinic keratosis. *An Bras Dermatol.* 2013; 88: 585–93.
53. Kim KH, Park EJ, Seo YJ, et al. Immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 and p53 expression in skin tumors. *J Dermatol.* 2006;33(5):319–25.
54. Puviani M, Barcella A, Milani M. Efficacy of a photolyase-based device in the treatment of cancerization field in patients with actinic keratosis and non-melanoma skin cancer. *G Ital Dermatol Venereol.* 2013;148: 693–8.
55. Carducci M, Pavone PS, De Marco G, et al. Comparative effects of sunscreens alone vs sunscreens plus DNA repair enzymes in patients with actinic keratosis: clinical and molecular findings from a 6-month, randomized, clinical study. *J Drugs Dermatol.* 2015; 14(9): 986–90.
56. Alvares, BA. Filtro solar versus filtro solar contendo fotoliase e antioxidantes tópicos no tratamento da queratose actínica e campo de cancerização cutâneo: um ensaio clínico randomizado e fatorial. Botucatu. Dissertação [Mestrado] – Faculdade de Medicina de Botucatu; 2020.
57. Witteiler DD, Lawrence N, Cox SE, et al. Long-term efficacy and safety of Jessner's solution and 35% trichloroacetic acid vs 5% fluorouracil in the treatment of widespread facial actinic keratoses. *Dermatol Surg.* 1997; 23(3): 191–6.
58. Bagatin E, Teixeira SP, Hassun KM, et al. 5-Fluorouracil superficial peel for multiple actinic keratoses. *Int J Dermatol.* 2009; 48(8): 902–7.
59. Heuser CL, Heuser GG, Casagrande J, et al. Peeling with 70% glycolic acid followed by 5% 5-fluorouracil as well as 5% 5-fluorouracil cream are effective methods for the treatment of actinic keratoses on upper limbs: a randomized clinical trial. *Dermatol Ther.* 2020;33(3):1–5.
60. Kurwa HA, Young-Gee AS, Seed P, et al. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Acad Dermatol.* 1999; 41 (3): 414–18.
61. Labandeira J, Pereiro M Jr, et al. Intermittent topical 5-fluorouracil is effective without significant irritation in the treatment of actinic keratoses but prolongs treatment duration. *Dermatol Surg.* 2004; 30(4 Pt 1):517–20.
62. Pomerantz H, Hogan D, Eilers D, et al. Long-term efficacy of topical fluorouracil cream, 5%, for treating actinic keratosis: A randomized clinical trial. *JAMA Dermatology.* 2015;151(9):952–60.
63. Szeimies RM, Gerritsen MJP, Gupta G, et al. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: Results from a phase III, randomized, double-blind, vehicle-controlled, clinical trial with histology. *J Am Acad Dermatol.* 2004;51(4):547–55.
64. Pariser DM, Lowe NJ, Stewart DM, et al. Photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinate for actinic keratosis: Results of a prospective randomized multicenter trial. *J Amer Acad Dermatol.* 2003; 48(2): 227–32.
65. Sotiriou E, Apalla Z, Vrani F, et al. Photodynamic therapy vs. imiquimod 5% cream as skin cancer preventive strategies in patients with field changes: A randomized intraindividual comparison study. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(2):325–9.

66. Sotiriou E, Evangelou G, Papadavid E, et al. Conventional vs. daylight photodynamic therapy for patients with actinic keratosis on face and scalp: 12-month follow-up results of a randomized, intra-individual comparative analysis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(4):595–600.
67. Assikar S, Labrunie A, Kerob D, et al. Daylight photodynamic therapy with methyl aminolevulinate cream is as effective as conventional photodynamic therapy with blue light in the treatment of actinic keratosis: a controlled randomized intra-individual study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020; Jan 19 [epub ahead of print].
68. Euvrard S, Verschoore M, Touraine JL, et al. Topical retinoids for warts and keratosis in transplant recipients. *Lancet*. 1992;340:48-9.
69. Sumita JM, Miot HA, Soares JLM, et al. Tretinoin (0.05% cream vs. 5% peel) for photoaging and field cancerization of the forearms: randomized, evaluator-blinded, clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018; 32(10):1819–26.
70. Wolf JE, Taylor JR, Tschen E, et al. Topical 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic keratoses. *Internat J Dermatol*. 2001; 40 (11); 709-13.
71. Akar A, Bülent Taştan H, Erbil H, et al. Efficacy and safety assessment of 0.5% and 1% colchicine cream in the treatment of actinic keratoses. *J Dermatolog Treat*. 2001; 12(4): 199–203.
72. Faghihi G, Elahipoor A, Iraj F, et al. Topical colchicine gel *versus* diclofenac sodium gel for the treatment of actinic keratoses :a randomized , double-blind study. *Adv in Med*. 2016:6–11.
73. Miola AC, Ferreira ER, Lima TRR, et al. Effectiveness and safety of 0-5% colchicine cream vs. photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in the treatment of actinic keratosis and skin field cancerization of the forearms: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2018;179(5):1081–7.
74. Jansen MHE, Kessels JPHM, Merks I, et al. A trial-based cost-effectiveness analysis of topical 5-fluorouracil vs. imiquimod vs. ingenol mebutate vs. methyl aminolevulinate conventional photodynamic therapy for the treatment of actinic keratosis in the head and neck area performed in the Netherlands. *Br J Dermatol*. 2020;183(4):738-44.
75. Lens M, Medenica L. Systemic retinoids in chemoprevention of non-melanoma skin cancer. *Expert Opin Pharmacother* 2008;9:1363-74.
76. Bagatin E, Parada MO, Miot HA, et al. A randomized and controlled trial about the use of oral isotretinoin for photoaging. *Int J Dermatol*. 2010;49:207-14.
77. Wright TI, Spencer JM, Flowers FP. Chemoprevention of non-melanoma skin cancer. *J Am Acad Dermatol*. 2006;54:933-46.
78. Mrass P, Rendl M, Mildner M, et al. Retinoic acid increases the expression of p53 and proapoptotic caspases and sensitizes keratinocytes to apoptosis: a possible explanation for tumor preventive action of retinoids. *Cancer Res*. 2004;64:6542-8.
79. Campbell RM, DiGiovanna JJ. Skin cancer chemoprevention with systemic retinoids: an adjunct in the management of selected high-risk patients. *Dermatol Ther*. 2006;19:306–14.
80. Herold M, Good AJ, Nielson CB, et al. Use of Topical and Systemic Retinoids in Solid Organ Transplant Recipients: Update and Review of the Current Literature. *Dermatol Surg*. 2019;45(12):1442-9.
81. Ianhez M, Pinto SA, Miot HA, et al. A randomized, open, controlled trial of tretinoin 0.05% cream vs. low-dose oral isotretinoin for the treatment of field cancerization. *Int J Dermatol*. 2019;58(3):365–73.
82. Di Giovanna JJ. Systemic retinoid therapy. *Dermatol Clin*. 2001;19:161-7.
83. De Marchi MA, Maranhao RC, Brandizzi LI, et al. Effects of isotretinoin on the metabolism of triglyceride-rich lipoproteins and on the lipid profile in patients with acne. *Arch Dermatol Res*. 2006;297:403-8.
84. Forbat E, Al-Niaimi F, Ali FR. Use of nicotinamide in dermatology. *Clin Exp Dermatol*. 2017;42(2):137-144.
85. Chen AC, Martin AJ, Damian DL. Nicotinamide for Skin-Cancer Chemoprevention. *N Engl J Med*. 2016; 25;374(8):790.
86. Gensler HL, Williams T, Huang AC et al. Oral niacin prevents photocarcinogenesis and photoimmunosuppression in mice. *Nutr Cancer*. 1999; 34: 36–41.
87. Surjana D, Halliday GM, Matin AJ, et al. Oral nicotinamide reduces actinic keratoses in phase II double-blinded randomized controlled trials. *J Invest Dermatol*. 2012; 132, 1497-500.
88. Chen AC, Martin AJ, Choy B, et al. A phase 3 randomized trial of nicotinamide for skin-cancer chemoprevention. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1618–26.
89. Ferreira, ER, Miola AC, Lima TRR, et al. Avaliação da eficácia do 5-fluorouracil 5% tópico intermitente e da nicotinamida oral no tratamento do campo de cancerização cutâneo: um ensaio clínico randomizado. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. No prelo.
90. Zattra E, Coleman C, Arad S, et al. *Polypodium leucotomos* extract decreases UV-induced COX-2 expression and inflammation, enhances DNA repairs, and decreases mutagenesis in hairless mice. *AJP* 2009; 175(5): 1952-60.
91. Bavinck JN, Tieben LM, Van der Woude FJ, et al. Prevention of skin cancer and reduction of keratotic skin lesions during acitretintherapy in renal transplant recipients: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Oncol*. 1995;13:1933-8.
92. De Sevaux RG, Smit JV, de Jong EM, et al. Acitretin treatment of premalignant and malignant skin disorders in renal transplant recipients: clinical effects of a randomized trial comparing two doses of acitretin. *J Am Acad Dermatol*. 2003;49:407-12.
93. George R, Weightman W, Russ GR, et al. Acitretin for chemoprevention of non-melanoma skin cancers in renal transplant recipients. *Australas J Dermatol*. 2002;43(4):269-73.
94. Auriemma M, Di Nicola M, Gonzalez S, et al. *Polypodium leucotomos* supplementation in the treatment of scalp actinic keratosis: could it improve the efficacy of photodynamic therapy? *Dermatol Surg*. 2015;41(8):898-902.
95. González S, Gilaberte Y, Philips N, et al. Femblock, a nutraceutical with photoprotective properties and potential preventive agent for skin photoaging and photoinduced skin cancers. *Int J Mol Sci* 2011; 12: 8466–75.

96. Padilla HC, Iáñez H, Pacheco JA. A new agent (hydrophilic fraction of *Polypodium leucotomos*) for management of psoriasis. *Int J Dermatol*. 1974;13:276–82.
97. Williamson G, Carughi A. Polyphenol content and health benefits of raisins. *Nutr Res* 2010; 30: 511–9.
98. Garcia F, Pivel JP, guerrero A, et al. Phenolic components and antioxidant activity of Fernblock, an aqueous extract of the aerial parts of the fern *Polypodium leucotomos*. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2006;28:157–60.
99. Gombau I, garcia F, lahoz A, et al. *Polypodium leucotomos* extract: antioxidant activity and disposition. *Toxicol In Vitro*. 2006;20:464–71.
100. Nestor MS, Berman B, Swenson N. Safety and Efficacy of Oral *Polypodium leucotomos* Extract in Healthy Adult Subjects. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2015;8(2):19–23.
101. Sokoloski L, Borges M, Bagatin E. Lycopene not in pill, nor *in natura* has photoprotective systemic effect. *Arch Dermatol Res*. 2015;307(6):545-9.
102. Yanes ER, Cuevas J, Gonzales S, et al. Oral administration of *Polypodium leucotomos* delays skin tumor development and increases epidermal p53 expression and the anti-oxidant status of UV-irradiated hairless mice. *Experim Dermatol*. 2014; 23: 526-7.
103. Parrado C, Mascaraque M, Gilaberte Y, et al. Fernblock (*Polypodium leucotomos* extract): Molecular mechanisms and pleiotropic effects in light-related skin conditions, photoaging and skin cancers, a review. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7):1–21.
104. El-Haj N, Goldstein N. Sun protection in a pill: the photoprotective properties of *Polypodium leucotomos* extract. *Int J Dermatol*. 2015;54(3):362-6.
105. Simon JC, Edelbaum, D, Bergstresser PR, et al. Distorted antigen-presenting function of Langerhans cells induced by tumor necrosis factor alpha via a mechanism that appears different from that induced by ultraviolet B radiation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1991; 8:90–4.
106. Zattra E, Coleman C, Arad S, et al. Oral *Polypodium leucotomos* decreases UV-induced Cox-2 expression, inflammation, and enhances DNA repair in Xpc +/- mice. *Am J Pathol*. 2009;175:1952–61.
107. Janczyk A, Garcia-Lopez MA, Fernandez-Penas P, et al. A *Polypodium leucotomos* extract inhibits solar-simulated radiation-induced TNF-alfa and iNOS expression, transcriptional activation and apoptosis. *Exp Dermatol*. 2007; 16: 823-39.
108. Philips N, Conte J, Chen YJ, et al. Beneficial regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors, fibrillar collagens and transforming growth factor-beta by *Polypodium leucotomos*, directly or in dermal fibroblasts, ultraviolet radiated fibroblasts, and melanoma cells. *Arch Dermatol Res* 2009; 301: 487–495.
109. Rodríguez-Yanes E, Juarranz Á, Cuevas J, et al. *Polypodium leucotomos* decreases UV-induced epidermal cell proliferation and enhances p53 expression and plasma antioxidant capacity in hairless mice. *Exp Dermatol*. 2012;21(8):638-40.
110. Bhatia N. *Polypodium leucotomos*: A Potential New Photoprotective Agent. *Am J Clin Dermatol*. 2015;16(2):73–9.
111. Zattra E, Coleman C, Arad S, et al. *Polypodium leucotomos* extract decreases UV-induced Cox-2 expression and inflammation, enhances DNA repair, and decreases mutagenesis in hairless mice. *Am J Pathol*. 2009; 175: 1952–61.
112. Middelkamp-Hup MA, Pathak MA, Parrado C, et al. Oral *Polypodium leucotomos* extract decreases ultraviolet-induced damage of human skin. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 51: 910–8.
113. Alcaraz MV, Pathak MA, Rius F, et al. An extract of *Polypodium leucotomos* appears to minimize certain photoaging changes in a hairless albino mouse animal model. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 1999; 15: 120–6.
114. Konda C, Rao AG. Colchicine in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2010; 76: 201-5.
115. Malkinson FD. Colchicine: new uses of an old, old drug. *Arch Dermatol*. 1982;118:453-7.
116. Pope RM, Tschopp J. The role of interleukin-1 and the inflammasome in gout: implications for therapy. *Arthritis Rheum*. 2007;56(10):3183–8.
117. Sullivan TP, King LE, Jr., Boyd AS. Colchicine in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1998; 39: 993-9.
118. Falkson G. Some aspects of the use of cytostatic drugs in dermatology. *S Afr Med J*. 1966; 40: 339-42.
119. Guy RH, Hadgraft J. Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement. *Pharm Res*. 1988; 5(12): 753-8.
120. Marshall J. Treatment of solar keratosis with topically applied cytostatic agents. *Br J Dermatol*. 1968;80(8):540-2.
121. Grimaire M, Etienne A, Fathi M. Topical Colchicine Therapy for Actinic Keratoses. *Dermatology*. 2000; 200: 346-8.
122. Blauvelt A, Kempers S, Lain E, et al. Phase 3 Tirbanibulin for Actinic Keratosis Group. Phase 3 Trials of Tirbanibulin Ointment for Actinic Keratosis. *N Engl J Med*. 2021; 384 (6): 512-20.
123. Rosen RH, Gupta AK, Tying SK. Dual mechanism of action of ingenol mebutate gel for topical treatment of actinic keratoses: Rapid lesion necrosis followed by lesion-specific immune response. *J Am Acad Dermatol*. 2011; 66(3): 486-92.
124. Stockfleth E, Bastian M. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of ingenol mebutate for the treatment of actinic keratosis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2018;14(9):911–8.
125. Freiburger SN, Cheng PF, Iotzova-Weiss G, et al. Ingenol Mebutate Signals via PKC/MEK/ERK in Keratinocytes and Induces Interleukin Decoy Receptors IL1R2 and IL13RA2. *Mol Cancer Ther*. 2015;14:2132-42.
126. Challacombe JM, Suhrbier A, Parsons PG, et al. Neutrophils are a key component of the antitumor efficacy of topical chemotherapy with ingenol-3-angelate. *J Immunol*. 2006;177:8123-32.
127. Grandi V, di Gennaro P, Torigiani S, et al. Ingenol mebutate-mediated reduction in p53-positive keratinocytes in skin cancerization field directly correlates with clinical response in patients with multiple actinic keratoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2019;33(7):1297–303.
128. Bucko AD, Jarratt M, Stough DB, et al. Pharmacokinetics of ingenol mebutate gel under maximum use conditions in large treatment areas. *J Dermatol Treat*. 2018;29:74-9.

129. Hanke CW, Albrecht L, Skov T, et al. Efficacy and safety of ingenol mebutate gel in field treatment of actinic keratosis on full face, balding scalp, or approximately 250 cm² on the chest: A phase 3 randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol*. 2020;82(3):642–50.
130. Jim On SC, Knudsen KM, Skov T, et al. Relationship between severity of the local skin reactions and the rate of local skin reaction resolution in patients treated with ingenol mebutate gel. *Clin Cosmet and Invest Dermatol*. 2016;9:211-16.
131. Diepgen TL, Eicke C, Bastian M. Ingenol mebutate as topical treatment for actinic keratosis based on a prospective, non-interventional, multicentre study of real-life clinical practice in Germany: efficacy and quality of life. *Eur J Dermatol*. 2019;29(4):401–8.
132. US National Library of Medicine. Risk of squamous cell carcinoma on skin areas treated with ingenol mebutate gel, 0.015% and imiquimod cream, 5%. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01926496> (last accessed 14 March 2021).
133. Moreno Romero JA, Campoy A, Perez N, et al. Rapidly-growing squamous cell carcinoma shortly after treatment with ingenol mebutate for actinic keratoses: report of two cases. *Br J Dermatol*. 2015;173(6):1514-7.
134. Ehret M, Velter C, Tebacher M, et al. Rapidly growing squamous cell carcinoma after ingenol mebutate treatment. *Ann Dermatol Venereol*. 2018;145(10):607-12.
135. U.S. National Lybrary of Medicine Clinical Trial Database. Clinical Trial Database (USA); 2020. Identifier NCT01998984. Efficacy and Safety of ingenol mebutate 0.06% When Applied Once Daily for 2, 3 or 4 Consecutive Days to a Treatment Area of Approximately 250 cm² on Trunk and Extremities in Subjects With Actinic Keratosis. Available at <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01998984> (last accessed 14 March 2021).

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficácia do creme de colchicina 0,5%, do mebutato de ingenol 0,05% gel, do filtro solar FPS30; e do extrato de *Polypodium leucatomos* via oral *versus* placebo, no tratamento de QA e CCC em imunocompetentes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar o efeito aditivo do PL aos tópicos no tratamento de QA e CCC;
2. Avaliar a melhora clínica das QAs através da contagem de QAs e escore de gravidade das QAs (AKSS) entre os tratamentos realizados;
3. Avaliar o aspecto do campo de cancerização através da escala de fotoenvelhecimento dos antebraços (EFA), entre os tratamentos realizados;
4. Avaliar a modificação do perfil de atipia histológica do campo de cancerização entre os tratamentos através do escore KIN;
5. Avaliar a presença ou não de resposta sustentada após seis meses no campo de cancerização entre os tratamentos;
6. Avaliar a tolerabilidade através dos efeitos adversos dos tratamentos.

3. MANUSCRITO

Journal: JEADV

Article type: Short report

Title: Oral *Polypodium leucatomos* versus placebo, topical ingenol mebutate gel, colchicine cream and sunscreen SPF30 in the treatment of actinic keratoses and skin field cancerization: a randomized clinical trial.

Authors:

Anna Carolina Miola – M.D.; MSc, Departamento de Dermatologia (Unesp), Botucatu, SP, Brazil.

Helio Amante Miot – M.D.; PhD, Departamento de Dermatologia (Unesp), Botucatu, SP, Brazil.

Word count: 1869

Tables: 3

Figures: 2

City, state and country which the work was done:

Botucatu, São Paulo, Brazil

Corresponding author:

Anna Carolina Miola

Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico por imagem e Radioterapia

Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Av. Prof. Mário Rubens Guimarães Montenegro, s/n

Rubião Júnior, Botucatu/SP, Brasil, 18618-970

Mail address: anna.c.miola@unesp.br.

Abstract:

Background: The treatment of actinic keratosis (AK) and skin field cancerization (SFC) may reduce the incidence of skin malignancies. *Polypodium leucatomos* (PL) has antioxidant activity, and may prevent the development of AKs. Topical colchicine (COL) was effective in treating AKs and SFC in previous studies. Ingenol mebutate (IM) has already been compared with some of the available treatments for SFC, with favorable results.

Objective: To evaluate the effectiveness of 0.5% colchicine cream, 0.05% IM gel; and oral PL in the treatment of AKs and SFC in the forearms.

Methods: We performed a prospective, parallel, factorial double-blind (for oral treatment) controlled clinical trial, which 50 participants with three up to ten AKs were randomized to receive oral PL 250mg bid or placebo; the forearms were randomized to get COL 0.5% cream bid during seven days, IM 0.05% gel at night for two days, or only sunscreen (SC) every three hours. Participants were assessed by adverse effects (AE) after 15 days. The primary outcome was the total clearance of AK count in each forearm 60 days after treatment. The secondary outcomes were the proportion of partial AK clearance (-50% counting) and reduction of activity of SFC analyzed by the AK severity score (AKSS), the forearm photoaging scale (FPS) and *Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia* (KIN) 60 and 180 days after intervention. Subjects were part of the *intention to treat* population. AK count, AKSS, SPF and KIN were compared according to time and for groups (over time) by the generalized linear mixed effects model. The missing data were imputed using the mixed model. Significance was defined as a one-tailed p-value <0.05. The effect-size among the groups was estimated by (1,000 resamples) bootstrap with accelerated correction for bias.

Results: The mean age of the subjects was 72 years and 64% were male. At 60 days, total and partial clearance were observed in two and 11 subjects (8% and 44%) in the PL-group, three and 11 (12% and 44%) in PLAC-group, five and 18 (14.7% and 52.9%) in COL-group, five and 17 (16.1% and 54.8%) in IM-group; and one and nine (2.8% and 25.7%) in SC-group. Regarding oral treatment, there was a significant reduction in AK count, AKSS and FPS after 60 days and D180 ($p<0.05$), with no differences between groups, except for the PL group in AKSS, superior at D180. There was a significant reduction for COL, IM and SC in SPF (-12% vs -14% vs -10%), AKSS (-56% vs -46% vs -35%), and AK count (-43% vs -39% vs -26%) 60 days after the interventions ($p<0.05$). Regarding D180, there was a reduction in AK count (-57% vs -53% vs -37%), AKSS (-60% vs -35% vs -44%) and SPF (-15% vs -14% vs -10%). COL was superior to SC in the AK count and ($p<0.05$) at D60 and D180 and FPS at D180. Two (8%) subjects reported epigastralgia in PL group and two (8%) reported diarrhea in PLAC group. Moderate adverse events observed in topical treatments at D15 were 13% in IM group 23% in COL and 8% in SC. Only COL reduced KIN at D60 and D180 ($p<0.05$).

Conclusion: Topical colchicine was well tolerated and effective in treating AKs, SFC and improved signs of photodamage in the forearms.

Trial registration: The study was approved by the institution review board, registered in Brazilian Register of Clinical Trials (<https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-5q5dg8>) and funded by FUNADERM (Fundo de Apoio à Dermatologia).

INTRODUCTION

Skin field cancerization (SFC) comprises an area of apparently normal skin, although it has genetically altered cells, which justifies the recurrence of tumors completely excised or appearance of new tumors in their adjacent areas.^{1,2} Actinic keratosis (AK) are the hallmark of SFC activity, and its treatment may contribute to reduce the incidence of skin malignancies, especially in susceptible populations.³

Polypodium leucatomos (PL) contains polyphenolic compounds with antioxidant activity,⁴ and recently was suggested to prevent the development of skin tumors. A previous trial with photodynamic therapy associated to oral PL during six months showed 88% of reduction in facial AK count, higher than treatment with photodynamic therapy only (71%).⁵

Topical colchicine was previously studied as 0.5% cream for AKs treatment, with 77% reduction in the AK count.⁶ The first self-controlled clinical trial comparative with colchicine in the treatment of AKs and SFC was recently published, whereas 0.5% cream colchicine b.i.d. for 10 days reduced AK count similarly as one session of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate (MAL-PDT), in the forearms.⁷

Ingenol mebutate (IM) has already been compared with some of the available treatments for SFC, and provided 42% total clearance of the AK in the forearms, in addition to a sustained effect after six months.^{8,9}

To date, there are no studies comparing colchicine with IM for treatment of SFC and AKs, as well as the effectiveness of PL in its treatment.

METHODS

We conducted a prospective, parallel, factorial double-blind (for oral treatment) and intrasubject controlled clinical trial, which objectives were to evaluate the effectiveness of 0.5% colchicine cream, 0.05% IM gel; and oral PL in the treatment of AKs and SFC.

This study was performed at Dermatology outpatient clinic of UNESP Medical School between May 2019 and December 2020. Subjects with three up to ten AKs in both forearms, immunocompetents, without use of oral retinoid, hypersensitivity to any studied substances or any other extensive skin disorders on the forearms were randomized to receive oral PL 500 mg twice

daily or placebo during 60 days; furthermore, their forearms were randomized to apply 0.5% colchicine cream twice daily during seven days, IM 0.05% gel (Picato®, LEO Pharma®, Dublin, Ireland) once a day for two days, or only SPF 30 sunscreen – SC (Anthelios XL Protect®, La Roche-Posay®, Paris, France), without any other topical treatment (figure 1). All participants received all the treatment during the period of the study and also were instructed to use broad-spectrum sunscreen in both forearms, including the treated with IM and COL. The studied area was delineated by the antecubital fossa and radiocarpal and radioulnar joints; AK count was performed twice to ensure correct count.

The randomization was blocked to guarantee the uniformity between groups, and the prescription of each subject was kept in cards which were selected and opened only after consent and evaluation. Regarding blinding, PL and placebo capsules were produced with the same size and color, which was green in order to hide the color slightly brown of PL extratus. Placebo capsules were filled with hydrocellulose, considered an inert component. COL cream was produced by a compounding pharmacy, as well as oral PL and PLAC. All the subjects were instructed by the researcher and received a written prescription.

Twelve of the fifty patients were randomized and had their forearms biopsied in D0, D60 and D180, which were performed in the central area of each forearm, without visible AK or other cutaneous lesions. Skin biopsies were stained with haematoxylin-eosin for histopathological evaluation of KIN score (*Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia* – ANEXO 7).¹⁰

Participants were assessed at: D0 for: inclusion, randomization, clinical evaluation (AKs count, AK Severity Score – AKSS (ANEXO 6) – Forearm Photoaging Scale – FPS¹¹ – and Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia - KIN), and treatment onset; at D15 for assessment of possible adverse events (AE) and at D60 and D180 for another clinical evaluation (AKs count, AKSS, FPS, KIN). The study was approved by the institution review board, registered in Brazilian Register of Clinical Trials (<https://ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-5q5dg8>) and funded by FUNADERM (Fundo de Apoio à Dermatologia).

The primary endpoint was the total clearance of AK count at 60 days after treatment. The secondary outcomes were the proportion of partial AK clearance (-50%) and reduction of activity of SFC, analyzed by AKSS, FPS and KIN at D60 and D180.

The sample size was dimensioned in order to detect a reduction difference of more than 15% between groups (power = 0.9; alpha of 0.05), resulting in 16 forearms per group (48 patients).

Data of participants was analyzed on ITT basis. The unity of the analysis was each forearm. AK counting, AKSS, FPS and KIN were compared according to time and to the groups (over time) by a generalized linear mixed-effects model. Missing data was imputed through the mixed model.

¹² Significance was set as single-tailed p-value <0.05. The effect-size among the groups was estimated by (1,000 resamples) bootstrap with accelerated correction for bias.

RESULTS

Fifty subjects were included in this trial between May 2019 and July 2020. During the inclusion of the study, Brazil was affected by the COVID-19 pandemic, with interruption of outpatient activities and the commercialization of IM, simultaneously. Therefore, there was an interval of two months between part of the included patients and two more subjects were included, resulting in fifty patients, who were randomized in two groups: 25 received oral PL (PL group) and 25 received placebo (PLAC group) (figure 1). The main demographic characteristics of participants are disclosed in table 1.

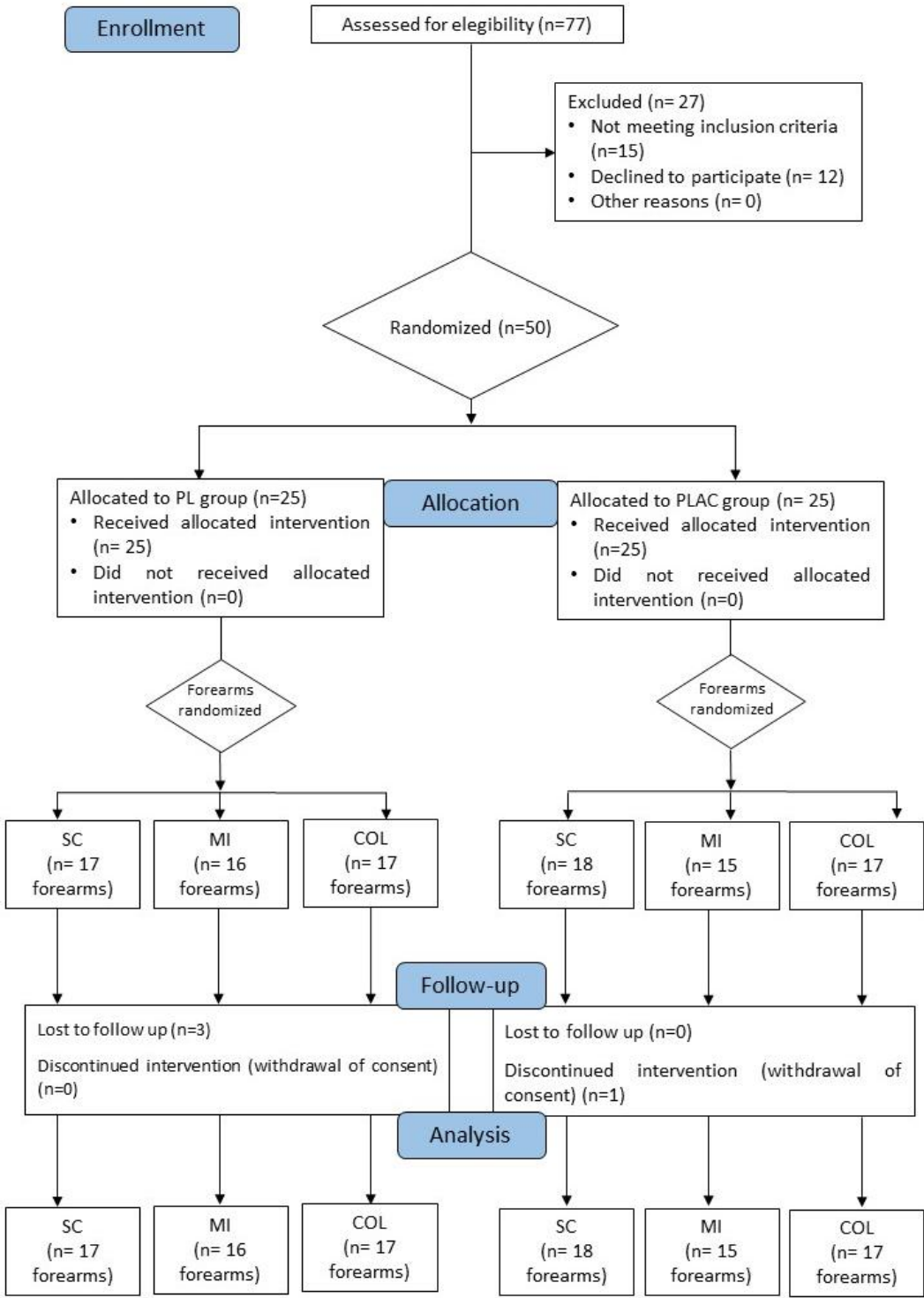


Figure 1: Study Design. CONSORT flow chart (the addition of two new participants after interruption of commercialization of MI caused an unbalance between topical treatments).

There were four dropouts, two at D60 - one in PLAC group as the patient did not return for reevaluation on the scheduled date, even after rescheduling; and one in PL group due to withdrawal of consent, without complications or AE in both these cases; and two dropouts at D180, who did not return for reevaluation after repeated calls.

Table 1: Main demographics and baseline characteristics of patients (n=50).

Variables	Values
Age(years), mean (sd)	72.4 (7.8)
Sex, n (%)	
Male	32 (64)
Female	18 (36)
Fitzpatrick skin phototype, n (%)	
I	7 (14)
II	32 (64)
III	11 (22)
Chronic sun exposure, n (%)	48 (96)
Smoking, n(%)	15 (30)
Educational level, n(%)	
Elementary school	43 (86)
High school	6 (12)
University	1 (2)
AK count, median (p25-p75)	6 (5-7)
Forearm Photoaging Scale, median (p25-p75)	96 (78-106)
AKSS, median (p25-p75)	9 (6-12)

*Without significant difference between the groups about baseline characteristics.

Total clearance at D60 was observed in two patients (8.0%) in PL group and three (12.0%) in PLAC group, without significant difference between them ($p=0.26$). Regarding topical treatments, total clearance was obtained in five patients (14.7%) in COL group, five (16.1%) in IM group and one patient (2.8%) in SC group ($p=0.8$). Partial clearance was achieved in 11 (44.0%) subjects in PL group, 11 (44.0%) in PLAC group ($p=0.26$), 18 (52.9%) in COL group, 17 (54.8%) in IM group and 9 (25.7%) in SC group ($p=0.24$).

The results after 60 and 180 days for AK count, forearm photoaging scale and AKSS are exhibited in table 2. The effect size and confidence intervals for topical treatments are displayed in figure 2.

Table 2: Main clinical outcomes for the groups according to ITT analysis (n=100 forearms).

Variable	PL + COL	PL + MI	PL + SC	PLAC + COL	PLAC + MI	PLAC + SC
AK count						
D0	6.0 (1.7)	6.2 (1.5)	6.1 (1.6)	4.8 (1.5)	5.5 (1.2)	5.7 (1.4)
D60	3.6 (3.0)^{a,c}	3.7 (2.2) ^a	4.5 (2.1)^{a,c}	2.6 (1.9)^{a,c}	4.5 (0.7) ^a	4.1 (2.5)^c
D180	2.6 (1.9)^{b,c}	3.0 (2.2) ^b	4.4 (2.7)^{b,c}	2.1 (1.8)^{b,c}	1.5 (2.2) ^b	2 (1.5)^{b,c}
FPS						
D0	94.8 (15.6)	95.8 (17.2)	94.3 (16.6)	88.8 (17.0)	88.5 (26.1)	91.1 (20.6)
D60	83.0 (15.0) ^a	82.9 (15.9) ^a	85.7(19.1) ^a	78.1 (23.0) ^a	74.5 (14.8) ^a	82.8 (20.1)
D180	86.6 (13.9)^{b,c}	82.8 (16.7) ^b	85.0(18.9)^{b,c}	68.9 (18.0)^{b,c}	72.5 (26.1) ^b	84.6 (12.8)^c
AKSS						
D0	10.2 (5.9)	10.6 (4.8)	9.7 (3.5)	8.2 (5.0)	10.5 (0.7)	8.6 (3.1)
D60	4.8 (4.1) ^a	5.5 (4.3) ^a	6.5 (3.7) ^a	3.4 (2.6) ^a	6.5 (3.5)	5.0 (3.4)
D180	4.2 (4.4)^{b,c,d}	6.1 (4.9)^{b,d}	7.1 (6.3)^{b,c,d}	3.5 (4.2)^{b,c,d}	3.5 (4.95)^d	3.3 (2.4)^{b,c,d}

PL: *Polypodium leucatomos*; SC: sunscreen SPF30; IM: ingenol mebutate; COL: colchicine; AK: Actinic keratosis; FPS: Forearm Photoaging Scale; AKSS: Forearms AK severity score; ^ap(T0 vs. T60)<0,05; ^bp(T0 vs. T180)< 0.05; ^cp(SC vs. COL)<0.05; ^dp(PL vs. PLAC)<0.05.

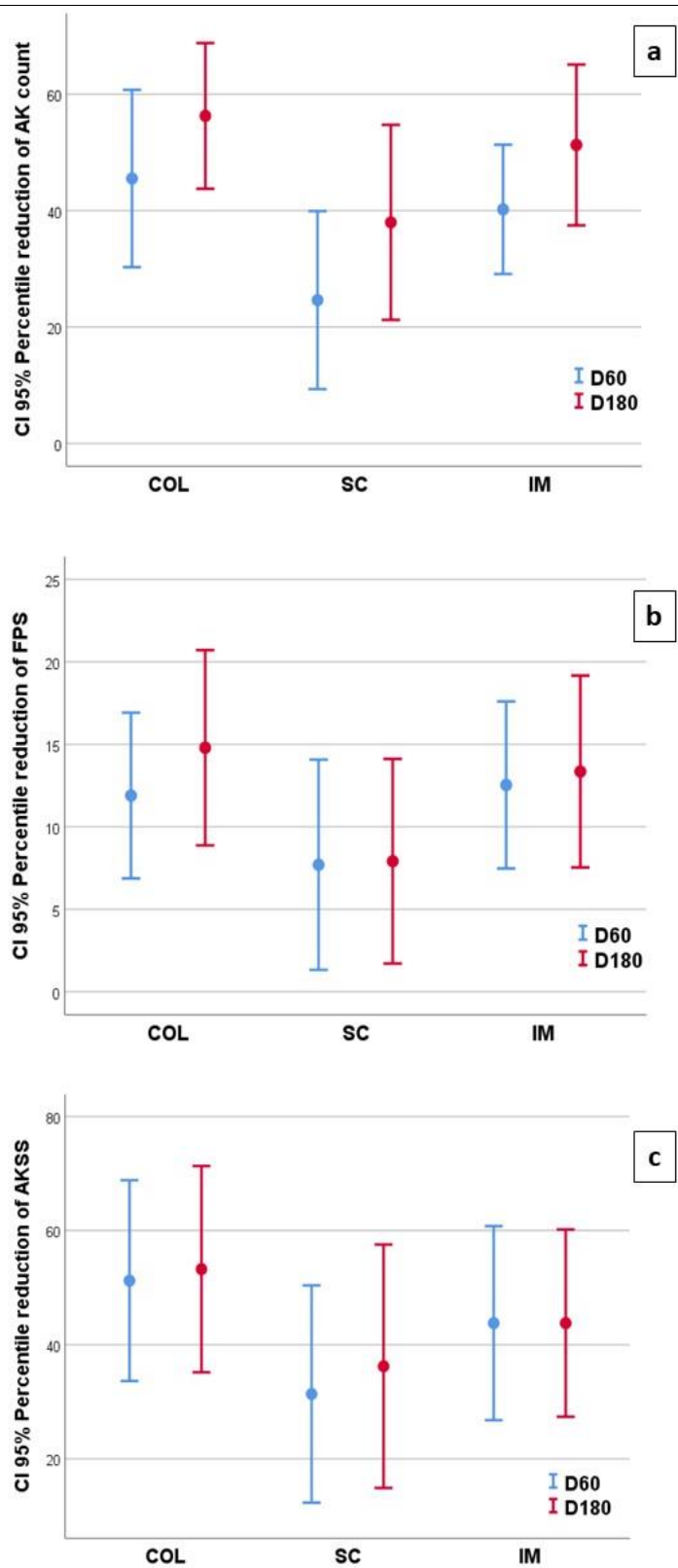


Figure 2: Effect size and confidence intervals for topical treatments. Figure 2a: effect size and confidence intervals for AK count; figure 2b: effect size and confidence intervals for FPS; figure 2c: effect size and confidence intervals for AKSS (n=50).

Histopathological analysis revealed that COL reduced KIN after 60 and 180 days of treatment ($p < 0.05$), meanwhile nor the other oral nor the topical treatments resulted in histopathologic change (table 3).

Table 3: KIN results for COL, SC and IM groups (n = 12)

Variable	COL	SC	IM
D0 KIN 0	0 (-)	0 (-)	0 (-)
1	1 (17%)	2 (25%)	2 (20%)
2	0 (-)	3 (37%)	7 (70%)
3	5 (83%)	3 (38%)	1 (10%)
D60 KIN 0	1 (17%)	0 (-)	3 (30%)
1	0 (-)	2 (25%)	3 (30%)
2	4 (67%)	5 (62%)	3 (30%)
3	1 (17%) ^a	1 (13%)	1 (10%)
D180 KIN 0	3 (50%)	0 (-)	2 (20%)
1	0 (-)	3 (37%)	3 (30%)
2	3 (50%)	3 (38%)	3 (30%)
3	0 (-) ^b	2 (25%)	2 (20%)

SC: sunscreen SPF30; IM: ingenol mebutate; COL: colchicine;

^ap(T0 vs. T60) < 0.05; ^bp(T0 vs. T180) < 0.05.

Despite 6% of the patients were not evaluated at D15 regarding AE due to COVID-19 pandemic, only two (8%) in PLAC-group related diarrhea and two in PL-group (8%) related epigastralgia, which led to the interruption of oral treatment in one case each group. All of the patients not evaluated at D15 were interrogated about AE in T60 and negated any relevant AE. Regarding topics, 13% of IM group had moderate AE meanwhile 23% and 8% reported in COL group and FPS, respectively). No severe adverse event was reported in any of the topical groups. No subjects suspended topical treatment. There was no systemic toxicity related to use of IM in the forearms. The severity of adverse effects on SC-group was inferior to IM and COL ($p < 0.01$), but there was no difference between COL and IM-group ($p = 0.38$).

Therefore, 0.5% colchicine cream, IM gel and SPF 30 sunscreen are well tolerated and demonstrated a reduction in SFC activity with superiority to colchicine 0.5% cream.

DISCUSSION

The only trial in literature with oral PL in SFC has associated it with two sessions of MAL-PDT and showed a higher reduction of facial AK counting when compared to only MAL-PDT after six months.⁵ Despite of our study being performed in the forearms, which is known to have less expressive results than facial AKs, the previous study was not blinded or placebo controlled, which may have compromised the results.¹³ Nevertheless, there was a superiority of PL in AKSS over PLAC at D180; another studies with longer treatment times with PL are needed to confirm this finding.

The first self-controlled clinical trial comparing topical colchicine with another treatment for QAs compared colchicine 0.5% cream twice a week for 10 days to one session of MAL-PDT on the forearms, and showed a total clearance of 17% in COL group⁷ and reduction of 42% of AK count, endorsing its effectiveness and security of the drug in AK treatment. In our study, total clearance was comparable (16%), although lower when compared to previous studies with colchicine and other standard treatments.¹⁴ It is important to consider that most of previous studies with colchicine was not comparative and the treated area were not only the forearms, but also face and scalp.⁶ Furthermore, in both studies AKs weren't previously treated (*washout*), suggesting that colchicine may have better results in preventing the arise of new AKs and stabilize SFC, what should be assessed through special designs. Another important observation of our study is the superiority of COL over FPS even at D180 in AK count and FPS, suggesting a sustained response. Recently, tirbanibulin, a synthetic inhibitor of tubulin polymerization similar to colchicine, showed promising results in the treatment of AKs of the face, with total clearance in 54% of patients evaluated two months after its topical use at 1% during five days in treatment of skin field cancerization, which reinforces the positive evidence regarding the use of antiproliferative drugs in the treatment of CCC.¹⁵

Concerning to SC, there was reduction in AK count in PLAC+SC group, which was expected according to previous studies.¹⁶ Notwithstanding, the same was not observed in relation to FPS and AKSS, since the effects of SC in photodamage does not depend only of the regular application, but also the early use of SC influence this characteristic, preventing signs of photodamage which already exists in elderly people who did not used SC regularly when younger.¹⁷ Regarding the presence of a few AE related to SC (8%), the possibility of carry-across effect of IM or COL may be the cause of the presence of AE in SC group.¹⁸

IM has already been compared with some of the available treatments, showing efficacy similar to the use of diclofenac gel 3% for 60 days or imiquimod 5% for 16 weeks, with the benefit

of a shorter treatment regimen. In addition to the good response rate, the effects of treatment persist for six months, with recurrence of only 13% of treated lesions, associated with a high level of satisfaction with treatment, both by dermatologists and by patients.⁹

Conversely, our study showed clearance rates lower than literature. In our study, the area of was higher than the 25cm² area in prescribing information provided by LEO Pharma®, in order to avoid systemic reactions, while there were two patients who used one tube divided in both forearms due to misunderstanding, which further increased the treated area in this subjects and reduced the IM efficacy. Nevertheless, recent studies showed no clinically relevant systemic adverse reactions and manageable local skin responses,¹⁹ which reinforce the safety of our study model while it may have reduced the efficacy of IM.

Recently, European Medicines Agency (EMA) recommended that patients stop using IM, as well as UK's Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency, after analysis of phase IV studies, which evidenced a possible relation between use of IM and an increased risk of developing skin cancers.^{20,21} Surprisingly, one of the subjects of IM group developed, at D180, a keratoacanthoma in his treated forearm. Therefore, it is possible to consider a publication bias of studies with IM in the treatment of AK, explaining the controversy between the results.

Loss of nuclear polarization (measured by KIN in this study) is a hallmark of photoageing and chronic sun exposure and may contribute to characterize the activity of SFC.^{10,22} The reduction of KIN by COL is an evidence of its effects on keratinocyte proliferation and stabilization of their atypia. This same parameter was evaluated in a previous study with COL, with similar results after 60 days of treatment.⁷ Besides, this study is the first which evaluated the sustained response of keratinocyte dysplasia to COL usage. Further studies are needed to improve the evidences, including posology of COL with different prescription cycles.

This study has some limitations linked to be monocentric (from a public service), which minimizes generalization of the results, otherwise, this improve the internal validity due to the homogeneity between groups. Besides, both oral PL and COL cream were produced in a compounding pharmacy, which may not guarantee the same results when produced by different pharmacies.

In conclusion, colchicine disclosed good tolerability and efficacy on treating AKs and SFK, also improving signs of photodamage in the forearms. COL may be a low-cost alternative in treatment of SFC, especially for low-income population.

References:

1. Szeimies RM, Torezan L, Niwa A, et al. Clinical, histopathological and immunohistochemical assessment of human skin field cancerization before and after photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2012;167:150-9.
2. Curtius K, Wright NA, Graham TA. An evolutionary perspective on field cancerization. *Nat Rev Cancer*. 2017;18(1):19–32.
3. Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol*. 2012;87:425-34.
4. Sokolowski L, Borges M, Bagatin E. Lycopene not in pill, nor *in natura* has photoprotective systemic effect. *Arch Dermatol Res*. 2015;307(6):545-9.
5. Auriemma M, Di Nicola M, Gonzalez S, et al. Polypodium leucotomus supplementation in the treatment of scalp actinic keratosis: could it improve the efficacy of photodynamic therapy? *Dermatol Surg*. 2015;41(8):898-902.
6. Akar A, Bülent Taştan H, Erbil H et al. Efficacy and safety assessment of 0.5% and 1% colchicine cream in the treatment of actinic keratoses. *J Dermatolog Treat*. 2001; 12(4):199–203.
7. Miola AC, Ferreira ER, Lima TRR, et al. Effectiveness and safety of 0.5% colchicine cream vs. photodynamic therapy with methyl aminolaevulinate in the treatment of actinic keratosis and skin field cancerization of the forearms: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2018;179(5):1081–7.
8. Hanke CW, Albrecht L, Skov T, et al. Efficacy and safety of ingenol mebutate gel in field treatment of actinic keratosis on full face, balding scalp, or approximately 250 cm² on the chest: A phase 3 randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol*. 2020;82(3):642–50.
9. Jim On SC, Knudsen KM, Skov T, et al. relationship between severity of the local skin reactions and the rate of local skin reaction resolution in patients treated with ingenol mebutate gel. *Clin Cosmet and Invest Dermatol*. 2016;9:211-16.
10. Anwar J, Wrone DA, Kimyai-Assadi A, et al. The development of actinic keratosis into invasive squamous cell carcinoma: Evidence and evolving classification schemes. *Clin in Dermatol* 2004; 22:189–96.
11. Guimaraes CO, Bagatin E, Guadanhim LR et al. Development and validation of a clinical scale for the evaluation of forearm skinphotoaging. *J Cutan Med Surg* 2015; 19:380–7.
12. Miot HA. Anomalous values and missing data in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras*. 2019;18:e20190004.
13. Friedman LM, Furberg C, DeMets DL. Fundamentals of clinical trials, 4th ed. New York: Springer, 2010.
14. Grimaire M, Etienne A, Fathi M. Topical Colchicine Therapy for Actinic Keratoses. *Dermatology* 2000; 200: 346-8.
15. Blauvelt A, Kempers S, Lain E, et al. Phase 3 Tirbanibulin for Actinic Keratosis Group. Phase 3 Trials of Tirbanibulin Ointment for Actinic Keratosis. *N Engl J Med*. 2021; 384 (6): 512-20.
16. Thompson SC, Jolley D, Marks R. Reduction of solar keratoses by regular sunscreen use. *N Engl J Med*. 1993;329:1147-51.
17. Mancebo SE, Hu JY, Wang SQ. Sunscreens: A Review of Health Benefits, Regulations, and Controversies, *Dermatol Clin*. 2014; 32(3):427-38.
18. Leducq S, Caille A, Le Cleach L, et al. Research techniques made simple: randomized controlled trials for topical drugs in dermatology: when and how should we use a within-person design? *J Invest Dermatol*. 2020;140(5):931-8.

-
19. Bucko AD, Jarratt M, Stough DB, et al. Pharmacokinetics of ingenol mebutate gel under maximum use conditions in large treatment areas. *J Dermatolog Treat.* 2018;29(1):74-9.
 20. US National Library of Medicine. Risk of squamous cell carcinoma on skin areas treated with ingenol mebutate gel, 0.015% and imiquimod cream, 5%. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01926496> (last accessed 14 March 2021).
 21. US National Library of Medicine. Efficacy and safety of 0.06% ingenol mebutate gel when applied once a day for 2, 3 or 4 consecutive days in a treatment area of approximately 250 cm² on the trunk and extremities in individuals with actinic keratosis. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01998984> (last accessed 14 March 2021).
 22. Miola AC, Castilho MA, Schmitt JV, et al. Contribution to characterization of skin field cancerization activity: morphometric, chromatin texture, proliferation, and apoptosis aspects. *An Bras Dermatol.* 2019;94(6):698-703.

4. CONCLUSÕES

O creme de colchicina 0,5% e mebutato de ingenol 0,05% gel foram eficazes no tratamento de QAs e do CCC em imunocompetentes.

O extrato de *Polypodium leucatomos* via oral não demonstrou eficácia após 60 dias de tratamento.

Não houve efeito aditivo do PL aos tópicos no tratamento de QA e CCC em 60 e 180 dias.

Houve redução da contagem de QAs e do escore de gravidade das QAs em 60 e 180 dias, com superioridade da colchicina em relação ao uso isolado de filtro solar FPS30.

Houve melhora do fotoenvelhecimento dos antebraços em 60 e 180 dias, com superioridade da colchicina em relação ao uso isolado de filtro solar FPS30 no D180.

Colchicina reduziu o escore KIN após 60 e 180 dias do uso em relação ao filtro solar e ao mebutato de ingenol.

PL, colchicina e MI apresentaram efeitos adversos leves a moderados e transitórios durante seu uso.

5. PERSPECTIVAS

O crescimento de estudos visando ao tratamento do campo de cancerização cutâneo tem o objetivo de contribuir para a prevenção do surgimento de novas neoplasias cutâneas em pacientes de alto risco e, consequentemente, reduzir a morbimortalidade, principalmente nos pacientes mais idosos, os mais acometidos por tumores cutâneos não-melanoma. Além disso, a redução a longo prazo da demanda por cirurgias oncológicas cutâneas em um país com um sistema hierarquizado como o SUS, permite a redistribuição de recursos para o nível primário de atenção, facilitando a realização de campanhas preventivas que visem à conscientização da comunidade.

Até o momento, ainda não há uma forma objetiva e uniforme de avaliação da atividade do campo de cancerização. A contagem de QA é a forma mais utilizada; entretanto, ainda não existe padronização quanto ao número mínimo de QAs por área para definir um campo de cancerização em atividade, gerando controvérsias entre os estudiosos. Diversos marcadores moleculares já foram estudados, como p53, Ki67, survivina e, até o momento, nenhum marcador isolado mostrou forte correlação com a atividade no CCC. Além disso, o uso de marcadores celulares, necessitando biópsia cutânea, torna a medida de atividade do CCC mais difícil na prática clínica e dependente da disponibilidade de laboratórios e marcadores. O uso de escores clínicos validados, como o escore de gravidade das queratoses actínicas utilizado no nosso estudo e desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa, por apresentarem uma percepção mais detalhada e sensível, podem ser estratégias praticáveis para a avaliação de atividade do CCC em ensaios clínicos futuros, bem como em serviços especializados de oncologia cutânea.

A influência simultânea da exposição à RUV na fisiopatologia das QAs e no processo de fotoenvelhecimento, bem como a redução dos escores de fotoenvelhecimento dos antebraços no presente estudo e em estudos anteriores do nosso grupo, traz atenção à identificação de sinais clínicos de fotoenvelhecimento como sinais intrínsecos a um CCC em atividade inicial, podendo tornar o tratamento pré-emergência de QAs estratégia importante de prevenção primária em pacientes de risco.

O tratamento do CCC, com o objetivo de reduzir o número de QAs apresenta, na maioria das vezes, resultados satisfatórios, porém, pouco sustentados a longo prazo; consequentemente, faz-se necessária a estabilização do CCC, ou seja, manter a inatividade em uma área cutânea já

tratada previamente, reduzindo, a longo prazo, a emergência de novas QAs e tumores cutâneos. Os estudos mais recentes têm focado em estratégias de tratamento; porém, é mister lembrar que a estabilização a longo prazo é necessária em pacientes com alto risco de desenvolvimento de tumores cutâneos. Para isso, ensaios clínicos com desfechos bem definidos para estabilização devem ser realizados e resultados de ensaios clínicos com tratamentos voltados ao tratamento do CCC não podem ser extrapolados para a estabilização da atividade de campo.

O *Polypodium leucatomos*, apesar de droga com poucos eventos adversos e nenhuma contraindicação formal até então, não se mostrou efetivo no tratamento do campo de cancerização, no regime estudado. Há, porém, poucos estudos na literatura, e este é o primeiro ensaio clínico placebo-controlado; faz-se necessário estudar melhor seu papel na estabilização do CCC, com ensaios clínicos controlados. Nosso estudo, portanto, apesar dos resultados não-significativos, não exclui o uso do PL ainda como estratégia de manutenção de um CCC estável em pacientes de alto risco.

A colchicina tópica, mais uma vez, se mostrou eficaz no tratamento do CCC e, assim como o PL, apresenta poucos estudos clínicos, com apenas um ensaio clínico comparativo (também realizado pelo nosso grupo), voltado ao tratamento do campo de cancerização, e não sua manutenção. É nesse contexto que estamos desenvolvendo novos estudos clínicos comparativos com o objetivo de gerar mais evidências de sua eficácia, como nosso ensaio clínico comparativo com 5FU 5%, o tratamento disponível com maior nível de evidência para CCC até o momento, bem como desenvolver ensaios clínicos envolvendo a colchicina tópica na estabilização do campo (após tratamentos destrutivos).

Outro aspecto relacionado à colchicina foi sua superioridade na redução das atipias queratinocíticas mesmo após 180 dias do seu uso, indicando possibilidade de estabilização do CCC. Essa evidência nos permite analisar a possibilidade de ensaios clínicos mais prolongados, com o uso da colchicina tópica no CCC em ciclos sequenciais, que certamente serão nosso enfoque de estudos futuros. Ademais, há a possibilidade de estudar o uso oral de colchicina em ambas as estratégias, emergindo como possível alternativa terapêutica em pacientes não aderentes ao uso de tópicos.

Estratégias terapêuticas tópicas e sistêmicas no tratamento e na estabilização do CCC devem ser exploradas visando o aumento do arsenal terapêutico para o dermatologista clínico, com o intuito de fornecer alternativas diferenciadas e, conseqüentemente, permitir uma terapia

individualizada e, ao mesmo tempo, com fundamentada evidência científica, aumentando não somente a aderência, mas também trazendo melhores resultados, bom perfil de tolerabilidade e de aspecto estético agradável ao paciente. Com esse objetivo, nosso grupo de estudo tem estudado antioxidantes tópicos, como o com L-ácido ascórbico 15%, alfa-tocoferol 1% e ácido ferúlico 0,5% no tratamento do campo de cancerização, e objetiva estudar a nicotinamida tópica e o peeling de Jessner com 5FU como estratégias de estabilização do CCC.

O desenvolvimento de ensaios clínicos voltados para o tratamento do campo de cancerização pelo nosso grupo, ao longo desses anos, permitiu a padronização de protocolos de tratamento utilizando os antebraços, de forma a ampliar a possibilidade de comparações entre os tratamentos disponíveis de modo autocontrolado, aumentando a robustez de seus resultados. Entretanto, faz-se também necessário a realização de estudos voltados para outros segmentos corporais, como a face e couro cabeludo, vistas as divergências de resultados quanto à redução na contagem de QAs entre diferentes áreas na literatura.

A quantificação de fatores de risco no desenvolvimento de QAs também é uma preocupação, dado o envelhecimento progressivo da população, com consequente aumento da incidência de QAs, dos tumores cutâneos não-melanoma e, concomitantemente, o aumento do uso de medicações de uso contínuo, dentre elas inúmeras drogas fotossensibilizantes, possíveis influenciadoras na fotocarcinogênese. Visando uma possível relação entre esses dois fatores, nosso grupo vem desenvolvendo um estudo caso-controle em pacientes com QAs na face e investigando o uso de drogas fotossensibilizantes. Estudos dessa modalidade apresentam impacto importante na sociedade, visto que muitas drogas fotossensibilizantes fazem parte do rol terapêutico distribuído pelo SUS, e a divulgação desses resultados pode impactar na prescrição ou contra-indicação de drogas em pacientes de alto risco de carcinogênese cutânea.

Finalmente, alternativas de baixo custo e boa aderência para o tratamento do campo de cancerização, que superem os efeitos conhecidos dos filtros solares, devem ser incentivadas, a fim ampliarmos as opções terapêuticas, especialmente, entre pacientes menos favorecidos. O desenvolvimento, portanto, de uma linha de pesquisa voltada para o tratamento e a estabilização do campo de cancerização é necessário, visto a alta incidência de RUV no nosso país, situado majoritariamente entre os trópicos, com uma população miscigenada, contendo descendência europeia e, consequentemente, com significativa prevalência de pacientes com fototipo baixo em praticamente todas as regiões brasileiras. Dessa forma, torna-se nosso papel como promotores de saúde, definir e divulgar as mais variadas estratégias terapêuticas para o CCC e,

consequentemente, reduzir a incidência e morbimortalidade de tumores cutâneos, altamente prevalentes na população.

ANEXO 1: Research letter ABD: Adaptação cultural e validação - AKQoL-BR

Anais Brasileiros de Dermatologia

Seção: Research Letter

Título: Adaptação cultural e validação do questionário de qualidade de vida dos pacientes portadores de queratose actínica (AKQoL-BR) para o português do Brasil.

Autores:

Marcella Akemi Haruno de Vilhena

Médica Dermatologista

E-mail: marcella.mh@gmail.com

ORCID: [0000-0003-3708-2129](https://orcid.org/0000-0003-3708-2129)

Abreviatura: Vilhena, MAH.

Ivanka Miranda de Castro

Assistente do Departamento de Dermatologia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

E-mail: ivanka.castro@gmail.com

ORCID: [0000-0002-3146-1892](https://orcid.org/0000-0002-3146-1892)

Abreviatura: Castro, IM.

Anna Carolina Miola

Assistente do Departamento de Dermatologia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

E-mail: anna.c.miola@unesp.br

ORCID: [0000-0001-8926-734X](https://orcid.org/0000-0001-8926-734X)

Abreviatura: Miola, AC.

Hélio Amante Miot

Professor Adjunto do Departamento de Dermatologia da FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

E-mail: heliomiot@gmail.com

ORCID: 0000-0002-2596-9294

Abreviatura: Miot, H.A.

Instituições onde o trabalho foi desenvolvido:

Ambulatório de Dermatologia do Instituto Lauro de Souza Lima - ILSL e Ambulatório de Dermatologia da Faculdade de Medicina da UNESP – FMB-UNESP.

Endereço para Correspondência:

Anna Carolina Miola

Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina da UNESP, S/N.

Campus Universitário de Rubião Jr.

18618-000 – Botucatu SP – Brasil

E-mail: anna.c.miola@unesp.br

FONE/FAX: 14 3882 4922

Conflito de interesse: nenhum

Fonte de financiamento: Nenhum

Participação dos autores:

MAHV – Idealização do estudo, desenvolvimento do projeto, análise dos dados, escrita e aprovação do texto.

IMC – Desenvolvimento do projeto, análise dos dados, escrita e aprovação do texto.

ACM – Idealização do estudo, desenvolvimento do projeto, análise dos dados, escrita e aprovação do texto.

HAM – Idealização do estudo, desenvolvimento do projeto, análise dos dados, escrita e aprovação do texto.

Palavras-chave: Carcinoma espinocelular; Ceratose actínica; Neoplasia; Qualidade de vida.

Queratoses actínicas (QA) contabilizam 10% das queixas das consultas dermatológicas no Brasil.¹ Embora o risco anual de progressão de uma QA para carcinoma espinocelular (CEC) seja 0,025-0,6%,² pacientes com múltiplas QAs apresentam risco de até 20% para a emergência de CECs.³ Ademais, QAs podem impactar na qualidade de vida (QV) dos pacientes afetados.

QAs acometem áreas fotoexpostas, podem causar dor, sangramento e evoluírem para CEC. Para mensurar o impacto das QAs na QV dos pacientes, desenvolveu-se, na Dinamarca, um instrumento específico, chamado AKQoL.⁵ Trata-se de um questionário com nove perguntas autoaplicáveis, voltadas ao incômodo causado pelas QAs na última semana, que foi adaptado para outras línguas.⁵ Até o momento, não há uma versão adaptada para a Língua Portuguesa.

Este estudo objetivou a validação e adaptação cultural do AKQoL para o português brasileiro. Para tanto, foi realizado um estudo metodológico, entre março-2020 e fevereiro-2021, envolvendo pacientes ambulatoriais dos serviços Instituto Lauro de Souza Lima - ILSL e da Faculdade de Medicina da UNESP – FMB-UNESP, maiores de 18 anos e alfabetizados. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética das instituições.

Após consentimento dos autores, realizou-se tradução do AKQoL para o português por três dermatologistas fluentes em inglês, de acordo com a recomendação do ISPOR *task-force*.⁶ As traduções resultaram em uma versão consensual que foi submetida à adaptação cultural a partir da entrevista de 15 participantes portadores de QA, visando à seleção dos termos mais adequados para o entendimento de cada item.

A versão traduzida e adaptada culturalmente (AKQoL-BR) foi submetida a 101 participantes com QA para sua validação psicométrica. Quinze desses participantes foram ressubmetidos ao questionário dentro de sete dias para avaliar sua estabilidade temporal (teste-reteste). Outros dez foram tratados com nitrogênio líquido e reavaliados após 30 dias, para avaliar a sensibilidade à mudança.

A consistência interna do AKQoL foi avaliada pelo coeficiente McDonald- ω (adequado se $\omega > 0,70$). Sua dimensionalidade foi estimada pela análise paralela de Horn, e confirmada pelo indicador UniCo (congruência unidimensional), cuja unidimensionalidade é definida por valores $\geq 0,95$. A estabilidade temporal foi testada pelo coeficiente de correlação intraclassa (CCI) (adequado se $CCI > 0,70$), e a responsividade pós-tratamento foi avaliada pelo teste de Wilcoxon.⁷ Correlação entre a gravidade de QA e o escore foi avaliada pelo coeficiente rho de Spearman.⁸ Considerou-se significativo $p\text{-valor} \leq 0,05$.

Os principais dados demográficos dos participantes estão apresentados na tabela 1. Salientam-se a alta prevalência de idosos, fototipos baixos e alta frequência de câncer de pele. O AKQoL-BR (Quadro 1) apresentou boa compreensão pelos participantes, e todos os questionários foram preenchidos em menos de dez minutos.

A consistência interna do questionário resultou 0,82 (IC 95% 0,78-0,87), e sua unidimensionalidade foi indicada pela análise de Horn, sendo o primeiro fator responsável por 57,5% da variância do construto, e o item 4 (medo de evolução para algo grave) foi aquele com maior carga fatorial (0,82). O teste de Kaiser-Meyer-Olkin resultou 0,82 e a estatística de Bartlett foi de 469 ($p < 0,01$). O indicador UniCo resultou 0,955.

Tabela 1: Dados demográficos dos pacientes entrevistados (n = 101).

Idade (anos)*		72 (10)
Sexo	Feminino	43 (43%)
	Masculino	58 (57%)
Fototipo	I	12 (12%)
	II	66 (65%)
	III	19 (19%)
	IV	4 (4%)
Escolaridade	Fundamental	70 (69%)
	Médio	24 (24%)
	Superior	7 (7%)
Tabagismo		15 (15%)
Uso de filtro solar		72 (71%)
Antecedentes de tumores cutâneos		73 (72%)
Exposição solar prévia	Leve	12 (12%)
	Moderada	26 (26%)
	Intensa	63 (62%)

Houve boa correlação entre os itens e o escore total ($\rho > 0,46$); entretanto, algumas fracas ($\rho < 0,30$) correlações inter-item (Tabela 2). O item 5, relacionado à camuflagem das QAs, foi o único que apresentou efeito chão, com 73% de opções na alternativa “nunca ou de modo algum”.

Tabela 2: Coeficiente de correlação inter-itens e coeficiente de correlação rho de Spearman entre os itens e o escore total AKQoL-BR (n = 101).

Variável	Q1	Q2	Q3	Q4	Q5	Q6	Q7	Q8	Q9
Q2	0,291	-							
Q3	0,195	0,278	-						
Q4	0,315	0,467	0,467	-					
Q5	0,249	0,189	0,298	0,318	-				
Q6	0,093	0,360	0,392	0,437	0,205	-			
Q7	0,144	0,297	0,236	0,407	0,208	0,240	-		
Q8	0,280	0,264	0,599	0,481	0,417	0,301	0,237	-	
Q9	0,229	0,485	0,223	0,329	0,201	0,270	0,394	0,232	-
AKQoL-BR	0,458	0,652	0,605	0,789	0,480	0,576	0,582	0,634	0,644

AKQoL-BR revelou adequada estabilidade temporal e sensibilidade à melhora. O escore médio (dp) dos testes e retestes foram 11,7 (6,5) e 11,3 (5,4), com CCI de 0,88 ($p < 0,01$). Os participantes tratados perceberam redução do impacto na qualidade de vida e reduziram seus escores de 7,0 (3,5) para 5,9 (3,5) ($p = 0,016$).

Nossos resultados mostram que AKQoL-BR revelou-se factível, consistente, reprodutível e sensível para a avaliação do impacto na QV, em uma amostra brasileira. A consistência interna resultou próxima à da versão original, dinamarquesa ($\alpha = 0,81$), e das outras traduções realizadas na Suíça ($\alpha = 0,82$), e Espanha ($\alpha = 0,91$), porém, a versão holandesa apresentou uma consistência menos expressiva ($\alpha = 0,64$).^{4,5,9,10}

A unidimensionalidade identificada na AKQoL-BR desfavorece sua análise em subescalas (função, emoções e controle), como foi idealizada pelos autores da escala original. De fato, a consistência interna dos domínios analisados independentemente foi fraca, e a correlação inter-domínio foi $< 0,60$ nas versões holandesa e brasileira (dados não mostrados).

As doenças dermatológicas afetam diferentes dimensões da vida, devido aos sintomas, às limitações funcionais e à promoção de estigmas ligados à aparência das lesões, que interferem com a interação social, profissão, lazer e infligem prejuízo à autoestima. Consequentemente, pode haver comprometimento psicológico dos pacientes. O conceito moderno de tratamento médico pressupõe, além da redução objetiva das lesões, o efeito de métricas baseadas na percepção dos pacientes, como o impacto na QV, o que torna relevante o uso de instrumentos específicos para avaliação da QV nas avaliações pré e pós-terapêuticas.

Em paralelo, é importante ressaltar que nem sempre há perfeita correlação entre gravidade clínica e impacto na QV, visto este ser um conceito subjetivo e dependente de interpretações pessoais, que podem variar entre indivíduos, em diferentes culturas, e inclusive no mesmo indivíduo, em diferentes fases da vida. O significado da doença e seu estigma também é muito variável, exigindo cuidado na interpretação de desfechos relatados pelos pacientes em populações heterogêneas. Nesse caso, o efeito chão observado no item 5 (camuflagem) pode não ser encontrado em amostras contendo pacientes mais jovens, ou que exerçam atividades sociais e laborais que demandem uma exposição mais frequente das lesões. No estudo de validação holandês, o item 5 também esteve entre os que apresentaram efeito chão, além dos itens 3 e 8; enquanto o estudo espanhol não apresentou itens com efeito-chão.⁵

Nosso estudo apresenta limitações, como a predominância de pacientes idosos, oriundos do sistema público e de baixo nível educacional, o que dificulta a generalização dos resultados; porém, não desabona as propriedades do instrumento validado. O uso do AKQoL-BR em estudos futuros será importante para consolidar sua utilidade na avaliação da qualidade de vida de pacientes com QA.

Em conclusão, foi adaptada e validada uma versão do AKQoL para o português do Brasil, a qual apresentou comportamento psicométrico favorável para seu uso em estudos clínicos com pacientes portadores de QAs.

Quadro 1: Questionário de qualidade de vida de pacientes portadores de queratoses actínicas – AKQoL-BR.

Essas perguntas se concentram em como a pele danificada pelo sol pode ter afetado sua vida durante a última semana:				
Por favor, marque a alternativa que considera a correta com um X				
1. Durante a última semana, eu fiquei incomodado por ter que proteger minha pele toda vez que saio ao sol.	De modo algum ☐	Um pouco ☐	Muito ☐	Muitíssimo ☐
2. Durante a última semana, a minha pele danificada pelo sol me fez pensar no que é importante na vida.	De modo algum ☐	Um pouco ☐	Muito ☐	Muitíssimo ☐
3. Durante a última semana, a minha qualidade de vida diminuiu devido à minha pele danificada pelo sol.	De modo algum ☐	Um pouco ☐	Muito ☐	Muitíssimo ☐
4. Durante a última semana, eu tive medo que o dano solar da minha pele possa evoluir para uma doença de pele mais grave.	De modo algum ☐	Um pouco ☐	Muito ☐	Muitíssimo ☐
5. Durante a última semana, eu tentei seconder os danos solares da minha pele das outras pessoas com maquiagens ou roupas.	Raramente/ De modo algum ☐	Às vezes ☐	Frequentemente ☐	Constantemente ☐
6. Durante a última semana eu me senti culpado pelos danos solares da minha pele.	Raramente/ De modo algum ☐	Às vezes ☐	Frequentemente ☐	Constantemente ☐
7. Durante a última semana, eu observei a minha pele e a examinei em busca de danos solares.	Raramente/ De modo algum ☐	Às vezes ☐	Frequentemente ☐	Muito frequentemente ☐
8. Durante a última semana, minha vida foi mais difícil por causa dos danos solares da minha pele.	De modo algum ☐	Um pouco ☐	Muito ☐	Muitíssimo ☐
9. Durante a última semana, eu pensei sobre como me comportar quando exposto ao sol.	Raramente/ De modo algum ☐	Às vezes ☐	Frequentemente ☐	Constantemente ☐

Referências:

1. Miot HA, Penna GO, Ramos AMC, et al. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). *An Bras Dermatol* 2018;93:916-28.
2. Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol* 2012;87:425-34.
3. Guorgis G, Anderson CD, Lyth J, et al. Actinic keratosis diagnosis and increased risk of developing skin cancer: a 10-year cohort study of 17,651 patients in Sweden. *Acta Derm Venereol* 2020;100:adv00128.
4. Esmann S, Vinding GR, Christensen KB, et al. Assessing the influence of actinic keratosis on patients' quality of life: the AKQoL questionnaire. *Br J Dermatol* 2013; 168:277-83.
5. Alarcon I, Vinding GR, Christensen KB, et al. Spanish version of the Actinic Keratosis Quality of Life questionnaire. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31:986-91.
6. Wild D, Grove A, Martin M, et al. Principles of good practice for the translation and cultural adaptation process for patient-reported outcomes (pro) measures: report of the ISPOR task force for translation and cultural adaptation. *Value Health* 2005; 8:94-104.
7. Miot HA. Agreement analysis in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras* 2016; 15:89-92.
8. Miot HA. Correlation analysis in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras* 2018;17:275-9.
9. Meier LS, Schubert M, Göksu Y, et al. Swiss (German) version of the Actinic Keratosis Quality of Life questionnaire. *Dermatology* 2018;234(1-2):51-9.
10. Vis K, Waalboer-Spuij R, Snels DGCTM, et al. Validity and reliability of the Dutch adaptation of the Actinic Keratosis Quality of Life questionnaire (AKQoL). *Dermatology* 2018;234(1-2):60-5.

ANEXO 2: Editorial – Jornal Vascular Brasileiro: p-valor e dimensão do efeito

Tipo de artigo: Editorial – Jornal Vascular Brasileiro

Título: P-valor e dimensão do efeito em estudos clínicos e experimentais.

Title: *P-value and effect-size in clinical and experimental studies.*

Título resumido: P-valor e dimensão do efeito em estudos clínicos.

Autores:

Anna Carolina Miola (1)

Hélio Amante Miot (1)

Afiliação:

1. Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico Por Imagem e Radioterapia, FMB-Unesp, Botucatu-SP, Brasil.

Informação de correspondência:

Prof. Hélio Miot

Departamento de Infectologia, Dermatologia, Diagnóstico Por Imagem e Radioterapia - SN, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil

CEP: 18618-000

Fone: +55 14 3811-6015

Email: heliomiot@gmail.com

Informação dos autores:

A.C.M.- Dermatologista, Mestre e PhD pela FMB-UNESP.

H.A.M - Dermatologista, PhD pela FMUSP e Livre-docente pela FMB-UNESP.

Local onde o trabalho foi realizado:

Departamento de Dermatologia, FMB-UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

Conflitos de interesse: Nenhum.

Financiamento: nenhum

Palavras-chave: Estatística; Risco; p-valor; Razão de chances; Risco relativo; Intervalo de confiança.

A natureza complexa dos sistemas biológicos faz com que muitos experimentos apresentem certa variabilidade amostral. Ainda, grande parte das intervenções biomédicas promove efeitos moderados e sem um evidente gradiente dose-resposta. Contudo, ao passo que se emprega a estatística para concluir quanto à diferença entre amostras, a maior variabilidade das medidas e a modesta diferença entre grupos comprometem o poder analítico (erro tipo II). Esse detalhe exige uma cuidadosa interpretação do p-valor (significância estatística) e da dimensão do efeito em estudos de comparação entre grupos, apesar desses conceitos se aplicarem também para análises de correlação, concordância, sobrevivência, testes diagnósticos, entre outros.¹⁻⁵

Segundo a estatística frequentista, duas ou mais amostras podem ser originárias de uma mesma população, porém, apresentarem variabilidade em algumas características. Quanto mais similares forem as amostras, maior a chance de terem a mesma natureza; por outro lado, amostras muito diferentes têm menor chance de terem sido selecionadas, ao acaso, dentro da mesma população. Os estatísticos desenvolveram modelos matemáticos que estimam a probabilidade de que amostras pertençam a uma mesma população, e que suas diferenças constatadas no experimento, tenham ocorrido ao acaso. De forma geral, o p-valor de um teste estatístico retorna à probabilidade teórica de que valores mais extremos do que os encontrados sejam frutos do acaso, desde que os grupos realmente sejam iguais (H_0 verdadeira).^{6,7}

Cabe ao pesquisador definir o ponto de corte a partir do qual considera, para o p-valor, uma probabilidade baixa o suficiente para assumir que os grupos sejam diferentes. A decisão desse nível de significância (nível α), assim como a direção da análise (uni ou bicaudal) devem ser baseadas em princípios teóricos, e definidas previamente à análise.⁸

Em testes de comparação entre grupos, o p-valor é influenciado pela diferença entre as médias (ou proporções), mas também pela variância dos dados e pela dimensão da amostra. A figura 1 mostra três situações diferentes, em que se comparam amostras com variação nos desvio-padrão e tamanho amostral. Amostras com mesma média e desvio-padrão apresentam p-valores diferentes, de acordo com o tamanho amostral (Figura 1 A vs. B). Já amostras com a mesma média e tamanho amostral, apresentam distintos p-valores se diferirem no desvio-padrão (Figura 1 A vs. C).

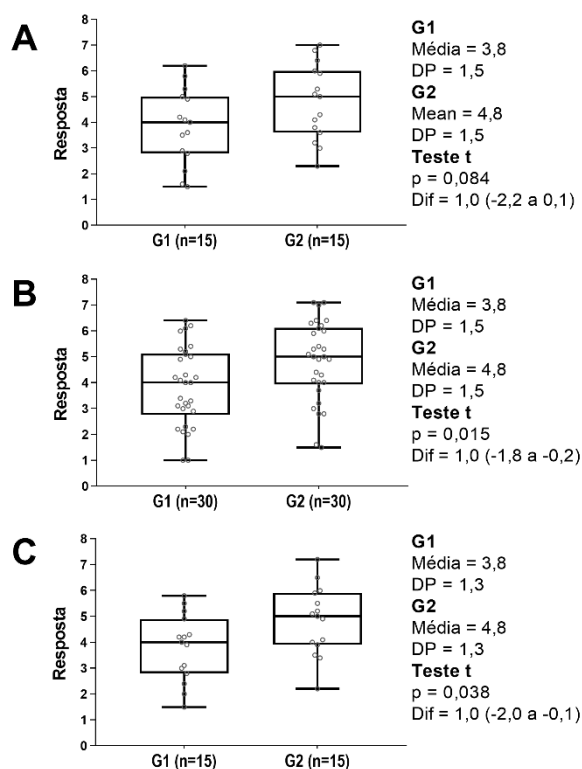


Figura 1. Exemplos hipotéticos de comparações (bidirecionais) de dois grupos de tratamento (G1 e G2), todos com mesma média e mediana. **A:** Amostra com 15 participantes por grupo ($p=0,08$). **B:** Amostra com 30 participantes por grupo, e mesmo desvio-padrão que o exemplo A ($p=0,02$). **C:** Amostra com 15 participantes por grupo, e menor desvio-padrão que o exemplo A ($p=0,04$).

Convencionalmente, pesquisadores adotam níveis de significância na faixa de 5% ($p \leq 0,05$) para a análise de pequenas amostras ($n < 50$); com isso, assumem o risco de o resultado encontrado ocorrer ao acaso em pelo menos 1 vez a cada 20 execuções do experimento.⁹ Contudo, como o tamanho amostral e o número de variáveis envolvidas na análise (número de comparações) influenciam o p-valor, isso deve ser ponderado na decisão do nível de significância. O emprego de amostras vultosas ($n > 1000$) favorece o encontro de p-valores pequenos, sendo recomendado utilizar níveis de significância mais restritos, como $p \leq 0,001$. As modernas explorações genéticas, que comparam simultaneamente milhares de variáveis favorecem o encontro casual de p-valores diminutos, sendo recomendados níveis de significância da ordem de $p < 5 \times 10^{-8}$.^{10,11}

Os p-valores resultantes de um teste estatístico devem ser apresentados como sua medida exata e com um número de decimais compatível com a grandeza que se propõe avaliar. Por exemplo, deve-se referir $p=0,032$; ao invés de $p<0,05$ ou de $p=0,032016$.^{12,13} O acréscimo de decimais não é contraprova de maior fidedignidade dos resultados. Ainda, p-valores marginais ao nível de significância (p.ex. $p=0,067$), não devem ser interpretados como uma “tendência” para rejeitar a hipótese nula, uma vez que a ampliação da amostra não garante que a diferença entre os grupos seja mantida.¹⁴

É, pois, importante que o p-valor não deva ser utilizado como medida de validade de um resultado, ou da força de uma associação.¹⁵ Tampouco p-valores maiores que o nível de significância devam ser interpretados como identidade entre as amostras.⁷ Uma medida adicional para a compreensão da relação entre os grupos amostrados, são os estimadores chamados de dimensão do efeito.¹⁶

Desde que as amostras representem adequadamente uma população (coleta aleatorizada), as estatísticas das amostras podem estimar parâmetros desta população, permitindo realizar inferências sobre o comportamento das variáveis estudadas. Dimensão do efeito é um indicador que quantifica a diferença entre as amostras, e a estimativa do seu intervalo de confiança de 95% (IC 95%) dimensiona a incerteza do comportamento do parâmetro, na população de origem.^{17,18}

A tabela 1 apresenta os principais indicadores de dimensão de efeito para estudos epidemiológicos que devem acompanhar o p-valor nos resultados de testes estatísticos.¹⁹ Há, porém, outros estimadores de dimensão de efeito cuja interpretação é menos intuitiva, entre eles o coeficiente “d” de Cohen, R^2 , omega e o “eta” quadrado (ω^2 e η^2), que podem requerer suporte de um estatístico experiente.^{18,20}

Tabela 1. Principais dimensões de efeito de acordo com o tipo do estudo epidemiológico.

Tipo de estudo	Dimensão do efeito
Diagnóstico	Sensibilidade, Especificidade, Valor preditivo positivo (ou negativo), Razão de verossimilhança, Área sob a curva
Ecológico	Coeficientes de correlação (r ou rho)
Caso-controle	Razão de chances, Razão de prevalência
Sobrevivência	Razão de risco
Ensaio clínico / Coorte	Risco relativo, Risco atribuível, Redução do risco relativo, Redução absoluta do risco, Número Necessário para o Tratamento (ou para Dano), Diferença entre os grupos (percentual ou médias).

Todo teste estatístico deve ser apresentado (e interpretado) de acordo com o p-valor, uma dimensão do efeito e seu IC 95%.^{12,13,21,22} Um experimento que resulte em grande dimensão de efeito e p-valor=0,06 é certamente mais relevante que um resultado que exiba pequena dimensão do efeito e p<0,01.²³⁻²⁵ Um estudo recente que avaliou a efetividade de meias de compressão na melhora do edema ocupacional, resultou p<0,0001,²⁶ porém, a indisponibilidade dos valores de redução como dimensão do efeito (p.ex. redução do diâmetro vespertino, ou escore VEINES) dificultam a interpretação dos dados e sua inferência.

Excepcionalmente, pode haver uma discreta divergência entre a amplitude da dimensão de efeito e o p-valor, por exemplo, como um resultado de risco relativo 0,70 (IC 95% 0,30 a 1,10) e p-valor=0,045, porém, isso não deve ser considerado erro, já que são estimativas oriundas de cálculos diferentes, e que tendem a convergir com o aumento amostral.

Há um recente movimento acadêmico para a abolição do p-valor e do termo “estatisticamente significativo” nas publicações científicas, em preferência pela representação exclusiva da dimensão de efeito de um teste, por ser mais informativa e permitir a generalização dos resultados.²⁷ Realmente, estudos que baseiam suas conclusões unicamente no p-valor são mais susceptíveis à não reprodutibilidade, além de estimularem os pesquisadores a perseguirem a significância estatística, em detrimento da relevância do resultado (*p-hacking*).^{23,28-31} Contudo,

ainda é um movimento incipiente entre os pesquisadores, já que a uma campanha para a interpretação correta do p-valor é uma alternativa mais acertada que sua abolição³².

Finalmente, as comparações entre grupos podem ser avaliadas de forma uni ou bidirecional (uni/bicaudal). Convenciona-se chamar de estudo de diferença, quando avaliamos se o comportamento de uma variável pode ser superior ou inferior, entre as amostras. Entretanto, muitas avaliações são, por natureza, unidirecionais, como a avaliação do número de casos de uma doença entre vacinados e não-vacinados; ou em testes de não-inferioridade entre duas terapias.³³ Nesses exemplos, não faz parte da hipótese de pesquisa a possibilidade de que o resultado seja contemplado bidirecionalmente. O emprego de análises unicaudais, porém, não é consensual entre os epidemiologistas, porque apesar de apresentarem maior poder estatístico, e demandarem menor amostragem, aumentam a chance de erro tipo I.³⁴⁻³⁶ Tais análises exigem supervisão de um estatístico experiente para o cálculo do p-valor e do IC 95% unicaudais.

Enquanto o valor de p pode informar ao leitor se há algum efeito significativo, não revela o impacto desse efeito nas variáveis estudadas³⁷. Portanto, o pesquisador deve estar atento aos resultados dos testes estatísticos, no sentido de que sua interpretação deva contemplar o p-valor em conjunto com a dimensão do efeito, especialmente, estimada pelo seu intervalo de confiança de 95%, já que o significado pragmático do experimento é uma informação independente da sua significância estatística.

Referências

1. Miot HA. Agreement analysis in clinical and experimental trials. *J Vasc Bras* 2016;15:89-92.
2. Polo TCF, Miot HA. Use of ROC curves in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras* 2020;19:e20200186.
3. Miot HA. Correlation analysis in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras* 2018;17:275-9.
4. Schober P, Bossers SM, Schwarte LA. Statistical Significance Versus Clinical Importance of Observed Effect Sizes: What Do P Values and Confidence Intervals Really Represent? *Anesth Analg* 2018;126:1068-72.
5. Miot HA. Survival analysis in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras* 2017;16:267-9.
6. Concato J, Hartigan JA. P values: from suggestion to superstition. *J Investig Med* 2016;64:1166-71.
7. Wasserstein RL, Lazar NA. The ASA statement on p-values: context, process, and purpose. *Am Stat* 2016;70:129-33.
8. Miot HA. Sample size in clinical and experimental studies. *J Vasc Bras* 2011;10:275-8.
9. Halsey LG, Curran-Everett D, Vowler SL, Drummond GB. The fickle P value generates irreproducible results. *Nat Methods* 2015;12:179-85.
10. Clarke GM, Anderson CA, Pettersson FH, Cardon LR, Morris AP, Zondervan KT. Basic statistical analysis in genetic case-control studies. *Nat Protoc* 2011;6:121-33.
11. Barsh GS, Copenhaver GP, Gibson G, Williams SM. Guidelines for genome-wide association studies. *PLoS Genet* 2012;8:e1002812.

12. Indrayan A. Reporting of Basic Statistical Methods in Biomedical Journals: Improved SAMPL Guidelines. *Indian Pediatr* 2020;57:43-8.
13. Lang TA, Altman DG. Basic statistical reporting for articles published in biomedical journals: the "Statistical Analyses and Methods in the Published Literature" or the SAMPL Guidelines. *Int J Nurs Stud* 2015;52:5-9.
14. Ferreira JC, Patino CM. What does the p value really mean? *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 2015;41:485.
15. Wasserstein RL, Schirm AL, Lazar NA. Moving to a world beyond " $p < 0.05$ ". *Am Stat* 2019;73:1-19.
16. Lee DK. Alternatives to P value: confidence interval and effect size. *Korean J Anesthesiol* 2016;69:555-62.
17. McGough JJ, Faraone SV. Estimating the size of treatment effects: moving beyond p values. *Psychiatry (Edmont)* 2009;6:21-9.
18. Nakagawa S, Cuthill IC. Effect size, confidence interval and statistical significance: a practical guide for biologists. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2007;82:591-605.
19. Coutinho ES, Cunha GM. [Basic concepts in epidemiology and statistics for reading controlled clinical trials]. *Braz J Psychiatry* 2005;27:146-51.
20. Conboy JE. Algumas medidas típicas univariadas da magnitude do efeito. *Análise Psicológica* 2003;21:145-58.
21. Schulz KF, Altman DG, Moher D. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *PLoS Med* 2010;7:e1000251.
22. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gotsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *PLoS Med* 2007;4:e296.
23. Nuzzo R. Scientific method: statistical errors. *Nature* 2014;506:150-2.
24. Matthews JN, Altman DG. Statistics notes. Interaction 2: Compare effect sizes not P values. *Bmj* 1996;313:808.
25. Fleischmann M, Vaughan B. Commentary: Statistical significance and clinical significance - A call to consider patient reported outcome measures, effect size, confidence interval and minimal clinically important difference (MCID). *J Bodyw Mov Ther* 2019;23:690-4.
26. Agle CG, Sá CKC, Amorim Filho DS, Figueiredo MAM. Evaluation of the effectiveness of wearing compression stockings for prevention of occupational edema in hairdressers. *J Vasc Bras.* 2020;19:e20190028.
27. Amrhein V, Greenland S, McShane B. Scientists rise up against statistical significance. *Nature* 2019;567:305-7.
28. Ioannidis JP. Why most published research findings are false. *PLoS Med* 2005;2:e124.
29. John LK, Loewenstein G, Prelec D. Measuring the prevalence of questionable research practices with incentives for truth telling. *Psychol Sci* 2012;23:524-32.
30. Journals unite for reproducibility. *Nature* 2014;515:7.
31. Amrhein V, Korner-Nievergelt F, Roth T. The earth is flat ($p > 0.05$): significance thresholds and the crisis of unreplicable research. *PeerJ* 2017;5:e3544.
32. Ioannidis JPA. What Have We (Not) Learnt from Millions of Scientific Papers with P Values? *The American Statistician* 2019;73(1), 20-5.
33. Pinto VF. Estudos clínicos de não-inferioridade: fundamentos e controvérsias. *Jornal Vascular Brasileiro* 2010;9:145-51.
34. Streiner DL. Statistics Commentary Series: Commentary #12-One--Tailed and Two-Tailed Tests. *J Clin Psychopharmacol* 2015;35:628-9.
35. Ringwalt C, Paschall MJ, Gorman D, Derzon J, Kinlaw A. The use of one- versus two-tailed tests to evaluate prevention programs. *Eval Health Prof* 2011;34:135-50.
36. Ludbrook J. Should we use one-sided or two-sided P values in tests of significance? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2013;40:357-61.
37. Sullivan GM, Feinn R. Using Effect Size-or Why the P Value Is Not Enough. *J Grad Med Educ* 2012;4(3):279-82.

ANEXO 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMINOLOGIA OBRIGATÓRIA EM ATENDIMENTO A RESOLUÇÃO 466/12 –CNS-MS:**

Você foi atendido(a) no ambulatório de dermatologia da UNESP e convidado a participar do projeto de pesquisa chamado "***Polypodium leucatomos* via oral versus placebo associado a mebutato de ingenol gel 0,05% ou colchicina creme 0,5% no tratamento de queratoses actínicas e campo de cancerização cutâneo: um ensaio clínico randomizado**", que pretende comparar o efeito de três formas de tratamento para as lesões pré-malignas dos seus antebraços (chamadas queratoses actínicas): colchicina em creme, mebutato de ingenol e *Polypodium leucatomos*.

A pesquisa consta em avaliar seus antebraços, realizar uma biópsia (remoção de um pequeno fragmento de pele) e, submeter cada antebraço a um dos tratamentos, para comparação. Todos os tratamentos são efetivos, ou seja, você estará em tratamento de qualquer forma.

Para o tratamento com colchicina, um creme será fornecido para aplicação em um dos antebraços, duas vezes por dia, por sete dias consecutivos.

Para o tratamento com mebutato de ingenol, será fornecido outro creme para aplicação em um dos antebraços, uma vez ao dia, por dois dias consecutivos.

Além dos tratamentos tópicos, você receberá um tratamento via oral, que poderá ser hidrocelulose (placebo) ou *Polypodium leucatomos* 500mg de 12 em 12 horas, que terá duração de 60 dias. A composição dos comprimidos será desconhecida para você e para o pesquisador principal.

Nos dias seguintes, as áreas tratadas devem evoluir com vermelhidão, inchaço e pequenos ferimentos nas áreas doentes. Durante o tratamento, você deve usar um filtro solar fornecido pelos pesquisadores.

Após quinze dias, você será avaliado clinicamente, a fim de detectar possíveis efeitos colaterais que possam ocorrer durante seu tratamento e, após 60 e 180 dias do início do tratamento, você será reavaliado, de forma semelhante à primeira avaliação, e um novo fragmento de pele dos seus antebraços serão removidos, para comparação. As biópsias são realizadas com anestesia local, o que pode gerar um leve desconforto no local, durante o procedimento.

Caso você não queira participar da pesquisa, é seu direito e isso não vai interferir com o seu tratamento ou a preferência de agendamento médico.

Caso você precise de orientação, ou auxílio médico decorrente do atendimento nesse ambulatório, deve procurar o responsável pela pesquisa, Dr. Hélio Miot, no ambulatório de dermatologia da Unesp Botucatu, fone (14) 3811-6167.

Você poderá entrar em contato com o CEP através dos telefones: 3880-1608 ou 3880-1609 para quaisquer informações adicionais sobre este estudo.

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

CONCORDO EM PARTICIPAR DA PESQUISA

Nome:..... Assinatura:.....

Dra. Anna Carolina Miola Data:...../...../..... Assinatura:.....

Pesquisadora: Anna Carolina Miola, Departamento de Dermatologia e Radioterapia da UNESP.
Fone: (14)3811-6167. E-mail: anna_fmfp@yahoo.com.br

ANEXO 4: Randomização dos antebraços dos pacientes

Randomização	Bloco 1	Paciente	Antebraço direito	Antebraço Esquerdo
0,582		F2	COL	FPS
		F2	FPS	MI
		F1	COL	FPS
		F1	FPS	MI
		F2	COL	MI
		F1	MI	COL
0,675		F2	FPS	MI
		F2	COL	FPS
		F1	COL	FPS
		F1	FPS	MI
		F2	COL	MI
		F1	MI	COL
0,372		F2	COL	FPS
		F2	FPS	MI
		F1	FPS	MI
		F1	COL	FPS
		F2	COL	MI
		F1	MI	COL
0,311		F2	COL	FPS
		F2	FPS	MI
		F1	FPS	MI
		F1	COL	FPS
		F2	COL	MI
		F1	MI	COL
0,878		F2	COL	FPS
		F2	FPS	MI
		F1	MI	COL
		F1	FPS	MI

0,853	F2	COL	MI		
	F1	COL	FPS		
	Bloco 6	Paciente	Antebraço direito	Antebraço Esquerdo	
	F2	COL	FPS		
	F2	FPS	MI		
	F1	COL	FPS		
	F1	MI	COL		
	F2	COL	MI		
	F1	FPS	MI		
0,895	Bloco 7	Paciente	Antebraço direito	Antebraço Esquerdo	
	F2	COL	FPS		
	F2	COL	MI		
	F1	COL	FPS		
	F1	FPS	MI		
	F2	FPS	MI		
	F1	MI	COL		
	0,686	Bloco 8	Paciente	Antebraço direito	Antebraço Esquerdo
		F2	COL	FPS	
F2		MI	COL		
F1		COL	FPS		
F1		FPS	MI		
F2		FPS	MI		
F1		MI	COL		

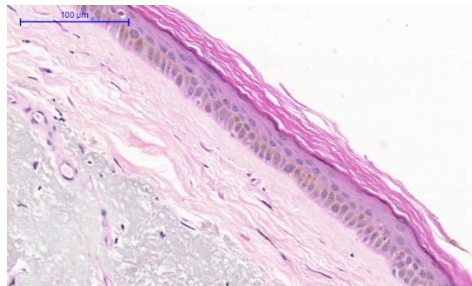
ANEXO 5: Escala de fotoenvelhecimento dos antebraços

Item	Graus de Severidade					Fator Multiplicador
	0	1	2	3	4	
Queratose actínica (superficial)	Nenhuma	1-2	3-5	6-10	>10	x 4
Queratose actínica (hipertrófica)	Nenhuma	1	2	3	> 3	x 1
Rugas	Nenhuma	Raras e finas	Múltiplas e finas	Múltiplas, finas e profundas, porém localizadas	Múltiplas, profundas e difusas	x 9
Lentiginoses	0-4	5-10	11-20	21-25	>25	x 4
Púrpura visível	Nenhuma	Sim	x	X	x	x 2
Cicatrizes Atróficas Estreladas	Nenhuma	Sim	x	X	x	x 4
Elastose	Ausente	Localizada	Difusa	x	x	x 8
Perda de elasticidade	Ausente	Localizada	Difusa	x	x	x 16

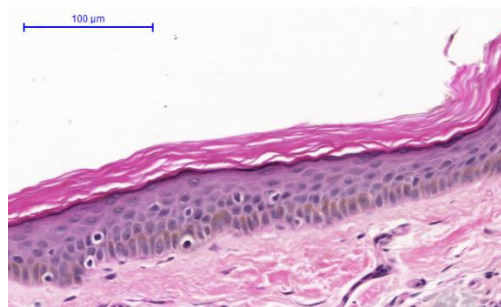
ANEXO 6: Escala de Gravidade das Queratoses Actínicas - AKSS

Escala de gravidade clínica das queratoses actínicas - AKSS		
Característica	Descrição	Pontos
Diâmetro	0 a 5 mm	0
	6 a 10 mm	1
	Maior que 10mm	2
Hiperqueratose	Ausente ou lesão levemente áspera à palpação (mais palpável que visível)	0
	Aspecto descamativo evidente	1
	Queratina compacta aderida à superfície da lesão	2
Exulceração	Ausente	0
	Presente	1
Escore Clínico = Diâmetro + Hiperqueratose + Exulceração		
Valor mínimo: 0 - Valor máximo: 5		

ANEXO 7: KIN – Keratinocyte Intraepithelial Neoplasia



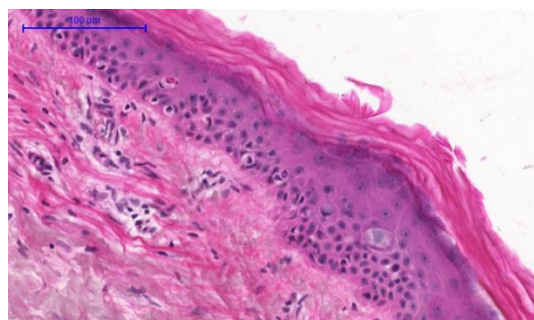
KIN 0 – Ausência de células displásicas em todo o epitélio.



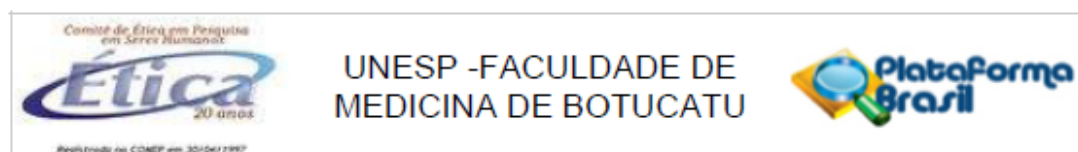
KIN 1 – Presença de células displásicas, predominantemente no terço inferior da epiderme (camada basal).



KIN 2 - Presença de células displásicas acometendo os dois terços inferiores da epiderme.



KIN 3 – Presença de células displásicas por todo o epitélio.

ANEXO 8 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Polypodium leucotomos VIA ORAL VERSUS PLACEBO ASSOCIADO A MEBUTATO DE INGENOL GEL 0,05% OU COLCHICINA CREME 0,5% NO TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS E CAMPO DE CANCERIZAÇÃO CUTÂNEO: UM ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO

Pesquisador: Anna Carolina Miola

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 80026717.6.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento de Dermatologia e Radioterapia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.421.818

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de doutorado proposto por Anna Carolina Miola, sob orientação do Prof. Dr. Hélio Amante Miot, do Departamento de Dermatologia e Radioterapia da FMB. O objetivo do estudo é avaliar a eficácia do creme de colchicina 0,5%, do mebutato de ingenol 0,05% em creme; e do extrato de Polypodium leucotomos via oral, no tratamento de queratoses actínicas (QA) e campo de cancerização cutâneo em imunocompetentes. Para isso, o projeto propõe ensaio clínico autocontrolado, fatorial e duplo cego para o tratamento via oral, no qual serão incluídos 48 pacientes com até 10 QAs por região estudada dos antebraços. Os pacientes serão randomizados em dois grupos, de forma a receber extrato de Polypodium leucotomos via oral 500mg de 12 em 12 horas por 60 dias, ou comprimidos de hidrocelulose (placebo). Os antebraços serão randomizados em bloco com o tratamento via oral, podendo receber colchicina a 0,5% creme durante 6 dias, mebutato de ingenol durante seis dias ou uso de fotoprotetor FPS 30, sem tratamento adicional. Os antebraços serão avaliados clinicamente (contagem de QAs, escala de fotoenvelhecimento dos antebraços, escore de gravidade das QAs) e biopsiados para análise histopatológica e imunohistoquímica através da expressão dos marcadores p53 e Ki67. Posteriormente, os pacientes serão reavaliados, clínica e histologicamente, 60 e 180 dias após o tratamento. Pela divisão dos grupos, verifica-se que nenhum voluntário ficará sem tratamento.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

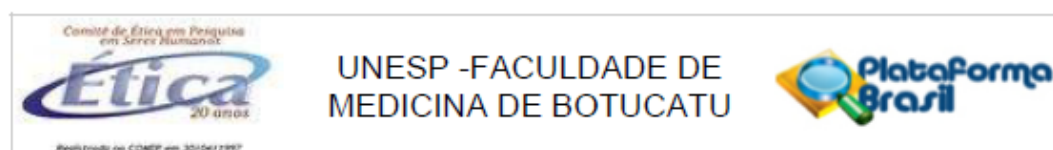
UF: SP

Telefone: (14)3880-1609

Município: BOTUCATU

CEP: 18.618-970

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.421.818

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo principal da pesquisa é avaliar a eficácia do creme de colchicina 0,5%, do mebutato de ingenol 0,05% em creme; e do extrato de *Polypodium leucatomos* via oral, no tratamento de QA e campo de cancerização cutâneo em imunocompetentes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Como risco o proponente cita adequadamente os possíveis efeitos colaterais do medicamento objeto de estudo. Esses mesmos efeitos colaterais devem ser descritos no TCLE.

Como benefício o proponente cita que o desenvolvimento de estratégias terapêuticas que visem estabilizar o campo de cancerização pode levar à prevenção do surgimento de neoplasias cutâneas, redução de cirurgias mutilantes e de neoplasias invasivas, com alto risco de metástases, reduzindo a morbimortalidade das neoplasias cutâneas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

No projeto inserido no formulário da Plataforma Brasil a proponente cita que a pesquisa será realizada com recursos próprios, mas anexa uma planilha de orçamento descrevendo recursos oriundos da FAPESP e da própria Unesp. O cronograma de pesquisa é adequado à proposta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos estão adequados à proposta.

Recomendações:

1. Ajustar TCLE conforme orientações descritas neste parecer.
2. Incluir no formulário da Plataforma Brasil a planilha apresentada com o orçamento da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado. Atender as recomendações acima citadas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 04 dezembro de 2017, o projeto encontra-se APROVADO, sem necessidade de envio à CONEP.

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

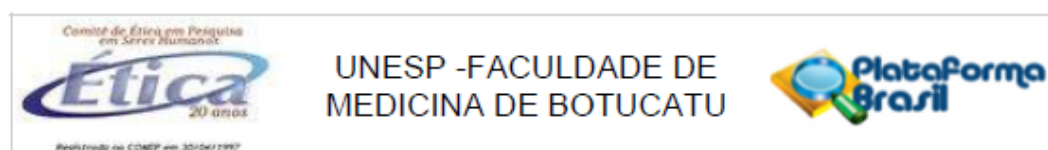
Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1809

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.421.818

O Comitê de Ética em Pesquisa, no entanto, informa que ao final da execução da pesquisa, seja enviado o "Relatório Final de Atividades", na forma de "Notificação", via Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1020995.pdf	08/11/2017 19:23:52		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de doutorado FINAL.docx	08/11/2017 19:18:57	Anna Carolina Miola	Aceito
Orçamento	Orcamento.docx	08/11/2017 19:17:17	Anna Carolina Miola	Aceito
Cronograma	Cronogramadasatividades.docx	08/11/2017 19:13:51	Anna Carolina Miola	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodeConsentimentoLivreeEsclarecido.docx	08/11/2017 19:12:51	Anna Carolina Miola	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	08/11/2017 19:06:58	Anna Carolina Miola	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciaHcfmb.pdf	08/11/2017 19:06:13	Anna Carolina Miola	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.Pdf	08/11/2017 19:05:18	Anna Carolina Miola	Aceito

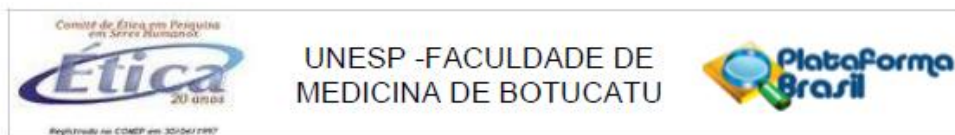
Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
 Bairro: Rubião Junior CEP: 18.618-970
 UF: SP Município: BOTUCATU
 Telefone: (14)3880-1609 E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.421.818

BOTUCATU, 07 de Dezembro de 2017

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n
Bairro: Rubião Junior
UF: SP Município: BOTUCATU
Telefone: (14)3880-1609 CEP: 18.618-970
E-mail: cep@fmb.unesp.br