



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

Raquel Chicre Bandeira de Melo Cavalcante

**Tratamento das queratoses actínicas e do campo de cancerização
cutâneo com terapia fotodinâmica com a luz do dia: avaliação
clínica, histopatológica e com microscopia confocal**

São Paulo
2023



Raquel Chicre Bandeira de Melo Cavalcante

Versão corrigida conforme Resolução CoPGr6018/11

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Dermatologia

Orientador: Prof. Dr. Luis Antônio Ribeiro Torezan

**São Paulo
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Cavalcante, Raquel Chicre Bandeira de Melo
Tratamento das queratoses actínicas e do campo de
cancerização cutâneo com terapia fotodinâmica com a
luz do dia : avaliação clínica, histopatológica e com
microscopia confocal / Raquel Chicre Bandeira de
Melo Cavalcante. -- São Paulo, 2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Dermatologia.

Orientador: Luis Antonio Ribeiro Torezan.

Descritores: 1.Terapia fotodinâmica com a luz do
dia 2.Queratose actínica 3.Campo de cancerização
4.Microscopia confocal

USP/FM/DBD-239/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Ao meu DEUS, que me trouxe até aqui e é a minha força diária. Sem a Sua Graça, nada disso aconteceria. À minha Mãe do céu, sempre comigo.

Ao meu marido PABLO, um exemplo para mim na Dermatologia, na disciplina com os estudos e na garra. Além do consolo nas dificuldades e no incentivo sem fim, sempre presente em todas as etapas, nas correções e ajudando nas apresentações. Ao meu companheiro e grande amigo, o meu amor e admiração.

Ao meu filho PEDRO, minha maior realização e a maior alegria da minha vida.

Ao meu pai, HELDER CAVALCANTE, também dermatologista e razão da minha escolha por essa especialidade, meu grande incentivador nos estudos, sempre exigente, mas amoroso, desde as épocas do vestibular para Medicina, até o doutorado. Essa é uma grande realização profissional minha, mas também muito dele: concluir meu doutorado na USP.

À minha amada mãe, AUXILIADORA, por todas as orações, pelo amor e apoio incondicionais. Por sempre acreditar no meu potencial, até mais do que eu. À minha amada irmã, REBECA, por ser um grande modelo de foco nos estudos, por também trilhar o caminho da pesquisa, me dando mais estímulo para nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a todos os pacientes participantes que contribuíram para este projeto de pesquisa.

Ao Professor Doutor Luis Antônio Ribeiro Torezan, meu orientador querido, dermatologista que sempre admirei e com quem tive a honra de conviver. Serei eternamente grata por essa oportunidade, pela sua confiança e incentivo, por toda a sua paciência, atenção e ensinamentos.

À Doutora Paula Silva Ferreira, agradeço por me introduzir nos ensinamentos da microscopia confocal, além de toda a ajuda nos ambulatórios de confocal avaliando os pacientes deste estudo. Foi fundamental para a realização desse trabalho.

Aos Professores Doutores José Antonio Sanches e Cyro Festa Neto, pela confiança e apoio para a conclusão dessa tese.

À Professora Doutora Neusa Sakai Valente, pela realização de todos os exames de histopatologia dos pacientes do trabalho, pelas inúmeras reuniões e ensinamentos.

À Dra. Rossana Lopez, pela realização da análise estatística deste estudo.

Ao Doutor Beni Moreinas Grinblat, por todo o apoio no ambulatório de Terapia Fotodinâmica, pelo auxílio no dia a dia dos atendimentos, pelos ensinamentos sobre dermatologia e pelo exemplo de como tratar todos os pacientes. Além de professor, se tornou um amigo pessoal.

Aos residentes e pós-graduandos do ambulatório de Terapia Fotodinâmica que participaram dos atendimentos, em especial meus amigos Felipe Mota Soares e Maria Isabel Saraiva Rocha, por toda a parceria e pelo auxílio quando eu estava à distância.

Aos Professores Doutores Ricardo Romiti, Walter Belda Júnior e à Professora Doutora Luciana Samorano, por aceitarem participar da banca de qualificação, pelas correções e pelas ricas sugestões na melhoria desse trabalho.

Aos funcionários Ruth Eugenio Meneses e Marcelo Alves, do Departamento de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por serem sempre pacientes, atenciosos e eficientes para esclarecer dúvidas sobre o Programa de Pós-graduação.

Aos Professores da banca examinadora, pela participação nessa fase de conclusão do doutorado, etapa extremamente importante na minha formação médica e na minha vida.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Siglas	
Lista de Figuras	
Lista de Diagrama e Gráficos	
Lista de Tabelas	
RESUMO	
ABSTRACT	
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	4
2.1 Envelhecimento cutâneo e queratoses actínicas.....	5
2.2 Terapia fotodinâmica.....	10
2.2.1 Terapia fotodinâmica com a luz do dia.....	15
2.3 Microscopia confocal de reflectância.....	21
2.3.1 Microscopia confocal da pele normal.....	24
2.3.2 Microscopia confocal da queratose actínica e do carcinoma espinocelular.....	25
3 OBJETIVOS.....	28
4. MÉTODOS.....	30
4.1 Pacientes.....	31
4.2 Protocolo de tratamento.....	32
4.3 Realização da microscopia confocal de reflectância.....	33
4.4 Exame histopatológico.....	35
4.5 Avaliação clínica.....	35
4.6 Análise estatística.....	35
5 RESULTADOS.....	37
5.1 Avaliação clínica.....	38
5.2 Avaliação histológica.....	43
5.3 Avaliação da microscopia confocal de reflectância.....	45
6 DISCUSSÃO.....	53
7 CONCLUSÕES.....	60
8 ANEXOS.....	62
9 REFERÊNCIAS.....	69
APÊNDICE	

LISTA DE SIGLAS

5-ALA	Ácido 5 delta-aminolevulínico
5-FU	5-fluorouracil
CC	Campo de cancerização
CBC	Carcinoma basocelular
CEC	Carcinoma espinocelular
CCI	Coefficiente de correlação intraclasse
CAPPESQ	Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
EMA	European Medicines Agency
HE	Hematoxilina e eosina
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
MAL	Metilaminolevulinato
MCR	Microscopia confocal de reflectância
MI	Mebutato de ingenol
PBG	Porfobilinogênio
PpIX	Protoporfirina IX
PUVA	Psoralen Ultraviolet A
RNS	Radicais reativos de ácido nítrico
ROS	Radicais reativos de oxigênio
QA	Queratose actínica
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TFD	Terapia fotodinâmica
TFD-LD	Terapia fotodinâmica com a luz do dia
UV	Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Captação do ALA exógeno e biossíntese do Heme.....	10
Figura 2: Mostra o pico de absorção da luz pela PpIX e todo seu espectro.....	13
Figura 3: Diagrama que descreve os princípios ópticos da microscopia confocal de refletância.....	23
Figura 4: Aparelho de microscopia confocal de reflectância VIVASCOPE 3000 utilizado na avaliação dos casos de queratose actínica.....	33
Figura 5: Área de maior alteração na MCR marcada para biópsia.....	34
Figura 6: Área demarcada pelo micropore: toda a área era estudada com a MCR. O ponto marcado era o local biopsiado.....	34
Figura 7: Área demarcada para biópsia.....	34
Figura 8: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	40
Figura 9: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	40
Figura 10: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	41
Figura 11: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	41
Figura 12: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	42
Figura 13: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).....	42
Figura 14: Histopatologia pré-tratamento do paciente da foto clínica acima, com displasia intensa, atipia e elastose moderadas. HE, aumento original 100x.....	44
Figura 15 A: Mesmo paciente acima, histopatologia pós-tratamento com displasia moderada, atipia leve. Áreas com elastose moderada e áreas sem elastose. HE, aumento original 100x.....	44
Figura 15 B: Histopatologia pré-tratamento evidenciando o grau de elastose dos nossos pacientes. HE, aumento original 100x.....	44
Figura 16: Histopatologia pré-tratamento com displasia e elastose intensas, atipia moderada. HE, aumento original 100x.....	45
Figura 17: Mesmo paciente acima, histopatologia pós-tratamento: atipia e displasia leves, elastose intensa. HE, aumento original 100x.....	45
Figuras 18 e 19: MCR mostrando padrão favo de mel atípico pré-tratamento - desarranjo arquitetural com células de tamanhos variados dispostas desorganizadamente.....	47
Figura 20: MCR pós-tratamento - padrão favo de mel típico com células de tamanho e brilho semelhantes.....	47
Figura 21: Figuras lineares amorfas grosseiras brilhantes na MCR, correspondendo a elastose na derme.....	48
Figura 22: Figuras amorfas brilhantes, poligonais, algumas destacadas da camada córnea, correspondendo a descamação na MCR.....	48

LISTA DE DIAGRAMA E GRÁFICOS

Diagrama 1: Protocolo de TFD convencional.....	15
Diagrama 2: Protocolo de TFD-LD.....	20
Diagrama 3: Total de casos avaliados, casos incluídos e casos excluídos do estudo..	36
Gráfico 1: QAs antes e após o tratamento com TFD-LD.....	39
Gráfico 2: Padrão do aspecto de favo de mel com MCR antes e após o tratamento com TFD-LD dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	46
Gráfico 3: Presença de inflamação, fibroplasia e acantólise com MCR antes e após o tratamento com TFD-LD dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	50
Gráfico 4: Displasia e atipia na MCR antes e após o tratamento com TFD-LD dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Concordância entre avaliadores para as características de melhora clínica dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	38
Tabela 2. Comparação das características histopatológicas antes e após o tratamento com TFD-LD nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	43
Tabela 3. Comparação da MCR antes e após o tratamento com TFD-LD nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	49
Tabela 4. Comparação da MCR antes e após o tratamento com TFD-LD nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.....	50
Tabela 5. Atipia, displasia e elastose segundo avaliação pelo Histopatologia e Confocal no pós-tratamento.....	52

RESUMO

Cavalcante RCBM. *Tratamento das queratoses actínicas e do campo de cancerização cutâneo com terapia fotodinâmica com a luz do dia: avaliação clínica, histopatológica e com microscopia confocal* [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2023.

INTRODUÇÃO: As queratoses actínicas são as lesões cutâneas pré-malignas mais comuns da pele, frequentemente presentes em pacientes com campo de cancerização. A terapia fotodinâmica com a luz do dia pode ser usada como uma opção terapêutica no tratamento do campo de cancerização. Até o momento, não existe uma boa correlação da microscopia confocal de reflectância e da histopatologia para monitoramento do campo de cancerização tratado com a terapia fotodinâmica com a luz do dia. **OBJETIVOS:** Avaliar a eficácia clínica e a segurança do tratamento, a regressão na histopatologia das queratoses actínicas e a melhora do campo de cancerização, além de correlacionar os achados histológicos com a microscopia confocal de reflectância realizada antes e após o tratamento. **MÉTODOS:** Pacientes de ambos os sexos, com campo de cancerização e o mínimo de seis lesões de queratoses actínicas na face, foram incluídos no estudo para realizarem o protocolo proposto: avaliação com microscopia confocal de reflectância e biópsia cutânea, seguida de uma sessão de terapia fotodinâmica com a luz do dia e uma nova avaliação com microscopia confocal de reflectância e nova biópsia após três meses da terapia fotodinâmica com a luz do dia. **RESULTADOS:** Vinte e quatro pacientes concluíram o estudo. Não houve relato de dor entre os participantes do estudo. Foi observada melhora no fotodano e houve diminuição do número de queratoses actínicas (redução de 45,3% e $p < 0,001$). Na histopatologia, observou-se regressão da atipia e da displasia após o tratamento: 100% dos casos de atipia intensa mudaram o padrão para leve. Dos casos com atipia moderada, 66,7% passaram a ser leve após o tratamento. Quanto à displasia intensa antes do tratamento, a maioria (83,3%) tornou-se leve e moderada ($p < 0,001$). Na microscopia confocal de reflectância, também foi vista melhora na atipia e na displasia ($p < 0,05$). Não se observaram mudanças após o tratamento para a inflamação, fibroplasia e acantólise. **CONCLUSÕES:** A terapia fotodinâmica com a luz do dia mostrou-se um método seguro e eficaz no tratamento das queratoses actínicas, bem tolerado e sem dor. Nos pacientes com fotodano grave, sugerimos que mais sessões talvez sejam necessárias para atingir um melhor resultado, conforme os dados da literatura. Houve melhora tanto dos achados histológicos como dos achados na microscopia confocal, no entanto, a concordância entre os dois métodos foi fraca. Logo, não podemos inferir que a microscopia confocal de reflectância possa ser um método de substituição do exame histopatológico como avaliação do campo de cancerização após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia.

Palavras-chave: Terapia fotodinâmica com a luz do dia. Queratose actínica. Campo de cancerização. Microscopia confocal.

ABSTRACT

Cavalcante RCBM. *Treatment of actinic keratosis and skin field cancerization with daylight photodynamic therapy: clinical, histopathological and confocal microscopy evaluation* [thesis]. "São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina"; 2023.

INTRODUCTION: Actinic keratosis are the most common pre-malignant cutaneous lesions, often present in patients with field cancerization. Daylight photodynamic therapy can be used as a therapeutic option in the treatment of field cancerization. Until the present moment, there is no study providing correlation between confocal reflectance microscopy and histopathology for monitoring field cancerization treated with daylight photodynamic therapy. **OBJECTIVES:** To evaluate the clinical and histopathological efficacy of daylight photodynamic therapy in the treatment of actinic keratosis and field cancerization and to correlate the histological findings with the confocal reflectance microscopy performed before and after the treatment. **METHODS:** Patients of both sexes, with field cancerization and the minimum of six actinic keratosis on the face, were included in the study to carry out the proposed protocol with confocal reflectance microscopy and biopsy, followed by a session of photodynamic therapy with daylight and a reassessment with confocal reflectance microscopy and new biopsy after three months of treatment. **RESULTS:** Twenty-four patients completed the study. An improvement in photodamage was observed and there was a decrease in the number of actinic keratosis (45.3% reduction and $p < 0.001$). In histopathology, regression of atypia and dysplasia was observed after treatment: 100% of cases with intense atypia changed the pattern to mild. Of the cases with moderate atypia, 66.7% became mild after treatment. As for severe dysplasia before treatment, most (83.3%) became mild and moderate ($p < 0.001$). In confocal reflectance microscopy, improvement was also seen in atypia and dysplasia ($p < 0.05$). No changes were observed after treatment for inflammation, fibroplasia and acantholysis. **CONCLUSIONS:** Daylight photodynamic therapy proved to be a safe and effective method for treating actinic keratosis, well tolerated and painless. In patients with severe photodamage, we suggest that more sessions may be necessary to achieve a better result, according to the data in the literature. There was an improvement in the histological and confocal reflectance microscopy findings, but we cannot infer that confocal reflectance microscopy can replace the histopathological examination as an assessment of field cancerization after treatment with daylight photodynamic therapy.

Keywords: Daylight photodynamic therapy. Actinic keratosis. Field cancerization. Confocal microscopy.

1. INTRODUÇÃO

As queratoses actínicas (QA) apresentam-se geralmente como pápulas ou placas descamativas ou queratóticas, com possibilidade de espessamento progressivo e eventual evolução para carcinoma espinocelular (CEC)^{1,2,3}. São as lesões cutâneas pré-malignas mais comumente encontradas na pele, sendo que alguns autores já preferem classificá-las como CEC *in situ*⁴. Os principais fatores de risco para CEC e que levam ao seu desenvolvimento são: exposição solar crônica, fototipo I a III, imunossupressão, realização prévia de fototerapia com PUVA (“psoralen Ultraviolet A”), exposição ao arsênico e outros processos inflamatórios crônicos da pele⁵. Normalmente, são múltiplas e aparecem em áreas de pele fotoexpostas. Como não é possível saber qual QA persistirá ou qual se tornará um CEC, devemos, se possível, tratar todas as lesões. Geralmente, as QAs coexistem em áreas expostas, com fotoenvelhecimento, e constituem o que chamamos de campo de cancerização⁶. Dessa forma, cada vez mais tem-se dado importância ao tratamento de todo o campo, uma vez que até lesões subclínicas podem sofrer transformação para CEC.

O conceito de campo de cancerização mostra que tanto a pele clinicamente normal, assim como a fotodanificada ao redor das QAs, são áreas com mutações genéticas que poderão constituir a sede de novos tumores primários e de recorrência local, portanto, áreas com um maior potencial para o desenvolvimento de neoplasias cutâneas⁷.

Dentre as muitas opções terapêuticas para QAs e campo de cancerização, temos a terapia fotodinâmica (TFD), que pode ser feita de modo convencional ou com a luz do dia, que para áreas extensas seria uma forma de TFD com resultados muito semelhantes e que causa muito menos dor^{8,9,10}.

A microscopia confocal de reflectância (MCR) é uma modalidade de exame de imagem não invasiva, que fornece imagens microscópicas de alta resolução em cortes horizontais, em alta resolução e contraste, sem realmente dissecar o tecido^{1,11}. Permite a aquisição, em tempo real, de imagens microscópicas com uma resolução próxima à histopatológica e visualização horizontal, em planos paralelos à pele. Esta ferramenta tem se destacado no diagnóstico e acompanhamento dos tumores cutâneos melanoma e não-melanoma. A MCR é um exame indolor, não invasivo, sem nenhum dano tecidual. Por isso, torna-se um exame interessante para avaliar áreas extensas,

como o campo de cancerização. Embora o exame histopatológico ainda seja o padrão ouro para confirmar o diagnóstico de QA e excluir uma possível neoplasia cutânea, os pacientes frequentemente apresentam áreas de pele amplamente afetadas e as biópsias podem não ser práticas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Envelhecimento cutâneo e queratoses actínicas

O envelhecimento é um processo biológico que ocorrerá, invariavelmente, em todos os organismos vivos. Acontece devido à redução progressiva da capacidade de reserva e menor habilidade na realização das funções normais^{1,12}. Os queratinócitos humanos em cultura atingem a senescência replicativa após 50 a 100 divisões, permanecendo em fase G1 do ciclo celular após o período replicativo. O envelhecimento cutâneo sofre influência de fatores genéticos, ambientais, alterações metabólicas e hormonais. Todos estes fatores contribuem para alterações estruturais, funcionais e visuais na pele¹². É um fato definido que a exposição crônica à radiação ultravioleta (UV) é a principal causa do envelhecimento cutâneo^{8,12}. Devemos lembrar, porém, que danos cumulativos ao material genético e às suas proteínas podem induzir o envelhecimento prematuro e a morte celular que, por sua vez, podem ser dependentes de mecanismos de reparação¹⁰.

O envelhecimento cronológico ou intrínseco é definido pelas mudanças clínicas, histológicas e fisiológicas que ocorrem na pele fotoprotégida. As principais alterações são observadas na taxa de replicação celular da epiderme, depuração de substâncias químicas pela derme, espessura e celularidade dérmicas, termo regulação, reparo tecidual pós injúria, proteção mecânica, resposta imunológica, percepção sensorial, produção de sebo e suor, síntese de vitamina D e reatividade vascular^{1,2,13}. Ao exame clínico, a pele passa a apresentar atrofia e perda da elasticidade. Embora a camada córnea quase não sofra alterações, a epiderme torna-se mais fina e ocorre retificação e achatamento da junção dermoepidérmica, tornando-a mais frágil. Ocorre redução da capacidade metabólica dos fibroblastos, tornando mais lento e deficiente o processo de reparação tecidual. Também há diminuição de resposta aos fatores de crescimento de queratinócitos e de fibroblastos, levando à menor capacidade proliferativa. A síntese de vitamina D3 também é afetada, pois há menor formação de 7-deidrocolesterol na epiderme atrofica¹².

O fotoenvelhecimento, ou envelhecimento extrínseco, é causado pela junção dos danos causados pela radiação UV com as alterações intrínsecas previamente descritas, levando a um envelhecimento precoce. A exposição crônica e prolongada à radiação UV induz à formação dos radicais reativos de

oxigênio (ROS), de ácido nítrico (RNS) e radicais livres alterando as estruturas dos genes e de suas proteínas^{1,12}.

Clinicamente, percebe-se aspereza na pele, flacidez, empalidecimento e formação de rugas cutâneas. Com a exposição solar mantida, surgem telangiectasias, lentigos solares e hiperpigmentação difusa. Os poros tornam-se mais dilatados e evidentes, há surgimento de neoplasias benignas como queratoses seborreicas e acrocórdons, assim como lesões pré-malignas e malignas como QAs, CEC, carcinomas basocelulares (CBCs) e melanoma. Na histopatologia, a epiderme se espessa no início e sofre atrofia na fase mais tardia. Ocorre também a perda da polaridade dos queratinócitos, graus variáveis de atipia celular, degeneração do colágeno e depósito de material elastótico na derme, deixando a pele com excesso de rugas, sulcos e descoloração. Da mesma forma, ocorre alteração de vasos sanguíneos periféricos, que apresentam-se dilatados e tortuosos^{8,12}.

Olsen et al.¹⁴, em 1991, propuseram uma classificação clínica para a gradação de QAs baseada na espessura de cada lesão. Grau 1 descreve uma QA levemente palpável; no Grau 2, a QA é moderadamente espessa e o Grau 3 já caracteriza uma lesão bastante espessa, hiperqueratótica. O diagnóstico clínico entre a QA Grau 3 e o CEC invasivo inicial, no entanto, é sujeito a interpretação clínica variável e é um grande desafio na dermatologia^{14,15}.

As QAs, que são as lesões cutâneas pré-malignas mais comuns da pele, muitas vezes já são classificadas como CEC *in situ*⁴. Apesar da possibilidade de apresentarem involução espontânea, o risco de progressão para CEC varia de 0,025% a 20% por ano^{5,12,13,16,17,18}. No período de um ano, cerca de 20% a 25% das lesões regridem. Porém, no mesmo curso de um ano, aproximadamente 15% das lesões que sofreram regressão, reapareceram¹⁸. É difícil e incerto estimar se a regressão é permanente ou apenas temporária. Já Ackerman e Mones¹⁹, em 2006, classificam as QAs como um CEC superficial e afirmam que não ocorre involução destas lesões. Estima-se que 60% dos indivíduos caucasianos poderão apresentar pelo menos uma lesão de QA após os 40 anos de idade^{5,16,18}. As QAs normalmente estão presentes nas áreas fotoexpostas e são múltiplas, resultando em áreas de cancerização. Como não é possível diferenciar qual lesão sofrerá involução ou qual se transformará em

CEC, sugere-se o tratamento de todas as lesões e tem-se destacado a importância do tratamento de todo o campo.

Há inúmeras opções para o tratamento das QAs, seja por métodos destrutivos (crioterapia, dermoabrasão, cirurgia, lasers), por medicamentos de uso tópico (diclofenaco de sódio, imiquimode, 5-fluorouracil ou mebutato de ingenol), através de ácido tricloroacético ou por TFD^{8,9,10}.

Os tratamentos podem ser direcionados para lesões ou para toda a área de campo de cancerização. Lesões únicas, bem definidas ou hiperqueratóticas, podem ser tratadas com crioterapia, radiofrequência ou curetagem. Para pacientes com múltiplas e disseminadas lesões, é possível tratamento tópico com 5-fluorouracil, *criopeeling*, dermoabrasão, *peelings* químicos de média profundidade (ácido glicólico 70% ou associação de solução de Jessner + ácido tricloroacético 35%), mebutato de ingenol ou TFD, que será abordada mais adiante^{8,13}.

É relativamente comum encontrarmos lesões de QA junto com outras lesões, no contexto de um campo de cancerização.

O termo campo de cancerização foi abordado inicialmente por Slaughter em 1953, em estudo de neoplasias multicêntricas de mucosa oral^{20,21}. As seguintes observações foram feitas neste trabalho: a neoplasia oral origina-se em áreas multifocais com alterações pré-cancerosas; o tecido que circunda a área do tumor primário apresenta-se histologicamente alterado; as neoplasias, embora multifocais, podem coalescer e a persistência de tecido vizinho anormal após cirurgia pode explicar a recorrência tumoral ou o surgimento de novo tumor em área previamente tratada. Outros órgãos podem apresentar campos de cancerização além da mucosa oral: pulmão, esôfago, vulva, cérvix uterino, cólon, mama, bexiga e pele. As alterações genéticas acumuladas nesses campos formam a base para esse processo de carcinogênese²⁰. Postula-se que um grande campo com alterações genéticas reside no epitélio onde várias lesões geneticamente parecidas se desenvolvem^{1,22}. Logo, uma grande proporção de múltiplos tumores primários, na mesma área anatômica, podem se desenvolver dentro de um único campo pré-neoplásico.

Análises moleculares do tecido clinicamente “normal” contíguo ao tumor, assim como das margens cirúrgicas após sua retirada, têm sido feitas com o objetivo de estudar o campo de cancerização²³. Os marcadores mais usados

para análise desses tumores e suas mutações são a perda da heterozigotidade (do inglês LOH), a instabilidade cromossômica, a mutação do gene TP-53 detectada pela amplificação do DNA, a imunohistoquímica e a hibridização *in situ*^{7,10,12}. Estudo de Brennan et al.¹¹ mostrou, através de detecção de TP-53 mutante pela técnica de PCR em tempo real, que clones de células de CEC de cabeça e pescoço podiam ser detectados nas margens cirúrgicas consideradas livres de tumor ao exame histopatológico em mais da metade da série analisada. Nesse estudo, quando havia mutação nas áreas peritumorais, a recorrência do tumor era maior e estatisticamente significativa¹¹. Porém, nas áreas adjacentes que eram negativas para mutação do gene TP-53, não foram observadas recorrências¹¹. Os marcadores de alterações genéticas mais empregados na análise molecular suportam uma provável alteração monoclonal dessas células alteradas no campo de cancerização. Sendo assim, uma lesão de campo é uma lesão pré-neoplásica por definição, sem apresentar invasão tecidual ou capacidade metastática, podendo ou não apresentar características histológicas de displasia^{1,24}. Ainda estuda-se a etiopatogenia do campo de cancerização para uma maior compreensão especialmente sobre a ocorrência de um segundo tumor primário na área onde o antigo tumor foi excisado. Alguns estudos mostraram haver origem clonal comum das células neoplásicas e pré-neoplásicas na cavidade oral, esôfago e bexiga, mesmo que as lesões tivessem distância de 7 cm^{22,25}. Mesmo estando a uma distância considerável entre as lesões, esses tumores aparentemente tinham origem de um mesmo clone mutante.

Na pele, o campo apresenta alterações clínicas e subclínicas que podem ser diagnosticadas através da semiologia, com a presença de QAs e outras alterações como lentigos solares, distúrbios de pigmentação, alterações de textura e rugas, xerose e elastose solar. Portanto, a definição de campo de cancerização cutâneo é: “uma área de pele fotoexposta, cronicamente danificada e com múltiplas lesões de QAs, além dos outros danos causados pela radiação UV”^{5,16,20,26}. Ou seja, as lesões pré-malignas estão aparentes em áreas danificadas pela ação da radiação UV e originam-se de focos disseminados em área fotoexposta. Segundo os mais recentes *guidelines*, o campo de cancerização seria assim definido quando há mais de 6 QAs no campo associado ao fotodano²⁷.

Por ser a pele uma área que pode ter muitas lesões pré-clínicas presentes, nos últimos anos, tem aumentado o interesse para o desenvolvimento de exames de diagnóstico não invasivos, tendo em vista que as técnicas de biologia molecular não são facilmente acessíveis na rotina hospitalar para realizar diagnóstico precoce do campo. Hoje em dia, há uma nova ferramenta diagnóstica para estudar o campo de cancerização e essas lesões ainda não visíveis clinicamente: a MCR, exame que tem se destacado no diagnóstico dos tumores cutâneos melanoma e não-melanoma, e que detalharemos um pouco mais adiante.

Além da dificuldade diagnóstica, esbarramos também na problemática do tratamento, tendo em vista que são, geralmente, regiões extensas acometidas no campo de cancerização. Torna-se fundamental uma modalidade terapêutica que consiga abranger essas múltiplas e disseminadas lesões de forma eficaz.

Dentre as opções existentes atualmente, temos como terapia de uso tópico: 5-fluorouracil (5-FU) a 5%, TFD, imiquimode, mebutato de ingenol (MI), crioterapia, gel de diclofenaco²⁸.

A ação do 5-FU ocorre via receptores Toll-like, que ativam diversas vias do sistema imune, com efeitos antitumorais e antivirais, assim como pela inativação da timidilato sintetase, o que interfere na síntese do DNA, levando à apoptose de células de alta proliferação (como QAs). Deve ser aplicado na pele 2 vezes ao dia por duas semanas, levando a uma reação inflamatória local intensa, sensação de ardência, surgimento de crostas e vesículas, eritema, erosão, dor, fotossensibilidade, prurido e ulceração²⁹.

O Imiquimode é um imunomodulador derivado da família da imidazoquinolina que, além de ativar as vias pró-apoptóticas, tem atividade antitumoral e antiviral, agindo através do receptor tool-like. Sua aplicação é feita três vezes por semana, por quatro semanas. Ocorre uma reação inflamatória local, geralmente com eritema importante e formação de crostículas no local e, em alguns casos, ulcerações. Os pacientes, geralmente, acham os efeitos colaterais incômodos³⁰.

O MI foi aprovado em 2012 pelo FDA (Food and Drug Administration) e também pelo EMA (European Medicines Agency) para tratamento de QAs não hipertróficas. É um éster diterpênico, extraído e purificado a partir da seiva de

*Euphorbia peplus*³¹. Trata-se de um gel que causa apoptose mais imediata (nas primeiras horas após ser aplicado) e também uma resposta inflamatória mais tardia (após alguns dias da sua aplicação), através de edema mitocondrial e ruptura de membrana plasmática, além de ativação da proteína quinase C, que leva à citotoxicidade. Para rosto e couro cabeludo, deve ser usado na concentração de 0,015% e aplicado uma vez ao dia, por três dias seguidos. Também disponível na concentração de 0,05%, para uso em tronco e extremidades, devendo ser usado por apenas dois dias consecutivos³². Causa reação inflamatória local que pode ser moderada, com eritema e formação de crostículas na área tratada, mas normalmente por tempo limitado. O ciclo curto de tratamento era bem aceito pelos pacientes³². No entanto, em 2020, a EMA suspendeu o uso desse medicamento, devido ao aumento do risco de surgimento de neoplasias cutâneas nos pacientes que faziam uso do mesmo³³, e o MI foi descontinuado.

2.2 Terapia fotodinâmica

Na abordagem terapêutica do campo de cancerização, destaca-se a TFD, que é uma modalidade de tratamento já bem estabelecida, cujo mecanismo de ação é baseado na combinação de oxigênio das células com o agente fotossensibilizante e a luz, gerando o oxigênio singlet ($^1\text{O}_2$), que é reativo e leva a uma citotoxicidade por oxidação lipídica das membranas celulares, causando apoptose^{3,4,17}.

Braathen et al.³⁴, em 2007, classificaram a TFD como terapia de primeira linha para QAs, CBCs superficiais e Doença de Bowen. Diversas diretrizes estabelecendo sua eficácia e segurança como tratamento de primeira linha para múltiplas QAs, CBCs superficiais e finos e Doença de Bowen foram publicadas posteriormente^{35,36,37}.

A TFD, em geral, ocorre em duas fases. Inicialmente, o agente fotossensibilizante, que foi administrado por via tópica ou sistêmica, acumula-se nas células tumorais. Em seguida, o tumor fotossensibilizado é exposto à luz de comprimento de onda que coincida com o espectro de absorção do agente fotossensibilizante^{22,38}. Durante a TFD, o agente fotossensibilizante ligado ao tumor é ativado na presença de luz. Essa ativação leva-o do estado de repouso

ao estado de ativação chamado *singlet*, de meia vida curta. Nessa etapa, as moléculas podem retornar ao estado de repouso, emitindo energia em forma de fluorescência por meio da liberação de fótons ou progredir na cadeia de reações químicas, até atingir o estado *triplet* de meia vida mais longa. As moléculas no estado *triplet* transferem sua energia diretamente ao oxigênio intracelular, formando o oxigênio *singlet* ($^1\text{O}_2$), altamente reativo, de meia vida curta e responsável pela morte celular. Em consequência da ação do $^1\text{O}_2$, a célula tumoral passa a apresentar falhas na integridade da membrana, o que acarreta alterações na permeabilidade e função de transporte entre os meios intra e extracelulares. Alterações nas membranas do núcleo, mitocôndria, lisossomos e retículo endoplasmático também ocorrem. Estudos utilizando microscopia de fluorescência sugerem que a fototoxicidade mitocondrial é a principal causa da morte celular induzida pela TFD^{34,39}. Apesar da exata localização do efeito citotóxico, a consequência é a perda da integridade celular, havendo a liberação de fatores inflamatórios e ativação da cascata do complemento^{22,38}.

Os agentes fotossensibilizantes utilizados são o ácido 5 delta-aminolevulínico (5-ALA) ou o Metilaminolevulinato (MAL). Ambos são drogas precursoras da biossíntese do grupo Heme.

Classicamente, o 5-ALA é formulado a 20%, mais comumente em loção hidroalcolica (disponível comercialmente em forma de bastão, sendo o pó do ALA separado da solução, para uso tópico - Levulan Kerastick®, DUSA), porém agora também é feito em gel a 10%, também conhecido como nanoemulsão BF-200 ALA (Ameluz®, Biofrontera), que é composto por nanopartículas (<50 nm diâmetro), que levaria a uma penetração tecidual maior.

Já o MAL é encontrado em veículo creme, com óleo de archis, glicerila e água na concentração de 16%, disponível comercialmente em forma de tubo contendo 2 g, pronto para uso tópico, com o nome comercial de METVIX® (Galderma).

O MAL é uma molécula lipofílica que é captada por mecanismos de transporte ativos principalmente dependentes de aminoácidos não-polares como alanina, metionina, triptofano e glicina. Porém, o MAL também é captado por mecanismos passivos de difusão transmembrana. Esse mecanismo não requer energia e não é saturável, sendo eficaz em células normais, porém,

mais ainda em células neoplásicas. Essa pluralidade de fatores talvez explique a maior penetração do MAL em relação ao ALA, sobretudo em células malignas^{24,38,40,41,42}. Quando o MAL é aplicado topicamente, a molécula é rapidamente demetilada a ALA. O ALA é o primeiro intermediário na via de biossíntese do grupo Heme, sendo sintetizado a partir da glicina e succinil – Coa, no interior da mitocôndria. Essa reação é catalisada pela enzima ALA sintetase. Já no citoplasma da célula, duas moléculas de ALA formam o porfobilinogênio (PBG) e quatro moléculas de PBG formam o uroporfirinogênio III. Este último é convertido em coproporfirinogênio III e, novamente no interior da mitocôndria, em protoporfirinogênio IX, que é convertido em protoporfirina IX (PpIX), pela ação da protoporfirinogênio oxidase (Figura 1). A PpIX é o intermediário porfirínico com atividade fotodinâmica e, quando ativado por luz azul, emite fluorescência vermelha intensa⁴⁰.

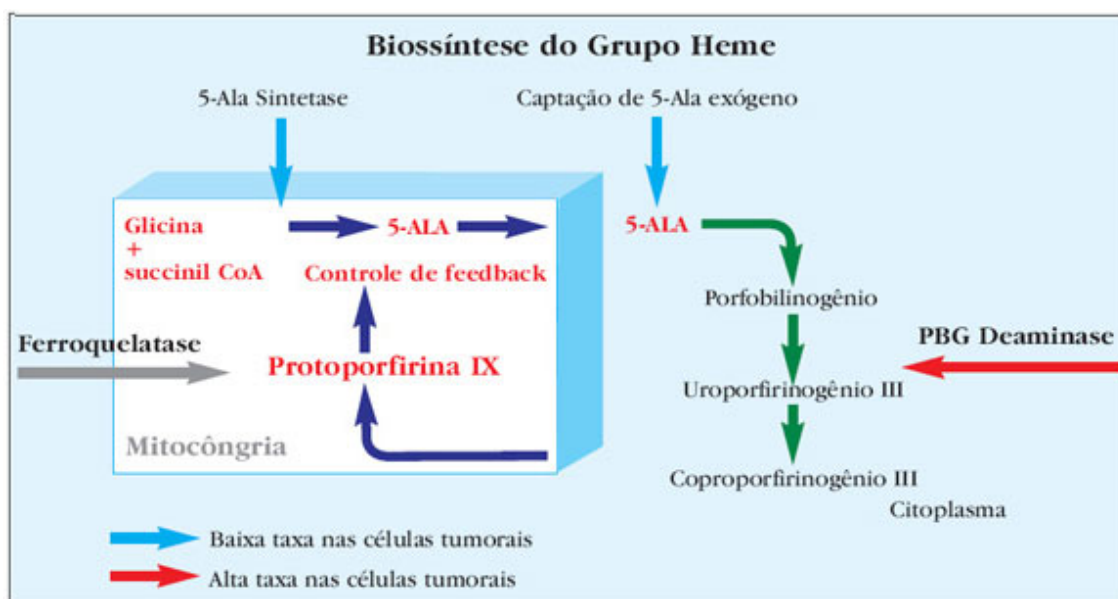


FIGURA 1: Captação do ALA exógeno e biossíntese do Heme

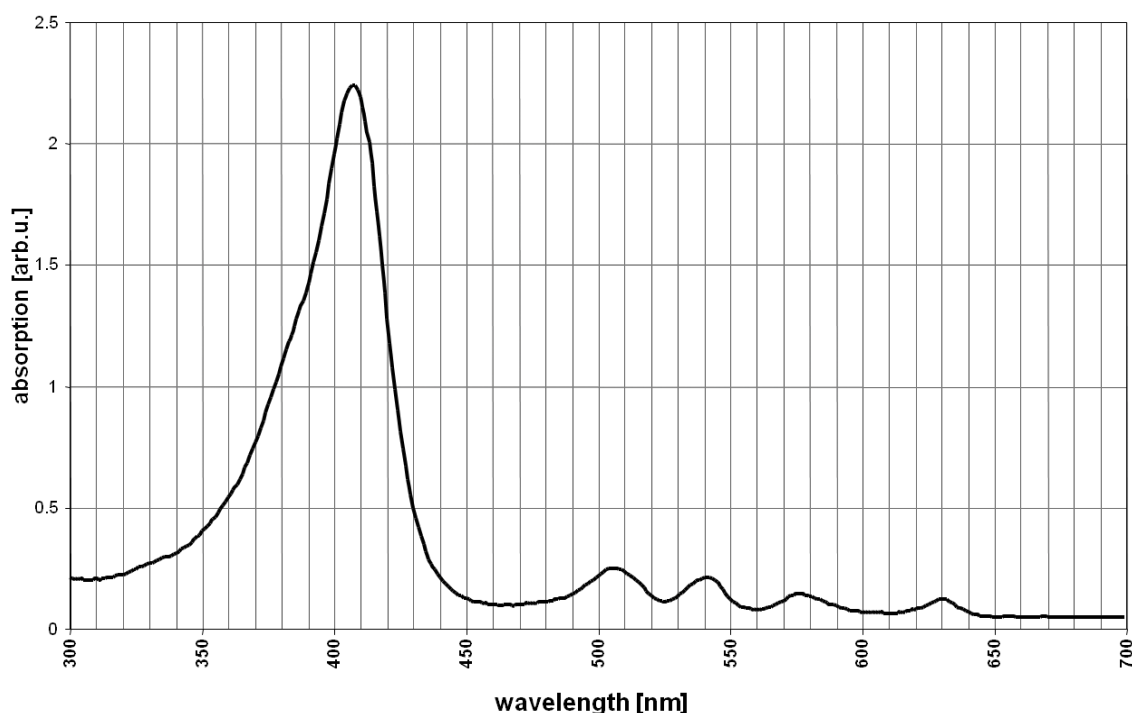
FONTE: Adaptado de ³⁸Torezan L, Niwa AB, Festa Neto C. Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. *Anais Bras Dermatol.* 2009;84(5):445-59. doi.org/10.1590/S0365-05962009000500002

Figura 1. Captação do ALA exógeno e biossíntese do Heme.

A PpIX possui vários picos de absorção da luz. O principal é na banda de Soret em 405 nm, correspondente à luz azul. Outros picos menores também têm importância e são chamados de bandas Q. São picos que ocorrem em 510, 545, 580, 630, 670 e 700 nm (Figura 2). Embora os picos das bandas Q sejam 10 a 40 vezes menores que o pico em 405 nm, muitos estudos em TFD

são conduzidos usando fonte de luz no espectro da luz vermelha entre 620 e 635 nm, pois nesta banda há maior penetração no tecido, otimizando a TFD para lesões mais profundas. Porém, fontes de luz azul e verde também são empregadas em TFD para lesões mais superficiais e com resultados semelhantes.

Durante a TFD, a seletividade do tratamento depende da área exposta à luz e do acúmulo preferencial do agente fotossensibilizante nas células tumorais em relação ao tecido normal. Embora esse acúmulo preferencial seja pouco compreendido, alguns fatores são apontados como responsáveis. Na pele, o principal fator que implica no acúmulo preferencial do MAL na célula neoplásica é a quebra da barreira epidérmica, ou seja, alteração do estrato córneo no campo e nas QAs. Outros fatores também colaboram: presença de fibras colágenas imaturas, rede linfática pouco desenvolvida, ligação das porfirinas a receptores de superfície de lipoproteínas de baixa densidade das células tumorais, presença de macrófagos e menor pH intracelular⁷.



FONTE: Adaptado de ⁴³Torezan LAR. *Estudo da pele do campo cancerizável antes e após a terapia fotodinâmica através dos métodos clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos* [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011. doi:10.11606/T.5.2011.tde-23022012-161422.

Figura 2 – Gráfico mostrando o pico de absorção da luz pela PpIX e todo seu espectro.

A fonte de luz padronizada é um LED de 635 nm na dose total de 37 J/cm²³⁴.

O tempo de exposição e oclusão do agente fotossensibilizante na lesão varia entre 60 minutos a 20 horas^{4,44,45,46,47,48}. Inicialmente, tempos mais extensos eram preconizados. Para o uso do MAL, o tempo de aplicação inicialmente utilizado era de três horas sob oclusão⁷. Estudo recente sobre o uso do MAL evidencia que períodos menores de oclusão, como até mesmo 1 hora, também levam a resultados semelhantes e satisfatórios⁴⁹.

Para o tratamento das QAs com MAL, preconiza-se apenas uma sessão com leve curetagem prévia (com o intuito de remover as camadas mais superficiais de queratina) e oclusão por 2 horas (Diagrama 1). Em seguida, é feita exposição ao LED vermelho, na dose total de 37 J/cm². Se necessário, em casos de resposta parcial, é realizada nova sessão após 3 meses. A taxa de resposta ao tratamento das QAs, varia nos estudos entre 69% a 92% após 1 sessão e aos 3 meses de reavaliação^{12,43}.

Para o tratamento dos CBCs e CEC *in situ* com MAL, preconizam-se 2 sessões com intervalo de 7 dias, ambas com o mesmo preparo com curetagem e oclusão.

Como ponto negativo, destacamos o desconforto durante a aplicação da luz, que ocorre principalmente em áreas mais extensas e com maior número de lesões.

Fato de relevância sobre a TFD, ao ser comparada com outras modalidades terapêuticas, é o aspecto cosmético final, com ampla vantagem para este tratamento frente ao incômodo pós-operatório e distúrbios de cicatrização mais frequentes com outras terapias, como a criocirurgia⁵⁰.

DIAGRAMA ILUSTRATIVO DA TFD

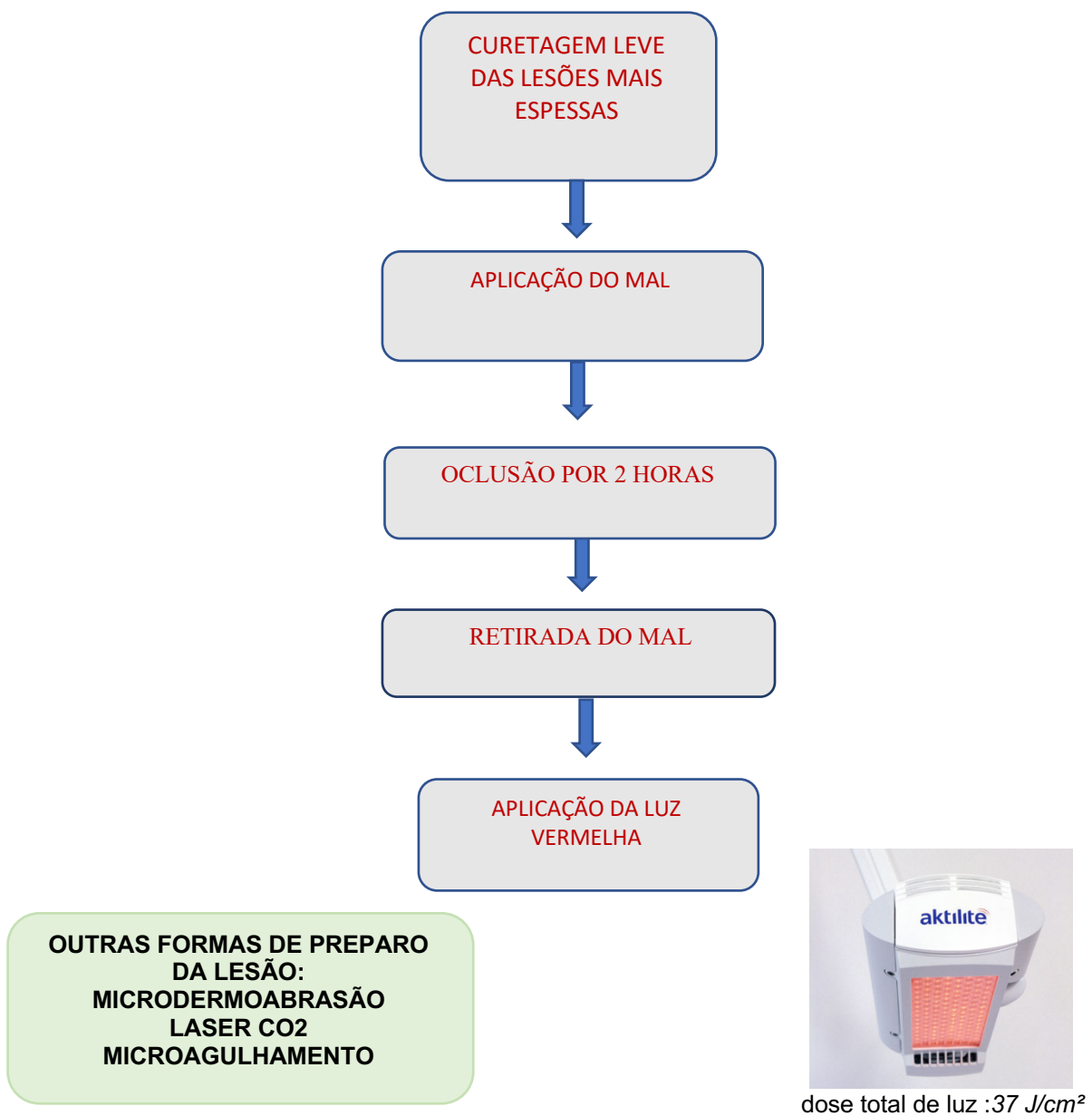


Diagrama 1: Protocolo de TFD convencional.

2.2.1 Terapia fotodinâmica com a luz do dia

Com o intuito de causar menos dor e procurando uma eficácia semelhante à TFD convencional (TFD), surgiu em 2008 a Terapia Fotodinâmica com luz do dia (TFD-LD), modalidade terapêutica mais simples e de menor custo, pois não há necessidade do uso de aparelhos de fonte de luz

LED, sendo a fonte de luz na TFD-LD o espectro de luz visível da radiação solar. Apresenta-se então, como um tratamento que pode ser usado em locais com grande número de lesões ou para tratar grandes áreas, com maior tolerância pelo paciente. É uma alternativa eficaz e segura para o tratamento do campo de cancerização⁴.

A luz do dia é a combinação de luz solar direta e difusa ao ar livre durante o dia. O espectro da radiação eletromagnética atingindo a atmosfera da Terra inclui a luz ultravioleta, que abrange o espectro de 100 a 380 nm, a luz visível, de 380 a 780 nm, e a luz infravermelha, acima de 780 nm.

Wiegell et al.⁴, em 2008, publicaram o primeiro estudo sobre TFD-LD e, desde então, essa modalidade terapêutica vem sendo muito utilizada⁴. Neste estudo, foi feita a comparação de duas áreas escolhidas aleatoriamente. A mesma quantidade de MAL (1 g) foi aplicada em cada área de tratamento e coberta com curativo impermeável à luz. Os pacientes então passaram meia hora em ambiente fechado. O curativo cobrindo a área de tratamento randomizada para receber luz do dia foi então removido e os pacientes passaram as próximas duas horas e meia no jardim do hospital. Depois, retornaram ao hospital e o creme restante de ambas as áreas de tratamento foi removido. A área randomizada para receber luz LED vermelha foi tratada com uma dose total de luz de 37 J/cm² após cobrir a outra área de tratamento com material impermeável à luz.

Neste estudo, a redução nas lesões de QA após 3 meses foi de 71% nas áreas tratadas com LED (TFD) em comparação com 79% nas áreas tratadas com luz do dia (TFD-LD). Observaram-se resultados similares à forma convencional sem o desconforto da mesma. No acompanhamento de 3 meses, os pacientes foram questionados sobre qual dos dois tratamentos que preferiram. Dezoito pacientes (62%) preferiram a TFD-LD e apenas quatro pacientes (14%) preferiram a TFD. Os seis pacientes restantes (21%) não preferiram um tratamento específico ou não preferiu nenhum dos tratamentos⁴.

Em 2011, Wiegell et al.¹⁷ também comparou a exposição à luz do dia de 120 pacientes por 1,5 horas e 2,5 horas e comprovaram que a exposição por 2 horas ao ar livre seria suficiente para altas taxas de resposta ao tratamento, com resultados uniformes.

No estudo de Wiegell et al.⁴ de 2008, foi mostrada taxa de cura de 79% e em estudo multicêntrico de Wiegell et al.¹⁷ em 2011, 77% de cura⁴⁵.

Rubel et al.⁵¹, em 2014, publicaram importante estudo randomizado mostrando taxas de resposta muito próximas do tratamento convencional comparado ao tratamento com luz do dia: 93% de resposta com a TFD convencional e 89% com TFD-LD e evidenciou, após 6 meses, 96% de resposta mantida do tratamento de QAs com TFD-LD.

Lacour et al.⁵², em 2015, realizaram estudo multicêntrico, randomizado e controlado, conduzido em diferentes latitudes na Europa. Foi feita a comparação do tratamento de QAs com TFD e TFD-LD e a terapia com a luz do dia tão eficaz quanto a TFD (taxas de resposta de 74% na TFD convencional versus 70% com a TFD-LD), melhor tolerada e quase indolor com alta satisfação do paciente e pôde ser considerada um tratamento de escolha para atender às necessidades de pacientes com QAs leves ou moderadas em rosto e couro cabeludo.

O desconforto é menor, pois na TFD-LD existe produção e consumo constantes de PpIX, levando a um menor acúmulo dessa substância. A quantidade acumulada e prontamente consumida é suficiente para tratar as lesões e gera menos desconforto para o paciente. Logo, possui melhor tolerabilidade, menor tempo de duração do tratamento e menor custo. See et al.⁵³, em 2016, mostraram que estudos randomizados controlados do Norte da Europa e Austrália, sustentam o uso de TFD-LD em QAs graus I e II de face e couro cabeludo. Demonstraram ainda que a eficácia da TFD-LD independe da irradiância de luz e que, na Austrália, essa terapia pode ser realizada durante todo o ano⁵³. Em 2014 foi publicado o primeiro estudo de TFD-LD para QAs realizado no Brasil, em São Paulo⁴⁵. Neste estudo realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HC-FMUSP), a taxa de cura das QAs no campo de cancerização foi de 86%. Quanto à dor, os pacientes consideraram um tratamento indolor. Foi feita uma avaliação do desconforto sentido no procedimento através de uma escala visual e a média de dor foi de 2 em uma escala de 0 a 10⁴⁵.

Em 2012, foi publicado o Consenso Internacional sobre a TFD-LD no tratamento das QAs⁵⁴ e em 2016, Grinblat et al.⁵⁵ publicaram o consenso

latino-americano, fornecendo consensos baseados em evidências para o tratamento do dano actínico associado a poucas ou múltiplas QAs em diferentes regiões da América Latina⁵⁵. De acordo com este consenso, a exposição à luz do dia pode ser realizada a qualquer momento, durante a manhã ou a tarde. Também evidenciou que não há necessidade de monitoramento de dose de luz ou uma energia mínima, pois estudos mostraram que não houve relação entre eficácia do tratamento e irradiância ou clima, mesmo havendo grandes variações na irradiância. O importante é o tempo de exposição em dias claros, devendo-se evitar dias muito nublados^{17,45,51}.

Segundo o consenso, o preparo da pele pode ser feito com curetagem superficial, microdermoabrasão, microagulhamento ou ainda com lasers com parâmetros leves. Demonstrou-se também não existir interação do MAL com filtro solar não-físico⁵⁵. Ainda em 2016, Grinblat et al.⁵⁶ realizaram estudo meteorológico nas Américas Central e do Sul, evidenciando que em toda essa região, incluindo o Brasil, a TFD-LD pode ser realizada o ano todo.

Em 2017, Calvazara-Pinton et al.²⁶, publicaram um consenso de experts sobre diagnóstico, classificação e manejo de QAs. Neste estudo, posicionaram a TFD-LD como uma opção válida para pacientes com múltiplas QAs em grandes ou pequenos campos de cancerização.

Portanto, hoje em dia a técnica de TFD-LD é indicada para o tratamento de QAs graus I e II e campo de cancerização. As áreas já estudadas e que apresentam eficácia do tratamento são face e couro cabeludo. Deve ser preferencialmente realizada em dias ensolarados ou pouco nublados, devendo ser evitada apenas em caso de chuva, tendo em vista que o paciente deveria ficar ao ar livre. A técnica consiste em curetagem leve das lesões previamente à exposição à luz do dia. Em seguida, tanto a região a ser tratada quanto as outras áreas expostas do corpo do paciente, recebem filtro solar não-físico, que impede a ação dos raios UV sem impedir a ação da luz visível (filtros solares contendo óxido de zinco, dióxido de titânio ou óxido de ferro não podem ser usados). O ideal é a aplicação do protetor solar no consultório médico, para garantir que não seja um produto físico e para uma aplicação adequada (em todas as áreas que ficarão expostas ao sol nas 2 horas ao ar livre, como pescoço, colo, orelhas, membros superiores). Após um período de quinze

minutos, o MAL é aplicado em toda a região a ser tratada, com uma camada mais espessa sobre as lesões clínicas e o paciente deve, em até trinta minutos, ir a um ambiente aberto, onde permanecerá exposto à luz do dia por duas horas ininterruptas, para poder levar à produção e ativação adequadas da PpIX (Diagrama 2). Se houver desconforto devido ao calor, o paciente pode ficar alguns períodos na sombra, mas sempre em ambientes abertos. Após as duas horas, ele deverá voltar ao ambulatório para a lavagem da área e a remoção do medicamento e nova aplicação de filtro solar. Nesse dia, deve manter o uso de protetor solar e evitar se expor novamente ao sol por 48 horas. Nos dias subsequentes ao procedimento, a orientação é higienizar com sabonete suave e hidratar a pele, reduzindo o tempo de recuperação. O esperado nos dias subsequentes à TFD-LD é a formação de eritema e crostas no local tratado, de forma leve^{3,4,45,51,54}.

DIAGRAMA ILUSTRATIVO DA TFD-LD

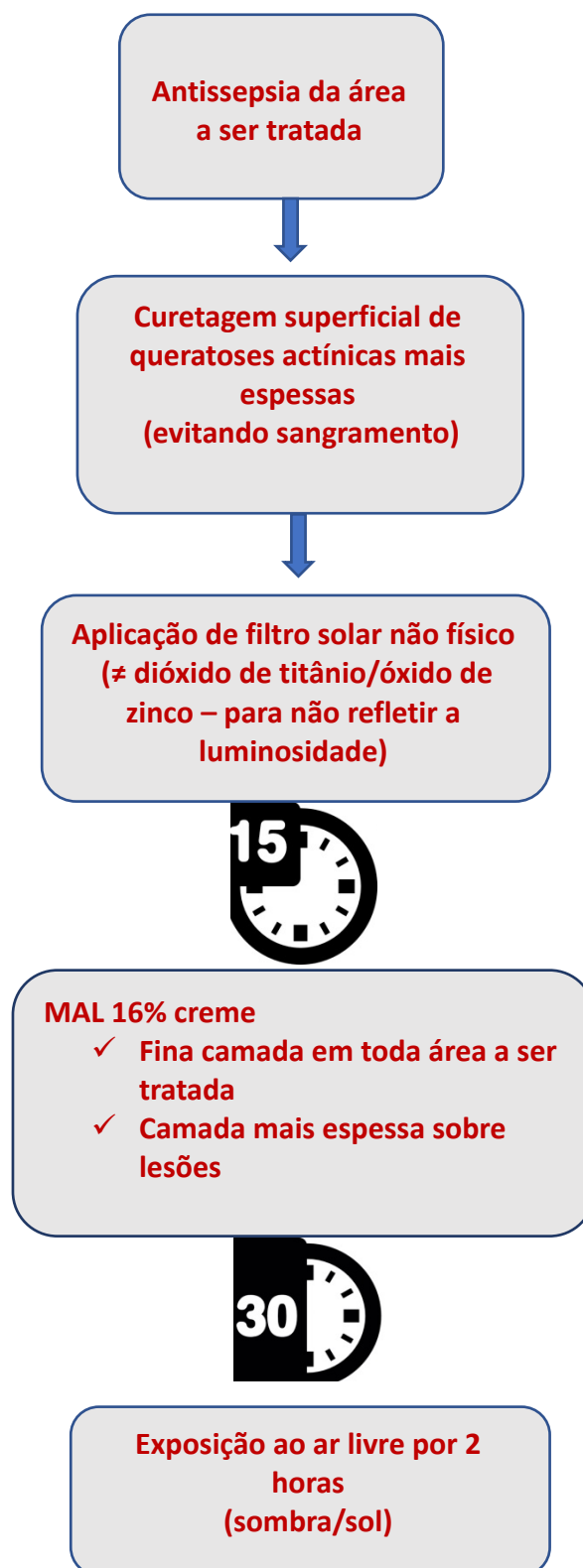


Diagrama 2: Protocolo de TFD-LD.

2.3 Microscopia confocal de reflectância

A microscopia confocal de reflectância (MCR), uma modalidade relativamente recente de exame de imagem, é uma técnica não invasiva que permite um estudo de alta resolução e contraste do tecido^{1,11}. Permite a aquisição, em tempo real, de imagens microscópicas e a visualização da morfologia nuclear e celular *in vivo*, com uma resolução próxima à histopatológica. Esta ferramenta tem se destacado no diagnóstico dos tumores cutâneos melanoma e não-melanoma. As imagens obtidas por este método são em planos paralelos à pele, horizontalmente, semelhante à dermatoscopia e diferente dos cortes histológicos convencionais.

As diferenças entre a MCR e a histologia convencional são que na MCR o exame é indolor, não invasivo, sem dano algum tecidual e as imagens são em preto e branco e não em tons de rosa e roxo, como ficam na histologia após coloração com hematoxilina-eosina. Não há alteração na pele por processos como fixação ou coloração, minimizando os artefatos ou ruptura da estrutura original do tecido. Os dados desse exame são obtidos em tempo real, mais rapidamente se comparados à rotina histopatológica, e a mesma área da pele pode ser repetidamente examinada ao longo do tempo para avaliar as mudanças dinâmicas como o crescimento dos tecidos, a cicatrização das feridas, a progressão de lesões e a resposta terapêutica. Entretanto, a histopatologia oferece maior detalhe em relação às imagens da MCR pelo uso dos corantes e pelo fato de não haver tecido sobreposto que possa distorcer a imagem⁵⁷.

Atualmente, os microscópios confocais também representam uma oportunidade de exame da pele sem a necessidade de utilização dos marcadores fluorescentes ou corantes teciduais. O contraste das imagens confocais ocorre devido às variações naturais do índice de refração das organelas e microestruturas nas diferentes camadas da pele. A queratina epidérmica, por exemplo, apresenta diferentes índices de refração dependendo do estado de diferenciação do queratinócito. Conforme a sua maturação na epiderme, o peso molecular da queratina dentro desta aumenta, tornando-o mais refringente, assim aumentando seu índice de refração e resultando em uma imagem confocal mais brilhante com queratinócitos bem definidos.

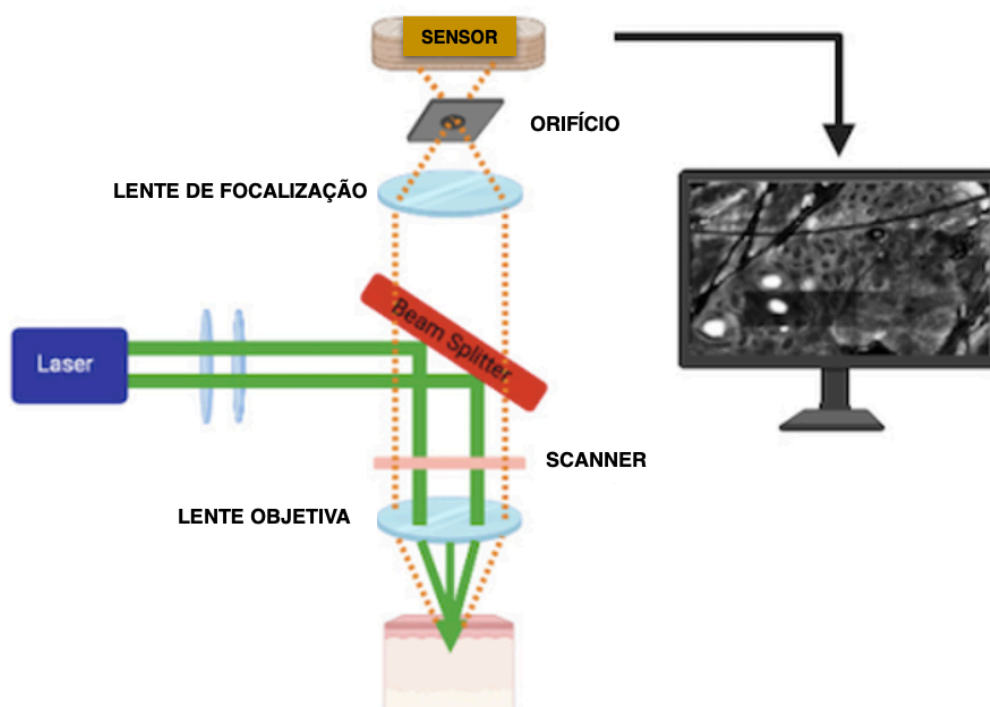
A pigmentação melânica na epiderme também tem um índice de refração alto, maior que o dos queratinócitos. Clínica e dermatoscopicamente, a melanina é vista com diferentes colorações, como preta, marrom, cinza e azul, devido à absorção da luz visível. Por sua vez, quando iluminada pela luz infravermelha, a absorção é bem menor. Esta baixa absorção, combinada ao seu alto índice de refração, leva ao aumento da luz refletida e dispersada e, conseqüentemente, a melanina à MCR aparece com coloração branca e brilhante⁵⁷.

Com a MCR *in vivo* é possível a visualização não só dos queratinócitos epidérmicos e melanócitos, mas também dos eritrócitos e leucócitos dos capilares da papila dérmica e bandas de colágeno na derme. A interpretação das imagens confocais baseia-se na morfologia celular e no reconhecimento de padrões, associados aos achados histopatológicos e dermatoscópicos.

O índice de refração da epiderme é de aproximadamente 1.375 e o do estrato córneo é próximo de 1.470. A melanina tem um índice de refração próximo de 1.700. Para obter imagens de qualidade, é necessário a utilização de um fluido de contato com índice de refração entre 1.330 e 1.500. Assim, podem ser utilizados água ou gel de ultrassom.

O funcionamento da MCR ocorre através de uma fonte pontual de luz (um laser de diodo de baixa potência) que ilumina um pequeno pedaço de tecido. A luz refletida é então fotografada em um detector após passar através de um pequeno orifício, que previne que a luz fora de foco atinja o detector (Figura 3). Isto significa que nesta técnica apenas a região que está em foco seja fotografada, por isso o termo confocal⁵⁸.

A imagem no monitor é obtida após a iluminação sequencial de múltiplos pontos no tecido examinado. Para aquisição da imagem completa do tecido a ser estudado, a área iluminada é escaneada em duas dimensões. As imagens obtidas com o microscópio confocal permitem a visualização de detalhes celulares das diferentes camadas da pele no plano horizontal com resolução lateral de 0,5 a 0,5 μm , resolução axial entre 1 e 5 μm (espessura da secção óptica) e uma profundidade máxima de 200 a 300 μm (derme papilar).



FONTE: Adaptado de ⁶⁵Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz H, Oliviero M, Scope A. Reflectance confocal microscopy: Principles, basic terminology, clinical indications, limitations, and practical considerations. *J Am Acad Dermatol.* 2021;84(1):1-14. doi: 10.1016/j.jaad.2020.05.153.

Figura 3: Diagrama que descreve os princípios ópticos da microscopia confocal de refletância.

Existem alguns modelos de microscópio confocal. Dentre eles, citam-se: VivaScope[®] 1500 (primeiro modelo), VivaScope[®] 1500 multilaser, VivaScope[®] 2500 e o VivaScope[®] 3000. O VivaScope[®] 1500 possui um anel metálico, acoplado a um disco adesivo com o centro transparente, e utiliza um óleo na interface entre o anel e a pele. A câmera acoplada faz uma imagem dermatoscópica antes do início do exame e serve como guia. É equipado com uma lente de 30x e o campo de visão do tecido é de 0.5 mm x 0.5 mm. Sua lente objetiva pode ser movimentada paralela à superfície da pele e grandes campos de visão podem ser obtidos através do auxílio de um software que possibilita o agrupamento de imagens adjacentes adquiridas sequencialmente, formando um mosaico chamado *Vivablock*. Similarmente, uma sequência de imagens pode ser capturada em profundidade, chamada de “*VivaStack*”.

O VivaScope 3000[®] é um aparelho manual, mais leve e maleável, pois não possui a lente metálica para acoplar na pele, portanto é mais fácil para uso

em áreas do corpo com mais difícil acesso, como lábios e regiões genitais. No entanto, esse aparelho tem como fator limitante a formação das imagens, tendo em vista que não forma imagens em mosaico, tornando mais difícil a comparação de diferentes áreas, e por ser manual, torna-se mais operador-dependente. Este não possui dermatoscópio acoplado.

As limitações da MCR são: o tempo necessário para aquisição de imagens em grandes áreas anatômicas; a pequena profundidade alcançada na pele, dificultando a captação de imagens de lesões mais hiperqueratóticas; a curva de aprendizado, levando a resultados totalmente operador-dependentes e a uma variação na reprodutibilidade dos mesmos entre os examinadores⁵⁹.

2.3.1 Microscopia confocal da pele normal

Os queratinócitos das várias camadas da pele têm diferentes aparências e podem ser identificados medindo a sua distância do estrato córneo. Ao se iniciar a realização do exame de MCR na pele, a primeira camada vista é a do estrato córneo. Apresenta-se com células poligonais grandes (10-30 μm), anucleadas, que parecem muito brilhantes porque a diferença nos índices de refração na interface entre a imersão meio (água ou gel como descrito acima) e o estrato córneo resulta em uma grande quantidade de luz refletida. Os queratinócitos têm contornos escuros e formam ilhas separadas por fissuras e rugas, que parecem muito escuras. Os queratinócitos recobrem as camadas superficiais (estrato granuloso e estrato espinhoso) que aparecem em imagens confocais como um padrão em favo de mel que é formado por células poligonais de 10–25 μm com núcleos escuros circundados por citoplasma fino branco brilhante.

As células basais são ainda menores em tamanho, cerca de 7-12 μm e estão localizadas a uma profundidade média de 50-100 μm abaixo do estrato córneo. Elas são altamente refrativas formando discos brilhantes no topo dos núcleos.

Melanócitos e queratinócitos pigmentados aparecem como solitárias estruturas brilhantes, redondas ou ovais na camada basal por causa do alto índice de refração da melanina. Na pele normal, é difícil distinguir entre melanócitos e queratinócitos pigmentados, uma vez que os melanócitos

raramente apresentam contornos ramificados que podem corresponder aos seus dendritos. Na pele normal, células basais e melanócitos aparecem como anéis redondos ou ovais de células ao redor das papilas dérmicas escuras centradas por *loops* vasculares na derme, onde as células sanguíneas individuais podem ser identificadas por sua forma e tamanho relativamente típicos. Os vasos sanguíneos são rodeados por fibras de colágeno (1–5 μm) e feixes (5–25 μm) formando uma rede reticulada e várias populações de células.

Entre estes, os melanófagos são facilmente reconhecidos pois são ricos em melanina. São grandes, refletindo intensamente células com bordas celulares mal definidas e um citoplasma com granulação grossa e brilhante estão localizados nas proximidades dos vasos sanguíneos na derme superior. Na derme superficial, a presença de células separadas não agregadas também foi relatada.

Os melanófagos podem ser células nucleadas redondas a ovais ou triangulares com citoplasma refrativo bem demarcado e núcleo escuro. Pequenos pontos hiper-refrativos e células pequenas com citoplasma muito brilhante e núcleos pequenos, bem como células protuberantes de forma irregular e brilhantes com bordas mal definidas e núcleos geralmente não visíveis também são às vezes visíveis nas papilas dérmicas.

Os apêndices superficiais da pele também podem ser identificados na MCR. Os ductos de glândulas écrinas aparecem como estruturas brilhantes, ovais a redondas, vazadas centralmente que espiralam através da epiderme e derme. Os folículos com unidades pilo-sebáceas aparecem como estruturas circulares brilhantes com estruturas vazadas no centro com células elípticas alongadas na circunferência e uma haste de cabelo comprida refrátil central.

No entanto, enfatizamos que as características confocais da pele normal podem variar de acordo com os diferentes estados da pele.

Na verdade, "pele normal" tem uma grande variabilidade interindividual¹¹.

2.3.2 Microscopia confocal da queratose actínica e do carcinoma espinocelular

As alterações encontradas na MCR de QAs estão confinadas às camadas mais inferiores da epiderme e caracterizam-se por disqueratose e queratinócitos “soltos”, células nucleadas com diferentes tamanhos e formas (atípias) e perda de continuidade da epiderme, com “falhas” (desarranjo do padrão favo de mel dos queratinócitos). Quando ocorre transformação para CEC, essas alterações são vistas em todas as camadas epidérmicas⁵⁷.

As características microscópicas da QA na MCR mais comumente descritas, são: padrão de favo de mel atípico e aparência de pleomorfismo celular, desarranjo arquitetural da epiderme, interrupção do estrato, hiperqueratose e paraqueratose, dilatação vascular córnea e células inflamatórias mononucleares infiltrando a derme superficial, denso colágeno na derme^{59,60,61}.

Tan et al.⁶² realizou estudo na China em 2021 com 32 pacientes e demonstrou que as características microscópicas da MCR no diagnóstico de QAs foram: desordem arquitetônica da epiderme, queratinócitos atípicos e borramento dos limites entre a epiderme e a derme, o que pôde ser observado em 100% dos casos de QA diagnosticados e tratados neste estudo.

Estudo realizado em 2010⁵⁹ tratando QAs clínicas e subclínicas com imiquimode, evidenciou que a MCR também foi capaz de identificar QAs subclínicas pela visualização de atípias celulares e nucleares na camada espinhosa. Além disso, foi capaz de detectar atípias residuais em 2 pacientes, após o término do tratamento, sem qualquer aspecto clínico de QA.

Como a QA mostra-se com múltiplos focos descontínuos de grau variável de displasia epitelial, incluindo progressão para CEC não diagnosticada clinicamente⁶³, questionamos se com o uso de MCR na avaliação e monitoramento da QA, seria possível identificar critérios para diferenciar uma displasia de um caso de CEC incipiente, orientar locais de biópsia e fazer um diagnóstico precoce de progressão para CEC em lesões clinicamente ainda não detectáveis.

Jafari et al.⁶⁴, em 2016, publicou o primeiro estudo sobre MCR de QAs antes e após tratamento com TFD-LD. Foram avaliados 20 pacientes entre os anos de 2012 a 2015 e neste estudo foi desenvolvido um sistema de pontuação de atípias para facilitar o uso da MCR. Este foi o primeiro estudo sugerindo a MCR como técnica adicional para avaliar a eficácia da TFD-LD para QAs. Vinte

pacientes, com um total de 40 lesões, foram tratados com TFD-LD e avaliados clinicamente e com a MCR. Não foi realizada biópsia cutânea. Foi evidenciada resolução completa e resposta parcial do dano actínico em 80% e 17,5% das lesões, respectivamente. Nenhuma atipia celular foi observada nas imagens de MCR de acompanhamento de 57,5% das lesões (n = 23), enquanto em 40% das lesões (n = 16) alterações mínimas no padrão em favo de mel da epiderme ainda foram observadas no seguimento com imagens na MCR⁶⁴.

Embora o exame histopatológico ainda seja o padrão ouro para confirmar o diagnóstico de QA e excluir uma possível neoplasia de pele, os pacientes frequentemente apresentam áreas de pele amplamente afetadas e as biópsias podem não ser práticas, então, a MCR surge como uma possibilidade de exame in vivo e não invasivo para avaliar QAs e campo de cancerização. Não há, até o momento, estudo na literatura brasileira avaliando o tratamento de QAs e campo de cancerização com TFD-LD, comparando o resultado pós-tratamento da histopatologia e da MCR.

3. OBJETIVOS

1. Avaliar a eficácia clínica e a segurança da TFD-LD no tratamento de QAs e campo de cancerização;
2. Avaliar a correlação clínica e histopatológica do campo de cancerização e QAs antes e após o tratamento com a TFD-LD;
3. Correlacionar os achados do campo de cancerização na MCR com a histopatologia antes e após a TFD-LD;
4. Avaliar se a realização da MCR poderia substituir o exame histopatológico.

4 MÉTODOS

4.1 Pacientes

No período entre junho de 2016 e janeiro de 2020, foram selecionados pacientes provenientes do Ambulatório de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP).

Os critérios de inclusão previamente estabelecidos no estudo foram:

- pacientes de ambos os sexos;
- sinais cutâneos de fotodano;
- pelo menos seis lesões de QA na face.

Os critérios de exclusão foram:

- história progressiva de fotossensibilidade;
- presença de processo infeccioso ou inflamatório cutâneo ativo;
- presença de genodermatoses;
- qualquer outro tratamento na face nos últimos 6 meses;
- alergia ao MAL;
- uso de drogas fotossensibilizantes;
- imunossupressão;
- gravidez;
- lactação;
- falta de compreensão ou adesão dos pacientes ao protocolo utilizado.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HC-FMUSP, sob parecer de número 2.670.908 (Anexo A). Todos os pacientes receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo B).

4.2 Protocolo de tratamento

Fotografias digitais padronizadas com câmera digital Canon EOS Rebel T3 (Canon, China) foram feitas no dia da primeira MCR, no dia em que o paciente fez a TFD-LD (antes do procedimento) e três meses após o procedimento, quando foi então realizada nova MCR. Inicialmente foi estudada a hemiface com mais lesões de QAs. Essa hemiface foi avaliada com a MCR em três regiões: superior, terço médio e inferior. O local com fotodano mais proeminente foi biopsiado e fotografado. Antes e após 3 meses da sessão de TFD-LD, todos os pacientes foram submetidos à anestesia local e biópsia de pele com instrumento cirúrgico de biópsia “punch” de 4 mm, seguido de sutura com fio de mononylon 6.0, que eram removidos após 5 dias.

O protocolo de tratamento consistiu em uma sessão de TFD-LD. A droga utilizada foi o Cloridrato de Metilaminolevulinato (Metvix®, Galderma) e a fonte de luz foi a luz visível. A área tratada foi toda a face com QAs. Após curetagem superficial das lesões mais espessas, uma fina camada de filtro solar não físico com fator de proteção solar ≥ 30 (Cetaphil Sun, Galderma) era aplicada em todas as áreas fotoexpostas do paciente (não apenas na face). Usamos o protetor solar químico e não o físico para garantir que a pele ficasse exposta à luz visível e ocorresse a ativação da PpIX. Após essa aplicação, os pacientes aguardavam cerca de quinze minutos e depois retornavam ao ambulatório, quando era então aplicada uma fina camada do Metvix® em todo o rosto, especialmente nas lesões de QA. Dentro de 30 minutos, eles deveriam estar em ambiente ao ar livre, onde ficavam por 2 horas (poderiam ficar na sombra). Após esse tempo, retornavam ao ambulatório para lavar o rosto e para avaliação imediata, pois poderiam apresentar eritema leve inicial. O uso de filtro solar com maior frequência era orientado nas próximas 48 horas pós TFD-LD.

Três meses após a sessão de TFD-LD, foi novamente estudada a área com MCR e a segunda biópsia foi realizada na pele com o instrumento “punch” número 4, na mesma área da primeira biópsia, distante 0,5 cm da inicial. Todo o material foi processado, emblocado em parafina e avaliado pela coloração de Hematoxilina e Eosina (HE).

Foi feita uma avaliação comparativa das imagens clínicas dos pacientes antes e após 3 meses do tratamento com TFD-LD, além de avaliação comparativa dos resultados na MCR e nas lâminas histopatológicas, por avaliadores independentes capacitados, para correlacionar as alterações anatomopatológicas com as do exame não invasivo.

4.3 Realização da MCR

As lesões de QA foram avaliadas na primeira consulta com o microscópio confocal de reflectância portátil (Figura 4) comercialmente disponível Vivascope 3000 (Lucid Inc., Rochester, NY, EUA).

Antes do exame MCR, os participantes foram instruídos a evitar o uso de filtro solar por 24 horas, a fim de diminuir a interface entre o aparelho e pele e não prejudicar o exame.

A hemiface mais fotodanificada foi estudada com a MCR nos polos superior, médio e inferior. A área com mais alterações foi então marcada com uma caneta cirúrgica e, logo em seguida, foi realizada a biópsia com punch de 4 mm para avaliação histopatológica (Figuras 5 a 7), garantindo uma maior correlação entre o local estudado pela MCR e o exame histopatológico.



Figura 4: Aparelho de microscopia confocal de reflectância VIVASCOPE 3000



Figura 5 – Área de maior alteração na MCR marcada para biópsia



Figura 6 – Área demarcada pelo micropore: toda a área era estudada com a MCR. O ponto marcado era o local biopsiado.



Figura 7 – Área demarcada para biópsia

4.4 Exame histopatológico

Os espécimes obtidos foram fixados em formol tamponado a 10% e embebidos em parafina. No tecido emblocado, foram feitas secções consecutivas no sentido perpendicular à epiderme, semelhantes ao da rotina diagnóstica, e posteriormente, corados com HE para análise histopatológica.

As peças foram avaliadas quanto à intensidade da atipia celular (tamanho da célula, pleomorfismo, hiper cromasia), da displasia (grau de acometimento da epiderme: leve, até um terço; moderada, até dois terços da epiderme; intensa: maior que dois terços, mas sem acometer toda a extensão da epiderme) e quanto ao grau de elastose por uma patologista experiente no assunto e com avaliação cega das lâminas antes e depois do tratamento.

4.5 Avaliação clínica

A avaliação clínica foi feita através de fotografias digitais antes da MCR, antes da TFD-LD (T0) e três meses após a TFD-LD (T1). Dois médicos dermatologistas independentes, não envolvidos no presente estudo, avaliaram as fotos clínicas pré e pós-tratamento e classificaram o fotoenvelhecimento, as rírides facias e o eritema cutâneo como igual, melhor ou pior.

4.6 Análise estatística

As variáveis qualitativas foram apresentadas pelos valores das frequências absolutas e relativas. Medidas de tendência central (média e mediana) e de variabilidade (desvio padrão, valores mínimo e máximo ou primeiro e terceiro quartil) foram calculados para as variáveis quantitativas.

Os escores dependentes (antes e após o tratamento) foram avaliados através do teste não-paramétrico de Wilcoxon. O coeficiente de correlação intraclasse (CCI) permitiu o cálculo da concordância entre os escores de avaliação clínica entre os observadores.

Gráficos de barra agrupados foram construídos para apresentar as frequências relativas das intensidades antes e após o tratamento.

O nível de significância adotado foi de 5% para todos os testes de hipóteses. As análises foram realizadas no software estatístico SPSS para Windows v.25©.

Para o estudo, foi calculado um poder de estudo de 80%, calculando uma amostra de 25 pacientes. Estudamos, no total, 37 pacientes e alguns perderam acompanhamento ou tiveram que ser excluídos por não estarem dentro dos critérios de inclusão, finalizando o estudo então com 24 pacientes, sendo avaliados com MCR 19 pacientes (Diagrama 3).

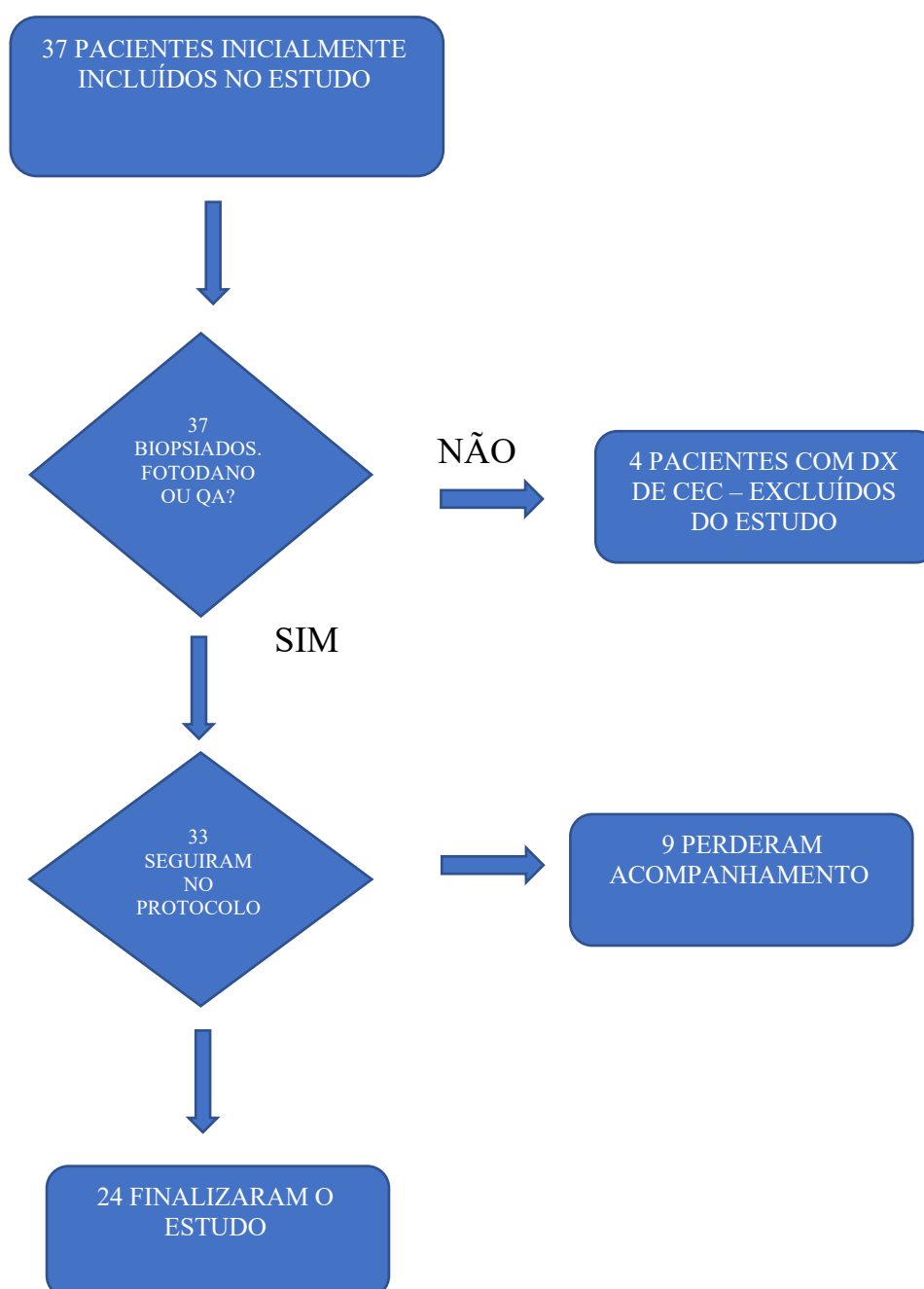


Diagrama 3. Total de casos avaliados, casos incluídos e casos excluídos do estudo.

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação clínica

Inicialmente foram estudados trinta e sete pacientes. Destes, quatro pacientes tiveram diagnóstico de CEC, sendo retirados do estudo, e nove perderam seguimento (não completaram o tratamento com TFD-LD). Então, vinte e quatro pacientes concluíram o estudo. A maioria era do sexo feminino (13, 54,2%), e a média da idade foi de 78,9 anos (desvio padrão [DP] 9,9 anos), com a idade mínima de 56 anos e a máxima de 94 anos (Tabela 1).

Tabela 1. Concordância entre avaliadores para as características de melhora clínica dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2022.

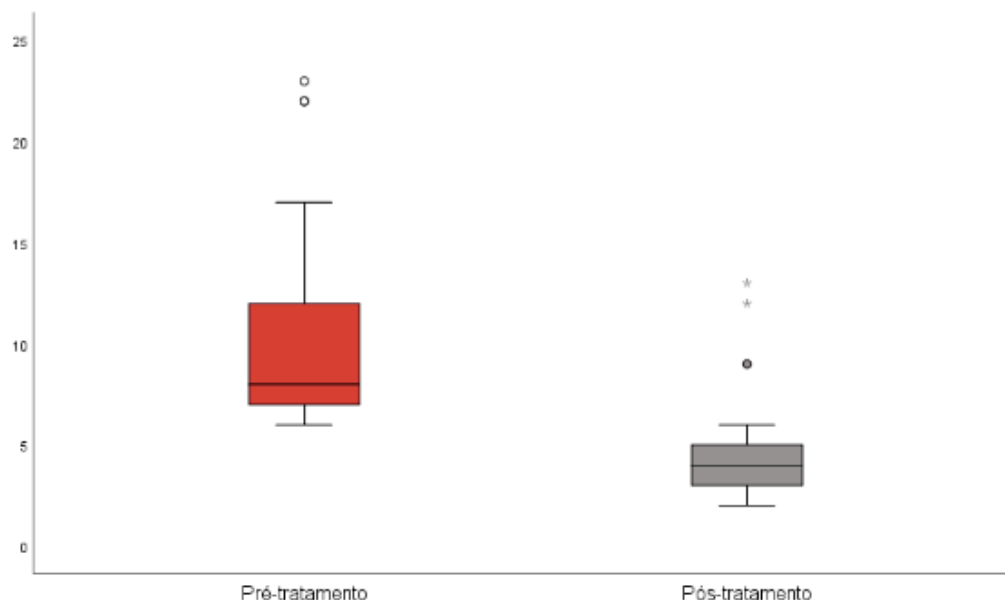
Avaliador 1		Avaliador 2		Kappa (κ)	Valor de p	
<i>Fotoenvelhecimento</i>	Manteve igual		Melhorou	0,128	0,570	
	Manteve igual	1 (33,3)	2 (66,7)			
	Melhorou	3 (18,8)	13 (81,3)			
<i>Eritema</i>	Piorou		Manteve igual	-0,160	0,317	
	Piorou	0	0			2 (100)
	Manteve igual	0	2 (20,0)			8 (80,0)
	Melhorou	0	3 (42,9)			4 (57,1)
<i>Rugas visíveis</i>	Manteve igual		Melhorou	0,394	0,061	
	Manteve igual	7 (87,5)	1 (12,5)			
	Melhorou	5 (45,5)	6 (54,5)			

Não houve intercorrência durante a TFD-LD e não houve relato de dor durante o período em que os pacientes ficavam expostos ao ar livre, apenas leve sensação de ardência ou prurido leve na face. Nos dias seguintes, todos apresentavam eritema facial discreto, como é esperado. Este se resolvia com hidratação facial e não trouxe desconforto para os pacientes.

O número de QAs antes do tratamento era 227. Foram contadas as QAs em toda a face e não apenas na região que seria avaliada com MCR, já que o tratamento com TFD-LD era aplicado em todo o rosto dos pacientes. Após 3 meses de uma única sessão de TFD-LD, esse número reduziu para 103, com índice de resposta de 45,3% (Gráfico 1). No pré-tratamento, a mediana do

número de lesões do grupo era de 8 e no pós, reduziu para 4 ($p < 0,001$). A pele dos pacientes apresentava melhora do aspecto estético.

Gráfico 1. QAs antes e após o tratamento com TFD-LD.



A avaliação da melhora clínica foi realizada por dois dermatologistas independentes, não envolvidos com o estudo. Foi feita a comparação do eritema, do fotoenvelhecimento e de rugas visíveis na face antes e após o tratamento (não foi feita a classificação em graus das rugas pois nosso foco é campo de cancerização e como foi utilizado como um instrumento para padronizar o fotoenvelhecimento, colocamos apenas rugas visíveis). Ambos perceberam melhora especialmente no fotoenvelhecimento, mas não foi observada concordância estatisticamente significativa entre os observadores. O primeiro avaliador notou melhora do fotoenvelhecimento em 75% dos casos; nas rugas, 55%; no eritema, em 30% e 50% mantiveram o quadro. O segundo avaliador: no fotoenvelhecimento, melhora de 70%; nas rugas visíveis, 50% e no eritema, 70%.

Durante o acompanhamento dos pacientes, entre os médicos participantes do estudo, era perceptível a melhora de todos os tratados (Figuras 8 a 13). Os avaliadores cegos também observaram essa melhora, mas não concordaram entre eles sobre os parâmetros.



Figura 8: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).



Figura 9: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).



Figura 10: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).



Figura 11: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).



Figura 12: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).



Figura 13: Paciente imediatamente antes da realização do tratamento (à esquerda) e após 3 meses da TFD-LD (à direita).

5.2 Avaliação histológica

Todos os pacientes apresentaram algum grau de atipia antes do tratamento. 100% dos casos que tinham atipia intensa mudaram o padrão para atipia leve após uma sessão da TFD-LD. Dos 9 casos com atipia moderada, 66,7% passaram a apresentar atipia leve após o tratamento e 33,3% mantiveram o grau de atipia; dos 10 pacientes com atipia leve no pré-tratamento, após o tratamento somente três deles não apresentaram mais atipia, 6 continuaram com atipia leve e um caso apresentou atipia moderada.

Em relação à displasia, dos casos com displasia intensa antes do tratamento, a maioria (83,3%) foi leve e moderada após o tratamento. Dentre os casos moderados, observou-se que 23,1% não apresentaram displasia após o tratamento, 15,4% tiveram displasia leve e 61,5% mantiveram a condição moderada. No caso da elastose, a mudança após o tratamento foi variada (Figuras 14 a 17). Neste caso, as categorias não foram similares antes e após o tratamento, portanto, não foi possível aplicar o teste estatístico para comparar a condição antes e depois da TFD-LD.

Foram observadas diferenças estatisticamente significativas na atipia e na displasia avaliadas no exame histopatológico antes e após o tratamento ($p < 0,05$). A elastose não apresentou mudanças após o tratamento ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Comparação das características histopatológicas antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.

Característica	TFD-LD		Valor de p^1
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	
Atipia			0,005
Média (DP)	1,6 (0,7)	1,0 (0,6)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	2 (1-2)	1 (1-1)	
Displasia			0,007
Média (DP)	2,2 (0,6)	1,5 (0,8)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	2 (2-3)	2 (1-2)	
Elastose			0,999
Média (DP)	2,7 (1,3)	2,6 (1,2)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	3 (1-4)	3 (2-3)	

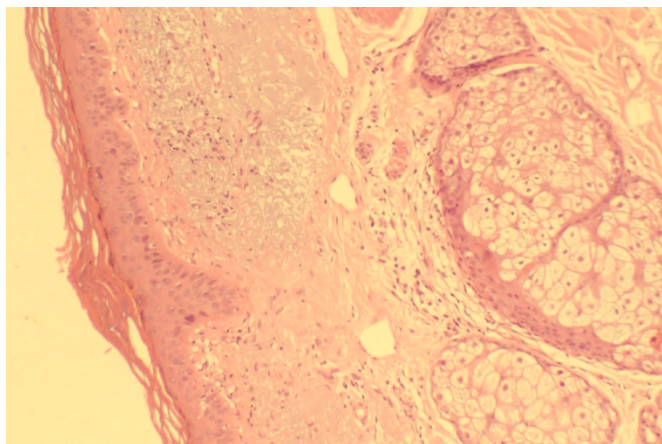


Figura 14: Histopatologia pré-tratamento do paciente da foto clínica acima, com displasia intensa, atipia e elastose moderadas. HE, aumento original 100x.

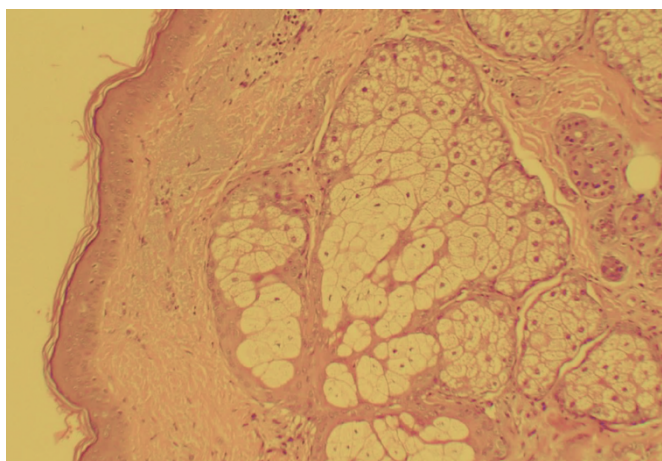


Figura 15 A: Mesmo paciente acima, histopatologia pós-tratamento com displasia moderada, atipia leve. Áreas com elastose moderada e áreas sem elastose. HE, aumento original 100x.

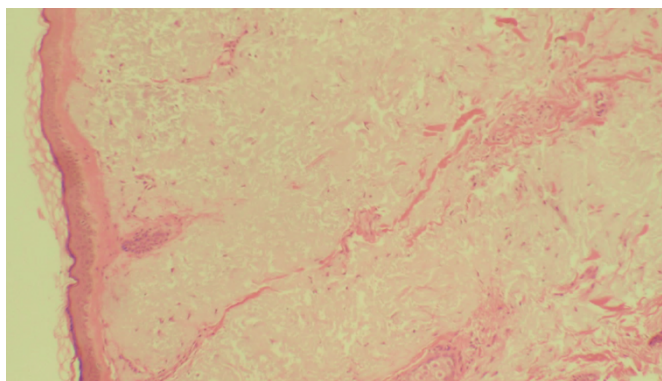


Figura 15 B: Histopatologia pré-tratamento evidenciando o grau de elastose dos nossos pacientes. HE, aumento original 100x

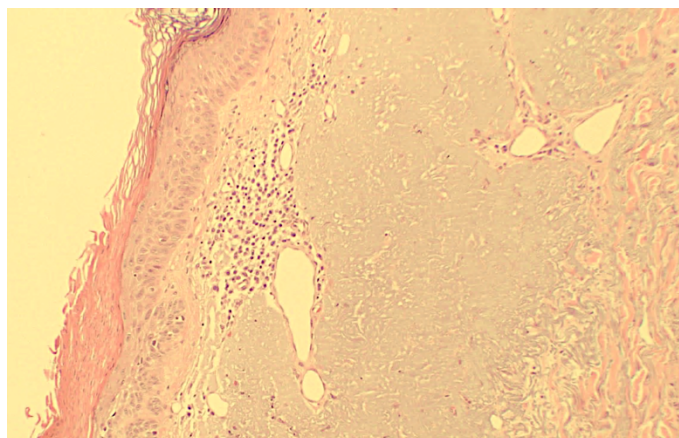


Figura 16: Histopatologia com displasia e elastose intensas, atipia moderada. HE, aumento original 100x.

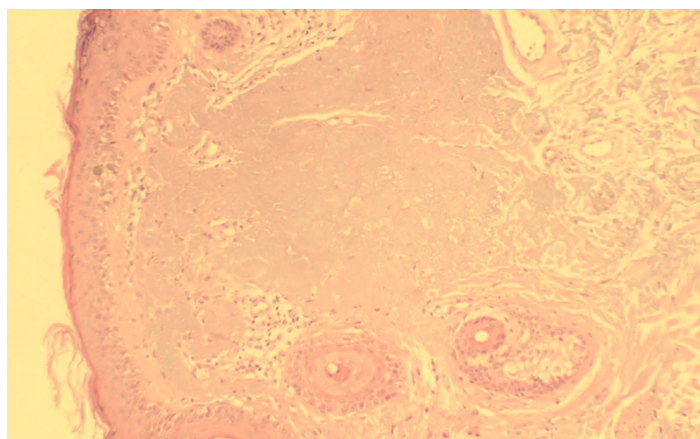
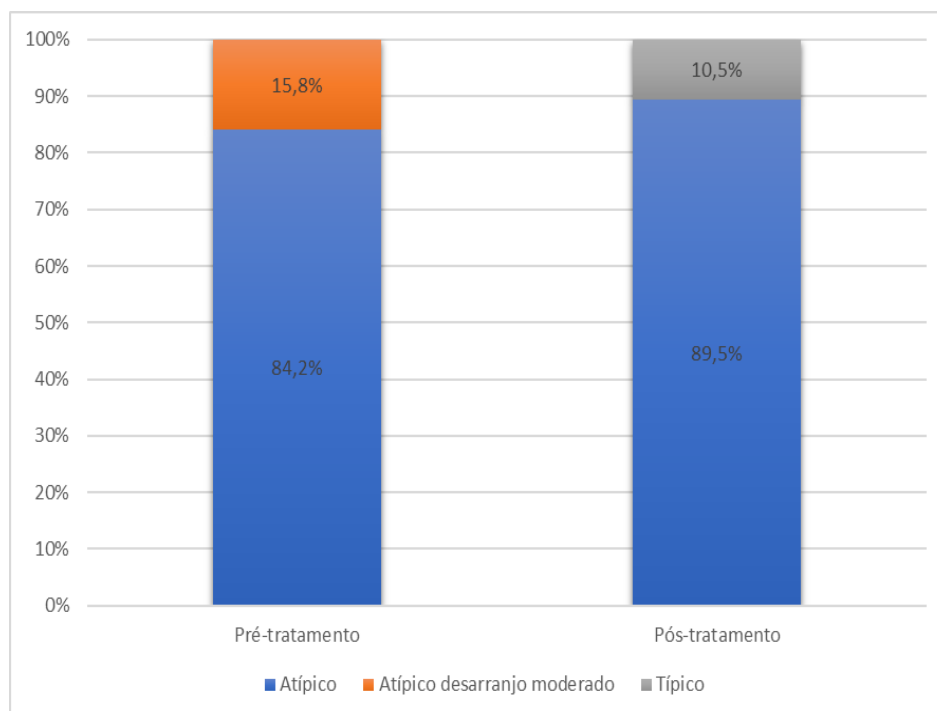


Figura 17: Mesmo paciente acima, histopatologia pós-tratamento: atipia e displasia leves, elastose intensa. HE, aumento original 100x.

5.3 Avaliação da MCR

Quanto ao resultado avaliado pela MCR, vimos que o padrão de favo de mel atípico se manteve na maioria dos casos no pós-tratamento. Foram avaliados 19 pacientes na MCR e todos apresentavam padrão atípico. Na avaliação pós TFD-LD, dois casos passaram a apresentar o padrão típico e um caso atípico com desarranjo moderado apresentou comportamento atípico sem desarranjo moderado. Os outros continuaram com algum grau de desarranjo, mas melhoraram o padrão (Gráfico 2).

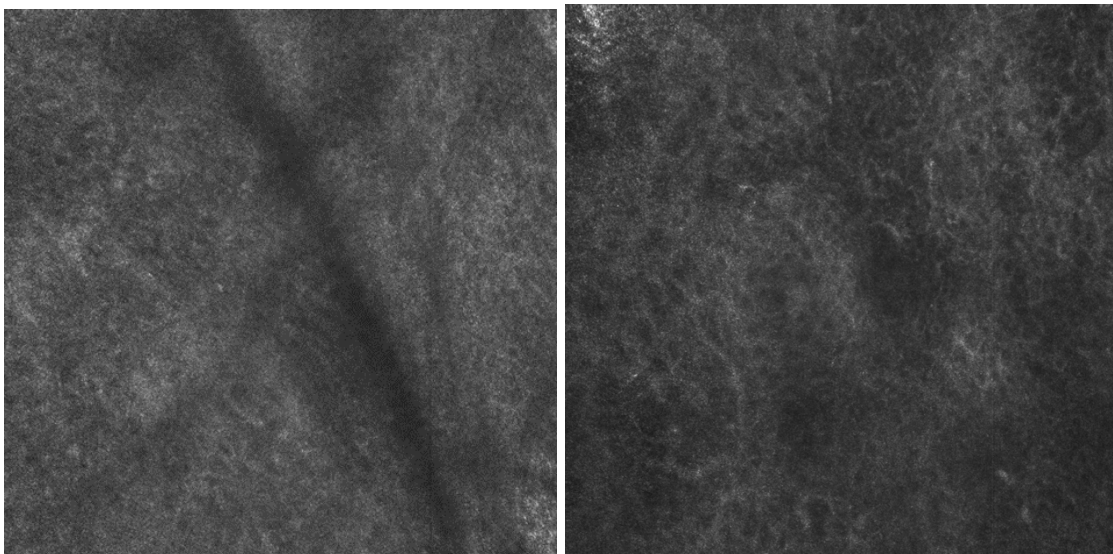
Gráfico 2. Padrão do aspecto de favo de mel com microscopia confocal de reflectância antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.



Com relação à displasia, observou-se que 50% dos casos moderados no pré-tratamento não apresentaram displasia ou passaram a ser displasia leve no pós-tratamento. Somente 28,6% casos com displasia intensa mantiveram a condição após a TFD-LD. Por outro lado, os casos de displasia leve no pré-tratamento apresentaram comportamento leve e moderado após o tratamento (Figuras 18 a 22).

Não se observaram mudanças após o tratamento para a inflamação, fibroplasia e acantólise ($p > 0,05$) (Gráfico 3).

Os resultados da avaliação com MCR são apresentados na Tabela 3.



Figuras 18 e 19: MCR mostrando padrão favo de mel atípico pré-tratamento - desarranjo arquitetural com células de tamanhos variados dispostas desorganizadamente.



Figura 20: MCR pós-tratamento - padrão favo de mel típico com células de tamanho e brilho semelhantes.

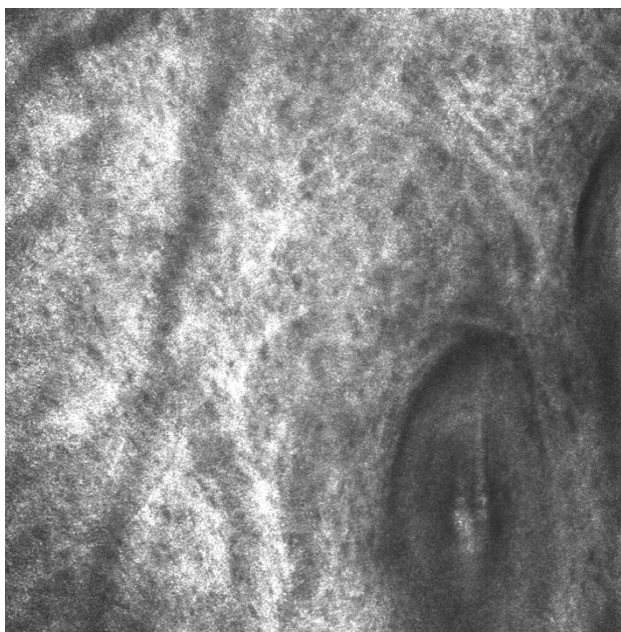


Figura 21: Figuras lineares amorfas grosseiras brilhantes na MCR, correspondendo a elastose na derme.

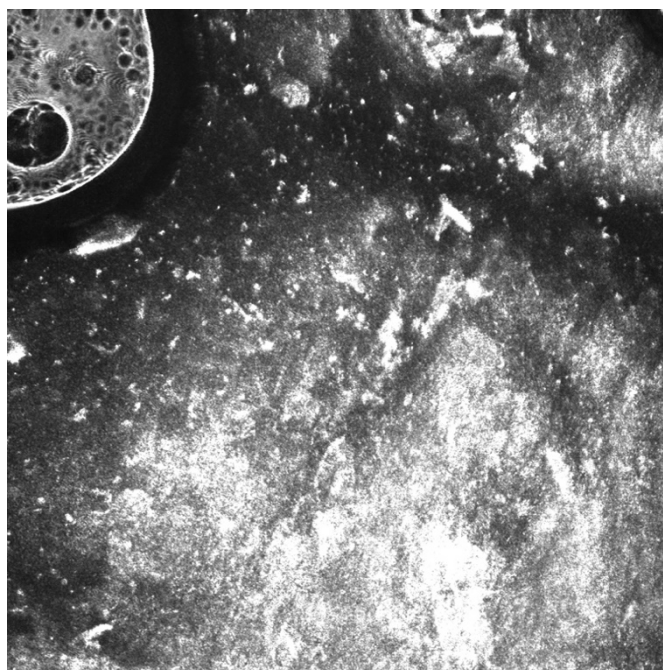
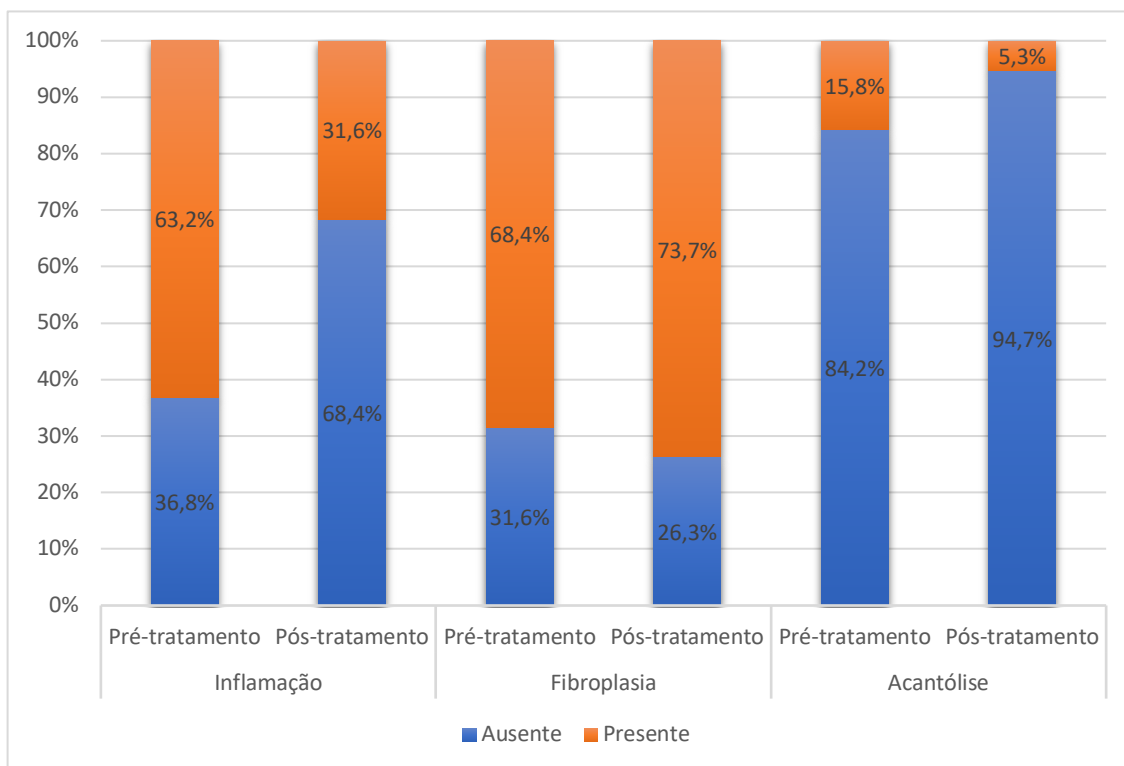


Figura 22: Figuras amorfas brilhantes, poligonais, algumas destacadas da camada córnea, correspondendo a descamação na MCR.

Tabela 3. Comparação da microscopia confocal de reflectância antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.

Pré-tratamento		Pós-tratamento		
<i>Padrão do aspecto de favo de mel</i>	Atípico	Atípico desarranjo moderado	Típico	
Atípico	16 (100)	0	0	
Atípico desarranjo moderado	1 (33,3)	0	2 (66,7)	
Típico	0	0	0	
<i>Displasia</i>	Ausente	Leve	Moderada	Intensa
Ausente	0	0	0	0
Leve	0	1 (50,0)	1 (50,0)	0
Moderada	1 (10,0)	4 (40,0)	4 (40,0)	1 (10,0)
Intensa	1 (14,3)	2 (28,6)	2 (28,6)	2 (28,6)
<i>Atipia</i>				
Ausente	0	0	0	0
Leve	0	3 (75,0)	1 (25,0)	0
Moderada	0	5 (55,6)	3 (33,3)	1 (11,1)
Intensa	1 (16,7)	3 (50,0)	1 (16,7)	1 (16,7)
	Ausente	Presente	Valor de p¹	
<i>Inflamação</i>			0,146	
Ausente	4 (57,1)	3 (42,9)		
Presente	9 (75,0)	3 (25,0)		
<i>Fibroplasia</i>			0,999	
Ausente	3 (50,0)	3 (50,0)		
Presente	2 (15,4)	11 (84,6)		
<i>Acantólise</i>			0,625	
Ausente	15 (93,8)	1 (6,3)		
Presente	3 (100)	0		

Gráfico 3. Presença de inflamação, fibroplasia e acantólise com microscopia confocal de reflectância antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.



Os escores de displasia e atipia avaliadas pela MCR apresentaram diferenças estatisticamente significativas na avaliação pré e pós-tratamento ($p < 0,05$), como mostrado no Gráfico 4. Por outro lado, não houve diferenças entre os escores do padrão do aspecto de favo de mel antes e após o tratamento ($p = 0,564$) (Tabela 4).

Gráfico 4: Displasia e atipia na microscopia confocal de reflectância antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia dos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.

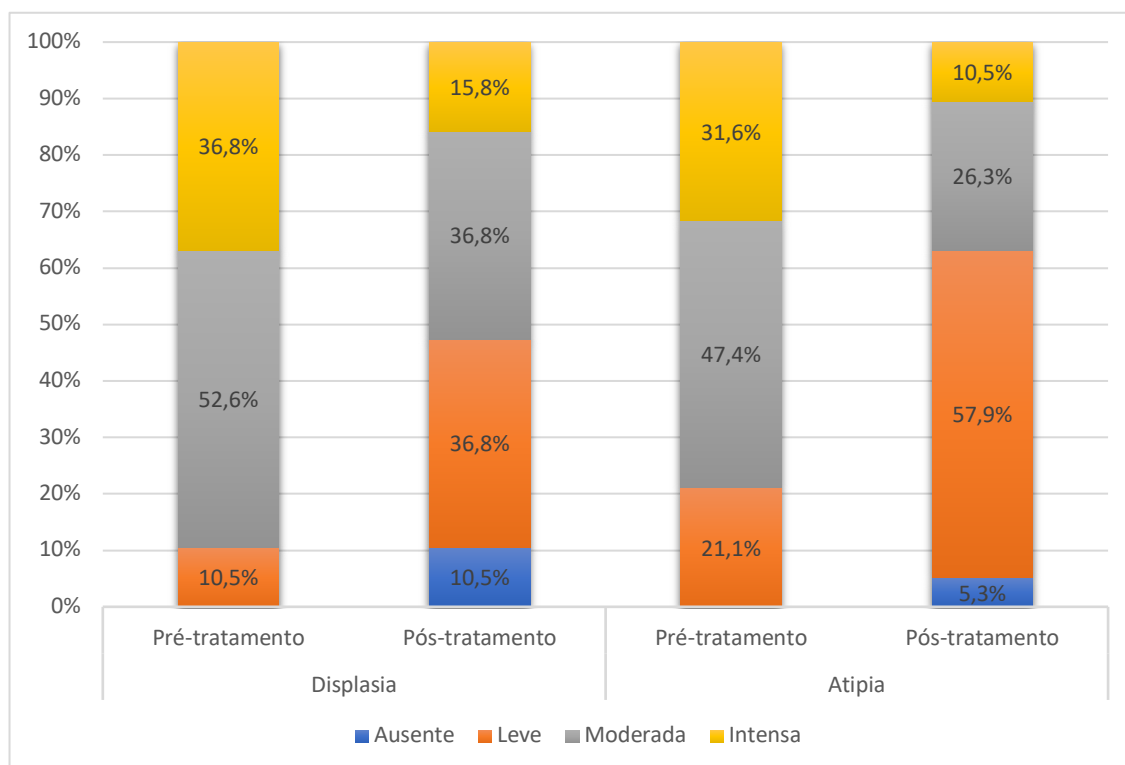


Tabela 4. Comparação da microscopia confocal de reflectância antes e após o tratamento com terapia fotodinâmica com a luz do dia nos pacientes do Ambulatório de Dermatologia, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2021.

Característica	TFD-LD		Valor de p ¹
	Pré-tratamento	Pós-tratamento	
Padrão do aspecto de favo de mel			0,564
Média (DP)	1,2 (0,4)	1,2 (0,6)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	1 (1-1)	1 (1-1)	
Displasia			0,015
Média (DP)	2,3 (0,7)	1,6 (0,9)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	2 (2-3)	2 (1-2)	
Atipia			0,026
Média (DP)	2,1 (0,7)	1,5 (0,7)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	2 (2-3)	1 (1-2)	

No presente estudo, pela análise estatística não foi observada concordância entre as avaliações pela histopatologia e confocal para as características de atipia, displasia e elastose (Tabela 5).

Tabela 5. Atipia, displasia e elastose segundo avaliação pelo Histopatologia e Confocal no pós-tratamento.

Confocal	Histopatologia				Kappa (κ)	Valor de p
	Ausente n (%)	Leve n (%)	Moderado n (%)	Intenso n (%)		
<i>Atipia</i>	n=3	n=10	n=3	n=0		
Ausente (n=0)	0	0	0	0	0,222	0,149
Leve (n=10)	3 (100)	7 (70,0)	0	0		
Moderada (n=4)	0	2 (20,0)	2 (66,7)	0		
Intensa (n=2)	0	1 (10,0)	1 (33,3)	0		
<i>Displasia</i>	n=3	n=3	n=9	n=1		
Ausente (n=2)	0	0	2 (22,2)	0	-0,043	0,752
Leve (n=6)	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (33,3)	0		
Moderada (n=5)	1 (33,3)	1 (33,3)	2 (22,2)	1 (100)		
Intensa (n=3)	1 (33,3)	0	2 (22,2)	0		
	Ausente	Presente				
<i>Elastose</i>	n=0	n=16				
Ausente	0	4 (25,0)				
Presente	0	12 (75,0)				

6. DISCUSSÃO

O campo de cancerização abrange o conceito da pele fotodanificada associada à presença de múltiplas lesões malignas e pré-malignas, havendo maior potencial de transformação para múltiplos CECs. Torna-se, portanto, fundamental o tratamento de toda a área^{7,10,12}.

Dentre as opções terapêuticas, a TFD convencional já é bem estabelecida no tratamento de QAs e de campo de cancerização^{12,24,54,66,67}. Mas a modalidade de TFD que usa a luz do dia, a TFD-LD, tem menor custo, causa menos desconforto e se mostrou uma alternativa apropriada para tratamento de áreas extensas^{8,9,10}.

Dentre os métodos para melhor avaliação das lesões de campo, além da clínica e da histopatologia, temos a dermatoscopia, a MCR, a tomografia de coerência óptica, além de marcadores imunohistoquímicos e técnicas de biologia molecular que auxiliam na detecção precoce das alterações moleculares do campo. Atualmente, no entanto, a biópsia cutânea mantém-se como padrão-ouro e ainda não há estudo no Brasil comparando os resultados da histopatologia com a MCR.

Borsari et al.⁶⁸, em 2016, constataram em análise retrospectiva que uma das melhores indicações para MCR é o diagnóstico de lesões localizadas na pele fotodanificada, como lentigo solar atípico/queratose seborreica plana, queratoses semelhantes a líquen plano, queratose solar pigmentada e lentigo maligno. Em segundo lugar, pápulas faciais não pigmentadas; o diagnóstico diferencial varia desde lesões benignas (nevo intradérmico, angiofibroma) a cânceres de pele (carcinoma basocelular e carcinoma espinocelular)⁶⁸.

Shahriari et al.⁶⁵, em 2021, descreveram como fatores limitantes para os resultados da MCR, as lesões com hiperqueratose importante, crostas ou ulceração, pois a superfície altamente reflexiva pode reduzir a qualidade da imagem obtida.

No nosso estudo, 24 pacientes de ambos os sexos, com sinais de fotodano e no mínimo seis lesões de QA na face, completaram o protocolo proposto de uma avaliação com MCR prévia, uma sessão de TFD-LD e uma segunda avaliação com MCR após três meses. Foi um tratamento bem tolerado e não houve nenhum relato de dor intensa ou dificuldades após a terapia com a luz do dia. Em uma avaliação geral, a TFD-LD trouxe benefícios

para todos os pacientes envolvidos, com diferentes graus de melhora da pele. O resultado final mostrou melhora independente na histopatologia e na MCR, no entanto, sem concordância estatisticamente significativa na melhora da atipia e da displasia nos dois métodos de avaliação pós-tratamento.

A TFD-LD já é bem estabelecida como opção terapêutica para o QAs finas em face e couro cabeludo^{4,17,26,54,55}. Como previamente mencionado, em nosso estudo era tratada apenas a face dos pacientes. A MCR era realizada na hemiface com mais lesões de QAs e o local com fotodano mais proeminente na confocal era então fotografado e biopsiado-

Quanto aos resultados clínicos, em nosso estudo observamos melhora tanto no fotodano dos pacientes como na diminuição do número de QAs (índice de resposta de 45,3% e $p < 0,001$). Na histopatologia, observou-se melhora da atipia e da displasia após o tratamento: 100% dos casos de atipia intensa mudaram o padrão para leve. Dos casos com atipia moderada, 66,7% passaram a ser leve após o tratamento. Quanto à displasia intensa antes do tratamento, a maioria (83,3%) tornou-se leve e moderada ($p < 0,001$). No entanto, a elastose não apresentou mudanças estatisticamente significativas.

Na MCR, vimos que o padrão de favo de mel apresentou melhora do desarranjo inicial, mas ainda se manteve atípico na maioria dos casos no pós-tratamento. Com relação à displasia, 50% dos casos tiveram melhora. Não se observaram mudanças após o tratamento para a inflamação, fibroplasia e acantólise.

A melhora parcial observada no padrão favo de mel, provavelmente, deveu-se ao fato de ter sido realizada apenas uma sessão de TFD-LD em amostra de pacientes com um campo de cancerização com intenso fotodano. Talvez mais sessões fossem necessárias em alguns casos. Com relação à elastose, esse tratamento não é ablativo e não atinge uma maior profundidade na pele, como acontece com o uso de peelings profundos, TFD convencional, laser de CO² ou várias sessões de lasers não ablativos, que induzem maior inflamação no pós-operatório e podem produzir mais neocolagênese e remodelação do colágeno^{69,70}. Por não ser um tratamento muito profundo, o rejuvenescimento obtido com TFD-LD é leve e ocorre principalmente nos casos que tiveram maior reação fototóxica.

Dentre os tratamentos para QAs graus I e II, uma outra opção terapêutica é o uso de imiquimode. Ulrich et al.⁵⁹ utilizaram a MCR como método de avaliação da resposta cutânea após o uso do imiquimode em onze pacientes, e evidenciaram melhora na aparência dos queratinócitos, com células poligonais dispostas em padrão típico de favo de mel (no estrato granuloso e espinhoso) em 9 dos 11 pacientes avaliados, mas na derme, houve persistência de feixes brilhantes de configuração irregular com material sugestivo de elastose solar em todos os casos, tanto nas áreas que tinham QAS clinicamente visíveis como nas áreas apenas com QAs subclínicas mas que também haviam sido tratadas⁵⁹. Corroborando que em tratamentos mais superficiais, não há importante neocolagênese.

Já em estudos com tratamentos mais ablativos, o efeito sobre a neocolagênese era maior. Longo et al.⁶⁹ realizaram estudo com laser de CO² fracionado para tratar envelhecimento cutâneo em dez pacientes, que foram avaliados com MCR, e foi evidenciada intensa remodelação do colágeno na confocal⁶⁹. Da mesma forma, a MCR mostrou remodelação de colágeno em estrias tratadas com laser não ablativo 1540⁷⁰. Assim, nota-se que tratamentos mais agressivos ou ablativos, como lasers, induzem mais remodelação de colágeno quando comparados a TFD, que é considerada um tratamento mais superficial, principalmente se realizada apenas uma sessão.

No presente estudo, quanto à resposta clínica, houve melhora do envelhecimento cutâneo e diminuição importante no número de QAs após o tratamento, com índice de resposta de 45,3% com diferença estatisticamente significativa na avaliação pré e pós-tratamento ($p < 0,05$). No pré-tratamento, a mediana do número de lesões do grupo era de 8 e no pós, reduziu para 4. Grinblat et al.⁴⁵, em estudo conduzido no HC-FMUSP, na cidade de São Paulo, Brasil, obtiveram resposta média de melhora de QAs de 86% (maior que os estudos prévios), mas as QAs grau III foram excluídas desta pesquisa e foram realizadas sessões subsequentes quando necessário, até um máximo de três sessões. A diferença na taxa de cura entre o estudo de Grinblat et al e o presente estudo, se deve principalmente ao fato de, neste estudo, ter sido tratado o campo de cancerização (que muitas vezes apresenta áreas hiperqueratóticas) e ter sido feita apenas uma sessão em pacientes com fotodano intenso.

Para os resultados clínicos, os parâmetros avaliados foram o fotoenvelhecimento, as rugas fixas na pele e o eritema cutâneo. Como explicado anteriormente, o fotoenvelhecimento, também chamado de envelhecimento extrínseco, decorre principalmente dos danos causados pela radiação UV. Foi percebida melhora no fotoenvelhecimento em 75% e 70% dos pacientes (avaliador 1 e 2, respectivamente); nas rugas, 55% e 50%; e no eritema, em 30% e 70%.

Pela avaliação histopatológica, foi visto que todos os pacientes apresentavam algum grau de atipia antes da TFD-LD, com todos os casos de atipia intensa melhorando para um padrão de atipia apenas leve. Da mesma forma, nos casos de displasia intensa, notou-se que a maioria (83%) mudou para leve e moderada após o tratamento. Já os casos moderados e leves tanto de atipia como de displasia, tiveram variação na melhora. A biópsia cutânea foi um diferencial do nosso estudo, mas devemos lembrar que ela é uma amostra pontual de uma pequena área de pele e o campo de cancerização é geralmente uma área extensa.

Na avaliação pela MCR, o padrão atípico de favo de mel ainda se manteve após o tratamento, mas com melhora do desarranjo. Com relação à displasia, houve melhora de 50% dos casos moderados, que passaram a não apresentar mais displasia ou apenas uma displasia leve após o tratamento. Dos casos com displasia intensa, 71,4% apresentaram melhora. Por outro lado, os casos de displasia leve no pré-tratamento apresentaram comportamento leve e moderado após o tratamento. Não se observaram mudanças após o tratamento para a inflamação, fibroplasia e acantólise ($p > 0,05$).

Esse resultado é compatível com o estudo de Tan et al.⁶², realizado na China, mas com TFD convencional. Na avaliação com MCR, o padrão em favo de mel manteve-se atípico após apenas uma sessão de tratamento. Assim como no presente estudo, em que também se manteve o padrão em favo de mel atípico na maioria dos casos, apesar da melhora do seu aspecto. Já em estudo realizado por Silva Sousa et al.⁷¹, em Portugal, publicado em 2019, evidenciou-se normalização do padrão de favo de mel em todos os pacientes avaliados na MCR. No entanto, de 25 pacientes envolvidos no estudo, apenas seis foram submetidos a MCR, uma amostra muito pequena⁷¹.

Houve melhora de atipia e displasia após a TFD-LD na histopatologia e

na MCR, mas pela análise estatística não foi observada concordância entre as avaliações para as características de atipia, displasia e elastose (Tabela 5). Talvez um maior número de sessões e um maior número de casos pudessem causar mais concordância, mesmo tendo sido alcançado um poder de amostra próximo de 100% na avaliação de QAs pré e pós tratamento. Para atipia, displasia e padrão de favo de mel no método confocal, não se alcançou o poder de estudo de 80%. Houve melhora na atipia e displasia no exame de MCR mas as nossas limitações foram o número pequeno de pacientes, com alguns se perdendo durante o período da pesquisa, além de um campo de cancerização com intenso fotodano. No exame anátomo-patológico, que é o padrão-ouro atualmente, o poder da amostra para atipia e displasia ficou aproximadamente 90%.

Também é difícil a comparação pois não necessariamente o local biopsiado foi exatamente a área avaliada pela confocal. Na nossa avaliação, a MCR mostrou-se eficaz, porém não a consideramos o melhor método para avaliação e seguimento do campo de cancerização isoladamente, não substituindo o exame anátomo-patológico.

Um dos primeiros estudos sobre a avaliação com MCR de QAs tratadas com TFD-LD foi realizado por Jafari et al.⁶⁴, em 2016. Neste, foram estudados 20 pacientes e não foi realizada biópsia cutânea como foi feita no nosso. A avaliação foi feita apenas clinicamente, com dermatoscopia e com MCR, após 3 meses do tratamento. No resultado deste estudo, houve melhora da arquitetura celular e do padrão de favo de mel em 57,5% das lesões. Em 40% das lesões, foram visualizadas ainda pequenas alterações no padrão de favo de mel da epiderme com células atípicas ocasionais e em 2,5% houve persistência de atipia moderada⁶⁴.

As limitações do estudo de Jafari et al.⁶⁴ foram, principalmente, o pequeno tamanho da amostra e a ausência de um grupo controle. Mas eles concluíram que é possível monitorar e avaliar a eficácia da TFD-LD através da MCR, sem a necessidade de biópsias. Concluem ainda que é necessário treinamento prolongado para realizar a MCR e que um ponto negativo deste exame é a baixa capacidade atingir a profundidade na pele, mas que ela é a única alternativa não invasiva confiável para analisar detalhes celulares e subcelulares⁶⁴.

Comparando os resultados deste estudo com o nosso, percebemos que nele também não houve uma melhora completa do padrão de favo de mel na MCR em todos os pacientes. Eles não realizaram biópsia cutânea, então não temos como comparar com os nossos dados de histopatologia. A amostra avaliada foi semelhante, 20 casos no estudo de Jafari et al.⁶⁴ e 24 no nosso, mas provavelmente o fotoenvelhecimento encontrado naquele estudo era muito inferior ao nosso, tendo em vista que o total de lesões pré-tratamento deles foi de 40 lesões e no nosso eram 227 lesões.

Silva Sousa et al.⁷¹, estudaram 25 pacientes com QAs em couro cabeludo e/ou face, que foram submetidos a uma sessão de TFD-LD. Apenas 6 pacientes realizaram MCR, antes e uma semana após o tratamento, com todos mostrando resolução completa do padrão de favo de mel, mesmo tendo sido incluídos para tratamento pacientes com QAs grau III. No entanto, apenas 25% dos pacientes foram submetido à MCR, um número pequeno. Talvez se a mesma tivesse sido realizada em 100% dos pacientes, nem todos teriam normalização completa do padrão de favo de mel⁷¹.

Em estudo de 2019 de Gracia-Cazaña et al.⁷², foi visto que a administração sequencial de TFD-LD e gel de MI 0,015% foi menos eficaz do que duas sessões de TFD-LD na obtenção de uma resposta completa da lesão após 3 meses e 1 ano de acompanhamento. A TFD-LD, que também nesse estudo foi associada a escores mais baixos de dor e inflamação, melhor resultado cosmético e uma maior preferência do paciente, quando repetida, aumenta as taxas de sucesso do tratamento.

O grau de fotoenvelhecimento nos pacientes que tratamos, em geral, é muito intenso. Hoje em dia, nestes casos, já são feitas mais sessões de TFD-LD ou ainda realizada a combinação de diferentes técnicas de tratamento para melhores resultados. Um maior número de sessões provavelmente traria resultados mais expressivos, especialmente na MCR, deixando o padrão de favo de mel com arranjo típico e melhorando ainda mais o aspecto clínico pós-tratamento.

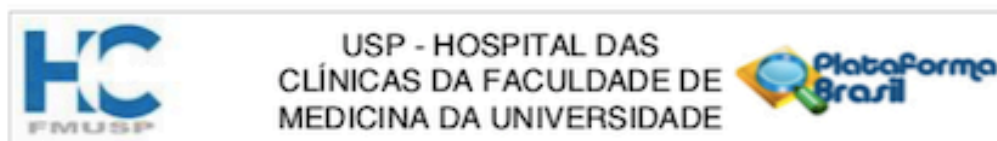
As limitações do presente estudo foram: uma amostra pequena de pacientes, um tempo de seguimento curto, a realização de apenas uma sessão de TFD-LD, o uso do aparelho de MCR Vivascope 3000 e a ausência de um grupo controle para comparação de resultados.

7. CONCLUSÕES

1. Observou-se melhora clínica nos pacientes tratados com TFD-LD, além de diminuição da contagem de QAs antes e depois da intervenção. Não houve relato de dor nem intercorrência alguma entre os pacientes, mostrando a eficácia do método.
2. A avaliação histopatológica evidenciou melhora do grau de atipia e displasia nos pacientes tratados, revelando novamente, a eficácia do método. Por outro lado, o grau de elastose não mostrou melhora.
3. Na avaliação na MCR, houve melhora na displasia e na atipia, no entanto, o padrão atípico de favo de mel ainda se manteve após o tratamento.
4. Houve melhora estatisticamente significativa na atipia e na displasia tanto na histopatologia como na microscopia confocal, no entanto, não houve concordância entre estes dois métodos e não podemos inferir que a MCR possa substituir o exame histopatológico como método avaliativo da TFD-LD no fotoenvelhecimento com múltiplas QAs.

8. ANEXOS

ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TRATAMENTO DAS QUERATOSES ACTÍNICAS E DO CAMPO DE CANCERIZAÇÃO CUTÂNEO COM TERAPIA FOTODINÂMICA COM A LUZ DO DIA: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E COM MICROSCOPIA CONFOCAL

Pesquisador: Luis Antonio Ribeiro Torezan

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 89375418.8.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.670.908

Apresentação do Projeto:

Estudo sobre queratoses actínicas e campo de cancerização antes e após tratamento

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a eficácia clínica da terapia fotodinâmica com luz do dia no tratamento de queratoses actínicas e campo de cancerização; realizar correlação clínica e histológica do campo de cancerização e queratoses actínicas antes e após o tratamento e, correlacionar os achados do campo de cancerização na microscopia confocal e os achados histológicos, antes e após o tratamento. Serão avaliados 25 pacientes atendidos na divisão de dermatologia do HCFMUSP, os quais serão fotografados, biopsiados e submetidos à TFDLD.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos são os inerentes à terapia já consagrada no tratamento destas patologias

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não apresenta questionamentos éticos

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Estão adequados e claros

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.670.908

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS n° 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1001748.pdf	10/05/2018 11:00:41		Aceito
Outros	carta_compromisso_mestrado_torezan.pdf	10/05/2018 10:57:34	Luis Antonio Ribeiro Torezan	Aceito
Outros	NOVO_CRONOGRAMA_DO_ESTUDO.docx	10/05/2018 10:57:05	Luis Antonio Ribeiro Torezan	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Prof_Torezan.pdf	10/05/2018 10:43:22	Luis Antonio Ribeiro Torezan	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	ROTEIRO_DE_ELABORACAO_DO_TCLE.docx	26/09/2017 09:38:57	Luis Antonio Ribeiro Torezan	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	TRATAMENTO_DAS_QUIERATOSES_ACTINICAS_E_DO_CAMPO_RAQUEL.docx	21/09/2017 10:40:34	Luis Antonio Ribeiro Torezan	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappelq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 2.670.908

SAO PAULO, 23 de Maio de 2018

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovidio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa: TRATAMENTO DAS QUERATOSES ACTÍNICAS E DO CAMPO DE CANCERIZAÇÃO CUTÂNEO COM TERAPIA FOTODINÂMICA COM A LUZ DO DIA: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E COM MICROSCOPIA CONFOCAL

Pesquisador principal – Luis Antônio Ribeiro Torezan

Departamento/Instituto -

Departamento de Dermatologia / Instituto Central do Hospital das Clínicas da USP

Convite à participação –

Convidamos o(a) Sr (a) _____ para participar desta pesquisa que realiza o tratamento de lesões de pele que podem evoluir para câncer.

Justificativa e objetivos do estudo -

Em nosso ambulatório, temos um grande volume de pacientes com a pele alterada pelo sol e com lesões pré-câncer de pele ou já com cânceres de pele. É realizado com frequência e há muito tempo um tratamento com a luz artificial, chamado Terapia Fotodinâmica, assim como o tratamento com iluminação natural em ambiente externo, a Terapia Fotodinâmica com a Luz do Dia. No entanto, a avaliação dos estudos é geralmente realizada com biópsia de pele. Atualmente, existem métodos para avaliar a pele em tempo real, sem cortes, como o exame chamado Microscopia Confocal. O objetivo desta pesquisa é avaliar a eficácia do tratamento com a luz do dia das lesões pré-câncer de pele e da pele danificada pelo sol; Comparar a pele antes e após o tratamento com as biópsias; Correlacionar o que foi visto na biópsia de pele com o que foi visto no exame de imagem, para quem sabe no futuro fazer todas as avaliações apenas com esse exame de imagem.

Procedimentos que serão realizados e métodos que serão empregados –

Serão selecionados vinte e cinco pacientes para participarem deste estudo. Os critérios de inclusão são: pacientes de ambos os sexos, apresentando alterações na pele causadas pelo sol e com lesões pré-câncer de pele.

Os critérios de exclusão serão: história de sensibilidade ao sol, presença de infecção ou inflamação ativa na pele, qualquer outro tratamento da face nos últimos 6 meses, alergia ao creme usado no tratamento, uso de drogas que deixem a pele sensível ao sol, gravidez e estar amamentando.

Fotografias digitais serão feitas no dia da realização do primeiro exame e três meses após o procedimento, quando será então realizado novo exame de imagem. O local com mais alterações de pele será biopsiado e fotografado. Todos os pacientes serão submetidos à anestesia local para não ter desconforto e biópsia de pele com instrumento cirúrgico de biópsia de 4 mm (o menor possível para poder promover material suficiente para estudo) antes e após 3 meses da última sessão do tratamento com a luz do dia. Logo após o procedimento, será dado um ponto, que será retirado em 7 dias (será usado um fio bem fino e retirado logo o ponto para não deixar marca importante).

No dia da retirada do ponto, o paciente iniciará o tratamento. É feita uma leve raspagem local, depois é aplicado protetor solar, para evitar qualquer tipo de queimadura solar. Após quinze minutos, será aplicado no rosto o creme de tratamento, que é ativado pela luz visível e trata as lesões pré-câncer de pele. Os pacientes ficarão 2 horas em ambiente ao ar livre, podendo ficar na sombra. Podem sentir apenas leve ardência durante este período. Depois, lavarão o rosto e aplicarão filtro solar. Nos próximos dias, o rosto pode ficar um pouco vermelho e podem formar pequenas crostas. Após essa fase, o rosto fica mais rejuvenescido e sem as lesões pré-malignas.

O paciente tem plena liberdade de recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma, de sigilo e privacidade

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Dr Luis Antônio Ribeiro Torezan, que pode ser encontrado no endereço Avenida Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 155, 5. Andar, bloco 2, Cerqueira César, São Paulo. Telefone: (11) 26619484 e-mail torezanluis@uol.com.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito do estudo “TRATAMENTO DAS QUERATOSES ACTÍNICAS E DO CAMPO DE CANCERIZAÇÃO CUTÂNEO COM TERAPIA FOTODINÂMICA COM A LUZ DO DIA: AVALIAÇÃO CLÍNICA, HISTOPATOLÓGICA E COM MICROSCOPIA CONFOCAL”.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável *Luis Antônio Ribeiro Torezan* ou pessoa por ele delegada *Raquel Chicre Bandeira de Melo Cavalcante* sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante /representante legal

Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo

Data / /

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

.....

BAIRRO: CIDADE

.....

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

.....

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

.....

BAIRRO: CIDADE:

.....

CEP: TELEFONE: DDD

(.....).

9. REFERÊNCIAS

1. Aghassi D, Anderson RR, González S. Confocal laser microscopic imaging of actinic keratosis. *J AM Acad Dermatol*. 2000;43(1 Pt 1):42-8.
2. Schwartz RA. Premalignant keratocytic neoplasms. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35(2 Pt 1):223-42.
3. Nguyen M, Sandhu SS, Sivamani RK. Clinical utility of daylight photodynamic therapy in the treatment of actinic keratosis - a review of the literature. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2019;12:427-35.
4. Wiegell SR, Haedersdal M, Philipsen PA, et al. Continuous activation of PpIX by daylight is as effective as and less painful than conventional photodynamic therapy for actinic keratoses; a randomized, controlled, single-blinded study. *Br J Dermatol*. 2008;158:740-6.
5. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J AM Acad Dermatol*. 2000;42(1 Pt 2):23-4.
6. Tan JM, Lambie D, Sinnya S, Sahebian A, Soyer HP, Prow TW, et al. Histopathology and reflectance confocal microscopy features of photodamaged skin and actinic keratosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(11):1901-11.
7. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium. *Cancer (Phila)*. 1953;6:963-8.
8. Mukherjee S, Date A, Patravale V, Korting HC, Roeder A, Weindl G. Retinoids in the treatment of photoaging: an overview of clinical efficacy and safety. *Clin Int Aging*. 2006;1(4):327-48
9. Wollina U, Payne CR. Aging well--the role of minimally invasive aesthetic dermatological procedures in women over 65. *J Cosmet Dermatol*. 2010;9(1):50-8.
10. Stockfleth E, Ortonne J-P. Actinic keratosis and field cancerization: New Insights. *Medscape*; 2012.
11. Calzavara-Pinton P, Longo C, Venturini M, Sala R, Pellacani G. Reflectance confocal microscopy for in vivo skin imaging. *Photochem Photobiol*. 2008;84(6):1421-30.
12. Szeimies RM, Torezan L, Niwa A, Valente N, Unger P, Kohl E, Schreml S, Babilas P, Karrer S, Festa-Neto C. Clinical, histopathological and immunohistochemical assessment of human skin field cancerization before and after photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2012;167(1):150-9.
13. Callen JP, Bickers DR, Moy RL. Actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol*. 1997;36(4):650-3.
14. Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C, Callen JP, Glazer SD, Huntley A, 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(5 Pt 1):738-43.
15. Rajadhyaksha M, González S, Zavislan JM, Anderson RR, Webb RH. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin II: advances in

- instrumentation and comparison with histology. *J Invest Dermatol.* 1999;113(3):293-303.
16. de Becker D, McGregor JM, Hughes BR. Guidelines for the management of actinic keratoses. *Br J Dermatol.* 2007;156:222-30.
 17. Wiegell SP, Fabricius S, Stender IM, Berne B, Kroon S, Andersen BL et al. A randomized, multicentre study of directed daylight exposure times of 1½ vs. 2½ h in daylight-mediated photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in patients with multiple thin actinic keratoses of the face and scalp. *Br J Dermatol.* 201;164(5):1083-90.
 18. Quaedvlieg PJF, Tirsi E, Thissen MRTM, Krekels GA. Actinic keratosis: how to differentiate the good from the bad ones? *Eur J Dermatol.* 2006;16(4):335-9.
 19. Ackerman AB, Mones JM. Solar (actinic) keratosis is squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol.* 2006;155(1):9-22.
 20. Braakhuis BJM, Tabor MP, Kimmmer JA, Leemans C, Braakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res.* 2003;63:1727-30.
 21. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium. *Cancer (Phila).* 1953;6:963-8.
 22. Kessel D, Luo Y. Delayed oxidative photodamage induced by photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 1996;64:601-4.
 23. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Koch WM, Sidransky D. Molecular assessment of histopathological staging in squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Eng J Med.* 1995;332:429-35
 24. Freeman M, Vinciullo C, Francis D, et al. A comparison of PDT using topical methyl aminolevulinate with single cycle cryotherapy in patients with actinic keratoses: a prospective, randomized study. *J Dermatol Treatment.* 2003;14:99-106.
 25. Malvehy J, Roldán-Marín R, Iglesias-García P, Díaz A, Puig S. Monitoring treatment of field cancerization with 3% diclofenac sodium 2.5% hyaluronic acid by reflectance confocal microscopy: a histologic correlation. *Acta Dermatol Venereol.* 2015;95(1):45-50.
 26. Calzavara-Pinton P, Hædersdal M, Barber K, Basset-Seguin N, Del Pino Flores ME, Foley P, Galimberti G, Gerritsen R, Gilarbete Y, Ibbotson S, Peris K, Sapro S, Sotiriou E, Torezan L, Ulrich C, Guillemot J, Hendrich J, Szeimies RM. Structured Expert Consensus on Actinic Keratosis: Treatment Algorithm Focusing on Daylight PDT. *J Cutan Med Surg.* 2017;21(1S) 3S-16S.
 27. Werner RN, Stockfleth E, Connolly SM, Correia O, Erdmann R, Foley P, et al. Evidence- and consensus-based (S3) Guidelines for the Treatment of Actinic Keratosis – International League of Dermatological Societies in cooperation with the European Dermatology Forum – Short version. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29(11):2069-79.
 28. Gupta AK, Paquet M. Network meta-analysis of the outcome “participant complete clearance” in nonimmunosuppressed participants of eight

- interventions for actinic keratosis: a follow-up on a Cochrane review. *Br J Dermatol*. 2013;169:250-259.
29. Guimarães COZ, Miot HA, Bagatin E. Five percent 5-fluorouracil in a cream or for superficial peels in the treatment of advanced photoaging of the forearms: a randomized comparative study. *Dermatol Surg*. 2014;40:610-617.
 30. Melo CB, Costa ALF, Marcos GCP, Santos MMS, Marcos GCP. Comparação entre imiquimode 5% creme e peeling químico com solução de Jessner e ácido tricloroacético 35% no tratamento do campo cancerizável da face. *Surg Cosmet Dermatol (Rio de Janeiro)*. 2019;11(4):299-304.
 31. Hohmann J, Evanics F, Berta L, et al. Diterpenoids from *Euphorbia peplus*. *Planta Med*. 2000;66:291-294.
 32. Samorano LP, Torezan LA, Sanches JA. Evaluation of the tolerability and safety of a 0.015% ingenol mebutate gel compared to 5% 5-fluorouracil cream for the treatment of facial actinic keratosis: a prospective randomized trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(9):1822-7.
 33. Pariser DM. Approaches to field therapy for actinic keratoses: relating clinical trial results to real-world practice - a commentary. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2022;15(4):40-43.
 34. Braathen L, Szeimies RM, Basset-Seguín N, Bissonnette R, Foley P, Pariser D, et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for non melanoma skin cancer: an international consensus. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56:12543.
 35. Morton CA, Szeimies R-M, Sidoroff A, Braathen LR. European guidelines for topical photodynamic therapy part 1: treatment delivery and current indications – actinic keratoses, Bowen’s disease, basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27(5):536-44.
 36. Morton CA, Szeimies R-M, Basset-Séguin N, Calzavara-Pinton PG, Gilaberte Y, Hædersdal M, Hofbauer GFL, Hunger RE, Karrer S, Piaserico S, Ulrich C, Wennberg A-M, Braathen LR. European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 2: emerging indications – field cancerization, photorejuvenation and inflammatory/infective dermatoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020;34(1):17-29.
 37. Morton C, Szeimies R-M, Sidoroff A, Wennberg A-M, Basset-Seguín N, Calzavara-Pinton P, Gilaberte Y, Hofbauer G, Hunger R, Karrer S, Lehmann P, Piaserico S, Ulrich C, Braathen L. European Dermatology Forum Guidelines on topical photodynamic therapy. *Eur J Dermatol*. 2015;25(4):296-311.
 38. Torezan L, Niwa ABM, Festa Neto C. Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. *An Bras Dermatol*. 2009;84(5):445-59.
 39. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(Suppl):S23-4.

40. Peng Q, Soler AM, Warloe T, et al. Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Photochem Photobiol B*. 2001;62:140-45.
41. Ruiz-Rodriguez R, Sanz-Sanchez T, Cordoba S. Photodynamic photorejuvenation. *Dermatol Surg*. 2002;28:742-4.
42. Dover JS, Bathia AC, Stewart B, Arndt KA. Topical 5-ALA combined with intense pulsed light in the treatment of photoaging. *Arch Dermatol*. 2005;1247-52.
43. Torezan LAR. *Estudo da pele do campo cancerizável antes e após a terapia fotodinâmica através dos métodos clínicos, histopatológicos e imunohistoquímicos* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2011. doi:10.11606/T.5.2011.tde-23022012-161422.
44. Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg*. 2008;34:610-19.
45. Grinblat BM, Festa Neto C, Sanches Jr JA, Szeimies RM, Oliveira AP, Torezan LAR. Daylight photodynamic therapy for actinic keratoses in São Paulo, Brazil. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2015;31(1):54-6.
46. 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.
47. Horn M, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, et al. Discrimination of actinic keratoses from normal skin with reflectance mode confocal microscopy. *Dermatol Surg*. 2008;34:620-25.
48. González S, Sánchez V, González-Rodríguez A, Parrado A, Ullrich M. Confocal microscopy patterns in nonmelanoma skin cancer and clinical applications. *Actas Dermosifiliogr*. 2014;105:446-58.
49. Braathen LR, Paredes BE, Saksela O, Fritsch C, Gardlo K, Morken T, Frølich KW, Warloe T, Solér AM, Ros AM. Short incubation with methyl aminolevulinate for photodynamic therapy of actinic keratoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009;23(5):550-5.
50. Basset-Seguín N, Ibbotson S, Emtestam L, Tarstedt M, Morton CA, Maroti M, et al. MAL-PDT versus cryotherapy in primary sBCC: results of a 36 months follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2005;19(supp2) 237.
51. Rubel DM, Spelman L, Murrell DF, See JA, Hewitt D, Foley P, Bosc C, Kerob D, Kerrouche N, Wulf HC, Shumack S. Daylight photodynamic therapy with methyl aminolevulinate cream as a convenient, similarly effective, nearly painless alternative to conventional photodynamic therapy in actinic keratosis treatment: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2014;171(5):1164-71.
52. Lacour JP, Ulrich C, Gilaberte Y, Von Felbert V, Basset-Seguín N, Dreno B, Girard C, Redondo P, Serra-Guillen C, Synnerstad I, Tarstedt M, Tsianakas A, Venema AW, Kelleners-Smeets N, Adamski H, Perez-Garcia B, Gerritsen MJ, Leclerc S, Kerrouche N, Szeimies RM. Daylight

- photodynamic therapy with methyl aminolevulinate cream is effective and nearly painless in treating actinic keratoses: a randomised, investigator-blinded, controlled, phase III study throughout Europe. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(12):2342-8.
53. See JA, Shumack S, Murrell DF et al. Consensus recommendations on the use of daylight photodynamic therapy with methyl aminolevulinate cream for actinic keratoses in Australia. *Australas J Dermatol*. 2016;57(3):167-74.
 54. Wiegell SR, Wulf HC, Szeimies RM et al. Daylight photodynamic therapy for actinic keratosis: an international consensus: International Society for Photodynamic Therapy in Dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012;26(6):673-9.
 55. Grinblat B, Galimberti G, Chouela E, Sanclemente G, Lopez M, Alcalá D, Torezan L, Pantoja G. Daylight-mediated photodynamic therapy for actinic damage in Latin America: consensus recommendations. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2016;32(2):81-7.
 56. Grinblat B, Galimberti G, Pantoja G, Sanclemente G, Lopez M, Alcalá D, et al. Feasibility of daylight-mediated photodynamic therapy for actinic keratosis throughout the year in Central and South America: a meteorological study. *Int J Dermatol*. 2016;55(9):488-93.
 57. Rezze GG, Casagrande J. *Atlas de microscopia confocal na dermatologia*. São Paulo: Editora Lemar; 2016.
 58. Nehal KS, Gareau D, Rajadhyaksha M. Skin imaging with reflectance confocal microscopy. *Semin Cutan Med Surg*. 2008;27(1):37-43.
 59. Ulrich M, Krueger-Corcoran D, Roewert-Huber J, Sterry W, Stockfleth E, Astner S. Reflectance confocal microscopy for noninvasive monitoring of therapy and detection of subclinical actinic keratoses. *Dermatology*. 2010;220(1):15-24.
 60. Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg*. 2008;34(5):610-9.
 61. Ishioka P, Maia M, Rodrigues SB, Lellis RF, Hirata SH. In vivo Confocal Laser Microscopy for monitoring of actinic keratosis treatment: a comparison with histopathologic assessment after treatment with topical 5% 5-fluorouracil. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2018;32(7):1155-63.
 62. Tan L, Zhang Y, Huang J, Tang Z, Tong X, Gao L, Zeng J. In vivo reflectance confocal microscopy for monitoring actinic keratosis treated with 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Skin Res Technol*. 2021;27(5):871-9.
 63. Nagata G, Santana T, Queiroz A, Caraméz RH, Trierveiler M. Evaluation of epithelial dysplasia adjacent to lip squamous cell carcinoma indicates that the degree of dysplasia is not associated with the occurrence of invasive carcinoma in this site. *J Cutan Pathol*. 2018;45(9):647-51.
 64. Jafari SMS, Timchik T, Hunger RE. In vivo confocal microscopy efficacy assessment of daylight photodynamic therapy in actinic keratosis patients. *Br J Dermatol*. 2016;175(2):375-81.

65. Shahriari N, Grant-Kels JM, Rabinovitz H, Oliviero M, Scope A. Reflectance confocal microscopy: Principles, basic terminology, clinical indications, limitations, and practical considerations. *J Am Acad Dermatol*. 2021;84(1):1-14.
66. Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, et al. Photodynamic therapy using methyl aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: a prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47:258-62.
67. Wulf HC, Pavel S, Stender I, Bakker-Wensveen CA. Topical photodynamic therapy for prevention of new skin lesions in renal transplant recipients. *Acta Dermatol Venereol*. 2006;86:25-8.
68. Borsari S, Pampena R, Lallas A, et al. Clinical indications for use of reflectance confocal microscopy for skin cancer diagnosis. *JAMA Dermatol*. 2016;152(10):1093-8.
69. Longo C, Galimberti M, De Pace B, Pellacani G, Bencini PL. Laser skin rejuvenation: epidermal changes and collagen remodeling evaluated by in vivo confocal microscopy. *Lasers Med Sci*. 2013;28(3):769-76.
70. Guida S, Galimberti MG, Bencini M, Pellacani G, Bencini PL. Treatment of striae distensae with non-ablative fractional laser: clinical and in vivo microscopic documentation of treatment efficacy. *Lasers Med Sci*. 2018;33(1):75-8.
71. da Silva Sousa AC, Costa Campos MA, Baptista AM, Vasconcelos Noronha Menezes NMB, Daylight photodynamic therapy in 25 patients with actinic keratosis and evaluation of efficacy by confocal microscopy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;25:414-416.
72. Gracia-Cazaña T, Malinis AJG, Almagro-Sánchez M, Linares DP, Gilaberte Y. Sequential daylight photodynamic therapy and ingenol mebutate versus 2 sessions of daylight photodynamic therapy for the treatment of actinic keratosis: an observational, prospective, comparative study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;27:34-38.

APÊNDICE

Apêndice A – Dados dos pacientes

id num	idade	sexo	fototipo
1	85	masculino	III
2	87	masculino	III
3	70	feminino	II
4	77	feminino	II
5	86	masculino	III
6	84	masculino	III
7	91	feminino	II
8	56	feminino	II
9	74	masculino	II
10	62	feminino	III
11	66	feminino	II
12	62	feminino	II
13	84	masculino	III
14	87	masculino	III
15	73	masculino	III
16	79	feminino	III
17	77	feminino	II
18	80	feminino	III
19	90	feminino	II
20	94	masculino	III
21	78	masculino	III
22	85	masculino	II
23	85	feminino	II
24	81	feminino	III