

ALESSANDRA HADDAD

***LUZ INTENSA PULSADA E ÁCIDO 5 AMINOLEVULÍNICO
NO TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS E
FOTOENVELHECIMENTO FACIAL***

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

**São Paulo
2010**

ALESSANDRA HADDAD

***LUZ INTENSA PULSADA E ÁCIDO 5 AMINOLEVULÍNICO
NO TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS E
FOTOENVELHECIMENTO FACIAL***

Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo, para obtenção do título de
Doutor em Ciências.

Orientador : Prof. Dr. IVAN DUNSHEE ABRANCHES OLIVEIRA SANTOS

Coorientadores : Prof. Dr. ALFREDO GRAGNANI FILHO

Prof. Dr. GAL MOREIRA DINI

**São Paulo
2010**

Haddad, Alessandra.

Luz intensa pulsada e ácido 5 aminolevulínico no tratamento de queratoses actínicas e fotoenvelhecimento facial. Alessandra Haddad. -- São Paulo, 2010.

xxi, 178.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Paulo. Programa de Pós-graduação em Cirurgia Plástica.

Título em inglês: *Intense pulsed light and aminolevulinic acid in the treatment of photodamage and actinic kearatosis.*

1. Fotoenvelhecimento da pele; 2. Ceratose Actínica; 3. Terapia Fotodinâmica; 4. Ácido Aminolevulínico; 5. Adulto; 6. Humano.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIRURGIA PLÁSTICA**

COORDENADOR: PROF. DR. MIGUEL SABINO NETO

Ao meu filho *Lucas*, pelo grande sentido
que dá a minha vida. Pela motivação que
sinto ao vê-lo sorrir ou olhar-me com
seus lindos olhos azuis.

Aos meus pais *Carlos* e *Hughette*, pelos valores
passados, pela educação, amor e apoio incondicionais
em todo e qualquer passo da minha jornada.

Aos meus irmãos *Natalie* e *Leonardo*, por
reforçarem em mim a noção e a importância
de que, ao lado de nossos pais e filhos,
somos uma verdadeira família.

À Professora Doutora **LYDIA MASA KO FERREIRA**, Professora Titular da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia e Chefe do Departamento de Cirurgia UNIFESP-EPM, pela confiança em minha condução do setor de Cosmiatria e *Laser* da Disciplina de Cirurgia Plástica, o que me motivou a seguir na carreira acadêmica, pelo exemplo de dinamismo e pulso na condução de seus objetivos, pelo estímulo constante à formação científica de seus pares.

Ao Professor Doutor **MIGUEL SABINO NETO**, Coordenador da Pós-Graduação da Cirurgia Plástica, Chefe do Setor de Reconstrução Mamária da Disciplina de Cirurgia Plástica, pelo equilíbrio e seriedade com que conduz sua atividade científica e médica. Pelo apoio e amizade irrestritas, ao longo destes 20 anos de história acadêmica.

Ao Professor Doutor **IVAN DUNSHEE ABRANCHES DE OLIVEIRA SANTOS**, Professor Livre Docente e Chefe do Setor de Tumores e Chefe da Disciplina de Cirurgia Plástica do Departamento de Cirurgia da UNIFESP-EPM, pela sua atenção e disponibilidade na orientação, não só neste trabalho, mas ao longo de toda nossa jornada profissional, desde a vida acadêmica. Pelo ser humano, pelo professor, médico, chefe, íntegro, justo, ponderado e digno no trato com seus pares e pacientes. Com humildade,

considero-o meu verdadeiro mestre, meu pai na medicina, exemplo a ser seguido hoje e sempre.

Ao Professor Doutor *ALFREDO GRAGNANI FILHO*, Professor Afiliado da Disciplina de Cirurgia Plástica da UNIFESP-EPM, Coordenador Técnico da Unidade de Tratamento de Queimaduras da Disciplina de Cirurgia Plástica/Hospital São Paulo, Chefe do Laboratório de Cultura de Células da Disciplina de Cirurgia Plástica UNIFESP-EPM por descobrir em sua pessoa, ao longo do curso de doutorado, um apoio certo, firme, e preciso que, realmente, muito nos auxiliou. Pela presteza de suas correções e observações, pelo bom humor, otimismo e disponibilidade, nossos agradecimentos.

Ao Professor Doutor *GAL MOREIRA DINI*, Professor Afiliado e Chefe do Setor de Rinoplastia da Disciplina Cirurgia Plástica - UNIFESP-EPM, pela disponibilidade em mergulhar em um assunto novo, com tal empenho, que somente a amizade pode explicar. Pelas palavras de apoio, presença, e pela cumplicidade de idéias e objetivos.

Ao Professor Doutor *NILCEO MICHALANY FILHO* por todo suporte anatomopatológico deste estudo, pela paciência nas revisões e pelo treinamento em reconhecer, atrás das lentes do microscópio, as alterações clínicas dos pacientes estudados.

Ao **GIANMARIA COMINATO FILHO** pelo apoio, parceria, afeto e dedicação ao longo deste trabalho.

A Doutora **SOLANGE PISTORI TEIXEIRA**, pela participação como observadora e amiga.

A **HELGA FERNANDES DE OLIVEIRA** por toda colaboração no agendamento dos pacientes, na aquisição e organização das fotografias. Por facilitar meu dia a dia nos últimos anos, com dedicação ímpar, ajudando a conciliar a vida acadêmica e a vida privada.

À **VANINA TUCCI VIEGAS** e **MARIA LUIZA C RAMOS** pós-graduandas da cirurgia plástica da UNIFESP-EPM, pelo auxílio inestimável na formação deste trabalho e pela amizade especial.

Aos Doutores **VANESSA RESENDE**, **CAROLINA PAIVA** e **MARCELO AQUINO**, pelos muitos sábados que nos ajudaram a conduzir o estudo, pelo carinho com os pacientes e por acreditar em nosso objetivo.

A todos os **PÓS-GRADUANDOS** e **RESIDENTES** da Disciplina de Cirurgia Plástica da UNIFESP-EPM, pela solidariedade e pelo companheirismo, dividindo a longa jornada de um programa de pós-graduação.

Às secretárias **SANDRA DA SILVA**, **SILVANA S. OLIVEIRA** e **MARTA REJANE DOS REIS DA SILVA**, pelo carinho, apoio e ajuda nos momentos de dificuldade ao longo do curso.

Ao Sr **JIMMY ADANS COSTA PALANDI**, pelo tratamento estatístico, didático e eficiente deste trabalho.

À **DUSA PHARMACEUTICALS**, representada pelo Dr **MARCUS STUART**, pelo fornecimento do ácido aminolevulínico, pelo auxílio no desenho do estudo, pela assessoria ao longo de sua condução e por acreditar no potencial da pesquisa no Brasil.

À **FABINJECT LTDA**, pela disponibilidade no empréstimo do Freddo[®] que muito auxiliou no manejo do conforto dos pacientes.

À **STIEFEL LABORATÓRIOS**, pela doação dos filtros solares, gel de limpeza e hidratantes para todos pacientes, durante o período do estudo.

Às **PACIENTES** que participaram deste estudo, pela boa vontade e carinho com que compareceram às avaliações e por dispensarem o seu tempo à causa nobre da ciência.

À **UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO - ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA (UNIFESP-EPM)**, minha casa há mais de 25 anos.

*Existe perigo na mudança arrojada, mas maior
ainda é o perigo do conservadorismo cego.*

(Henry George)

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	iv
AGRADECIMENTOS	v
LISTAS	xi
RESUMO	XXI
1 INTRODUÇÃO.....	22
2 OBJETIVO.....	27
3 LITERATURA	29
4 MÉTODOS.....	68
5 RESULTADOS.....	87
6 DISCUSSÃO	110
7 CONCLUSÕES	140
REFERÊNCIAS.....	142
NORMAS ADOTADAS	157
ABSTRACT	159
APÊNDICES	161
ANEXOS	170
FONTES CONSULTADAS	176

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Biossíntese de heme e metabolismo do ácido 5 aminolevulínico (5-ALA) em protoporfirina IX (PpIX)..	37
FIGURA 2.	Gráfico de picos e absorção do ALA dentro da banda de Soret e picos menores na Banda Q	43
FIGURA 3.	Queratoses actínicas numeradas de um a cinco e registradas fotograficamente.....	76
FIGURA 4.	Queratose actínica numerada, demonstrando procedimento de biopsia por <i>punch</i> , três milímetros (mm) antes do tratamento	77
FIGURA 5.	Padronização do material para anatomopatológico do primeiro paciente	78
FIGURA 6.	<i>Software Photofinder Mediscope</i> acoplado à câmera <i>Cannon Power Shot G6</i> de alta definição, com <i>flash</i> e rebatedores embutidos, e aparato de posicionamento do paciente	80
FIGURA 7.	Paciente ASS, 83 anos, submetido ao tratamento com luz intensa pulsada 18J duas passagens (Grupo Controle). (A) Pré-Tratamento; (B) Oito semanas Pós-Tratamento	90

FIGURA 8.	Paciente NCR, 75 anos, após aplicação de luz intensa pulsada 18J duas passagens em detalhe (A) Pré-Tratamento, (B) 48 horas; (C) 12 semanas	91
FIGURA 9.	Paciente AMB, 79 anos, tratada com ALA incubado por duas horas ativado por luz intensa pulsada 16J, duas passagens. (A) Pré-Tratamento; (B) Pós oito semanas ...	92
FIGURA 10.	Paciente ECS, 85 anos, submetida ao tratamento com ALA, ativado por luz intensa pulsada a 16J, duas passagens em detalhe. (A) Pré; (B) 48 horas após; (C) Oito semanas após observar área de biopsia Pós-Tratamento recente, na região malar esquerda	93
FIGURA 11.	Paciente ESL, 71 anos, submetido à aplicação de ALA incubado por duas horas e ativado por LIP a 18J, duas passagens: (A) Pré; (B) Oito semanas após o tratamento	95
FIGURA 12.	Paciente ESL, 71 anos, em detalhe, submetido à aplicação de ALA incubado por duas horas e ativado por LIP a 18J, duas passagens: (A) Pré; (B) Oito semanas após o tratamento	96
FIGURA 13.	Paciente ESL, 71 anos, detalhe da diferença de qualidade de pele entre área tratada (face) e área não tratada (cervical)	97

FIGURA 14.	Paciente MAMM, 76 anos, (A) Pré-Tratamento, (B) 48 horas; (C) 12 semanas após	98
FIGURA 15.	Representação gráfica da TABELA 7	102
FIGURA 16.	Comparação entre as médias de queratoses actínicas por paciente em cada um dos grupos	103
FIGURA 17.	Comparação entre os grupos na tolerância ao tratamento e na satisfação relatada pelos pacientes	104
FIGURA 18.	Paciente AT, 73 anos, Grupo Controle: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas. Coloração hematoxilina-eosina (aumento 400 vezes)	107
FIGURA 19.	Paciente HC, 66 anos, submetida ao Grupo-Tratamento I: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas. Coloração hematoxilina-eosina (aumento 400 vezes)	108
FIGURA 20.	Paciente JV, 77 anos, submetido ao Grupo-Tratamento II: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas (aumento de 400 vezes).....	109

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Comparação de Pré e Pós no Grupo Controle (Observador 1)	89
TABELA 2.	Comparação de Pré e Pós no Grupo Controle (Observador 2)	89
TABELA 3.	Comparação de Pré e Pós no Grupo I (Observador 1)	92
TABELA 4.	Comparação de Pré e Pós no Grupo I (Observador 2)	93
TABELA 5.	Comparação de Pré e Pós no Grupo II (Observador 1) ...	94
TABELA 6.	Comparação de Pré e Pós no Grupo II (Observador 2) ...	99
TABELA 7.	Comparação dos Grupos no Observador 1	101
TABELA 8.	p -valores da TABELA 7	103
TABELA 9.	Compara Pré e Pós em anátomo para atipia	105
TABELA 10.	Compara Pré e Pós, em anátomo, para perda de polaridade	106
TABELA 11.	Testes de comparação interobservadores	166
TABELA 12.	Concordância dos observadores nos domínios	167

TABELA 13. Comparação dos grupos no Observador 2	168
TABELA 14. p -Valores da TABELA 13	168
TABELA 15. Comparação entre grupos para resposta ao tratamento - Tolerância à TFD	169
TABELA 16. p -Valores da TABELA 16	169

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1.	Usos da terapia fotodinâmica (TFD)	47
QUADRO 2.	Terapia fotodinâmica (TFD) com ácido aminolevulínico (ALA) no tratamento das queratoses actínicas	52
QUADRO 3.	Escala de Griffiths	73
QUADRO 4.	Critérios estabelecidos e pontuação para avaliação anatomopatológica das queratoses actínicas antes e após o tratamento, segundo o médico patologista	79
QUADRO 5.	Escala de pontuação para tolerabilidade a terapia fotodinâmica (TFD)	84
QUADRO 6.	Classificação de pele, segundo FITZPATRICK (1988)	162
QUADRO 7.	Randomização dos pacientes nos grupos de pesquisa	165

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ACRÔNIMOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
EPM	Escola Paulista de Medicina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
INCA	Instituto Nacional do Câncer
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i> (Pacote Estatístico para as Ciências Sociais)
UNIFESP	Universidade Federal de São Paulo

ACRÔNIMOS CIENTÍFICOS

5-ALA/ALA	Ácido 5 Aminolevulínico
5-FU	5 Fluorouracil
CBC	Carcinoma Basocelular
CEC	Carcinoma Espinocelular
IC	Índice de Confiança
KIN	<i>Keratinocytic Intraepithelial Neoplasia</i> (Neoplasia Queratinocítica Intraepidérmica)

LASER	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i> (Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação)
LIP	Luz Intensa Pulsada
MAL	Ácido Metil Aminolevulínico
PDL	<i>Pulsed Dye Laser (Laser Pulsado de Corante)</i>
pH	potencial hidrogeniônico
PpIX	Protopofirina IX
TFD	Terapia Fotodinâmica
UVA	Raios Ultravioleta A

SÍMBOLOS E UNIDADES DE MEDIDA

(-x-)	Impossibilidade de utilizar-se a estatística
%	Porcentagem
±	mais ou menos
®	Marca Registrada
(*)	Significância estatística
<	menor
>	maior
cm	centímetro
J	Medida de energia Joules
J/cm²	Medida de energia Joules por centímetro quadrado

mg	miligrama
min	minutos
ml	mililitro
mm	milímetro (s)
ms	milissegundo
mW	microwatt
µg	micrograma
n	amostra
nm	nanômetro
n°	número
W	Watt

RESUMO

RESUMO

INTRODUÇÃO: Rejuvenescimento fotodinâmico refere-se ao tratamento do fotoenvelhecimento e das queratoses actínicas. **OBJETIVO:** Avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica com ácido aminolevulínico a 20% (ALA) — tópico e luz intensa pulsada no tratamento das queratoses actínicas e do fotoenvelhecimento facial. **MÉTODOS:** Quarenta e três pacientes com idade média 71,3 anos, fototipos de pele I e IV divididos em: Controle (aplicação LIP/18J); Tratamento-I (ALA incubado por duas horas; ativado por duas passagens de LIP/16J); Tratamento-II (ALA; duas passagens de LIP/18J), foram avaliados por dois observadores, clínica e fotograficamente, no Pré, 48 horas, 8 e 12 semanas após, pela escala de Griffiths. Cinco queratoses actínicas foram marcadas como alvo para contagem no Pós-Tratamento, sendo uma submetida à biopsia antes e depois do tratamento, para avaliação anatomopatológica de atipias e perda de polaridade. **RESULTADOS:** Testes não-paramétricos mostraram melhora significativa (rugosidade, alterações texturais, pigmentação irregular) nos Grupos-Tratamento-I/II. No Grupo Controle, significância apenas para alterações pigmentares. Queratoses actínicas tiveram redução maior nos Grupos II (68, 4%) e I (51,2%) em relação ao Controle (5%). Houve redução significativa da gravidade das atipias e perda de polaridade nos Grupos-TratamentoI/II em relação ao controle. **CONCLUSÃO:** A terapia fotodinâmica, com ácido 5aminolevulínico e luz intensa pulsada, mostrou-se efetiva no tratamento do fotoenvelhecimento e das queratoses actínicas faciais. O tratamento das queratoses actínicas foi mais efetivo com uso de maior energia.

PALAVRAS-CHAVE: 1. Fotoenvelhecimento da pele; 2. Ceratose Actínica; 3. Terapia Fotodinâmica; 4. Ácido Aminolevulínico; 5. Adulto; 6. Humano.

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Fotoenvelhecimento é o termo coletivo para todos os efeitos negativos da radiação ultravioleta sobre a pele (WAIBEL, 2009), que passa a apresentar em graus variados: rugas finas e profundas, aspereza, ressecamento, flacidez, aumento no tamanho dos poros, pigmentação irregular e aumento das teleangiectasias.

No estágio final do fotoenvelhecimento, as queratoses actínicas, também conhecidas como queratoses solares ou neoplasia intraepidérmica queratinocítica, figuram como marcador do dano actínico imposto à pele. Descritas por Dubreuilh, em 1898 (GOLD, 2007), são as lesões de pele mais comuns nos indivíduos de pele branca. Em geral, são caracterizadas por uma pápula ou mácula de coloração castanho-avermelhada ou amarelada, com presença de escamas secas duras e pontiagudas aderidas à base, e são facilmente palpáveis como regiões de textura áspera sobre a superfície cutânea, podendo ser isoladas ou confluentes, variando de tamanho desde milímetros até centímetros de diâmetro. Surgem em áreas expostas à radiação solar, sendo os locais mais comuns a face, o couro cabeludo, o pescoço, o tronco, as orelhas, os antebraços e o dorso da mão (ROSSI, MORI, LOTTI, 2007).

Muitos pacientes acumulam significativas doses de radiação ultravioleta em sua pele ao longo de suas atividades profissionais ou recreacionais conciliadas à questão ambiental, em que a redução da camada de ozônio na atmosfera aumenta a incidência e intensidade dos raios na superfície terrestre, refletindo no aumento significativo da incidência do câncer de pele e das lesões relacionadas ao dano solar. E, embora ainda não se tenha um consenso sobre a taxa de transformação da queratose actínica em carcinoma espinocelular (CEC), estima-se que atinja, aproximadamente, de 0,1 a 20% ao ano. Muitos dermatopatologistas consideram que a atipia intraepidérmica leve, iniciada na queratose actínica, venha a progredir para uma atipia marcante que culminará em um CEC, justificando-se sua abordagem e tratamento como profilaxia do câncer de pele não-melanoma (DODSON *et al.*, 1991; COCKRELL, 2000; GLOGAU, 2000; LOBER, LOBER, ACCOLA, 2000).

O ácido 5 aminolevulínico (5-ALA) a 20% foi aprovado, em 1999 nos Estados Unidos, pelo *Food and Drug Administration (FDA)*, para o tratamento de queratoses actínicas. É um pró-agente fotossensibilizante que, após aplicação tópica, transforma-se em protoporfirina IX (PpIX) que impregna células de lesões pré-cancerígenas, tumores e glândulas sebáceas, com especial permeabilidade nos queratinócitos anormais, lesados pela

ação solar. A PpIX, ativada pela luz visível, libera a cadeia de reações fototóxicas, responsáveis pelos resultados clínicos. Tradicionalmente, o tratamento para as queratoses actínicas tem sido realizado por crioterapia, curetagem e 5 Fluorouracil (5-FU) tópico.

RUIZ RODRIGUEZ, SANZ-SÁNCHEZ, CÓRDOBA (2002) publicou o primeiro estudo associando ALA à luz intensa pulsada (LIP) e obteve melhora nos sinais de fotoenvelhecimento, denominando o processo de rejuvenescimento fotodinâmico.

ALSTER, TANZI, WELSH (2005) avaliaram a eficácia da terapia foto dinâmica com LIP e ALA, comparativamente A LIP no tratamento de hemifaces de dez pacientes. A melhora clínica foi maior no lado tratado com ALA associado à LIP, concluindo que essa combinação era segura e mais efetiva do que a LIP isolada, na abordagem do envelhecimento facial.

Embora o uso do 5-FU tópico seja considerado padrão ouro para queratoses actínicas difusas (TAUB, 2004), novos agentes de uso tópico tem sido introduzidos como *Imiquimod*, que é um indutor de interferon alfa, apresentando taxas de cura das queratoses de 82% (SALASCHE, LEVINE, MORRISON, 2002). Já o diclofenaco sódico (WOLF *et al.*, 2001), que é bem tolerado pelos pacientes, requer maior janela terapêutica de 20 a 24

semanas, porém, sem apresentar a mesma eficiência quando comparado ao 5-FU (SMITH, MORHENN, PIACQUADIO, 2006).

O tema escolhido para este estudo justifica-se pela abordagem e tratamento das queratoses actínicas, enquanto profilaxia do câncer de pele, acrescido ao benefício obtido para a saúde integral da pele, assim como de seu aspecto estético, com o tratamento conjunto do fotoenvelhecimento, tendo como objetivo avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica com ALA a 20%, tópico e LIP no tratamento das queratoses actínicas e do fotoenvelhecimento facial.

OBJETIVO

2 OBJETIVO

Avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica com ácido aminolevulínico (ALA) a 20%, tópico e luz intensa pulsada (LIP) no tratamento das queratoses actínicas e do fotoenvelhecimento facial.

LITERATURA

3 LITERATURA

3.1 FOTOTERAPIA: CONCEITO

O conceito de fototerapia não é uma idéia recente. Civilizações antigas no Egito, Índia e Grécia usavam psoralenos naturais encontrados nas plantas para o tratamento de desordens pigmentares. O 8 metoxipsoraleno foi o principal componente isolado de plantas específicas, usado no tratamento de psoríase e vitiligo (GOLD, 2007).

O primeiro relato de terapia fotodinâmica (TFD) foi feito por RAAB (1900), observando que o *Paramecium Caudatum*, exposto ao corante laranja acridina em presença de luz, morria em duas horas e nada acontecia caso fosse isoladamente exposto à luz ou ao corante.

VON TAPPEINER & JODBAUER (1904), no Instituto de Farmacologia de Munique, foram os primeiros a descrever o termo **efeito fotodinâmico** ao demonstrar a reação de consumo do oxigênio, nos protozoários tratados com corante de anilina e submetidos à fluorescência.

JESIONEK & VON TAPPEINER (1905) descreveram experiência com eosina tópica a 5%, como agente fotossensibilizante com luz artificial para tratar carcinomas, lupus e condilomas acuminados em humanos por meio

da aplicação tópica e intralesional em três pacientes, obtendo resultados favoráveis. Esse parece ser o primeiro relato de TFD em pacientes, nos moldes do que é realizado atualmente.

As propriedades biológicas da hematoporfirina foram inicialmente investigadas por HAUSMANN (1911) em Viena, utilizando-se de ratos e porcos. Demonstrou que a hematoporfirina, ativada pela luz, era capaz de fotossensibilizar esses animais por dias ou semanas. Anotou detalhadamente os sinais e sintomas de fotossensibilidade aguda e crônica, comprovando o efeito sistêmico desse agente.

MEYER-BERTZ (1913) autoinoculou 200 miligramas (mg) de Hp intravenosa e expôs-se à luz por alguns minutos. Observou o aparecimento de dor intensa e de edema significativo nas áreas expostas à luz, que persistiram por dois meses.

FIGGE, WEILAND, MANGANIELLO (1948) confirmaram a capacidade de retenção seletiva da hematoporfirina em neoplasias malignas. Demonstraram fluorescência vermelha, característica de tecidos neoplásicos, ao promover a iluminação com lâmpada de *Wood*, estabelecendo a utilidade desse recurso para visualização e delineamento de tumores.

Após esses relatos iniciais ficou claro que a TFD baseava-se em um tripé: fonte de luz aplicada, agente fotossensibilizante e nas reações teciduais ou aplicações clínicas, sendo que a literatura tem se desenvolvido nessas três direções.

3.2 PRINCÍPIOS BÁSICOS

O agente fotossensibilizante, quando exposto a energia da luz, absorve-a aumentando a energia de seus elétrons e adquirindo a forma excitada. O agente excitado pode retornar ao seu estado original, emitindo fluorescência ou por conversão de elétron, podendo atingir um estado em que tem sua meia vida prolongada: estado *triplet* (molécula com um elétron a mais) (MALIK & LUGACI, 1987).

A presença de oxigênio tecidual é fundamental para que haja a citotoxicidade por foto-oxidação, em sua ausência ou em concentrações menores que 2%, as células são resistentes aos efeitos letais da TFD. Por esse motivo, áreas de hipóxia do tecido neoplásico podem limitar a realização da TFD (HENDERSON & FINGAR, 1989).

A interação da molécula no estado *triplet*, com os tecidos subjacentes, resulta em dois tipos de reação foto-oxidativa (KALKA, MERK, MUKHTAR, 2000).

A reação tipo I envolve transferência de elétron ou de hidrogênio produzindo formas intermediárias que podem reagir com oxigênio para formar peróxidos, superóxidos e radicais hidroxilas, que são espécies altamente reativas de oxigênio. Essas formas intermediárias, devido ao seu elevado poder oxidante, são responsáveis pelo desencadeamento de reações oxidativas ligadas à liberação de radicais livres.

A reação tipo II é mediada pelo processo de transferência de energia. No fotossensibilizante, em estado excitado, a energia do oxigênio pode ser transferida para o oxigênio molecular que se transforma em oxigênio *singlet* (espécie altamente instável e reativa que reage com regiões ricas em elétrons das biomoléculas). A interação altamente eficiente entre oxigênio *singlet* e as diversas biomoléculas é, em grande parte, responsável pela citotoxicidade, resultando em lesões teciduais diretas como necrose e apoptose, ou indiretas via dano vascular adjacente.

O efeito vascular indireto ocorre pelo estímulo de mediadores inflamatórios, com ativação de plaquetas e leucócitos polimorfonucleares, e

estímulo da liberação de agentes agregadores que formam trombos nas vênulas, provocando vasoconstrição arteriolar e estase venosa, reduzindo o fluxo sanguíneo no tecido alvo, provocando sua morte por ausência de aporte nutricional (SHARMANN, ALLEN, VAN LIER, 2000; KALKA, MERK, MUKHTAR, 2000).

Ao transferir energia, o fotossensibilizante excitado retorna ao seu estado basal, podendo aceitar novos fótons ou degradar-se (consumir-se) num processo chamado de fotobranqueamento (ERICSON *et al.*, 2004).

3.3 AGENTE FOTOSSENSIBILIZANTE

DOUGHERTY *et al.* (1978) apresentaram os primeiros resultados do uso sistêmico de derivado da hematoporfirina purificada, submetida à exposição pela luz vermelha no tratamento de tumores, obtendo sucesso, passando a TFD sistêmica a ser usada no tratamento de doenças oncológicas e não-oncológicas. No entanto, a fotossensibilidade cutânea residual, por até seis semanas, restringia sua aplicação em larga escala.

O mecanismo pelo qual o agente localiza-se, preferencialmente nos tumores, não é conhecido em detalhes, mas autores como BÖHMER & MORSTYN (1985) atribuíram a retenção prolongada ao aumento da

permeabilidade e número de vasos sanguíneos, drenagem linfática pobre ou ausente nos tecidos neoplásicos, baixo potencial hidrogeniônico (pH) do fluído intersticial que facilitavam a biodistribuição dos agentes fotossensibilizantes, aumentando seu caráter lipofílico e sua captação pelos tecidos alvo. Além desses fatores, a estrutura intersticial anormal do tumor, caracterizada por espaços intersticiais alargados, e a presença de macrófagos que funcionavam como armadilhas para os fotossensibilizantes hidrofóbicos, pareciam otimizar a seletividade desses agentes (MOAN, 1990).

A indução da fotossensibilidade do ácido aminolevulínico (ALA) *in vitro* foi primeiramente descrita por MALIK & LUGACI (1987), submetendo células eritroleucêmicas e expondo-as à luz não coerente.

A qualidade do agente fotossensibilizante é importante para eficácia da TFD, o agente ideal deveria apresentar pureza química, capacidade de localizar o tecido neoplásico seletivamente, curto intervalo de tempo entre a administração da droga e o seu máximo acúmulo no tecido alvo, rápida remoção dos tecidos normais, ativação por comprimentos de onda, dentro do espectro de luz visível, alta capacidade de gerar oxigênio *singlet*, e ausência de toxicidade no escuro (MOAN, 1990; ASH & BROWN, 1993).

3.4 AGENTES FOTOSSENSIBILIZANTES TÓPICOS

KENNEDY, POTIER, PROSS (1990) introduziram o primeiro derivado tópico de porfirina, conhecido como ALA. Essa pró-droga fotossensibilizante tinha a capacidade de penetrar no estrato córneo da epiderme, sendo absorvida pelas células com dano actínico, células de câncer de pele não-melanoma, e células da unidade pilo sebácea. Os autores descreveram a reação fotodinâmica do ALA; uma vez incorporado à célula alvo, o ALA converte-se a uma forma ativa — a protoporfirina IX (PpIX). O ALA não é fotoativo, é considerado pró-droga, porém, demonstra uma preferência pelo acúmulo intracelular nas células tumorais e, na mitocôndria, na qual são transformados em PpIX que é o agente fotossensibilizante propriamente dito. Na ausência de irradiação é metabolizado em 24 a 48 horas, tornando-se inativo. Em seu estudo trataram carcinomas e queratose actínica, obtendo 90% de resposta completa com tratamento único.

O ALA é sintetizado a partir da condensação enzimática de glicina e succinil coenzima A, por meio da ação do ALA sintetase, enzima localizado na membrana mitocondrial interna, que exerce a principal função regulatória da via biossintética do heme (PENG *et al.* 1997a). Outros passos na mitocôndria e na membrana plasmática ocorrem, resultando na formação da PpIX — potente agente fotossensibilizante que, em presença

do ferro e da enzima ferroquelatase, é quelado para forma heme, ligadora de oxigênio na hemoglobina.

A via biossintética do heme é parcialmente regulada pela disponibilidade do substrato e pela inibição da ALA-sintetase, por *feedback* negativo a partir do heme produzido. A administração do ALA exógeno ultrapassa a etapa inicial da via biossintética do heme, levando ao aumento da produção normal de PpIX. Esse fotossensibilizante acumula-se nos tumores, devido ao perfil enzimático alterado nesses tecidos, respondendo pela especificidade seletiva da TFD (PENG *et al.*, 1997b) (FIGURA 1).

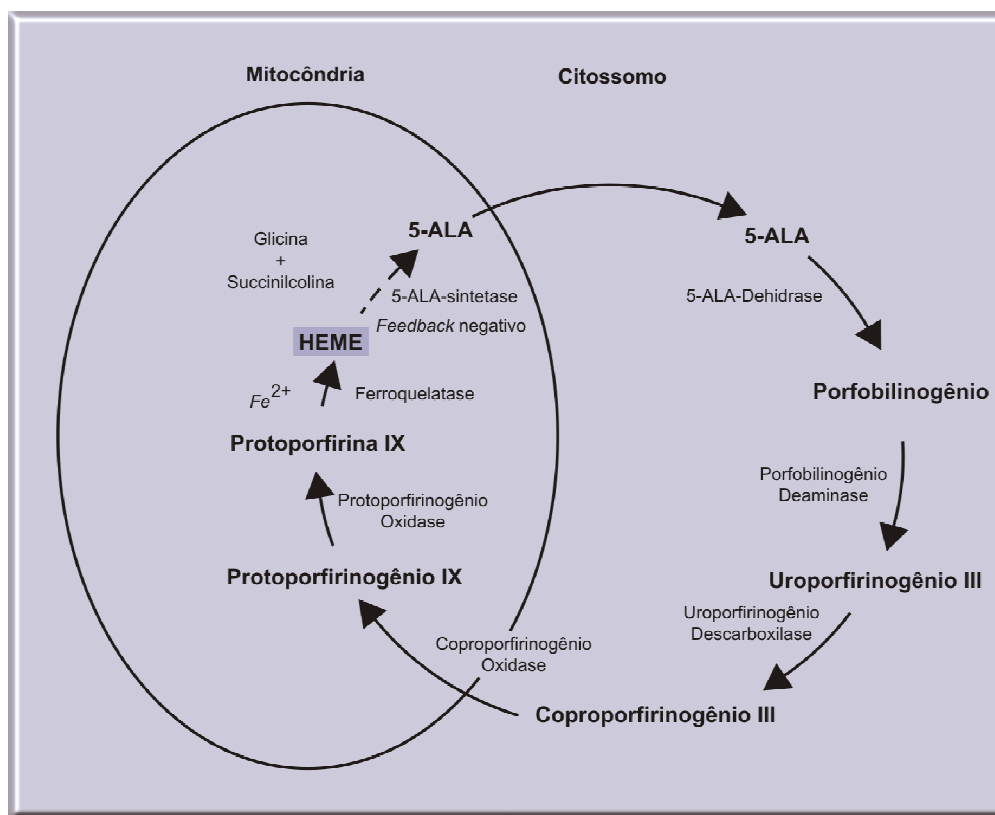


FIGURA 1. Biossíntese de heme e metabolismo do ácido 5 aminolevulínico (5-ALA) em protoporfirina IX (PpIX).

FONTE: Adaptado, pela pesquisadora, de GAHLEN *et al.* (2000).

Derivados éster-ALA lipofílicos mostraram fluorescência mais intensa e maior seletividade tumoral que o ALA hidrofílico (PENG *et al.*, 1997a). A TFD com ácido metil aminolevulínico (MAL) resultou em taxas maiores de regressão de carcinoma basocelular (CBC) nodular, indicando que esse éster poderia ser útil para a ablação de tumores espessos e não responsivos ao ALA não-esterificado (DOUGHERTY *et al.*, 1978).

DE ROSA & BENTLEY (2000) ressaltaram que o caráter hidrofílico da molécula de ALA, bem como a camada córnea intacta, pareciam ser limitantes para a penetração adequada do ALA, e citaram algumas manobras para otimizar a TFD com ALA. Essas manobras incluíam diferentes composições do veículo, incorporação do ativo em vetores como lipossomas, alterações na permeabilidade cutânea, citando métodos físicos como a iontoforese e ultrassom ou, ainda, a adição de quelantes de ferro como desferroxiamina. Confirmaram que a exposição do ALA a 10% associado a 3% de ácido etilenodiamino tetra-acético e dimetilsulfóxido a 20% em emulsão óleo/água, submetida à irradiação de luz vermelha a 476 nanômetros (nm), aumentava a penetração *in vitro* e *in vivo* do ALA em peles de ratos sem pelo (*hairless mice*) (DE ROSA *et al.*, 2000).

DONNELLY, MCCARRON, WOOLFSON (2005) reforçaram a teoria de que o sucesso da TFD consistia na adequada concentração do ALA, tópico capaz de induzir a formação de PpIX em níveis terapêuticos após a irradiação, ou seja, induzir a formação de oxigênio *singlet* em níveis capazes de erradicar a lesão. Para tanto, o uso de ésteres do ALA como o metil, butil ou octil ALA poderiam ser considerados devido a maior penetração, por meio da porção lipofílica da camada córnea. Destacaram que, além dos ampliadores químicos de resposta do ALA já descritos (dimetilsulfoxido, desoxiferroamina), os métodos físicos também poderiam otimizar a resposta clínica, entre os quais relataram a remoção da camada córnea, prévia à TFD por fita adesiva, aplicação de ultrassom, indução enzimática pelo Levamisol ou Ionidamina, aumento da temperatura, redução do pH para 5,8 a 6, 8, e redução da saturação de oxigênio no tecido.

3.5 FONTES DE LUZ USADAS COM ÁCIDO AMINOLEVULÍNICO (ALA)

A TFD foi inicialmente realizada com lâmpadas convencionais incandescentes ou fluorescentes e de amplo espectro, como a lâmpada de tungstênio, de xenônio, de mercúrio (DOUGHERTY *et al.*, 1978) ou de projetores de *slides* equipados com filtros de luz vermelhos, de

comprimento de onda de 630nm (ASH & BROWN, 1993; McCAUGHAN *et al.*, 1989).

SZEIMIES *et al.* (1995) observaram que o dano fotodinâmico ocorria, predominantemente, nas membranas de queratinócitos humanos, imortalizados após sensibilização por 30 microgramas/mililitros ($\mu\text{g/ml}$) de ALA por 24 horas *in vitro* e irradiados por luz de comprimento de onda de 635nm, com maior eficácia que o comprimento de onda de 630nm, deixando claro que o comprimento de onda teria influência sobre o efeito fotodinâmico.

KALKA, MERK, MUKHTAR (2000), enfatizaram que o uso de equipamentos de *laser* (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* - Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação) e a aplicação das fibras óticas expandiram a aplicação da TFD em medicina. As fontes de luz empregadas em projetores de *slides* foram substituídas por fontes de luz não coerentes, possibilitando aproveitamento da luz pelo agente fotossensibilizante melhor e mais focado, especialmente quando se tratava de lesões cutâneas extensas.

CLARK *et al.* (2003) relataram experiência clínica em 483 lesões de 207 pacientes, num total de 688 tratamentos, com uso de quatro fontes de

luz diferentes: lâmpada de arco de xenônio (580-720nm, com dose de 150 Joules por centímetro quadrado (J/cm^2), lâmpada de metal (*Waldman*, 590-730nm, $125J/cm^2$), lâmpada halógena de 150 Watts (W) (570 a 680nm, $125J/cm^2$) e *laser* sólido diodo (630nm, $125J/cm^2$). Observaram completa remissão em 93% das queratoses actínicas, 97% das CBC superficiais, e 91% dos casos de doença de Bowen, com eficácia semelhante para as fontes de luz estudadas.

As fontes de luz usadas em TFD em tratamentos cutâneos estão no espectro eletromagnético do vermelho e infravermelho. As mais difundidas são a luz azul representada, na maioria dos trabalhos, pelo aparelho Blu U[®] (*Dusa Pharmaceuticals, Inc.*) que consiste em tubos paralelos de luz fluorescente que emite feixes na faixa de 417nm e *Clear Light*[®], cujo comprimento de onda emite luz na faixa de 405-420nm (*Lumenis Inc.*). A luz azul corresponde ao melhor espectro de absorção da PpIX, estando dentro da banda de absorção ideal conhecida como **Banda de Soret**. A luz vermelha é representada pelo *Aktilite* e *CureLight*[®] (*Photocure, ASA, Inc.*), que são sistemas de diodo que emitem luz no comprimento de onda de 634nm, direcionando-se à banda Q de absorção da PpIX. É recomendada para o uso, com o metilaminioevulinato (*Metvix*[®] *Galderma*) (DONNELLY, MCCARRON, WOOLFSON, 2005).

STRASSWIMMER & GRANDE (2006) analisaram o antebraço de voluntários submetidos à ALA, incubado por duas horas e irradiado por luz azul (*Blu U DUSA, Inc. MA*) a dez megawatts por centímetro quadrado (MW/cm^2), laser pulsado de corante (*Pulsed Dye Laser - PDL, Candela Inc, MA*) 595nm, $7,5\text{J}/\text{cm}^2$, 10 milissegundos (ms), e luz intensa pulsada (*LIP - Estelux Palomar Inc., MA*) no nível seis do aparelho que emitia 500 a 650nm com $24\text{J}/\text{cm}^2$ e dez ms, e a luz ambiente representada por lâmpada alógena não filtrada. Por intermédio de um observador cego, avaliaram as reações de eritema e de edema produzidos por cada fonte. Os resultados mostraram reações fotodinâmicas com todas as fontes de luz utilizadas. No entanto, as fontes de LIP obtiveram resposta clínica menor. Atribuíram essa resposta ao fato do PDL e do LIP não aproveitarem as vantagens do maior pico de absorção da PpIX, que seria no espectro azul, mas se valerem de picos secundários e menores de absorção do fotossensibilizante dentro da banda Q (FIGURA 2).

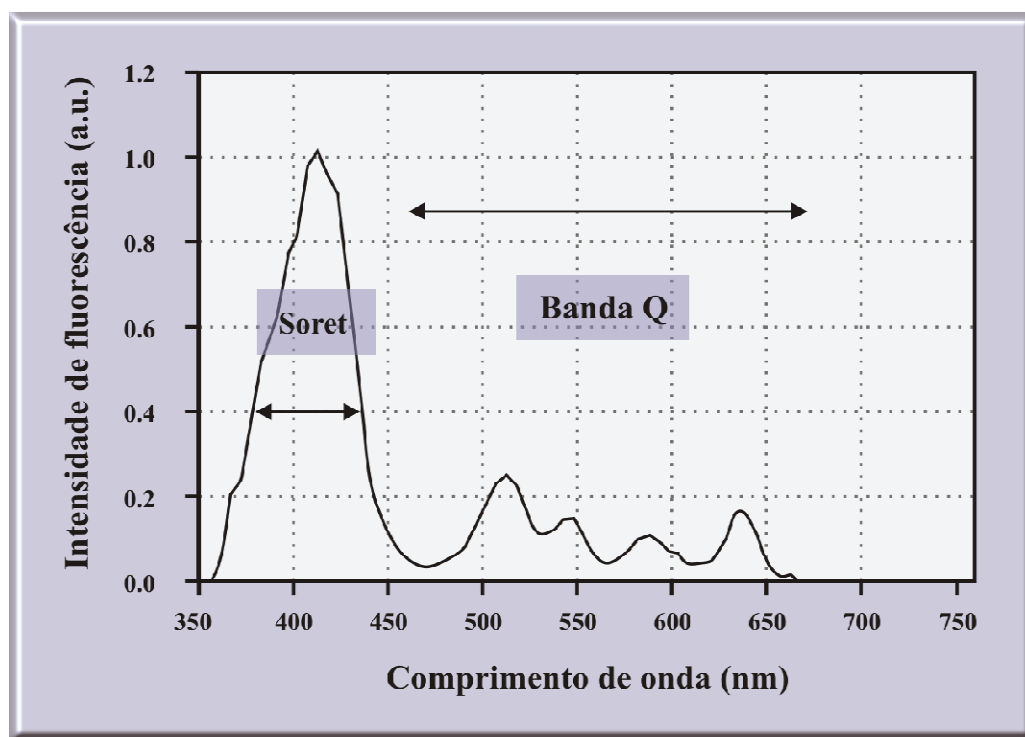


FIGURA 2. Gráfico de picos e absorção do ALA dentro da banda de Soret e picos menores na Banda Q.

FONTE: STRASSWIMMER & GRANDE (2006).

NOOTHETI & GOLDMAN (2007), descrevendo os sinais clínicos de fotoenvelhecimento como discromias, rugas e teleangiectasias, ressaltaram a presença de lesões pré-cancerígenas como as queratoses actínicas, justificando seu tratamento como medida preventiva. Revisaram as fontes de luz enfatizando que o pico de ativação mais superficial da PpIX na pele seria o comprimento de onda de 410nm da luz azul, enquanto a luz vermelha de 630nm maximizava a penetração mais profunda nos tecidos. Entretanto, muitas outras fontes de luz, emissoras de energia próxima aos picos menores de ativação da PpIX como 505, 540, 580, 630 e 690

nanômetros (nm), poderiam ser usadas. Destacaram a versatilidade da luz não colimada, não coerente com comprimentos de onda entre 550 a 1200nm, correspondendo à luz visível e infravermelha ou LIP. Observaram que com a troca de filtros da LIP, a PpIX poderia ser ativada e fizeram a correspondência da energia da LIP com o PDL. A energia usada na LIP, nos comprimentos de onda testados (550, 560, 270, 590nm), foi de $24\text{J}/\text{cm}^2$, com o PDL $7,5\text{J}/\text{cm}^2$ e $10\text{J}/\text{cm}^2$ e para luz azul de 417nm.

DE HORATIUS & DOVER (2007) destacaram que a LIP, por seu amplo espectro (comprimentos de onda entre 515 e 1200nm), afeta três aspectos do fotoenvelhecimento: teleangiectasias, pigmentação, e rugas finas com comprovação histológica de neoformação de colágeno na derme papilar superior, embasando o conceito do fotorrejuvenescimento não ablativo.

REDBORD & HANKE (2007) levantaram sua casuística de 85 pacientes que receberam 247 tratamentos com ALA e luz azul de 417nm, PDL ou LIP no tratamento de diversas dermatoses, inclusive as queratoses actínicas e fotoenvelhecimento. Obtiveram bons resultados clínicos em 90,6% dos pacientes e concluíram que não existia uma fórmula única que determinasse o sucesso dos resultados, mas múltiplas combinações ajustáveis: escolha da fonte de luz, energia, tempo de incubação do ALA,

número de passagens por tratamento, e número de sessões que deveriam ser individualmente analisadas, de acordo com o paciente.

DE HAAS *et al.* (2008) estudaram a TFD fracionada em 552 lesões de carcinomas, doença de Bowen e queratoses actínicas em diversas partes do corpo, algumas com comprovação histológica. Utilizaram ALA incubado por quatro horas e irradiado por três fontes de luz: *laser* diodo (630nm), lâmpada amplo espectro entre 590 e 650nm e lâmpada de diodo (Lâmpada de Waldmann), na fluência de 50MW/cm e com intervalo de duas horas entre as aplicações de energia nas lesões. Observaram incremento na resposta da TFD, com o fracionamento da energia em dois momentos principalmente nas queratoses actínicas. Atribuíram a mecanismos ainda desconhecidos, provavelmente relacionados à resposta endotelial celular.

ERICSON, WENNBERG, LARKO (2008) sugeriram que o fracionamento da luz poderia ser um meio de minimizar o efeito da hipóxia durante a TFD. Dividindo a luz irradiada em frações menores, permitiria retorno do oxigênio para as células, para novamente ser consumido potencializando a eficácia do tratamento. Cálculos teóricos demonstraram que a reoxigenação tecidual ocorreria a partir de 45 segundos.

LEE (2008) descreveu a experiência clínica do tratamento de 37 pacientes, entre 24 e 84 anos de idade, com uma nova fonte de LIP de comprimento de onda ajustável, cujo espectro do comprimento de onda variava de 520 a 1100nm (*Limelight CUTERA Inc., CA-USA*). Os resultados clínicos, obtidos na reversão do fotoenvelhecimento, consideraram três programas do aparelho adaptáveis para melhor absorver a melanina ou a hemoglobina. O lado tratado, relativamente ao lado não tratado (controle) apresentou melhora na pigmentação, textura e vermelhidão, confirmando a eficácia e a segurança daquela fonte de LIP no tratamento do fotoenvelhecimento.

WAIBEL (2009), em seu artigo de revisão sobre fotorrejuvenescimento, estudou várias fontes de luz. A LIP usava lâmpadas de xenônio alimentadas por descargas de gás em altas intensidades e que, em presença de energia, eram capazes de gerar pulsos de luz com duração, intensidade e comprimentos de onda amplos que atravessam filtros específicos para cada cromóforo (alvo a ser atingido pela luz), para aumentar a especificidade de sua ação. No estudo, observou que as fontes de LIP modernizaram-se, apresentavam tecnologia superior, resfriamento das ponteiros, ponteiros com cristais mais confiáveis como as feitas de safira, filtros duplos e pulsos quadrados que permitiam que a intensidade do pulso fosse a mesma, do início ao fim, aumentando sua eficácia.

3.6 APLICAÇÕES CLÍNICAS

DOUGHERTY *et al.* (1975) retomaram a TFD na década de 1970, tratando animais com tumores cutâneos e subcutâneos com injeção de dihematoporfirina e, 24 a 48 horas após, irradiação de luz no comprimento de onda de 600nm, e observaram remissão parcial ou completa, inferindo a viabilidade de seu uso clínico. O emprego sistêmico da dihematoporfirina tornou-se padrão nas pesquisas em TFD, surgindo uma variedade de aplicações médico-oncológicas e não-oncológicas dessa técnica (QUADRO 1).

QUADRO 1. Usos da terapia fotodinâmica (TFD).

APLICAÇÕES MÉDICAS DA TERAPIA FOTODINÂMICA (TFD)	
ONCOLÓGICAS	PATOLOGIAS DERMATOLÓGICAS
Pulmão	Linfoma de células T
Esôfago	Sarcoma de Kaposi
Colo	Melanoma maligno e carcinomas
Peritônio	Queratoacantoma
Pleura	Paget extramamário
Trato gastro-intestinal	Acne vulgar
Cérebro	Hiperplasia glandular sebácea
Olhos	Hidradenite Supurativa
Pele	Psoríase vulgar
NÃO-ONCOLÓGICAS	Verruga vulgar
Doenças Infecciosas	Molusco contagioso
Aterosclerose	Queilite actínica
Artrite Reumatóide	Queratose actínica
	Fotoenvelhecimento

FONTE: GOLDMAN (2006).

Devido à natureza única da pele na interação com os agentes fotossensibilizantes e ao seu fácil acesso para estudo com fontes de luz natural ou artificial, a pesquisa em dermatologia tornou-se um grande foco de interesse da TFD.

GRIFFITHS *et al.* (1992) relataram a necessidade de um sistema de classificação, em graus, do fotoenvelhecimento para facilitar a avaliação da resposta aos tratamentos. Desenvolveram, então, uma escala fotonumérica de nove pontos, usando fotografias para graduar o fotoenvelhecimento de acordo com critérios pré-estabelecidos de rugas finas, rugas profundas, pigmentação difusa e cor. A somatória dos critérios pontuava a severidade do fotoenvelhecimento. Essa escala é, até hoje, amplamente utilizada nos trabalhos clínicos.

PEREDNIA, GAINES, ROSSUM (1992) dividiram o diagnóstico das lesões de pele em três partes: detecção do problema, exame clínico de suas características e coleta das informações obtidas e transformação em banco de dados passível de ser usado em pesquisa clínica. Examinaram a reprodutibilidade e a confiança inter e intraobservadores altamente experientes, e observaram diferenças na sensibilidade, na acurácia, na

reprodutibilidade e na confiabilidade, independente da resolução fotográfica, considerando-se as lesões de pele testadas.

WHITED *et al.* (1995) observaram que quantificar a concordância entre observadores para lesões de pele, como queratoses e carcinomas, era um desafio. Dois dermatologistas experientes examinaram 50 pacientes, sendo um com acesso à história clínica do paciente e o outro que a desconhecia. Concluíram que a assertividade medida foi baixa para carcinomas, intermediária para queratoses actínicas isoladas e superior para as confluentes.

JEFFES *et al.* (1997), com o intuito de estudar a eficácia e a segurança do uso 5-ALA, ativado pela luz vermelha do *dye laser* argônio pulsado (630nm) nas fluências de 10 a 150J/cm², no tratamento das queratoses actínicas foram tratados 40 pacientes, sendo seis queratoses actínicas marcadas como alvo. Foram usadas concentrações de 0%, 10%, 20% e 30% do ALA e incubadas por três horas antes da irradiação. Os efeitos cutâneos fototóxicos foram eritema, crostas e edema com pico nas 72 horas. Oito semanas após um único tratamento com ALA 30% houve resolução de 91% das lesões de face e 45% nas áreas extrafaciais, avaliadas com oito semanas. Não houve diferença de significância estatística entre as

respostas, nas diferentes concentrações do ALA. Concluíram que o tratamento era efetivo para lesões não hipertróficas, apresentando maior eficácia em face do que em tronco e extremidades.

KURWA *et al.* (1999) apresentaram os resultados de estudo clínico randomizado e pareado, com o intento de comparar a TFD e o 5 Fluorouracil (5-FU) no tratamento das queratoses actínicas de dorso de mãos. Os pacientes foram randomizados para receber tratamento de 5-FU duas vezes ao dia, por três semanas, em um dos lados e, no outro, TFD com ALA incubado por quatro horas e ativado por fonte de luz incoerente de lâmpada alógena de metal (1200W), que emitia luz vermelha na faixa de 580 a 740nm, energia de 150J/cm². Ambos os tratamentos apresentaram resultados positivos e comparáveis na redução do tamanho da área com queratose actínica. Concluíram que um tratamento de TFD parecia ser tão efetivo quanto as três semanas de uso diário de 5-FU.

YANTSOS *et al.* (1999) sugeriram o termo neoplasia intraepidérmica de queratinócitos para as queratoses actínicas, após classificação clínico-histológica, considerando critérios como atipia, paraqueratose, acantólise, e envolvimento de anexos cutâneos. Em sua classificação, consideravam claramente as queratoses actínicas como neoplasias incipientes

intraepidérmicas que, dependendo de seus critérios histológicos, teriam maior ou menor chance de progressão para CEC.

VARMA *et al.* (2001), utilizando o ALA incubado por 4 a 6 horas, fonte de luz não coerente (Lâmpada de Waldman), no tratamento da doença de Bowen, CBC superficial e queratose actínica em 88 pacientes com taxas de resolução de 88%, para Doença de Bowen, 95% para CBC e 99% para queratoses actínicas com dois tratamentos. No seguimento aos 12 meses, a taxa de recorrência das queratoses actínicas foi de 28%, a maioria aparecendo no sexto mês após o tratamento.

Muitas fontes de luz e esquemas foram propostos para o tratamento das queratoses actínicas. Os trabalhos mais expressivos foram sumarizados no QUADRO 2 retirado de TAUB (2004).

QUADRO 2. Terapia fotodinâmica (TFD) com ácido aminolevulínico (ALA) no tratamento das queratoses actínicas.

REFERÊNCIA	FONTE DE ENERGIA	DOSE DE ENERGIA (J/CM ²)	TAXA DA DOSE (MW/CM ²)	LESÕES TRATADAS	TAXA DE RESOLUÇÃO (%) (TEMPO DE ACOMPANHAMENTO)
KENNEDY <i>et al.</i> (1996)	Projetor de <i>slides</i> (luz filtrada) >600nm	150-300	15-150 (3,5-30 min)	10	90 (18 meses)
WOLF <i>et al.</i> (2001)	Projetor de <i>slides</i> (luz filtrada e não filtrada para remover <570nm)	30-100	50-100 (5-20 min)	9	100 (3-12 meses)
MORTON <i>et al.</i> (1996)	Lâmpada de Xenon (615-645nm)	94-156	55-158	4	100 (12 meses) (uma lesão queratose actínica necessitou tratamento após dois meses)
CALZAVARA-PINTON (1995)	<i>Dye laser</i> bomba de argônio (630nm)	60-80	100	50	100 (tratamento diário até o clareamento da lesão)
FIJAN, HÖNIGSMANN, ORTEL (1995)	Lâmpada halógena, filtro vermelho	até 300	150-250 (20 min)	43	81,4 (até 20 meses)
SZEIMES <i>et al.</i> (2002) (10% ALA)	Luz vermelha, halógena de Waldmann (580-74 nm)	150	160	36	71 (28 dias)
FINK-PUCHES <i>et al.</i> (1998)	Projetor de <i>slides</i> , luz filtrada e não filtrada (elimina <515, 530, 570, 610nm), UVA	5,4-120 (760 UVA)	50-100 (38 min para UVA)	251	64

FONTE: TAUB (2004).

JEFFES *et al.* (2001) publicaram estudo clínico de fase II com 36 pacientes usando ALA a 20%, incubado por 14 a 18 horas e exposto à luz azul para tratar queratoses actínicas de face e de couro cabeludo. Observaram que, com dose de 10J/cm², 66% das queratoses actínicas

regrediram completamente com oito semanas após o tratamento. O segundo tratamento aumentou esse percentual para 85% em 16 semanas.

GOLD (2002) descreveu estudo com ALA e luz azul, tratando dez casos com incubação de 30 a 60 minutos e luz azul. Observou 83% de resposta ao fotoenvelhecimento, 90% nos pés de galinha, 100% na textura da pele, 90% na hiperpigmentação e 70% no eritema facial.

RUIZ RODRIGUES, SANZ-SÁNCHEZ, CÓRDOBA (2002) apresentaram o relato de 17 casos de pacientes com, no mínimo, uma queratose actínica e fotoenvelhecimento sem tratamento nos últimos seis meses. Os pacientes foram submetidos à aplicação de 5-ALA a 20%, incubado por quatro horas, coberto por filme plástico. A fotoestimulação foi realizada por fonte de luz pulsada (*Epilight - ESC Sharplan*[®] com comprimento de onda entre 590 e 1200nm, com filtro de 615nm fluência de 40J/cm², pulso duplo de quatro ms, com intervalo de 20ms). O tratamento foi repetido após um mês, sendo que as avaliações foram feitas por três dermatologistas, três meses após o segundo tratamento. Observaram resolução de 33 das 38 queratoses actínicas marcadas (87%), concluindo que a combinação do ALA com a luz pulsada seria uma opção para beneficiar pacientes com

fotoenvelhecimento e queratoses actínicas, introduzindo, assim, o termo rejuvenescimento fotodinâmico.

Para tratar as queratoses actínicas, as terapias propostas incluem uso tópico de 5-FU, *Imoquimod* (TUTRONE *et al.*, 2003a). Apesar do número reduzido de estudos, pequena casuística dos mesmos e ausência de seguimento clínico em longo prazo, ativos como diclofenaco sódico a 3%, Colchicina 0,5 a 1% e Retinóides de 0,025 a 0,1% também são citados (TUTRONE *et al.*, 2003b).

GOLDMAN & ATKIN (2003) avaliaram 32 pacientes com queratoses actínicas múltiplas e danos moderados. Com a aplicação do ALA incubado por uma hora seguido da luz azul, obtiveram clareamento de 90% das queratoses actínicas, melhora da textura cutânea em 72% e melhora da pigmentação em 59%.

SMITH *et al.* (2003) estudaram 36 pacientes randomizados e três grupos de 12 para receberem tratamento em face ou couro cabeludo. Os tratamentos realizados foram: ALA incubado por uma hora seguido de luz azul (*Blu U PDT Illuminator*[®] por 1000ms), PDL 595nm (7,5J/cm², tamanho do *spot* de dez mm, dez ms de duração de pulso, realizando duas passadas em toda face), ou a 0,5% (5-FU) uma ou duas vezes ao dia, por

quatro semanas). A avaliação foi feita com base nas queratoses actínicas e no fotoenvelhecimento. O grupo ALA - luz azul e o grupo 5-FU apresentaram uma taxa de resolução das queratoses de 80%, enquanto o grupo ALA-PDL apresentou 60%. Todos os tratamentos apresentaram melhoras nos critérios de fotoenvelhecimento. A tolerabilidade ao tratamento foi melhor nos grupos TFD em relação ao 5-FU. Concluíram que a TFD poderia ser uma opção interessante no tratamento do fotoenvelhecimento, associado às queratoses actínicas, porém, necessitaria de estudos com maior casuística e diferentes fontes.

NAKASEKO *et al.* (2003) coletaram lesões de queratose actínica de vários pacientes, após uma hora da TFD com ácido aminolevulínico e *eximer laser*. Submeteram a parafina e coloração de hematoxilina eosina e imunohistoquímica. Os achados histopatológicos foram: citoplasma eosinofílico e núcleos evidentes na camada basal da epiderme, vacúolos em células tumorais e infiltrado de linfócitos e neutrófilos na derme superior, uma hora após a TFD. Esses achados evidenciaram-se, ainda mais, na terceira hora após a TFD. Um dia após, todas as camadas da epiderme exibiram necrose, condensação de cromatina na periferia do núcleo das células tumorais e infiltrado inflamatório marcante, em toda epiderme e derme superficial. Sete dias após, as células tumorais da epiderme

desapareciam e um epitélio regenerativo era observado. Concluíram que a apoptose estaria envolvida nos mecanismos de destruição da queratose actínica pela TFD.

BISSONNETTE *et al.* (2004) indicaram a influência da irradiância e dose de energia TFD com ALA. Injetaram ALA intraperitoneal em 27 ratos sem pelo (*hairless*), e irradiaram duas horas após com lâmpada de projetor a 12Jcm^2 , 24Jcm^2 , 48Jcm^2 e, para cada uma dessas fluências, os grupos de ratos foram expostos às seguintes irradiâncias: 5mW/cm^2 , 20mW/cm^2 e 40mW/cm^2 . Biopsias de pele foram feitas com 24 e 72 horas após o tratamento. Observaram que o dano fototérmico na epiderme foi influenciado pela energia e pela irradiância; em altas irradiâncias e baixas fluências, o dano da TFD estava localizado na epiderme superficial, enquanto que na baixa irradiância e alta fluência, a epiderme estava completamente necrosada com 24 horas após o tratamento.

Esse achado foi corroborado por TOUMA *et al.* (2004), que introduziram o conceito de incubação curta do ALA e luz azul para reduzir os efeitos colaterais dos tratamentos. Estudaram períodos de 1, 2 e 3 horas em conjunção com o pré-tratamento, com creme de uréia a 40% e uso de lidocaína tópica a 3%, para reduzir o desconforto durante o tratamento. A

resposta foi avaliada com um e cinco meses em 18 pacientes com redução de 90% das queratoses actínicas. Houve pequena melhora de todos os parâmetros do fotoenvelhecimento, exceto das rugas profundas. Não foi observada diferença entre os três períodos de incubação nem do pré-tratamento com uréia ou da lidocaína nos resultados obtidos. Assim, a TFD ganhou mais praticidade e agilidade na execução.

AVRAM & GOLDMAN (2004) com o intuito de demonstrar a eficácia da LIP e do ALA, na reversão do fotoenvelhecimento e das queratoses actínicas, trataram 17 pacientes com ALA incubado por uma hora e aplicação de LIP com filtro 560nm, 28 a 32J/cm², pulso duplo de 3.0 e 6.0ms e intervalo entre pulsos de dez ms, com passagem única em face. Observaram 68% de resolução nas queratoses actínicas, 55% de melhora nas teleangiectasias, 48% de melhora na pigmentação e 25% nas rugas e textura com uma aplicação, confirmando sua eficiência na reversão dos sinais de envelhecimento decorrentes da exposição crônica ao sol.

PIACQUADIO *et al.* (2004), em estudo clínico de fase III, conduziram um estudo randomizado controlado por placebo (apenas luz sem ALA), em 16 centros de estudo com 243 pacientes, com fototipos de pele I a IV de Fitzpatrick (APÊNDICE 1, QUADRO 6), para avaliar a eficácia e a segurança

do ALA a 20% exposto à luz azul, no clareamento das queratoses actínicas. Os avaliadores foram cegos para análise do resultado. Houve resposta de 89% de clareamento das queratoses actínicas no grupo ALA em 12 semanas, sendo que 30% dos pacientes submeteram-se a um segundo tratamento nesse período, em relação ao placebo em que apenas 13% das queratoses actínicas obtiveram alguma resposta clínica. Não houve nenhuma alteração laboratorial sanguínea, os efeitos colaterais relatados, que foram maiores para o grupo do ALA, incluíram eritema, edema, crostas, dor de cabeça (5%), hipertensão (1,7%) e cicatriz hipertrófica (1,7%). Esse estudo deu suporte à aprovação do tratamento do ALA (*Levulan Kerastick*[®], DUSA) e da luz azul de 417nm a 10mW/cm² (*BLU-U*[®]) pelo *Food and Drug Administration (FDA)*.

GILBERT (2005) realizou estudo em 15 pacientes com queratose actínica, pré-tratando a pele com 5-FU por cinco dias, antes da TFD com ALA incubado por 30 a 45 minutos e irradiado com LIP (560 - 1200nm-*Vasculight*[®] *LUMENIS*) filtro 560nm, 30j/cm², pulso duplo (2,4 e 6ms), com intervalo entre pulsos de 20ms. As queratoses actínicas tratadas regrediram em 90%, sendo sugerido que o pré-tratamento com 5-FU aumentava a absorção do ALA pelos queratinócitos, otimizando a TFD.

ALSTER, TANZI, WELSH (2005) avaliaram a eficácia da TFD com LIP e ALA, comparativamente à LIP isolada no tratamento de hemifaces de dez pacientes. Foram realizados dois tratamentos em cada hemiface com quatro semanas de intervalo. A melhora clínica foi maior no lado tratado com ALA associado à LIP. Concluíram que essa combinação era segura e mais efetiva que a LIP isolada na abordagem do envelhecimento facial.

MARMUR, PHELPS, GOLDBERG (2005), por meio de um estudo piloto em sete pacientes tratados com LIP em uma hemiface e ALA e LIP em outra, fizeram análise ultraestrutural das alterações da TFD, analisando biopsias pré e pós-tratamento na microscopia eletrônica. Foi observado aumento de colágeno tipo I no material, advindo do tratamento de ALA e LIP, e não no material retirado do tratamento de LIP isolado, confirmando a superioridade da TFD com LIP.

DOVER *et al.* (2005), também realizaram estudo comparativo de LIP em uma hemiface e LIP e ALA em outra. Trataram 20 pacientes com três tratamentos repetidos a cada três semanas. Um observador cego avaliou os resultados que demonstraram que o lado que recebeu ALA e LIP apresentou 80% de melhora global no fotoenvelhecimento, em relação aos 50% obtidos no lado com LIP, englobando-se nessa análise a melhora das

rugas finas, textura e pigmentação. Ressaltaram que seriam necessários tratamentos adicionais para obter-se, com a LIP isolada, o resultado obtido com três sessões de LIP e ALA. Os achados foram confirmados por GOLD *et al.* (2006), que realizaram três tratamentos mensais em 16 pacientes, com incubação de 30 a 60 minutos do ALA e aplicação de LIP com filtro de 550nm, 34J/cm² pulso duplo, com intervalo de 20ms entre os pulsos.

TSCHEN *et al.* (2006) publicaram estudo clínico de fase IV, com 110 pacientes da TFD com ALA a 20% (ALA - Levulan[®] Kerastick DUSA), incubado por 14 a 18 horas e seguido de luz azul 417nm, com a finalidade de: **(a)** Acessar o comportamento em longo prazo das queratoses actínicas resolvidas pelo TFD com ALA; **(b)** Caracterizar a histopatologia das lesões não responsivas ao tratamento com ALA; **(c)** Avaliar a TFD em fototipos de pele mais elevados. Com avaliação feita aos 12 meses, observaram que 28% dos pacientes necessitaram de um segundo tratamento e 9% de um terceiro, para alcançar a taxa de resolução das queratoses actínicas, dentro dos padrões descritos na literatura entre 77 e 89%. Observaram que havia recidiva, comprovada histologicamente, de 19% nas queratoses actínicas ao final do 12º mês, e concluíram que o fototipo de pele não influenciava os resultados.

BABILAS, LANDTHALAER, SZEIMIES (2006) enfatizaram que somente o tratamento com MAL para Doença de Bowen e CBC, e com ALA para queratose actínica, estavam aprovados pelo FDA. Enumeraram os usos da TFD, ainda sem aprovação, como acne, psoríase, papilomatoses humanas, e líquen escleroso. Concluíram que o potencial estava na possibilidade de tratar múltiplos tumores e lesões incipientes simultaneamente, tendo um papel profilático, com melhora paralela dos sinais de fotoenvelhecimento, obtendo excelente aspecto cosmético e curto período de cicatrização. Outro ponto levantado foi a viabilidade da TFD no manejo, prevenção e controle dos carcinomas e queratoses actínicas em pacientes imunossuprimidos ou transplantados de órgãos sólidos.

RUIZ-RODRIGUEZ & LOPEZ-RODRIGUEZ (2006) apresentaram estudo clínico, com metilaminolevulinato e revisão do papel da TFD no rejuvenescimento não ablativo. Avaliaram clinicamente o metilaminolevulinato incubado por uma e três horas, irradiado por luz vermelha de 630nm $37\text{J}/\text{cm}^2$ no fotorrejuvenescimento de dez pacientes. Obtiveram respostas positivas na qualidade da pele e rugas finas, mas sem melhora da pigmentação e vascularização, bem como muitos efeitos colaterais. Por esse motivo, destacaram que as fontes de luz mais usadas para esse fim seriam o PDL e a LIP que, apesar de não terem energia

suficiente para ativar profundamente o processo fotoquímico, eram suficientes para lesão térmica de múltiplos alvos como melanina, hemoglobina e em menor grau, capazes de aumentar a neoformação de colágeno na derme, inclusive com comprovação histológica. O rejuvenescimento fotodinâmico poderia, também, agir em lesões subclínicas atuando preventivamente no câncer não-melanoma de pele, além de promover seu melhor aspecto cosmético. Ressaltaram, ainda, a falta de compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos no rejuvenescimento fotodinâmico, sugerindo que uma resposta inflamatória inespecífica poderia estar envolvida nos resultados positivos desse tratamento.

LEHMANN (2007) levantou a incidência de efeitos colaterais da TFD, em 2031 pacientes tratados entre 2001 e 2006. Destacou como efeitos mais proeminentes a dor (92% dos pacientes), eritema e edema (89%), descamação e prurido (80%). Os menos comuns foram: crostas (9%), as alterações pigmentares (1%) e infecções (0,4%). Sugeriram termo de ciência para todos pacientes para evitar ansiedade dos pacientes.

ZANE *et al.* (2007), avaliaram a validade do MAL no tratamento das queratoses actínicas e do fotoenvelhecimento. Vinte pacientes foram

selecionados e tratados com MAL ocluído por três horas e irradiado pela luz vermelha com $37\text{J}/\text{cm}^2$ (*Akitilite CL128, Photocure, Norway*), realizando dois tratamentos com intervalos mensais. Além da avaliação fotográfica e clínica, pela escala de Griffiths, procederam ultrassom de alta frequência (*Dermascan C, CÓRTEX technology, Hadsund, Denmark*) e análise das imagens por *software* (*Dermavision 2D, Technology, HAdSund, Denmark*). Encontraram taxa de resolução das queratoses actínicas de 88,3%, com melhora nos critérios: pigmentação, linhas finas, textura de pele e viço; mas sem melhora significativa nas rugas profundas, eritema e hiperplasia sebácea. O ultrassom mostrou aumento da espessura cutânea e aumento no número de *pixels*. Verificaram que o MAL, assim como o ALA, apresentaram resultados promissores na abordagem global do fotoenvelhecimento, e os mecanismos pelos quais isso ocorre ainda precisariam ser devidamente elucidados.

McLOONE *et al.* (2008), estudando a difusão do ALA em pele sadia e em queratoses actínicas, utilizaram placas bioadesivas impregnadas por ALA, em diferentes concentrações, marcado com radioisótopos. Observaram diferença significativa entre as duas amostras, sendo que a pele das queratoses actínicas apresentava-se mais impregnada pelo ALA, principalmente na profundidade de um milímetro. Quanto maior a

concentração do ALA na placa, maior a sua penetração. Concluíram que as placas bioadesivas poderiam ser uma forma de aplicar o ALA nas queratoses actínicas não-hipertróficas.

MORTON, MCKENNA, RHODES (2008), em artigo de revisão sobre as aplicações da TFD, ressaltaram que, de acordo com a literatura, o grau de indicação para queratoses actínicas de espessura fina e moderada, e doença de Bowen é representado por A (sendo A o maior grau e D o menor), com nível de evidência I (altamente recomendado com boa resposta), e, para o fotorrejuvenescimento, o grau de indicação, até esse momento, seria B com nível de evidência II, considerado moderado dentro de uma escala, que vai de I a IV). Enfatizaram a baixa carcinogenicidade da TFD tópica.

Apresentaram ainda uma relação de custo comparada aos demais tratamentos. Enfatizaram que o custo era secundário quando considerado o efeito cosmético e ausência de reações colaterais, taxa de resposta e recorrência colocando a TFD como uma possibilidade de tratamento da rede publica no Reino Unido (MORTON, MCKENNA, RHODES, 2008).

GOLD (2008) fez uma análise fármaco-econômica das terapias aprovadas pelo *FDA* para o tratamento das queratoses actínicas, considerando-se o material usado, o número de consultas necessárias

durante o tratamento, o número de sessões para quatro modalidades: TFD, 5-FU, *Imiquimod* e Diclofenaco Sódico, todos complementados pela crioterapia garantindo 100% de cura das queratoses. O custo da TFD foi o menor (US\$ 725.17), quando comparado com o 5-FU (US\$ 942.13). O diclofenaco sódico foi de US\$ 845.07, e o *Imiquimod* US\$ 1,473.39. Considerando-se os estudos clínicos de fase III, os resultados superiores da TFD, em termos de custo e benefício, mostraram-se ainda superiores.

BJERRING *et al.* (2009), baseados no fato de que a TFD e ALA levavam ao rejuvenescimento não ablativo, investigaram em 37 pacientes a eficácia clínica do ALA a 20% incubado por 30 a 60 minutos, comparativamente ao *spray* de 0,5% de ALA encapsulado em lisossomas, aplicado a cada cinco minutos por 60 minutos, ou a cada 15 minutos por duas horas. Mediram a fluorescência da pele (*Fluo Derm fluorescence photometer, Dia Medico ApS, Gentofte Denmark*) antes e uma hora após a aplicação do fotossensibilizante. A ativação foi feita por LIP em dois comprimentos de onda: 530-750nm, 6-7J/cm² pulso duplo de 2,5ms com intervalo de dez ms, seguida de irradiação por filtro de 400-720nm (banda de Soret e picos de banda Q em 406, 505, 540, 580 e 635nm), três passagens de 3,5Jcm² com 30ms de duração de pulso, atingindo um total de 10,5J/cm². Foram realizados três tratamentos com intervalos mensais. A

resposta observada nos critérios melhora de rugas, discromia eritema e vasos, foi maior no grupo do ALA lipossomado e com menos efeitos colaterais. Sugeriram que a medida de fluorescência da pele, após a aplicação do ALA e após o término do tratamento, fosse empregada de rotina como um monitor de segurança e eficácia da TFD.

NAKANO *et al.* (2009), estudando queratoses actínicas de 30 pacientes japoneses, classificaram-nas segundo seu tamanho (menores que um mm ou maiores), e alterações histológicas (grau I ou leve e grau II ou severa). Submeteram as lesões ao ALA incubado por quatro horas e ativado pelo *eximer-dye laser* (630nm), com dose total de 50J/cm². Observaram que a TFD era um bom tratamento para queratoses actínicas de pacientes japoneses e que a resposta dependia do tamanho e do grau histológico das lesões.

APALLA *et al.* (2009) publicaram estudo sobre a validade da TFD com ALA, na prevenção do câncer de pele não-melanoma em face e couro cabeludo. Selecionaram 45 pacientes com antecedente positivo de câncer de pele apresentando queratoses actínicas difusas, distribuídas simetricamente em face e couro cabeludo. Um lado recebeu apenas a luz (placebo) e o outro ALA ativado pela luz. No seguimento de 12 meses um

retardo significativo, no tempo médio de aparecimento de novas lesões e redução numérica das mesmas, validando seu uso como profilaxia do câncer de pele não-melanoma.

PARK *et al.* (2010) investigaram 14 pacientes que se submeteram a dois tratamentos com ALA e Lâmpada de Waldman. Realizaram biopsias pré e pós-tratamento, cujos achados incluíram a redução na espessura da epiderme e no infiltrado inflamatório dérmico; o aumento no volume de colágeno na derme, com expressão maior dos pró-colágenos I e III. Os níveis de receptores de fatores de crescimento transformantes beta e beta II na epiderme, também se elevaram. A elastose representada pela fibrilina I e pela tropoelastina reduziu após o tratamento, bem como a expressão da matriz das metaloproteinases 1, 3 e 12. Concluíram que, apesar de tratar-se de amostra pequena, os achados histológicos evidenciavam mudanças indicativas de reparo do fotodano pela TFD com ALA.

MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 DESENHO DA PESQUISA

Estudo clínico, aberto, intervencional, longitudinal, prospectivo, analítico, controlado, aleatorizado, realizado no período de 2007 a 2009 em centro único.

4.2 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O protocolo foi integralmente submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) UNIFESP-EPM, recebendo aprovação sob o número CEP.0127/06 (ANEXO I).

Todos pacientes assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, bem como autorização para captação e uso de imagens fotográficas com propósitos científicos (ANEXO II).

4.3 CASUÍSTICA

O tamanho amostral (n) foi calculado pelo estatístico e pela pesquisadora, levando-se em consideração as condições de realização de um trabalho clínico, disponibilidade de recursos (Aparelho de Luz Pulsada,

Ácido Aminolevulínico - ALA, produtos de manutenção domiciliar) e a complexidade na obtenção e seguimento da amostra, por se tratar de pacientes de terceira idade e condições socioeconômicas modestas. No entanto, sua magnitude foi assegurada pelo teorema do Limite Central e a Lei dos Grandes Números de modo a permitir análises estatísticas com determinada fidedignidade.

O Grupo Controle foi determinado para ser menor, devido a possibilidade de resposta reduzida ou nula, nestes pacientes.

O trabalho iniciou-se com a inclusão de 49 pacientes, seis pacientes foram excluídos, quatro destes devido à ausência nas visitas de seguimento, um por óbito de causa não relacionada ao estudo, e outro por internação em unidade de terapia intensiva devido a uma patologia neurológica.

Foram contabilizados 43 pacientes adultos, caucasianos, de ambos os gêneros, idade média de 71,7 anos, procedentes do ambulatório da Disciplina de Cirurgia Plástica (UNIFESP), 61% dos pacientes apresentava antecedente positivo para carcinoma de pele.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Fotoenvelhecimento definido pelos critérios: presença de hiperpigmentação irregular, alterações texturais, rugas finas e profundas, classificados pela escala de Griffiths apresentando grau mínimo de dois em todos os critérios.
- Mínimo de cinco queratoses actínicas faciais sem tratamento nos últimos seis meses.
- Fototipo e pele I a IV segundo classificação de Fitzpatrick (APÊNDICE I).

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Tratamento tópico nas queratoses actínicas ou fotoenvelhecimento nos últimos seis meses.
- Antecedente de porfiria ou fotossensibilidade.
- Pacientes com transplantes de órgãos sólidos ou imunocomprometidos.
- Uso de retinóide via oral no último ano.
- Uso de drogas fotossensibilizantes (APÊNDICE II).

- Doenças sistêmicas sem controle clínico (diabetes, hipertensão arterial, doenças autoimunes).
- Patologias de pele agudas ou subagudas, em atividade no local do tratamento.
- Distúrbio de cicatrização confirmado por exame clínico.
- Ausência nas visitas de seguimento do estudo.

O total de 43 pacientes foi contemplado, recebendo a seguinte divisão:

- Grupo-Tratamento I (ALA 16J) ⇒ 16 pacientes
- Grupo-Tratamento II (ALA 18J) ⇒ 19 pacientes
- Grupo Controle ⇒ 8 pacientes

4.4 AVALIAÇÃO DOS PACIENTES

4.4.1 Avaliação clínica

Todos os pacientes foram examinados e classificados na escala de GRIFFITHS *et al.* (1992) (QUADRO 3), para fotoenvelhecimento no Pré-Tratamento e 8 e 12 semanas após o Tratamento. Fotos ilustrativas de pacientes foram colocadas como modelo, especificando cada grau da escala

para que os observadores pudessem comparar com cada paciente examinado e classificá-lo adequadamente nos critérios da escala.

QUADRO 3. Escala de Griffiths.

TEXTURA DA PELE (Avaliada por palpação leve com dedo indicador)	
0	Pele muito macia.
1	Pele macia com áreas ocasionais de aspereza (queratoses actínicas).
2	Aspereza leve difusa.
3	Aspereza moderada.
4	Aspereza severa.
HIPERPIGMENTAÇÃO DIFUSA	
0	Pele com pigmentação regular e uniforme.
1	HP leve envolvendo pequenas áreas (< 1 subunidade anatômica).
2	HP moderada envolvendo pequenas áreas.
3	HP moderada envolvendo áreas de tamanho intermediário ou HP leve envolvendo várias áreas ou pequenas áreas de HP severa.
4	HP severa.
RUGAS FINAS (SUPERFICIAIS)	
0	Sem rugas.
1	Rugas superficiais discretas distantes da órbita ou da região perioral.
2	Rugas moderadas em uma das regiões.
3	Rugas moderadas distantes em duas ou mais regiões.
4	Rugas finas proeminentes ao longo de toda face.

RUGAS PROFUNDAS (Grosseiras / pregas/ sulcos — glabella, frontal, perioral, sulco nasolabial e outros)	
0	Sem rugas.
1	Rugas profundas em uma região.
2	Rugas profundas em duas regiões.
3	Rugas profundas em três regiões.
4	Rugas e sulcos grosseiros em toda face.
CARACTERIZAÇÃO DO GRAU DE FOTOENVELHECIMENTO SOMANDO PONTUAÇÃO NOS QUATRO CRITÉRIOS DA ESCALA DE GRIFFITHS	
0	Sem.
1-3	Leve.
4-6	Moderado.
7-9	Severo.
RESPOSTA GLOBAL AO TRATAMENTO, SEGUNDO OS OBSERVADORES (Grosseiras / pregas/ sulcos — glabella, frontal, perioral, sulco nasolabial e outros)	
0	Resposta completa.
1	Resposta quase completa (> 90% de melhora).
2	Melhora significativa do fotoenvelhecimento (>75% de melhora).
3	Resposta moderada (50% de melhora).
4	Resposta leve (\pm 10% de resposta).
5	Sem resposta.
6	Piora das condições iniciais.
SATISFAÇÃO, SEGUNDO O PACIENTE (12 SEMANAS)	
0	Insatisfeito.
1	Pouco satisfeito.
2	Satisfeito.
3	Muito satisfeito, repetiria o procedimento.

FONTE: GRIFFITHS *et al.* (1992).

Para esta avaliação foram mantidas as seguintes condições: iluminação fluorescente artificial, ausência de iluminação natural; avaliação da pele após dez minutos da remoção da maquiagem e lavagem do rosto para evitar a influência do eritema decorrente destes procedimentos.

A avaliação clínica associada à fotográfica, bem como a contagem das queratoses actínicas no Pré e no Pós foi feita apenas pelo Observador 1. O Observador 2 procedeu à análise fotográfica cega.

Cinco queratoses actínicas, consideradas típicas, foram clinicamente diagnosticadas e selecionadas como alvo para avaliação estatística.

Geralmente, as queratoses típicas caracterizadas por pápula ou mácula de coloração castanho-avermelhada ou amarelada com presença de escamas secas, duras e pontiagudas aderidas à base, facilmente palpáveis como regiões de textura áspera sobre a superfície cutânea, podendo ser isoladas ou confluentes, variando de tamanho desde milímetros até centímetros de diâmetro.

As lesões alvo foram numeradas, marcadas e fotografadas, de um a cinco, sendo selecionada para o número um, aquela maior ou igual a 0,5cm de diâmetro (FIGURA 3).

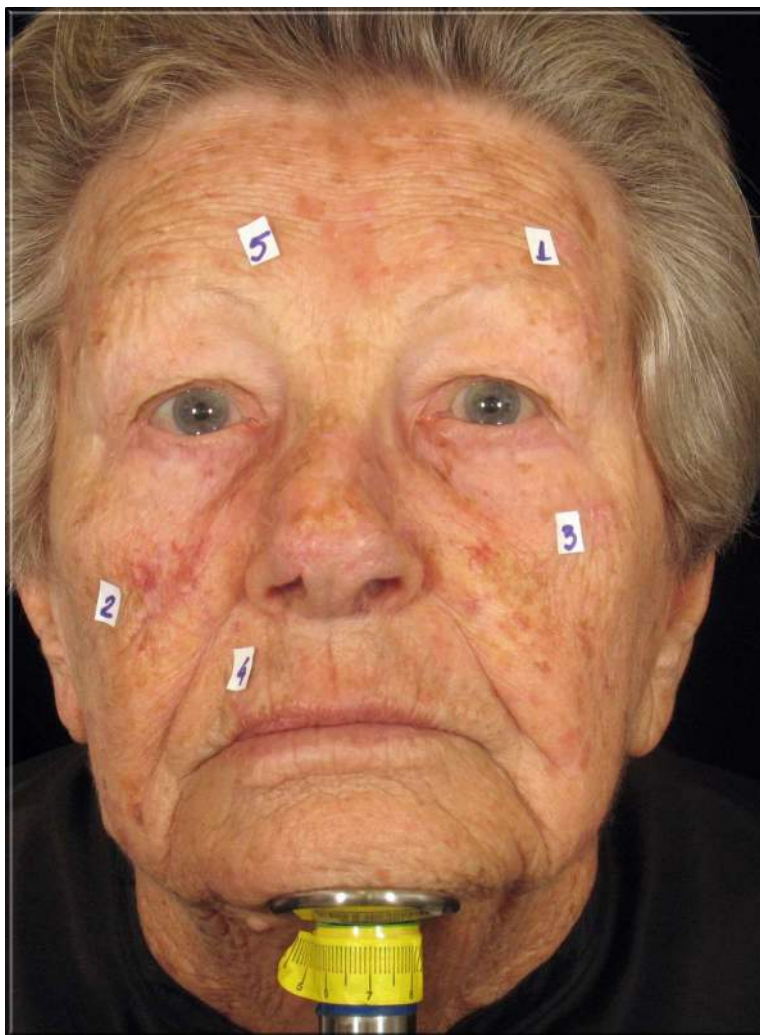


FIGURA 3. Queratoses actínicas numeradas de um a cinco e registradas fotograficamente.

Na lesão denominada número um foi traçada uma linha longitudinal no sentido crânio caudal, dividindo-a em duas metades, sendo considerada medial a que estivesse mais próxima ao plano sagital mediano conforme FIGURA 4.

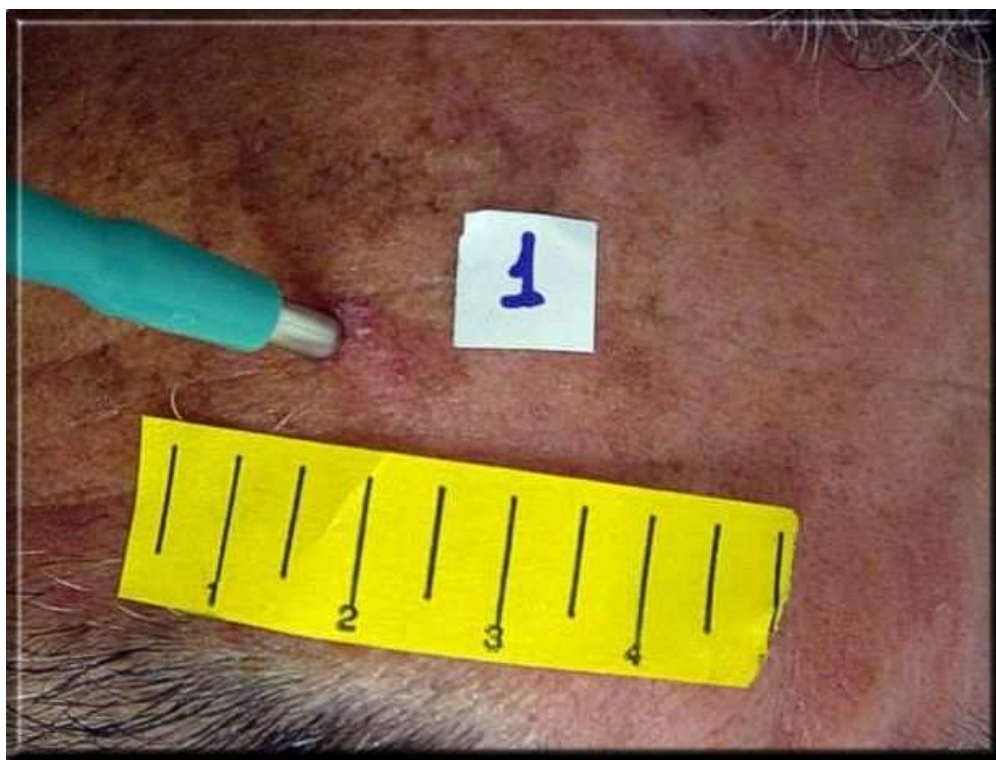


FIGURA 4. Queratose actínica numerada, demonstrando procedimento de biopsia por *punch* três milímetros (mm) antes do tratamento.

4.4.2 Avaliação Anátomopatológica

Realizou-se, sob anestesia local, uma biopsia com *punch* de três mm no lado lateral da lesão número um, antes do tratamento e o material foi conservado em formol a 10%, identificado apenas pelo número do paciente e denominado Pré-Tratamento. Foi feita nova biopsia, na mesma lesão, oito semanas após o tratamento, em seu lado medial com *punch* de três mm. Nos casos em que houve regressão total da queratose actínica, considerada para biopsia inicial, foi devidamente localizada pela cicatriz

residual da primeira biópsia, ou pelo registro fotográfico detalhado para realização da biópsia de controle.

Este material foi identificado com o número do paciente, denominado Pós-Tratamento e fixado em formol a 10% (FIGURA 5).



FIGURA 5. Padronização do material para anatomopatológico do primeiro paciente.

Ambas as biópsias foram enviadas para exame anatomopatológico, submetidas à coloração de hematoxilina eosina de rotina e analisadas por um único patologista em esquema cego, isto é, desconhecia a qual grupo de tratamento o paciente fora submetido. A queratose actínica apresenta características histológicas de hiperqueratose, paraqueratose, atrofia epidérmica intercalada com áreas de hiperplasia, pleomorfismo com

presença de núcleos policromáticos nas camadas profundas da epiderme, atipias perda de polaridade celular e elastose solar. Os critérios atipia e perda de polaridade foram considerados para pontuação conforme o QUADRO 4.

QUADRO 4. Critérios estabelecidos e pontuação para avaliação anatomopatológica das queratoses actínicas antes e após o tratamento, segundo o médico patologista.

ATIPIAS	
0	Sem atipias.
1	Atipias leves \Rightarrow Atipia focal de queratinócitos da camada basal, acometendo $\frac{1}{3}$ da epiderme.
2	Atipias moderadas \Rightarrow Atipia focal de queratinócitos acometendo $\frac{2}{3}$ da epiderme. Hiperqueratose e/ou paraqueratose.
3	Atipias graves \Rightarrow Proliferação e atipia difusa nos queratinócitos, envolvendo toda a espessura da epiderme. Envolve anexos.
PERDA DE POLARIDADE	
0	Sem perda.
1	Polaridade levemente alterada.
2	Polaridade moderadamente alterada.
3	Perda de polaridade severa.

FONTE: Adaptado, pelo patologista, de YANTSOS *et al.* (1999).

4.4.3 Documentação fotográfica

Foi obtida documentação fotográfica padronizada nas posições anteroposterior a 45 graus, e perfil, direito e esquerdo com a câmera *Canon Power Shot G6* adaptada ao software *FotoFindermediscope*[®] (*Teachscreen Software GmbH, Fotofinder Systems Inc. Germany*), primeiramente da face sem as queratoses actínicas numeradas e, depois, com a marcação nas lesões alvo (FIGURA 6).

O mesmo conjunto de fotografias foi tirado após 48 horas, com 8 e 12 semanas após o tratamento.

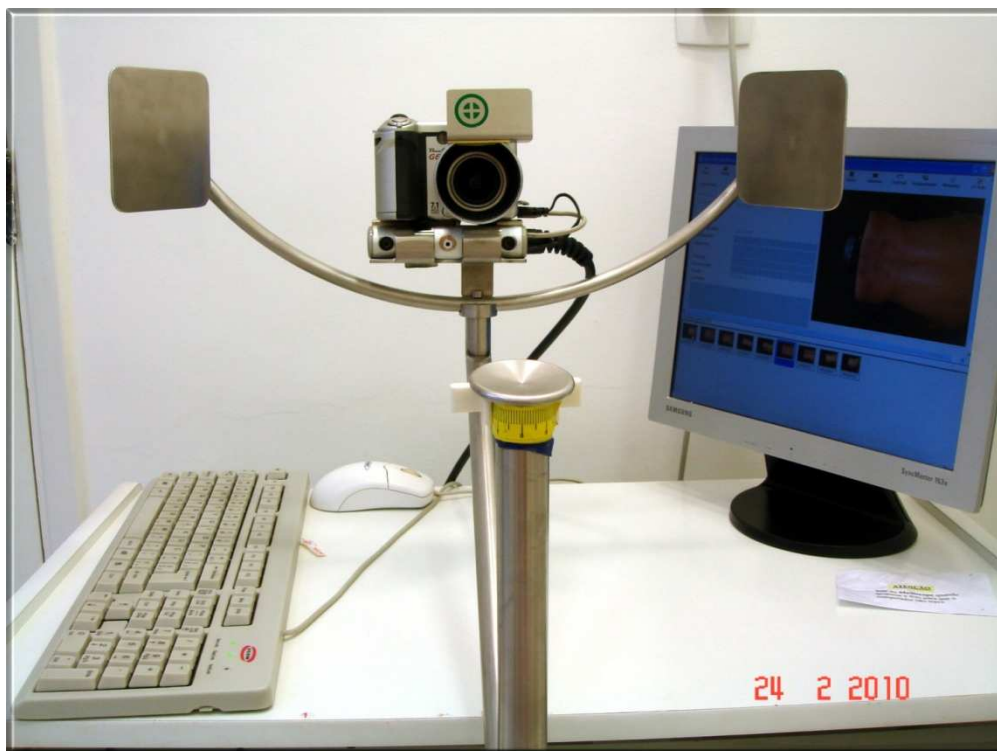


FIGURA 6. Software *Photofinder Mediscope* acoplado à câmera *Canon Power Shot G6* de alta definição, com *flash* e rebatedores embutidos, e aparato de posicionamento do paciente.

4.4.4 Randomização dos pacientes

Elaborada por meio dos *softwares* Minitab 1 e *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* 11.5 (APÊNDICE IV).

4.4.5 Tratamento

Todos os pacientes foram preparados antes do tratamento, com lavagem da face com loção de limpeza neutra (Cetaphyl[®] loção de limpeza, Galderma) em água fria corrente. A pele foi desengordurada com movimentos circulares, com álcool isopropílico a 99% e gaze, por cinco minutos, observando-se a redução do brilho da superfície cutânea e consequente remoção do manto hidrolipídico.

Para todos os tratamentos, as normas de segurança padronizadas para o uso de equipamentos de luz e *laser* foram observadas. Paciente e equipe receberam proteção ocular adequada, o aparelho foi ligado em estabilizador, e substâncias inflamáveis afastadas do local de aplicação.

Os pacientes foram alocados em três grupos: Controle, em que o 5-ALA não era aplicado; Grupo Pós-Tratamento I e II, os quais receberam o 5-ALA por duas horas e irradiação com a luz intensa pulsada (LIP), variando apenas a energia entre os grupos.

GRUPO CONTROLE

Após o preparo, foi aplicada uma fina camada (dois mm) uniforme de gel de contato incolor, com espátula, em toda face, seguida do tratamento com LIP (*Limelight[®] Cutera - Brisbane, CA, USA*). O tratamento foi realizado em toda a face, com duas passagens consecutivas: A primeira com o cristal de safira resfriado medindo 1x3cm (o cristal é a janela através da qual a luz se exterioriza), com seu maior eixo no sentido longitudinal; a segunda, imediatamente após a primeira, no eixo vertical em direção perpendicular à da primeira aplicação de LIP no programa A (filtro 520nm), com $18\text{J}/\text{cm}^2$ de energia. O espectro do comprimento de onda, com este programa, variou de 520nm a 1100nm, sendo que no programa A, o comprimento de onda manteve-se na faixa de 520nm. O resfriamento da ponteira foi de cinco graus centígrados ($^{\circ}\text{C}$), e a duração do pulso foi de nove milissegundos (ms) (LEE, 2008).

Após o tratamento, o gel foi removido com água corrente e o paciente recebeu orientações pós-procedimento, reforçando que nenhum outro produto fosse usado ao longo do tratamento, excetuando-se o filtro solar fornecido (*Sun Max Sensitive Skin FPS 30[®] Stiefel*) (APÊNDICE III).

GRUPOS I e II

Após o preparo da pele, foi aplicado o bastão ALA a 20%, conforme orientação do fabricante (*ALA - Levulan Kerastick Dusa Pharmaceuticals - USA*) (ANEXO III). Os pacientes permaneceram em repouso durante duas horas, em ambiente escuro, com temperatura ambiente controlada e mantida entre 22 e 24°C. Após este tempo de penetração do ALA, as faces foram lavadas em água corrente para remover o excesso do produto.

Uma fina camada uniforme de dois mm gel de contato incolor foi aplicada em toda face com espátula e, logo após, foi realizado o tratamento com LIP, com duas passagens consecutivas, conforme mencionado, em toda face (a primeira no sentido longitudinal ao eixo mediano, e a segunda no vertical), selecionando o programa A (filtro 520nm, *Limelight Cutera, San Francisco, CA-USA*) nos pacientes do Grupo-Tratamento I, usando energia de 16J, com duração de pulso de oito ms em ambas as passagens; e no Grupo-Tratamento II a energia aplicada foi de 18J, com duração de pulso de nove ms, nas duas passagens.

Posteriormente ao tratamento, o gel foi removido com água corrente e os pacientes receberam orientações pós-procedimento, reforçando que nenhum outro produto fosse usado ao longo do tratamento, excetuando-se o filtro solar fornecido.

Com 48 horas após o tratamento, os pacientes foram avaliados e a escala de pontuação para tolerabilidade com a terapia fotodinâmica (TFD) foi aplicada (QUADRO 5).

QUADRO 5. Escala de pontuação para tolerabilidade a terapia fotodinâmica (TFD).

Pontuação para Eritema	
0	Sem.
1	Mínimo, eritema sutil, pouco visível.
2	Leve, facilmente visível, acometendo $\frac{2}{3}$ da área tratada.
3	Moderado, facilmente visível, envolvendo $\frac{1}{3}$ a $\frac{2}{3}$ da área tratada.
4	Severo, facilmente visível, acometendo mais de $\frac{2}{3}$ da área tratada.
Pontuação para Edema	
0	Sem.
1	Mínimo, eritema sutil, pouco perceptível.
2	Leve, facilmente detectável, acometendo $\frac{1}{3}$ da área tratada.
3	Moderado, facilmente visível envolvendo $\frac{1}{3}$ a $\frac{2}{3}$ da área tratada.
4	Severo, endurecido em algumas áreas, envolvendo acima de $\frac{2}{3}$ da área tratada.
Pontuação para Crostas e Erosões	
0	Sem.
1	Raras, poucas com menos de três mm, ou áreas isoladas.
2	Leve, acima de 12 lesões de três mm ou menos, áreas facilmente visualizadas.
3	Moderadas, múltiplas lesões de vários tamanhos.
4	Crostas por toda extensão da área tratada, podendo ser confluentes.
Pontuação para Desconforto com o Tratamento	
0	Sem ardor ou queimação.
1	Mínimo ardor ou queimação.
2	Moderado ardor ou queimação (necessidade de medicação para alívio do sintoma).
3	Ardor ou queimação severas, pouco toleráveis.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O n amostral foi determinado segundo os critérios estatísticos de definição de tamanho de amostra, sendo assegurado pelo Teorema do Limite Central e a Lei dos Grandes Números.

Os testes usados foram não-paramétricos incluindo Wilcoxon, Kruskal Wallis, Mann Whitney.

O índice adotado que indica a significância estatística foi de 0,05 (5%). Os intervalos de confiança foram construídos com 95% de confiança estatística.

Como os dados obtidos foram de caráter ordinal, e não contínuos, não possuíram distribuição de normalidade, portanto, foram aplicados testes e técnicas não paramétricas.

A mediana é uma medida de posição que divide a amostra ao meio, ou seja, 50% dos indivíduos estão acima do valor da mediana e 50% abaixo. A estatística foi analisada em relação à média, pois quanto mais próximo foi o seu valor em relação à média, mais simétrica será a distribuição.

A variabilidade foi medida pelo desvio padrão. Quanto maior em relação à média maior a variabilidade.

O teste não paramétrico, não faz a comparação dos grupos pela média e sim pela posição dos dados. Mesmo não tendo utilizado a média para a comparação, foi utilizada como estatística descritiva para entender o que ocorre nos resultados.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos a partir da casuística de 43 pacientes sendo 8 do Grupo Controle, 16 do Grupo-Tratamento I (ALA 16J) e 19 do Grupo-Tratamento II (ALA 18J).

Os resultados apresentam-se na forma de tabelas com dados de média, desvio padrão, mediana, quartis e índice de confiança (IC), e em forma de figuras.

5.1 ANÁLISES INTRAGRUPOS DAS VARIÁVEIS PARA GRUPO CONTROLE

Foi realizada a comparação intragrupo, nos momentos Pré e Pós. Nesta análise foi aplicado o teste de Wilcoxon. Observou-se que apenas as alterações pigmentares tiveram alteração de significância estatística do Pré para o Pós, devido à redução dos valores da média de $3,13 \pm 0,24$ para $2,38 \pm 0,36$ conforme demonstra a TABELA 1.

TABELA 1. Comparação de Pré e Pós no Grupo Controle (Observador 1).

CONTROLE (OBS 1)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Pré	2,88	3,0	0,64	2,8	3,0	8	0,44	0,157
	Pós	2,63	3,0	0,52	2,0	3,0	8	0,36	
Rugas finas	Pré	2,88	3,0	0,64	2,8	3,0	8	0,44	1,000
	Pós	2,88	3,0	0,64	2,8	3,0	8	0,44	
Alterações pigmentares	Pré	3,13	3,0	0,35	3,0	3,0	8	0,24	0,014*
	Pós	2,38	2,0	0,52	2,0	3,0	8	0,36	
Rugas profundas	Pré	3,00	3,0	0,76	2,8	3,3	8	0,52	1,000
	Pós	3,00	3,0	0,76	2,8	3,3	8	0,52	
Queratoses actínicas	Pré	5,00	5,0	0,00	5,0	5,0	8	- x -	0,157
	Pós	4,75	5,0	0,46	4,8	5,0	8	0,32	

(*) p-valores considerados de significância estatística.

(-x-) Impossibilidade de utilizar-se a estatística.

Foi observado que apenas as alterações pigmentares tiveram alteração de significância estatística do pré para o pós, devido à redução dos valores de $3,13 \pm 0,24$ para $2,38 \pm 0,36$.

A seguir (TABELA 2) o teste de Wilcoxon foi realizado para o Observador 2 no Grupo Controle.

TABELA 2. Comparação de Pré e Pós no Grupo Controle (Observador 2).

CONTROLE (OBS 2)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Pré	3,13	3,5	1,13	2,8	4,0	8	0,78	0,063[#]
	Pós	2,38	2,5	0,74	2,0	3,0	8	0,52	
Rugas finas	Pré	2,75	3,0	0,71	2,0	3,0	8	0,49	1,000
	Pós	2,75	3,0	0,71	2,0	3,0	8	0,49	
Alterações pigmentares	Pré	3,13	3,0	0,35	3,0	3,0	8	0,24	0,059[#]
	Pós	2,50	2,5	0,53	2,0	3,0	8	0,37	
Rugas profundas	Pré	3,13	3,0	0,83	2,8	4,0	8	0,58	1,000
	Pós	3,13	3,0	0,83	2,8	4,0	8	0,58	

([#]) p-valores que, pela proximidade do limite de aceitação, possuem tendência para significância.

Não foi encontrada diferença de significância estatística em nenhum dos parâmetros estudados. O $p=0,063$ em alterações texturais e $p=0,059$ indicam uma tendência à diferença do pré para o pós, nestes critérios.

As FIGURAS 7 e 8 demonstram os resultados clínicos obtidos no Grupo Controle.



FIGURA 7. Paciente ASS, 83 anos, submetido ao tratamento com luz intensa pulsada 18J duas passagens (Grupo Controle). (A) Pré-Tratamento; (B) Oito semanas Pós-Tratamento.



FIGURA 8. Paciente NCR, 75 anos, após aplicação de luz intensa pulsada 18J duas passagens em detalhe (A) Pré-Tratamento, (B) 48 horas; (C) 12 semanas.

5.2 ANÁLISES INTRAGRUPOS DAS VARIÁVEIS PARA O GRUPO-TRATAMENTO I

Observa-se na TABELA 3 e nas FIGURAS 9 e 10, os valores encontrados para cada variável nos domínios do fotoenvelhecimento, sendo significativos em todos, exceto em rugas profundas ($p=1.000$). A média da contagem de queratoses actínicas, por paciente, neste grupo, sofreu uma redução de 5,00 para 2,44, considerado de significância estatística.

TABELA 3. Comparação de Pré e Pós no Grupo I (Observador 1).

GRUPO I (OBS 1)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Pré	3,25	3,0	0,45	3,0	3,3	16	0,22	<0,001*
	Pós	1,81	2,0	0,66	1,0	2,0	16	0,32	
Rugas finas	Pré	3,13	3,0	0,72	3,0	4,0	16	0,35	0,005*
	Pós	2,63	3,0	0,81	2,0	3,0	16	0,40	
Alterações pigmentares	Pré	2,88	3,0	0,62	2,8	3,0	16	0,30	0,002*
	Pós	1,94	2,0	0,57	2,0	2,0	16	0,28	
Rugas profundas	Pré	3,00	3,0	1,03	2,0	4,0	16	0,51	1,000
	Pós	3,00	3,0	1,03	2,0	4,0	16	0,51	
Queratoses actínicas	Pré	5,00	5,0	0,00	5,0	5,0	16	- x -	<0,001*
	Pós	2,44	3,0	0,96	2,0	3,0	16	0,47	

(*) *p*-valores considerados de significância estatística.

(-x-) impossibilidade de utilizar-se a estatística.



FIGURA 9. Paciente AMB, 79 anos, tratada com ALA incubado por duas horas ativado por luz intensa pulsada 16J, duas passagens. (A) Pré-tratamento; (B) Pós oito semanas.



FIGURA 10. Paciente ECS, 85 anos, submetida a tratamento com ALA, ativado por luz intensa pulsada a 16J, duas passagens em detalhe. (A) Pré; (B) 48 horas após; (C) Oito semanas após observar área de biópsia Pós-Tratamento recente, na região malar esquerda.

Na TABELA 4 verifica-se a comparação entre o Pré o e Pós, sob a análise do Observador 2, que encontra significância também em todos os critérios analisados por meio de conjuntos de fotografias, exceto nas rugas profundas ($p=1.000$). O Observador 2 não avaliou as queratoses actínicas.

TABELA 4. Comparação de Pré e Pós no Grupo-Tratamento I (Observador 2).

GRUPO I (OBS 2)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Pré	3,44	3,5	0,63	3,0	4,0	16	0,31	<0,001*
	Pós	2,13	2,0	0,50	2,0	2,0	16	0,24	
Rugas finas	Pré	3,06	3,0	0,85	3,0	4,0	16	0,42	0,008*
	Pós	2,63	3,0	0,81	2,0	3,0	16	0,40	
Alterações pigmentares	Pré	3,19	3,0	0,75	3,0	4,0	16	0,37	<0,001*
	Pós	2,13	2,0	0,50	2,0	2,0	16	0,24	
Rugas profundas	Pré	3,00	3,0	0,97	2,0	4,0	16	0,47	1,000
	Pós	3,00	3,0	0,97	2,0	4,0	16	0,47	

(*) p-valores considerados de significância estatística.

5.3 ANÁLISES INTRAGRUPOS DAS VARIÁVEIS PARA O GRUPO-TRATAMENTO II

Na TABELA 5, constam os valores de p significativos nos critérios alterações texturais ($p<0,001$), rugas finas ($p=0,005^*$), alterações pigmentares ($p<0,001$) e queratoses actínicas que apresentam redução média por paciente de 5 para 1,58 ($p<0,001$).

TABELA 5. Comparação de Pré e Pós no Grupo-Tratamento II (Observador 1).

GRUPO II (OBS 1)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p -valor
Alterações texturais	Pré	3,26	3,0	0,45	3,0	3,5	19	0,20	<0,001*
	Pós	1,95	2,0	0,40	2,0	2,0	19	0,18	
Rugas finas	Pré	3,00	3,0	0,67	3,0	3,0	19	0,30	0,005*
	Pós	2,58	3,0	0,51	2,0	3,0	19	0,23	
Alterações pigmentares	Pré	2,63	3,0	0,60	2,0	3,0	19	0,27	<0,001*
	Pós	1,89	2,0	0,32	2,0	2,0	19	0,14	
Rugas profundas	Pré	3,37	4,0	0,76	3,0	4,0	19	0,34	0,317
	Pós	3,32	3,0	0,75	3,0	4,0	19	0,34	
Queratoses actínicas	Pré	5,00	5,0	0,00	5,0	5,0	19	- x -	<0,001*
	Pós	1,58	1,0	0,84	1,0	2,0	19	0,38	

^(*) p -valores considerados de significância estatística.

(- x -) impossibilidade de utilizar-se a estatística.

As FIGURAS 11 e 12 demonstram a melhora da textura clínica, quantificada pelas TABELAS 5 e 6, para o Grupo-Tratamento II.



FIGURA 11. Paciente ESL, 71 anos, submetido à aplicação de ALA incubado por duas horas e ativado por LIP a 18J, duas passagens: (A) Pré; (B) Oito semanas após o tratamento.

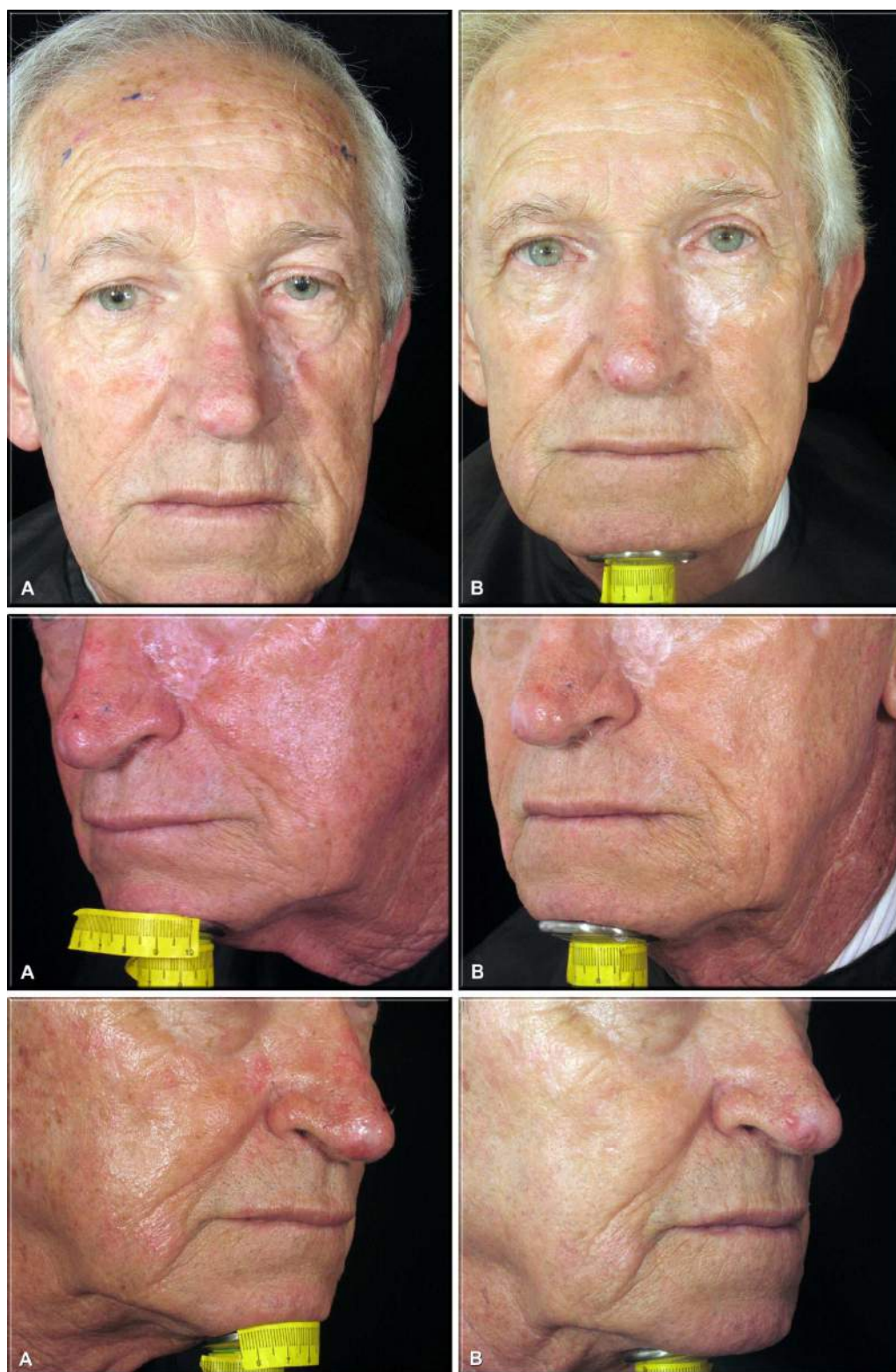


FIGURA 12. Paciente ESL, 71 anos, em detalhe, submetido à aplicação de ALA incubado por duas horas e ativado por LIP a 18J, duas passagens: (A) Pré; (B) Oito semanas após o tratamento.

A FIGURA 13 demonstra, em detalhe, a diferença da qualidade da pele da face que recebeu tratamento com ALA e LIP 18J, em relação à cervical não tratada.



FIGURA 13. Paciente ESL, 71 anos, detalhe da diferença de qualidade de pele entre área tratada (face) e área não tratada (cervical).

A FIGURA 14 demonstra mais um exemplo de paciente do Gupo-
Tratamento II, com melhora do fotoenvelhecimento das queratoses
actínicas.



FIGURA 14. Paciente MAMM, 76 anos, (A) Pré-Tratamento, (B) 48 horas; (C) 12 semanas após.

Na TABELA 6 encontram-se os critérios dos pacientes do Grupo-Tratamento II sob o ponto de vista do Observador 2. Houve significância estatística entre os momentos da avaliação verificada em alterações texturais, rugas finas e alterações pigmentares. Igualmente aos resultados das TABELAS 3, 4 e 5, em que as diferenças encontradas deveram-se à redução do pré para o pós. Não houve diferença estatística na presença de rugas profundas no Pré e no Pós ($p=0,317$).

TABELA 6. Comparação de Pré e Pós no Grupo-Tratamento II (Observador 2).

GRUPO II (OBS 2)		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Pré	3,74	4,0	0,45	3,5	4,0	19	0,20	<0,001*
	Pós	2,32	2,0	0,48	2,0	3,0	19	0,21	
Rugas finas	Pré	3,21	3,0	0,79	3,0	4,0	19	0,35	0,003*
	Pós	2,53	2,0	0,61	2,0	3,0	19	0,28	
Alterações pigmentares	Pré	2,95	3,0	0,71	2,5	3,0	19	0,32	<0,001*
	Pós	1,89	2,0	0,46	2,0	2,0	19	0,21	
Rugas profundas	Pré	3,37	3,0	0,68	3,0	4,0	19	0,31	0,317
	Pós	3,32	3,0	0,67	3,0	4,0	19	0,30	

^(*) p-valores considerados de significância estatística.

5.4 ANÁLISE INTERGRUPOS

Foi realizada uma análise intergrupos, comparando-se os três grupos em todas as variáveis, tanto no Pré quanto no Pós, para cada observador, por intermédio do teste de Kruskal-Wallis.

A TABELA 7 e a FIGURA 15 referem-se ao Observador 1, cuja análise foi clínica e fotográfica. Observa-se diferença de significância estatística entre os três grupos (simultaneamente): para alterações texturais (Pós), resposta ao tratamento e queratoses actínicas (Pós), representados pela FIGURA 15, ressaltando que o item resposta ao tratamento possui critério de pontuação decrescente:

Pontuação para Eritema	
0	Resposta completa.
1	Resposta quase completa (>90% de melhora).
2	Melhora significativa do fotoenvelhecimento (>75% de melhora).
3	Resposta moderada (50% de melhora).
4	Resposta leve (\pm 10% de resposta).
5	Sem resposta.
6	Piora das condições iniciais.

TABELA 7. Comparação dos Grupos no Observador 1.

GRUPO (OBS 1)		MÉDIA	DESVIO PADRÃO	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Controle	2,88	0,64	8	0,44	0,207
	Pré Grupo I	3,25	0,45	16	0,22	
	Grupo II	3,26	0,45	19	0,20	
	Controle	2,63	0,52	8	0,36	0,005*
	Pós Grupo I	1,81	0,66	16	0,32	
	Grupo II	1,95	0,40	19	0,18	
Rugas finas	Controle	2,88	0,64	8	0,44	0,674
	Pré Grupo I	3,13	0,72	16	0,35	
	Grupo II	3,00	0,67	19	0,30	
	Controle	2,88	0,64	8	0,44	0,565
	Pós Grupo I	2,63	0,81	16	0,40	
	Grupo II	2,58	0,51	19	0,23	
Alterações pigmentares	Controle	3,13	0,35	8	0,24	0,105
	Pré Grupo I	2,88	0,62	16	0,30	
	Grupo II	2,63	0,60	19	0,27	
	Controle	2,38	0,52	8	0,36	0,053[#]
	Pós Grupo I	1,94	0,57	16	0,28	
	Grupo II	1,89	0,32	19	0,14	
Rugas profundas	Controle	3,00	0,76	8	0,52	0,420
	Pré Grupo I	3,00	1,03	16	0,51	
	Grupo II	3,37	0,76	19	0,34	
	Controle	3,00	0,76	8	0,52	0,543
	Pós Grupo I	3,00	1,03	16	0,51	
	Grupo II	3,32	0,75	19	0,34	
Resposta ao Tratamento	Controle	4,25	0,46	8	0,32	<0,001*
	Grupo I	2,88	0,50	16	0,24	
	Grupo II	2,53	0,51	19	0,23	
Queratoses actínicas	Controle	5,00	0,00	8	- x -	1,000
	Pré Grupo I	5,00	0,00	16	- x -	
	Grupo II	5,00	0,00	19	- x -	
	Controle	4,75	0,46	8	0,32	<0,001*
	Pós Grupo I	2,44	0,96	16	0,47	
	Grupo II	1,58	0,84	19	0,38	

(*) p-valores considerados de significância estatística.

(#) p-valores que, pela proximidade do limite de aceitação, possuem tendência para significância.

(-x-) Impossibilidade de utilizar-se a estatística.

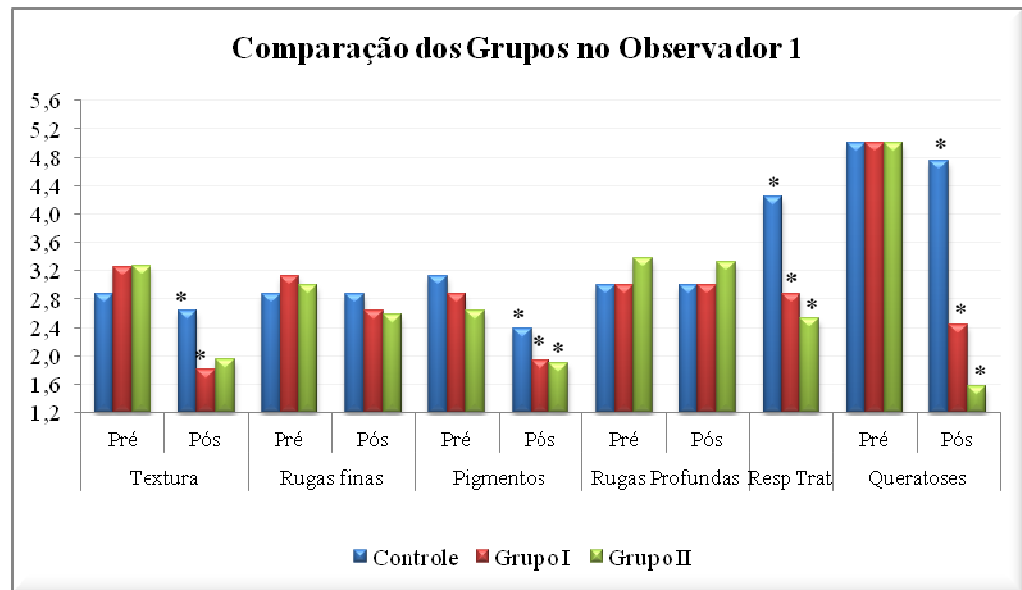


FIGURA 15. Representação gráfica da TABELA 7.

(*) p -valores considerados de significância estatística.

Os valores de comparação dos grupos, para o Observador 2, constam no APÊNDICE VII.

Para determinar, com precisão, entre quais grupos ocorre a diferença, foram comparados aos pares, por isso, a TABELA 8 traz somente estes p -valores (teste de Mann-Whitney).

Para análise da TABELA 8, as linhas com as colunas para encontrar o p -valor foram cruzadas. O Grupo Controle sempre revelou resultados maiores do que os demais grupos. Ao comparar os Grupos-Tratamentos I e II observou-se que, na resposta ao tratamento, apresentaram $p=0,057$

(próximos do limite de aceitação, mostrando tendência para a significância estatística) e nas queratoses actínicas $p=0,006$.

TABELA 8. p -valores da TABELA 7.

			CONTROLE	GRUPO I
Resposta global ao tratamento (Todos os critérios de fotoenvelhecimento)	Grupo I		<0,001*	
	Grupo II		<0,001*	0,057 [#]
Queratoses actínicas	Pós	Grupo I	<0,001*	
		Grupo II	<0,001*	0,006*

(*) p -valores considerados de significância estatística.

([#]) p -valores que, pela proximidade do limite de aceitação, possuem tendência para significância.

Na FIGURA 16 observa-se o índice de resolução das queratoses actínicas em cada grupo de pacientes. A média de lesões por paciente, para o Grupo Controle, foi de 5,0 para 4,75 ($p=0,157$), no Grupo-Tratamento I de 5,0 para 2,44 ($p<0,001$) e no Grupo-Tratamento II de 5,0 para 1,58 ($p<0,001$).

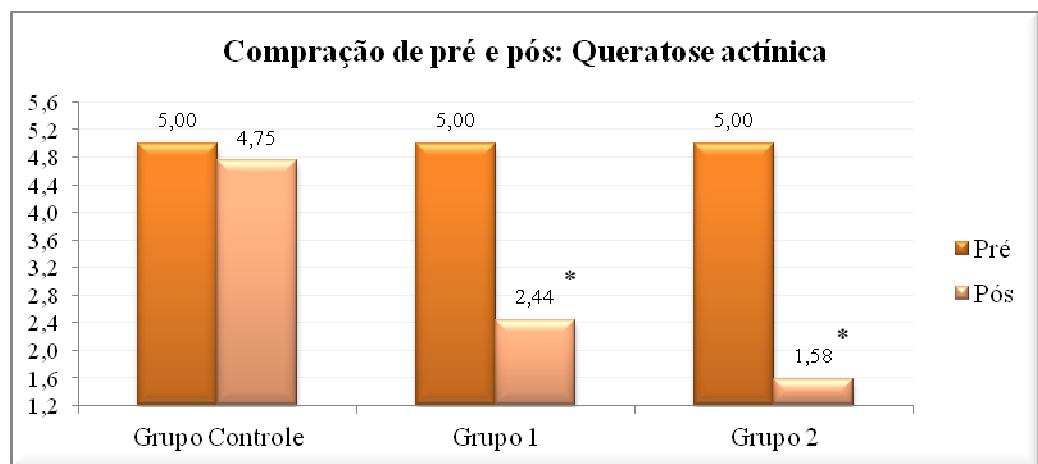


FIGURA 16. Comparação entre as m dias de queratoses actínicas por paciente em cada um dos grupos.

A tolerabilidade avaliada 48 horas após o tratamento pela escala específica, cujos critérios eritema, edema, crostas e erosões, pontuados de 1 a 4, bem como a satisfação percebida pelo paciente com 12 semanas de tratamento, estão relacionadas na FIGURA 17 que representa as médias dos valores encontrados.

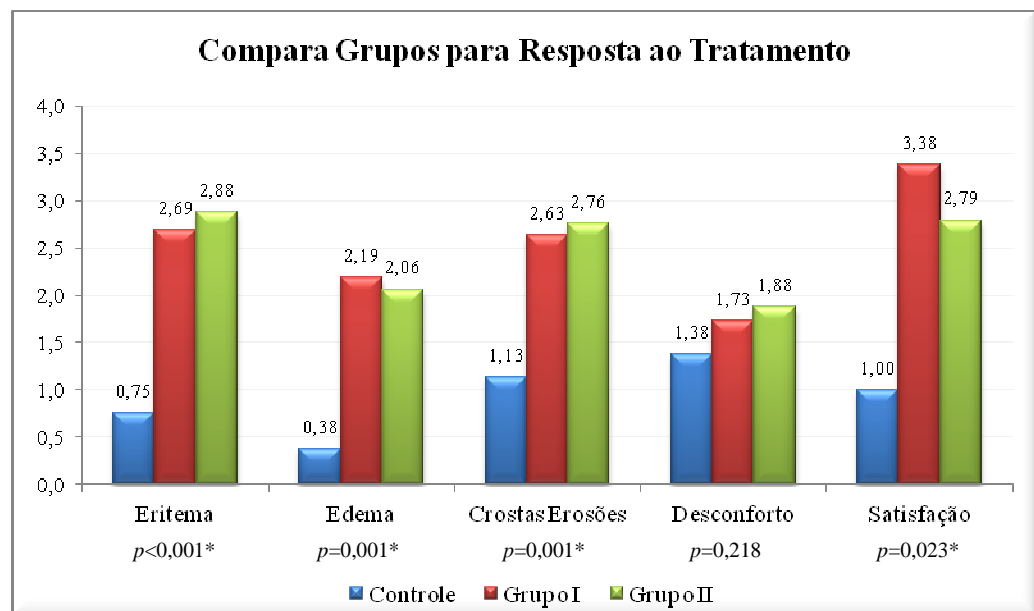


FIGURA 17. Comparação entre os grupos na tolerância ao tratamento e na satisfação relatada pelos pacientes.

A seguir, os resultados encontrados na análise dos critérios anatomopatológicos. Na TABELA 9, constata-se as alterações nos graus de atipia em cada grupo e, também, a média geral. Observou-se que o p apresentou significância estatística em termos de atipias graves e moderadas que sofreram redução percentual de 12,1% para 0%, e de 54,5%

para 24,2%, enquanto o número de pacientes sem atipia aumentou de zero para 21%, e os com atipia leve de 33,3% para 54,5%.

TABELA 9. Compara Pré e Pós em Anátomo para Atipia.

ATIPIA	PRÉ		PÓS		p-valor	
	n	%	n	%		
Controle	Grave	1	16,7%	0	0,0%	0,296
	Leve	2	33,3%	2	33,3%	1,000
	Moderada	3	50,0%	4	66,7%	0,558
Grupo I	Leve	5	50,0%	5	50,0%	1,000
	Moderada	5	50,0%	2	20,0%	0,160
	Sem	0	0,0%	3	30,0%	0,060[#]
Grupo II	Grave	3	17,6%	0	0,0%	0,070[#]
	Leve	4	23,5%	11	64,7%	0,016*
	Moderada	10	58,8%	2	11,8%	0,004*
	Sem	0	0,0%	4	23,5%	0,033*
Geral	Grave	4	12,1%	0	0,0%	0,039*
	Leve	11	33,3%	18	54,5%	0,083[#]
	Moderada	18	54,5%	8	24,2%	0,012*
	Sem	0	0,0%	7	21,2%	0,005*

(*) p-valores considerados de significância estatística.

(#) p-valores que, pela proximidade do limite de aceitação, possuem tendência para significância.

Demonstra-se pela TABELA 10 a avaliação da perda de polaridade no Pré e no Pós-Tratamento, em todos os grupos. Notou-se, também, pelos p-valores, que existiu diferença de significância estatística entre Pré e Pós no Grupo-Tratamento II e no geral. Estas diferenças foram verificadas para as respostas de Leve, Moderada e Sem. Por exemplo, no geral, para a resposta

Sem Alterações de Polaridade foi encontrado um aumento de 3,0% para 21,2%, e uma redução na porcentagem de graves de 6,1% para 0,0%.

TABELA 10. Compara Pré e Pós, em anátomo, para perda de polaridade.

PERDA DE POLARIDADE		PRÉ		PÓS		p-valor
		n	%	n	%	
Controle	Leve	2	33,3%	1	16,7%	0,505
	Moderada	4	66,7%	5	83,3%	0,505
Grupo I	Leve	8	80,0%	8	80,0%	1,000
	Moderada	1	10,0%	0	0,0%	0,305
	Sem	1	10,0%	2	20,0%	0,531
Grupo II	Grave	2	11,8%	0	0,0%	0,145
	Leve	2	11,8%	11	64,7%	0,001*
	Moderada	13	76,5%	1	5,9%	<0,001*
	Sem	0	0,0%	5	29,4%	0,015*
Geral	Grave	2	6,1%	0	0,0%	0,151
	Leve	12	36,4%	20	60,6%	0,049*
	Moderada	18	54,5%	6	18,2%	0,002*
	Sem	1	3,0%	7	21,2%	0,024*

(*) p-valores considerados de significância estatística.

AS FIGURAS 18, 19 e 20, demonstram cortes citológicos corados com hematoxilina eosina no pré e oito semanas após para cada um dos grupos de pesquisa.

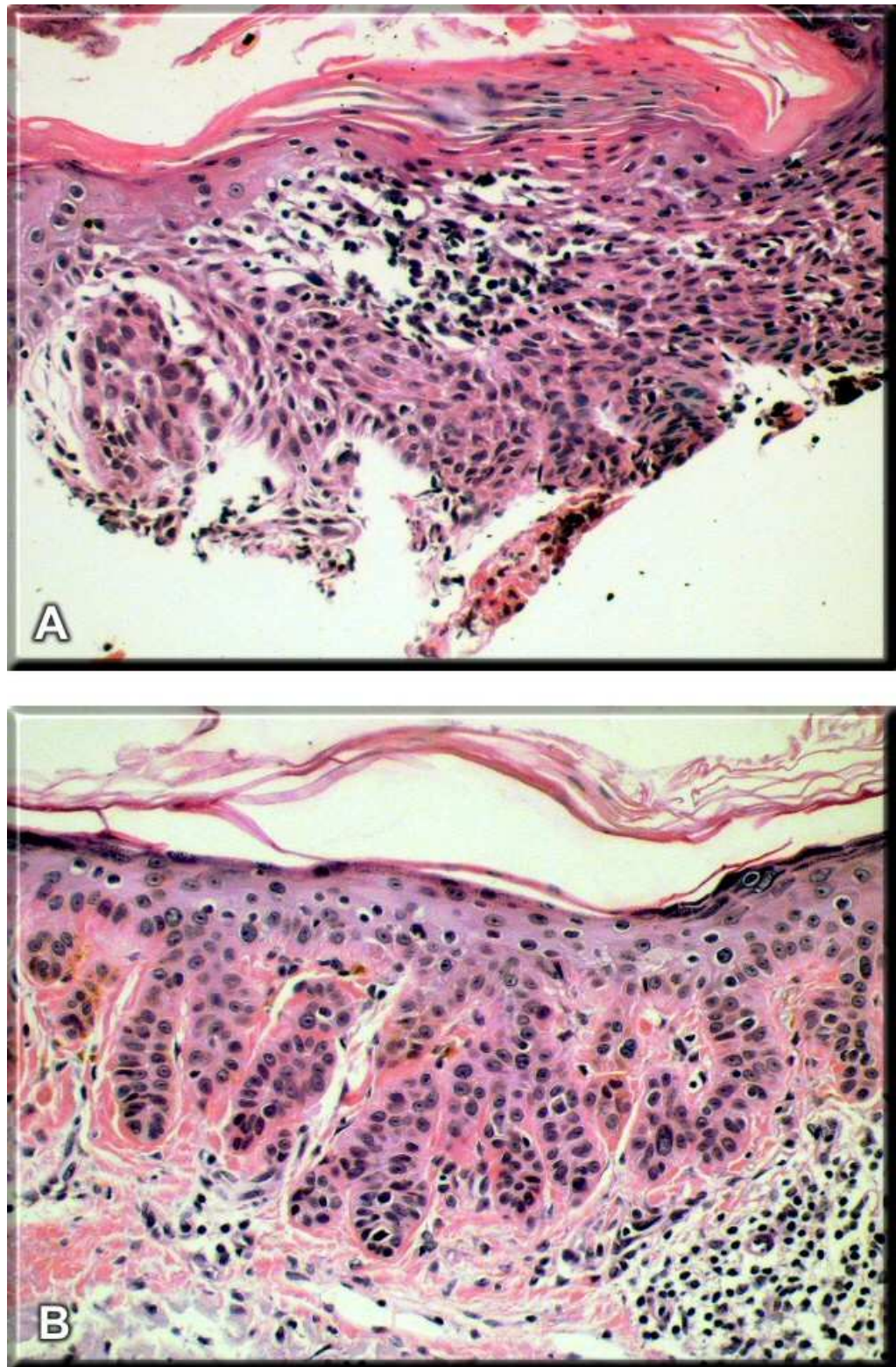


FIGURA 18. Paciente AT, 73 anos, Grupo Controle: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas. Coloração hematoxilina-eosina (aumento 400 vezes).

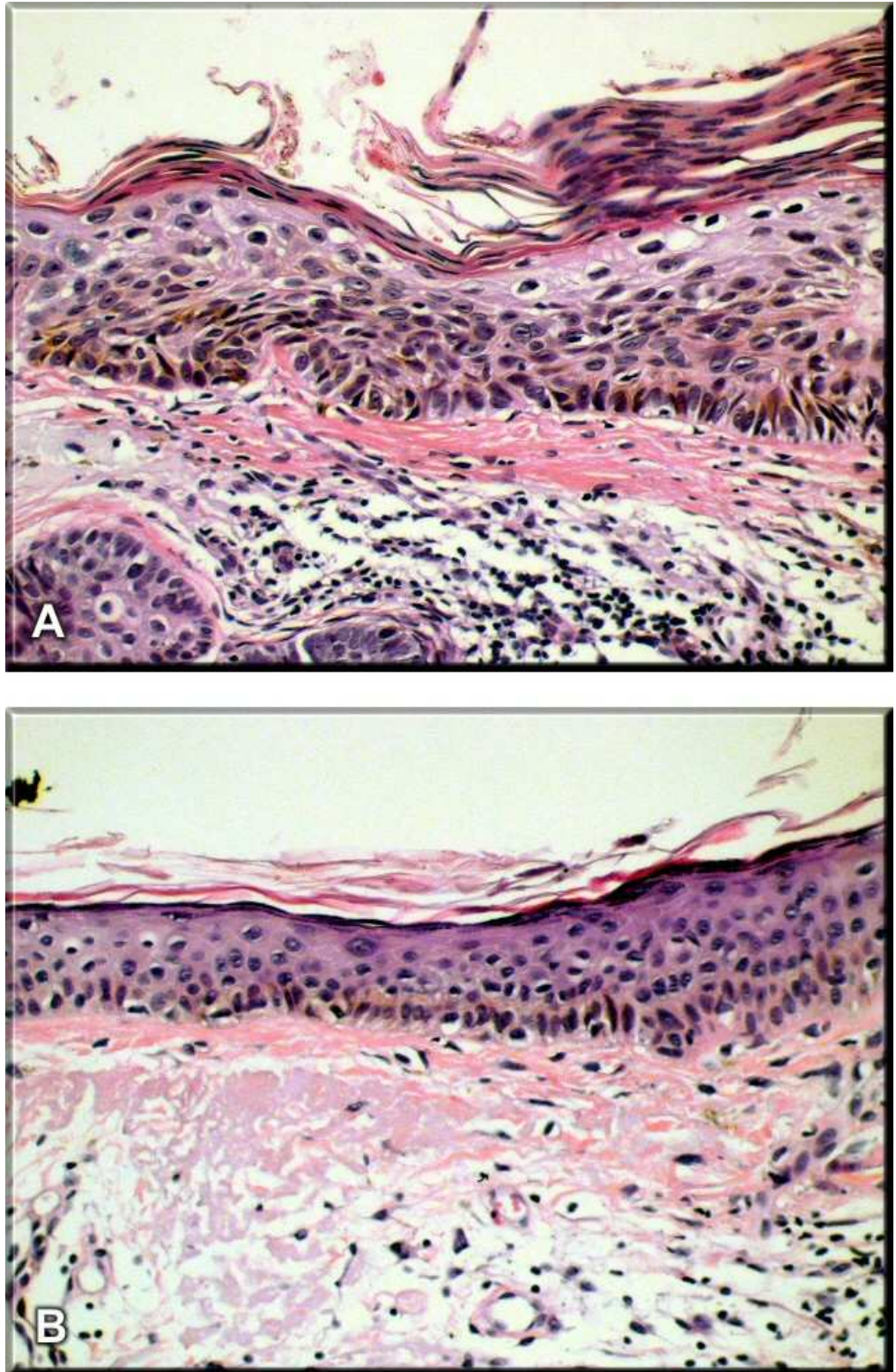


FIGURA 19. Paciente HC, 66 anos, submetida ao Grupo-Tratamento I: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas. Coloração hematoxilina-eosina (aumento 400 vezes).

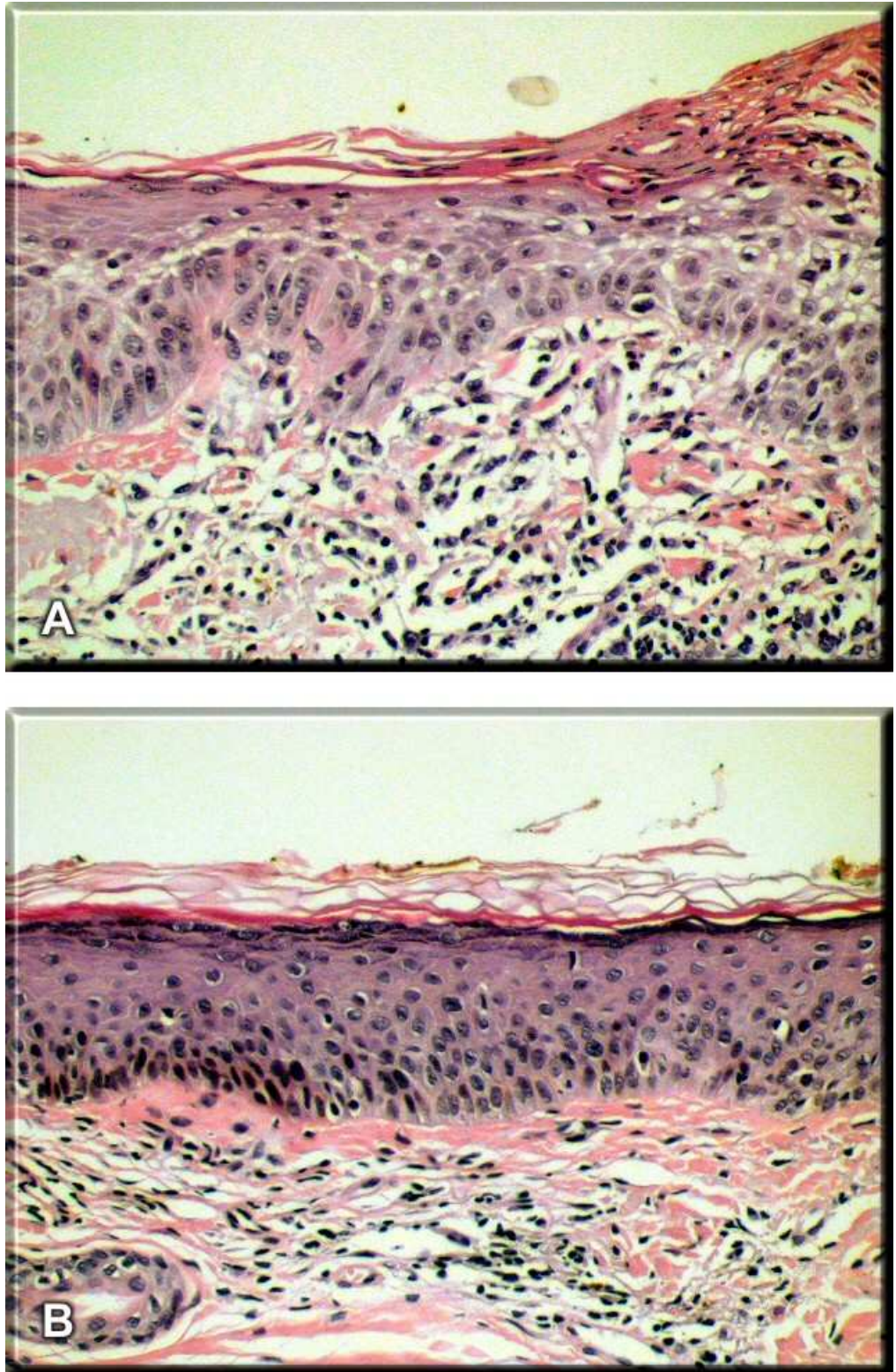


FIGURA 20. Paciente JV, 77 anos, submetido ao Grupo-Tratamento II: (A) Biopsia Pré-Tratamento; (B) Biopsia Pós oito semanas (aumento de 400 vezes).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os principais pontos, que justificaram a escolha deste tema, referem-se à abordagem das queratoses actínicas, como medida auxiliar na profilaxia do câncer de pele, bem como à reversão dos sinais clínicos de fotoenvelhecimento, proporcionando uma melhora do seu aspecto estético da pele.

Para que uma modalidade terapêutica torne-se aceitável deve oferecer vantagens significativas em relação aos tratamentos disponíveis, quer seja na melhora dos resultados funcionais e estéticos, ou na redução do número de queratoses actínicas. Ambos foram amplamente considerados na escolha do tema e do método a ser aplicado.

Segundo GOLD (2002) a terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade de tratamento ampla, considerada como uma subespecialidade da área terapêutica dermatológica e deve ser vista como promissora devido as suas aplicações e variações. Vai além do potencial de tratamento em várias áreas da biologia e alcançando níveis de químio-prevenção, outro aspecto motivador na opção por um trabalho clínico controlado e prospectivo, em conjunto com o setor de tumores de pele da Disciplina de

Cirurgia Plástica UNIFESP-EPM, da qual foi drenada a grande maioria dos pacientes.

A amostra com idade média elevada (71,7 anos), tipos de pele claros, extensamente danificados pela ação solar e a história positiva prévia de câncer de pele não-melanoma, em 60% dos pacientes, foi bastante adequada para os objetivos do projeto.

Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), para 2010, estima-se 113.850 novos casos de câncer de pele não-melanoma, sendo 53.410 homens e 60.440 mulheres. Sendo assim, medidas de químio-prevenção atingem âmbito de saúde pública e, portanto, o investimento em ciência nessa direção é válido e essencial, incluindo-se a abordagem das queratoses actínicas presentes em todos pacientes.

As queratoses actínicas foram clinicamente identificadas pelo pesquisador e, devido ao seu elevado número por paciente estudado, foram determinadas cinco lesões alvo seguindo metodologia do estudo de EPSTEIN (1998), que contabilizou as queratoses antes e após esquemas de tratamento por 5 Fluorouracil (5-FU) tópico. No entanto, observou que a contagem de queratoses actínicas poderia apresentar imprecisão, principalmente em estudos de antes e depois do tratamento, baseado em avaliações

fotográficas. Como o seu diagnóstico é baseado na textura áspera e na presença de escamas aderidas, uma área de pele reativa ou ressecada poderia mimetizar uma queratose actínica.

Desta maneira, a opção por realização de biopsia em uma das lesões na porção medial de uma queratose actínica alvo, maior que cinco mm antes do tratamento proposto, repetida em sua porção lateral, após o tratamento, foi considerada por PARK *et al.* (2010) como uma maneira de comprovação histológica dos achados clínicos obtidos.

YANTSOS *et al.* (1999) definiram critérios histológicos para graduação objetiva histológica das queratoses actínicas e propuseram o termo neoplasia queratinocítica intraepidérmica (*keratinocytic intraepithelial neoplasia* - KIN) por acreditar que as queratoses actínicas são formas incipientes e intraepidérmicas de carcinoma espinocelular (CEC). As KIN, de acordo com seus critérios histológicos, seriam de baixo risco (KIN 1) ou de risco moderado e alto (KIN 2 e 3) para evolução neoplásica. Embora critérios como paraqueratose, acantólise, hiperqueratose possam estar associados, a atipia e perda de polaridade são os critérios mais marcantes e que determinam maior risco para as queratoses actínicas tanto no trabalho

de YANTSOS *et al.* (1999) como no presente, e foram os destacados na análise histológica.

Se a histologia era capaz de confirmar o diagnóstico de queratose actínica pelas colorações tradicionais de hematoxilina eosina, não apresentava a mesma facilidade para avaliar o fotoenvelhecimento.

A dificuldade em avaliar e graduar o envelhecimento de pele foi levantada por vários autores como WHITED, *et al.* (1995) e PEREDNIA, GAINES, ROSSUM (1992).

GRIFFITHS *et al.* (1992), com o intuito de avaliar o fotoenvelhecimento e sua resposta ao tratamento, desenvolveram uma escala fotonumérica para classificá-lo e graduá-lo, segundo critérios descritivos pontuados de zero a quatro, rugas finas, rugas profundas, pigmentação difusa, e textura de pele. Para cada critério, quatro fotografias que identificassem os diferentes graus de severidade, propostos pelos autores, foram utilizadas e foi solicitado que os observadores classificassem os pacientes. Ao utilizar a escala fotonumérica, houve elevada concordância entre os observadores. Essa escala foi reconhecida como válida e tem sido amplamente usada em estudos sobre fotoenvelhecimento (TOUMA *et al.*, 2004, DOVER *et al.* (2005), ALSTER, TANZI, WELSH, 2005). Por conseguinte, foi escolhida para

ser utilizada pelos observadores do presente estudo. Além da escala de Griffiths, um escore de resposta global ao tratamento, variando com seis graduações, foi usado no qual zero correspondia a melhora de 100% das condições iniciais e seis seria indicativo de piora, bem como uma escala de satisfação do paciente com o tratamento, para que a percepção sobre a melhora clínica pudesse ser analisada de diferentes ângulos.

Os *softwares* para fotografias na área de dermatologia são altamente especializados e programados para conferir a melhor qualidade possível, em termos de detalhes da superfície cutânea e suas alterações. *FOTOFINDER MEDISCOPE*[®], *Germany*, é um *software* desenvolvido para estudos e pesquisas em pele. A configuração permite fotografias digitais de face consistentes (mesma abertura, velocidade, brilho, balanço e mais 30 critérios padronizados pelo sistema), considerando os mesmos critérios no pré e pós-tratamento. Um aparato de posicionamento da face, que fica apoiada enquanto a câmera gira 180° em torno de um eixo fixo, com cinco pontos de parada a 90° e 45° direito, esquerdo e central. Este suporte permite manter uma distância constante em cada uma das tomadas de imagens (posteroanterior, perfil e 45°).

Quando o sistema de superposição de imagens é acionado, uma imagem em sombra do Pré surge na tela e, automaticamente, o *software* identifica 30 parâmetros da imagem selecionada (ponto de foco, abertura, velocidade, brilho, balanço e mais 24 parâmetros), selecionando-os para que sejam os mesmos na fotografia de Pós-Tratamento permitindo, assim, imagens comparáveis entre si. Os *flashes* e rebatedores são integrados à câmera de modo a evitar sombras e mostrar todos os detalhes da pele.

As imagens foram analisadas por dois observadores e realizada a pontuação na escala de Griffiths. A avaliação de resultados do tratamento foi realizada com oito semanas, seguindo o intervalo padronizado pela *US Board Of Health* em acessar a eficácia da ablação das queratoses actínicas e melhora no fotoenvelhecimento.

Dois agentes fotossensibilizantes são os mais estudados para o uso tópico, ácido 5 aminolevulínico (5-ALA) a 20% em forma industrializada (Levulan Kerastick[®] - *DUSA Pharmaceuticals, Inc., USA*) e o Metilaminolevulinato (*MAL - Metvix Photocure[®] ASA Oslo Norway*).

O MAL foi desenvolvido na forma de creme, com a finalidade de ser mais lipofílico, aumentando a capacidade de penetração no extrato córneo, com taxa de cura de 79% (KENNEDY, POTTIER, PROSS, 1990) a 89%

(MORTON, MCKENNA, RHODES, 2008) em carcinoma basocelular (CBC) superficiais.

PENG *et al.* (1997b) confirmam que o ALA era menos efetivo no tratamento dos CBC com taxas entre 10% e 75%.

O ALA foi aprovado para o tratamento das queratoses actínicas pelo *Food and Drug Administration* após estudo de fase III multicêntrico, conduzido por PIAQUADIO *et al.* (2004), em que foram tratadas 243 pacientes portadores de queratose actínica, com ALA aplicado por 14 a 16 horas, ativado por Luz Azul (BLU U[®]) a 10J/cm², apresentando 91% de cura das lesões 12 semanas após um ou dois tratamentos, em comparação aos 20% de cura no grupo placebo. No Brasil, encontra-se devidamente aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), desde 2007.

As taxas de curas são menores para queratoses actínicas tratadas com MAL em tratamento único, 69% no estudo de SZEIMIES *et al.* (2002), sendo os melhores índices relatados por TARSEDY *et al.* (2005), com 87% de cura após dois tratamentos de MAL e luz vermelha de 37J/cm², e ZANE *et al.* (2007) que apresentou 88,3% de cura com os mesmos parâmetros.

Até o início deste estudo, em 2006, o fotorrejuvenescimento com TFD não havia sido relatado com MAL, provavelmente devido a sua penetração mais profunda, inaplicável neste tratamento, que foca alterações que ocorrem primordialmente nas camadas epidérmica e dérmica superficial, desencorajando sua escolha. No entanto GOLDMAN, ATKIN, KINKAD (2002), RUIZ RODRIGUEZ *et al.* (2002), GOLD (2002) já tinham aplicado o ALA em seus estudos de fotorrejuvenescimento com boa resposta clínica o que motivou a procura por uma empresa disposta a fornecer o ativo para o presente estudo, aceitando a publicação de qualquer tipo de resultado obtido. A empresa *DUSA Pharmaceuticals* dispôs-se a fornecê-lo sem custo.

O benefício comprovado do ALA, associado à luz azul de 417nm na abordagem das queratoses actínicas, somados aos estudos que não observaram diferenças nos resultados obtidos, em termos de melhora do fotoenvelhecimento e das queratoses actínicas após incubação do ALA por uma duas ou três horas, confirmou a validade de períodos menores de incubação do ativo, como o de TOUMA *et al.* (2004), que serviram de base para opção pela incubação do ALA por duas horas.

DE ROSA & BENTLEY (2000) publicaram artigo de revisão enfatizando que a maior dificuldade de penetração do ALA, pela pele normal, deve-se ao fato de ser uma molécula hidrofílica que dificulta a passagem pelas barreiras biológicas, como o manto hidrolipídico. Relataram, ainda, que outros métodos físicos como ultrassom e iontoforese, e agentes químicos como a desoxiferroamina e o dimetilsulfóxido, combinados ao ALA, poderiam aumentar sua penetração e ação, da mesma forma que a temperatura e a luz ambiente durante a incubação. Para se evitar eventuais vieses, todos os pacientes foram mantidos em ambiente escuro e com temperatura controlada durante o período de incubação, foram tratados sempre no mesmo período do dia, para que a exposição da pele à radiação ultravioleta, no trajeto de volta para casa fosse mínima, estando o paciente protegido por meio de anteparo físico. Neste estudo, como parte do preparo da pele dos pacientes, foi realizado o seu desengorduramento com álcool isopropílico a 99%, feito com gaze em várias direções, por cinco minutos, para a redução do manto hidrolipídico, com o propósito de atingir-se maior penetração e uniformidade do ALA.

A luz intensa pulsada (LIP) é uma tecnologia amplamente difundida na abordagem do rejuvenescimento facial, BITTER (2000) publicou resultados clínicos e histológicos de 49 pacientes submetidos a quatro ou

mais tratamentos faciais com LIP, com intervalos de três semanas e intensidade de 30 a 50J/cm². Observou 90% de resolução nos sinais da escala de Griffiths e 88% de satisfação dos pacientes.

RUIZ RODRIGUEZ *et al.* (2002) otimizaram esses resultados ao adicionar o ALA incubado por quatro horas, seguido do tratamento pela LIP. Nos 17 pacientes estudados, além da melhora no fotoenvelhecimento, observou-se uma redução no número de queratoses actínicas com apenas duas sessões, contra as quatro ou mais descritas por BITTER (2000) sem o uso do fotossensibilizante. A esse processo, denominou-se rejuvenescimento fotodinâmico.

Apesar do maior consumo do ALA acontecer quando ativado por fonte de luz, nos comprimentos de onda dentro da banda de *Soret* (410 a 432nm), ocorrem picos secundários de ativação aos 510nm, 540nm, 580nm e 635nm, que ficam dentro de um espectro conhecido como banda Q. A LIP é uma fonte de luz não coerente e não colimada, capaz de gerar um amplo espectro de comprimentos de onda variando de 500 a 1200nm, correspondendo à luz visível e ao infravermelho, incluindo dentro dessa faixa todos os picos secundários de ativação do ALA. Quando se deseja aumentar a especificidade da ação da LIP, um filtro de determinado

comprimento de onda é colocado para aumentar a ação da energia ao seu redor, bloqueando parcialmente o restante do espectro. Neste estudo, por exemplo, aplicou-se um filtro de aproximadamente 520nm, que permitiu maior ativação do ALA nos picos secundários de 510 e 540nm. Embora o filtro mantenha a maior parte da energia concentrada ao seu redor, ainda há ação residual entre a faixa de 500 a 1100nm, que é o espectro do aparelho *Limelight*[®] *CUTERA* de LIP, usado neste estudo.

A luz azul não é tão comumente encontrada nos consultórios médicos, devido ao seu alto custo e ação muito limitada, assim como aos poucos fabricantes existentes (ALEXIADES- ARMENAKAS, 2006).

A LIP, considerando-se a sua versatilidade de aplicações clínicas que incluem remoção de pelos, atuação em hiperchromias e teleangiectasias, possui seu uso bem estabelecido em clínicas e consultórios, com disponibilidade de diversos fabricantes, inclusive nacionais. Desse modo, um trabalho clínico utilizando essa fonte torna-se mais aplicável na prática clínica diária.

STRASSWIMMER & GRANDE (2006), em estudo pareado por placebo, estudaram duas fontes pulsadas de luz o *pulsed dye laser* (PDL) e a LIP na ativação do ALA, e compararam com a luz azul contínua. Concluíram que

as fontes de luz pulsada produziram uma resposta menos expressiva do que a obtida com a luz azul, no entanto, poderia ser suficiente para melhorar o fotodano, com maior eficácia, do que os tratamentos sem o agente fotossensibilizante e com menos efeitos colaterais do que a luz azul. Esse fato foi relevante na escolha da fonte de luz deste estudo, uma vez que os pacientes com média elevada de idade, como os da casuística selecionada, possuíam menor tolerância aos efeitos colaterais TFD.

A aplicação de duas passagens da LIP baseou-se em achados do projeto piloto, prévio a este estudo. Foram estudados 24 pacientes divididos em cinco Grupos Controle somente com aplicação de LIP, e grupos 2 e 3 recebendo tratamento com ALA de passagem única de 20 e 25J/cm², e grupos 4 e 5 recebendo duas passagens de 20 e 25J/cm². A resposta clínica obtida com duas passagens foi mais evidente, assim como o clareamento das queratoses actínicas, provavelmente por dobrar a ativação fotodinâmica, conforme sugerido por WAIBEL (2009). Estes achados foram fatores encorajantes quanto à decisão de aplicação das duas passagens no presente estudo.

6.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Determinou-se a análise dos resultados por dois observadores. O Observador 1 fez a análise com base em avaliação clínica e fotográfica, em todos os momentos avaliados (incluindo 48 horas e 12 semanas pós-tratamento), e o Observador 2 o fez apenas com base em análise fotográfica, nos momentos pré, oito e doze semanas após o tratamento.

Relativamente ao Grupo Controle, tratado apenas pela LIP, o Observador 1 encontrou redução significativa do Pré para o Pós ($p=0,014$), apenas nas alterações pigmentares. As queratoses actínicas não apresentaram resolução clínica de significância estatística ($p=0,157$). WAIBEL (2009), em artigo de revisão, destacou que a LIP, devido ao seu amplo espectro, combinações de filtros, comprimentos de onda e fluência comprovadamente, trataram lesões pigmentares e vasculares de diferentes regiões anatômicas, sendo um pilar no rejuvenescimento não-invasivo pela sua versatilidade, no entanto, exigiram um número maior de sessões que os *lasers*. O mesmo Grupo Controle, sob o ponto de vista do Observador 2, apresentou apenas uma tendência na melhora das alterações pigmentares ($p=0,059$) e das alterações texturais ($p=0.063$).

GRIFFITHS *et al.* (1992), ao descreverem sua escala fotonumérica para classificar o fotoenvelhecimento, comentaram que, apesar de sua superioridade sobre a simples análise descritiva do fotoenvelhecimento facial, e mesmo com boa concordância interobservadores, poderia variar entre observadores experientes para um mesmo paciente.

Confirmando as afirmações, STERN & COOPMAN (1992) enfatizaram que a melhora vista pelas lentes de uma câmera fotográfica poderia não corresponder à melhora clínica, mesmo com fotografias profissionalmente padronizadas. Esse fato tornava-se mais nítido quando a melhora clínica era menos evidente, como no uso dos retinóides tópicos, exemplificado pelos autores. A LIP apresentou alterações sutis e progressivas, necessitando de sessões adicionais para que se evidenciassem. Os autores sugeriram, ainda, o uso de moldes de silicone, ultrassom pulsado de pele e espectroscopia, para que mudanças como o viço e a vascularização pudessem ser comparadas no pré e pós-tratamento, com maior acuidade. Portanto, as mudanças fotográficas avaliadas pelo Observador 2, após apenas uma sessão, não foram tão significantes, neste estudo.

PEREDNIA, GAINES, ROSSUM (1992) apresentaram a análise das condições cutâneas como um desafio a ser vencido, no que diz respeito a

concordância entre observadores, e a acurácia das medidas obtidas em dois ou mais momentos na evolução clínica de um mesmo paciente. Essa dificuldade ficou nítida no Grupo Controle deste estudo. No entanto, nos casos em que a resposta ao tratamento foi mais intensa, os achados entre observadores ficaram mais concordantes, como se observa na análise dos Grupos-Tratamentos I e II.

O ALA incubado por duas horas e ativado pela LIP a $16\text{J}/\text{cm}^2$, em duas passadas, foi aplicado nos 16 pacientes do Grupo-Tratamento I (ALA 16J). Os resultados, coletados de ambos os observadores, revelaram melhora nos sinais clínicos de fotoenvelhecimento como rugas finas, alterações texturais e alterações pigmentares, com resultados significantes, devido à sua redução no Pós em relação ao Pré-Tratamento. Ambos os observadores não encontraram melhora no item rugas profundas, corroborando os achados de TOUMA *et al.* (2004), resultantes de seu trabalho com 18 pacientes usando ALA e luz azul, destacando melhora significativa dos parâmetros de fotoenvelhecimento, exceto das rugas profundas, pois eram decorrentes de alterações dérmicas, e os benefícios do tratamento pareceram restringir-se mais às alterações epidérmicas.

Os resultados foram novamente significantes para ambos os observadores, no Grupo-Tratamento II (ALA 18J), em todos os critérios do fotoenvelhecimento, exceto para o critério rugas profundas.

Segundo ZANE *et al.* (2007), a TFD seria capaz de promover a reversão do fotodano pelos seguintes efeitos biológicos: morte por necrose e apoptose de queratinócitos, que acelerava o processo de renovação celular por aumento do *turn over* celular na camada granulosa, o que, clinicamente, refletiria na melhora da textura e do ressecamento da pele. Outro fator seria a modulação da resposta inflamatória deflagrada pela reação fototóxica, com conseqüente aumento da atividade inflamatória dérmica, e dos fibroblastos levando à neoformação de colágeno, melhorando, clinicamente, as rugas finas. Os autores comentaram que a TFD não teria atuação em profundidade suficiente para agir nos níveis subdérmicos ou subcutâneos, no sentido de modificar os septos contraídos e, portanto, não haveria ação nas rugas profundas.

Embora todos os grupos tenham obtido melhora nos parâmetros de fotoenvelhecimento e melhora global, foi maior no Grupo-Tratamento II (ALA 18J) (média = 2,53), seguida pelo Grupo-Tratamento I (ALA 16J) (média = 2,88), e pelo Grupo Controle (média = 4,25), reforçando que,

neste critério, quanto mais próximo de zero mais significativa mostrava-se a melhora obtida (zero representou melhora de 100% nas condições iniciais, e seis a piora das condições iniciais).

ALSTER, TANZI, WELSH (2005) e GOLD *et al.* (2006) demonstraram que os tratamentos ALA-LIP apresentavam resultados superiores e menor número de sessões do que os tratamentos LIP isolados na abordagem do fotoenvelhecimento, sendo esses dados comprovados por este estudo.

Atualmente, os métodos tradicionais de abordagem das queratoses actínicas são o uso do 5-FU, do *Imiquimod* ou a crioterapia. A crioterapia é uma opção bastante consagrada, embora não haja uma padronização de seu uso.

THAI *et al.* (2004), em estudo clínico de fase III, demonstraram 67,2% de resposta completa das lesões tratadas pela crioterapia com nitrogênio líquido. Observaram 29% de hipopigmentação, e 2% de cicatrizes distróficas. Essa modalidade considerou como alvo queratoses isoladas, sendo indicada para pacientes com lesões esparsas e em pequeno número. Nos casos de lesões difusas ou queratoses subclínicas, a crioterapia não é bem indicada e também não trata o fotoenvelhecimento.

Estudos de fase III como o de LEBWOHL *et al.* (2004) e de SALASCHE, LEVINE, MORRISON (2002) demonstraram de 45,1% a 82% de cura para as queratoses actínicas com *Imiquimod*, um amplificador de resposta imunológica da pele que ativava seus mecanismos de resposta contra a patologia em tratamento; seu uso causou efeitos colaterais importantes como eritema (93%), ressecamento (83%), queimação (75%) dor (43%) e ulcerações (44%). O custo foi elevado (STOCKFLETH *et al.* 2001, 2002), hoje em dia, o suprimento para um mês de tratamento, no Brasil, representaria aproximadamente R\$ 360,00, sendo necessários de três a quatro meses de tratamento, e, além disso, não teria atuação sobre o fotoenvelhecimento.

O 5-FU reduz as queratoses por mecanismo quimioterápico de destruição celular, apresentando efeitos colaterais importantes: eritema, ulceração de aspecto estético desfigurante ao longo do tratamento, reduzindo muito, portanto, a aderência do paciente ao tratamento. No presente estudo o índice de aderência ao tratamento foi muito elevado, considerando-se o número de visitas exigidas, as biopsias, aliados à idade e condições sócio-econômicas destes pacientes.

KURWA *et al.* (1999), em estudo comparativo entre o 5-FU e a TFD, no qual pacientes eram randomizados para receber tratamento de 5-FU duas vezes ao dia, por três semanas em um dos lados e, no outro, TFD com ALA incubado por quatro horas e ativado por fonte de luz incoerente de lâmpada alógena de metal de 1200W. Observaram que ambos os tratamentos apresentaram resultados positivos e comparáveis na redução do tamanho da área com queratose actínica. Concluíram que um tratamento de TFD era tão efetiva quanto três semanas de uso diário de 5-FU, com a vantagem, ainda, da ausência dos efeitos colaterais indesejados. Desse modo, esse tratamento passou a ser parte do arsenal terapêutico dessas lesões.

Neste estudo, sob o ponto de vista de resolução clínica das queratoses actínicas no Pós-Tratamento, entre o Grupo Controle, houve redução de apenas 5%, passando de uma média de cinco lesões para 4,75 ($p=0,157$), por paciente, enfatizando o benefício obtido pela associação do ALA no tratamento destas lesões. A pequena melhora observada pode ser consequência da remissão espontânea (TUTRONE *et al.*, 2003a) ou devido à ação vascular de estímulo a fatores angiogênicos, desencadeada pela LIP (Ross, 2006).

No Grupo-Tratamento I (ALA 16J), observou-se uma redução na média de 5,00 para 2,44 ($p<0,001$), ou seja, 51,2% das queratoses actínicas foram resolvidas após o tratamento, e no Grupo-Tratamento II (ALA 18J) a média de lesões, por paciente, caiu de 5,00 para 1,58 ($p<0,001^*$) correspondendo a 68,4% de clareamento das queratoses actínicas — dado compatível com o relatado por RUIZ RODRIGUES, SANZ-SANCHEZ, CÓRDOBA (2002) que observaram 87% de redução nas queratoses actínicas e melhora do fotoenvelhecimento em dois tratamentos, bem como AVRAN & GOLDMAN (2004), com filtro 560nm, 28 a 32J/cm², pulso duplo de 3.0 e 6.0ms e intervalo entre pulsos de 10ms, com passagem única em face, na qual observaram 68% de resolução nas queratoses actínicas, 55% de melhora nas teleangiectasias, 48% de melhora na pigmentação e 25% nas rugas e textura, com um único tratamento, confirmando sua eficácia.

Este é o primeiro estudo, dentro da literatura científica pesquisada, que observou que o incremento de energia distribuído em duas passagens leva ao aumento da resposta das queratoses actínicas, bem como maior redução numérica das mesmas. Os critérios resposta global ao fotoenvelhecimento (melhora obtida em todos os critérios da escala de Griffiths) e a resolução clínica obtida nas queratoses actínicas mostraram significância estatística nos Grupos-Tratamentos I (ALA 16J) e II

(ALA18J) em relação ao Grupo Controle. Quando comparou-se os Grupos-Tratamentos I e II, entre si, houve uma tendência à significância estatística ($p=0,057$) na resposta global obtida no tratamento do fotoenvelhecimento entre os Grupos-Tratamentos I (ALA 16J) e II (ALA 18J). No entanto, houve uma significância estatística comprovada na redução das queratoses actínicas no Grupo II em relação ao Grupo I ($p=0,006$).

Poder-se-ia inferir que o ALA, ativado por duas passagens de 16J da LIP com filtro de 520nm, seria suficiente para abordar o fotoenvelhecimento com maior eficácia do que a luz pulsada isolada. No entanto, verificou-se que para as queratoses actínicas, maiores níveis de energia devem ser escolhidos.

Os trabalhos de literatura, de acordo com a pesquisa executada até o momento, fazem alusão a uma passagem apenas, enquanto que a dupla passagem dobra a reação fototérmica, fracionando-a em dois momentos, conforme descrito por DE HAAS *et al.*, (2008). O fato de fracionar a luz em dois momentos de exposição, segundo esses autores, melhorou a performance da TFD pois permitiu que ocorresse oxigenação tecidual entre os dois momentos, e o tecido oxigenado voltasse a ser o alvo para o agente fotossensibilizante. O intervalo proposto pelos autores foi de duas horas, no

entanto, FOSTER *et al.* (1991) estimaram que a reoxigenação tecidual ocorria em 45 segundos. A segunda passagem da LIP ocorreu, seguramente, entre cinco e dez minutos após a primeira e, portanto, encontraria o tecido novamente oxigenado e apto a dobrar o consumo do fotossensibilizante residual, outro ponto inédito neste estudo.

Quanto à tolerabilidade dos pacientes, frente ao procedimento, observou-se que foi maior para todos os critérios estudados: eritema, edema, crostas e desconforto nos Grupos-Tratamento em relação ao Grupo Controle, demonstrando que houve reação fototóxica nestes grupos e que refletiu na evolução destes pacientes com 48 horas após o tratamento. Estes dados explicaram a satisfação com o procedimento, relatada pelos pacientes, que obteve média maior no Grupo-Tratamento I (ALA 16J), que revelou resultados superiores ao Grupo Controle no quesito fotoenvelhecimento, com menos efeitos colaterais.

Outra observação interessante foi a de que, apesar do índice de cura das queratoses actínicas ter sido menor no Grupo-Tratamento I (ALA 16J), a satisfação com o tratamento reportada por este grupo foi maior (média = 3,38 contra média = 1,00 Grupo Controle, e média = 2,79 Grupo-Tratamento II (ALA 18J), denotando que, para o paciente, a melhora no

fotoenvelhecimento foi melhor percebida do que a saúde da pele como um todo, e, portanto, para obter maior eficácia e aderência por parte dos pacientes, estratégias de prevenção do câncer de pele devem considerar a abordagem dos dois critérios como alvo.

6.2 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

O diagnóstico da queratose actínica é realizado por exame clínico. No intuito de reforçar o diagnóstico, o presente estudo contou com biopsias antes e depois do tratamento, realizadas em uma das queratoses medindo mais de cinco mm de extensão, que foram analisadas por patologista de modo cego, ou seja, desconhecia o grupo a que pertenciam os exames de determinado paciente.

Segundo YANTSOS *et al.* (1999) as queratoses actínicas podem ser consideradas, sob o ponto de vista anatomopatológico, como uma neoplasia intraepidérmica de queratinócitos com condições de evoluir para CEC. O diagnóstico anatomopatológico é caracterizado por atipia dos queratinócitos na camada basal, podendo estender-se à camada granulosa. A epiderme mostra arquitetura anormal com acantose, paraqueratose e hiperqueratose, associadas com elastose solar na derme e perda da

polaridade celular, além de alterações nucleares e figuras de mitose aumentadas ou atípicas. Como para o diagnóstico da queratose actínica, os aspectos citológicos e as características estruturais devem ser considerados. Os principais critérios adotados foram as atípicas celulares e a perda da polaridade, sendo graduados no pré e no pós-tratamento.

Para a análise anatomopatológica, apenas a coloração hematoxilina eosina foi realizada. PARK *et al.* (2010) publicaram trabalho de análise histológica das queratoses actínicas tratadas pela lâmpada de Waldmann, e foram além, realizando coloração de tricromio de Masson e Verhoeff, detectando aumento nos pró-colágenos I e III após a TFD.

MARMUR, PHELPS, GOLDBERG (2005), também estudaram as alterações ultraestruturais (vistas à microscopia eletrônica) em sete pacientes adultos submetidos à TFD com ALA e LIP, e somente com LIP. As biopsias pós-tratamento revelaram aumento no colágeno tipo I nos pacientes submetidos à TFD, em comparação à LIP isoladamente. Apesar das várias alterações histológicas e estruturais, o grau de atipia e a perda de polaridade foram critérios significativos no diagnóstico, facilmente evidenciáveis e mais fidedignos do que os outros parâmetros. Portanto, foram os marcadores escolhidos para avaliação anatomopatológica do presente estudo.

Observou-se que a comparação entre o grau de atipia, antes e depois do tratamento, sofreu alterações nos três grupos. Constatou-se, também, que o p apresentou significância estatística em termos de atipias graves e moderadas com redução percentual de 21,1% para 0%, e de 54,5% para 24,2%, enquanto o número de pacientes sem atipia aumentou de 0 para 21% e, os com atipia leve, de 33,3% para 54,5%.

Não houve significância estatística no Grupo Controle, nas alterações de atipia no pré e no pós-tratamento. Entre as biopsias realizadas no Grupo-Tratamento I (ALA 16J), observou-se melhora no padrão das atipias, refletidas por um aumento do número de 0% para 30% de pacientes que passaram para categoria sem atipias, ou seja, tiveram grande melhora de suas atipias, consideradas moderadas no pré-tratamento. Esta tendência, de significância estatística ($p=0,060$), ratifica os resultados clínicos obtidos no Grupo-Tratamento I (ALA 16J), em que houve redução nas queratoses actínicas, porém, não tão expressiva como a observada no Grupo-Tratamento II (ALA 18J).

Já no Grupo-Tratamento II a melhora nas atipias foi ainda mais notável, apresentando significância estatística na redução importante do número de pacientes com atipias moderadas (58,8% para 11,8% - $p=0,004$),

no aumento do número de queratoses com atipias leves (23,5% para 64,7% - $p=0,016$) e no número de pacientes sem atipia (0,0% para 23,5% - $p=0,033$), ou seja, o tratamento proposto resolvendo as atipias previamente classificadas como graves ou moderadas.

Quando considerado o critério estrutural perda de polaridade, o Grupo-Tratamento II (ALA 18J) destacou-se, novamente, pela redução da proporção de casos com perda de polaridade grave de 11,8% para 0,0%, pelo aumento de 29,4% das queratoses sem perda de polaridade, isto é, estruturalmente curadas, além da melhora de 76,5% dos casos em que a perda de polaridade era moderada, reduzindo para 5,9%. Portanto, o critério perda de polaridade também mostrou melhora no Grupo-Tratamento II, mas não nos demais grupos.

PARK *et al.* (2010), também detectaram alto número de células dérmicas desorganizadas que melhoraram significativamente com o tratamento da TFD.

BISSONNETTE *et al.* (2004), em seu estudo com animais, observaram que a localização do efeito da TFD era influenciado pela dose de energia e pela irradiância. Reportaram que os danos histológicos, em baixa irradiância e alta fluência, toda a epiderme era lesada pelo tratamento com

consequente renovação, enquanto que em altas irradiâncias e baixas fluências, apenas as regiões mais superficiais da epiderme eram atingidas, o que valida os dados clínicos obtidos no presente estudo, fortalecendo sua importância na melhora das lesões pré-cancerígenas pela TFD com ALA e LIP, agora sob o ponto de vista anatomopatológico.

Uma das limitações deste estudo consistiu no número desigual de pacientes, por grupo, principalmente nos resultados anatomopatológicos. Este fato deveu-se a não aceitação de alguns pacientes à realização da biopsia, enquanto que outros tiveram o material perdido por fixação inadequada dos fragmentos devido à diluição incorreta do fenol. Outro ponto a ser ressaltado é o baixo índice de concordância entre os observadores, principalmente no Grupo Controle, o que impediu a análise estatística sobre uma amostra dobrada em tamanho, tendo sido realizada individualmente para cada observador.

Ocorre que, as visitas dos pacientes foram feitas com a finalidade de reduzir-se ao mínimo o abandono do protocolo, inviabilizando o acompanhamento de todos os pacientes em todos os momentos, pelos dois observadores. Portanto, optou-se pela avaliação fotográfica para um dos observadores.

O estudo clínico, como objeto de pesquisa, é um desafio, pois requer motivação constante dos pacientes e persistência por parte do pesquisador, apesar disto, a perda registrada foi de apenas sete pacientes, ao longo deste estudo.

O ajuste de intensidade da LIP foi feito de acordo com a correspondência de doses apresentadas na literatura, pois, cada luz pulsada, possui uma característica diferente, sendo que, entre o projeto piloto e este, houve troca do aparelho, com a necessidade de tratamentos em quatro pacientes para a determinação das doses a serem aplicadas. Aparelhos de medida de irradiância são de alto custo e indisponíveis em nosso meio, mas seriam de extrema validade para tornar os métodos e aparelhos comparáveis entre si.

Como perspectivas, divisa-se:

- A necessidade de estudos complementares para determinar quantas sessões de TFD com ALA-LIP são ideais para atingir o máximo de cura das queratoses actínicas e de melhora do fotoenvelhecimento,
- A associação de novas colorações como tricromio de Masson e Verhoeff aos estudos anatomopatológicos, bem como

imunohistoquímica com detecção de anticorpos antipro-colágenos I e III na derme, anti-TGF-BETA e T β RII na epiderme, para avaliar o fotodano de forma mais específica.

- Avaliar novos ativos derivados do ALA de uso tópico e novos veículos como os lipossomados, nanossomais ou ainda placas (*patches*), impregnados pelo agente fotossensibilizante para otimizar a sua ação.

CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

- A terapia fotodinâmica com ácido 5 aminolevulínico e luz intensa pulsada mostrou-se efetiva no tratamento do fotoenvelhecimento e das queratoses actínicas faciais
- O tratamento das queratoses actínicas foi mais efetivo com uso de maior energia.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Alexiades-Armenakas M. Laser-mediated photodynamic therapy. *Clin Dermatol.* 2006 Jan-Feb;24(1):16-25.

Alexiades-Armenakas MR, Geronemus RG. Laser-mediated photodynamic therapy of actinic keratoses. *Arch Dermatol.* 2003 Oct;139 (10):1313-20.

Alster TS, Tanzi EL, Welsh EC. Photorejuvenation of facial skin with topical 20% 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light treatment: a split-face comparison study. *J Drugs Dermatol.* 2005 Jan-Feb;4 (1):35-8.

Apalla Z, Sotiriou E, Chovarda E, Lefaki I, Devliotou-Panagiotidou D, Ioannides D. Skin cancer: preventive photodynamic therapy in patients with face and scalp cancerization. A randomized placebo-controlled study. *Br J Dermatol.* 2009 Oct 26.

Ash DV, Brown SB. New drugs and future developments in photodynamic therapy. *Eur J Cancer.* 1993;29A (12):1781-3.

Avram DK, Goldman MP. Effectiveness and safety of ALA-IPL in treating actinic keratoses and photodamage. *J Drugs Dermatol.* 2004 Jan-Feb;3 (1 Suppl):S36-9.

Babilas P, Landthaler M, Szeimies RM. Photodynamic therapy in dermatology. *Eur J Dermatol.* 2006 Jul-Aug;16 (4):340-8.

Bissonnette R, Sharfaei S, Viau G, Liu Y. Irradiance and light dose influence histological localization of photodamage induced by photodynamic therapy with aminolaevulinic acid. *Br J Dermatol*. 2004 Sep;151 (3):653-5.

Bissonnette R, Sharfaei S, Viau G, Liu Y. Irradiance and light dose influence histological localization of photodamage induced by photodynamic therapy with aminolaevulinic acid. *Br J Dermatol*. 2004 Sep;151 (3):653-5.

Bitter PH. Noninvasive rejuvenation of photodamaged skin using serial, full-face intense pulsed light treatments. *Dermatol Surg*. 2000 Sep;26(9):835-42; discussion 843.

Bjerring P, Christiansen K, Troilius A, Bekhor P, de Leeuw J. Skin fluorescence controlled photodynamic photorejuvenation (wrinkle reduction). *Lasers Surg Med*. 2009 Jul;41 (5):327-36.

Böhmer RM, Morstyn G. Uptake of hematoporphyrin derivative by normal and malignant cells: effect of serum, pH, temperature, and cell size. *Cancer Res*. 1985 Nov;45 (11 Pt 1):5328-34.

Clark C, Bryden A, Dawe R, Moseley H, Ferguson J, Ibbotson SH. Topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for cutaneous lesions: outcome and comparison of light sources. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2003 Jun;19(3):134-41.

Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). *J Am Acad Dermatol*. 2000 Jan;42(1 Pt 2):11-7.

de Haas ER, de Vijlder HC, Sterenborg HJ, Neumann HA, Robinson DJ. Fractionated aminolevulinic acid-photodynamic therapy provides additional evidence for the use of PDT for non-melanoma skin cancer. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008 Apr;22 (4):426-30.

DeHoratius DM, Dover JS. Nonablative tissue remodeling and photorejuvenation. *Clin Dermatol*. 2007 Sep-Oct;25(5):474-9

De Rosa FS, Bentley MV. Photodynamic therapy of skin cancers: sensitizers, clinical studies and future directives. *Pharm Res*. 2000 Dec;17 (12):1447-55.

De Rosa FS, Marchetti JM, Thomazini JA, Tedesco AC, Bentley MV. A vehicle for photodynamic therapy of skin cancer: influence of dimethylsulphoxide on 5-aminolevulinic acid in vitro cutaneous permeation and in vivo protoporphyrin IX accumulation determined by confocal microscopy. *J Control Release*. 2000 Apr 3;65 (3):359-66.

Dodson JM, DeSpain J, Hewett JE, Clark DP. Malignant potential of actinic keratoses and the controversy over treatment. A patient-oriented perspective. *Arch Dermatol*. 1991 Jul;127(7):1029-31.

Donnelly RF, McCarron PA, Woolfson AD. Drug delivery of aminolevulinic acid from topical formulations intended for photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 2005 Jul-Aug;81 (4):750-67.

Dougherty TJ, Grindey GB, Fiel R, Weishaupt KR, Boyle DG. Photoradiation therapy. II. Cure of animal tumors with hematoporphyrin and light. *J Natl Cancer Inst*. 1975 Jul;55 (1):115-21.

Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, Weishaupt KR, Boyle D, Mittleman A. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.* 1978 Aug;38 (8):2628-35.

Dover JS, Bhatia AC, Stewart B, Arndt KA. Topical 5-aminolevulinic acid combined with intense pulsed light in the treatment of photoaging. *Arch Dermatol.* 2005 Oct;141 (10):1247-52.

Epstein E. Does intermittent "pulse" topical 5-fluorouracil therapy allow destruction of actinic keratoses without significant inflammation? *J Am Acad Dermatol.* 1998 Jan;38(1):77-80.

Ericson MB, Sandberg C, Stenquist B, Gudmundson F, Karlsson M, Ros AM, Rosén A, Larkö O, Wennberg AM, Rosdahl I. Photodynamic therapy of actinic keratosis at varying fluence rates: assessment of photobleaching, pain and primary clinical outcome. *Br J Dermatol.* 2004 Dec;151 (6):1204-12.

Ericson MB, Wennberg AM, Larkö O. Review of photodynamic therapy in actinic keratosis and basal cell carcinoma. *Ther Clin Risk Manag.* 2008 Feb;4 (1):1-9.

Figge FH, Weiland GS, Manganiello LO. Cancer detection and therapy; affinity of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1948 Jul-Aug;68 (3):640-1.

Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol.* 1988 Jun;124 (6):869-71.

-
- Foster TH, Murant RS, Bryant RG, Knox RS, Gibson SL, Hilf R. Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy. *Radiat Res.* 1991 Jun;126(3):296-303.
- Gahlen J, Stern J, Pressmar J, Böhm J, Holle R, Herfarth C. Local 5-aminolevulinic acid application for laser light-induced fluorescence diagnosis of early staged colon cancer in rats. *Lasers Surg Med.* 2000;26(3):302-7.
- Gilbert DJ. Treatment of actinic keratoses with sequential combination of 5-fluorouracil and photodynamic therapy. *J Drugs Dermatol.* 2005 Mar-Apr;4(2):161-3.
- Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol.* 2000 Jan;42(1 Pt 2):23-4.
- Gold MH, Bradshaw VL, Boring MM, Bridges TM, Biron JA. Split-face comparison of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light versus intense pulsed light alone for photodamage. *Dermatol Surg.* 2006 Jun;32(6):795-801; discussion 801-3.
- Gold MH. Pharmacoeconomic analysis of the treatment of multiple actinic keratoses. *J Drugs Dermatol.* 2008 Jan;7(1):23-5.
- Gold MH. The evolving role of aminolevulinic acid hydrochloride with photodynamic therapy in photoaging. *Cutis.* 2002 Jun;69(6 Suppl):8-13.
- Goldman M, Atkin D. ALA/PDT in the treatment of actinic keratosis: spot versus confluent therapy. *J Cosmet Laser Ther.* 2003 Jun;5(2):107-10.

Goldman MP, Atkin D, Kincad S. PDT/ALA in the treatment of actinic damage: real world experience. *J Laser Med Surg.* 2002;14(S):24.

Griffiths CE, Wang TS, Hamilton TA, Voorhees JJ, Ellis CN. A photonumeric scale for the assessment of cutaneous photodamage. *Arch Dermatol.* 1992 Mar;128 (3):347-51.

Hausmann W. Die sensibilisierende wirkung des hamatoporphyrins. *Biochem Zeit.* 1911:276-316.

Henderson BW, Fingar VH. Oxygen limitation of direct tumor cell kill during photodynamic treatment of a murine tumor model. *Photochem Photobiol.* 1989 Mar;49 (3):299-304.

Jeffes EW, McCullough JL, Weinstein GD, Fergin PE, Nelson JS, Shull TF, Simpson KR, Bukaty LM, Hoffman WL, Fong NL. Photodynamic therapy of actinic keratosis with topical 5-aminolevulinic acid. A pilot dose-ranging study. *Arch Dermatol.* 1997 Jun;133 (6):727-32.

Jeffes EW, McCullough JL, Weinstein GD, Kaplan R, Glazer SD, Taylor JR. Photodynamic therapy of actinic keratoses with topical aminolevulinic acid hydrochloride and fluorescent blue light. *J Am Acad Dermatol.* 2001 Jul;45 (1):96-104.

Jesionek A, von Tappeiner H. Behandlung der hautcarcinome nut fluorescierenden stoffen. *Dtsch Arch Klin Med* 1905;85:223-227.

Kalka K, Merk H, Mukhtar H. Photodynamic therapy in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* 2000 Mar;42 (3):389-413; quiz 414-6.

Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B*. 1990 Jun;6 (1-2):143-8.

Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B*. 1990 Jun;6 (1-2):143-8.

Kurwa HA, Yong-Gee SA, Seed PT, Markey AC, Barlow RJ. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol*. 1999 Sep;41 (3 Pt 1):414-8.

Lebwohl M, Dinehart S, Whiting D, Lee PK, Tawfik N, Jorizzo J, Lee JH, Fox TL. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: results from two phase III, randomized, double-blind, parallel group, vehicle-controlled trials. *J Am Acad Dermatol*. 2004 May;50(5):714-21.

Lee MW. Novel 3-in-1 wavelength light source for photorejuvenation. *J Drugs Dermatol*. 2008 Apr;7 (4):335-9.

Lehmann P. Side effects of topical photodynamic therapy [Article in German]. *Hautarzt*. 2007 Jul;58 (7):597-603.

Lober BA, Lober CW, Accola J. Actinic keratosis is squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000 Nov;43(5 Pt 1):881-2.

Malik Z, Lugaci H. Destruction of eritroleukaemic cells by photoactivation of endogenous porphyrins. *Br J Cancer*. 1987;56 (5):589-95.

Marmur ES, Phelps R, Goldberg DJ. Ultrastructural changes seen after ALA-IPL photorejuvenation: a pilot study. *J Cosmet Laser Ther.* 2005 Mar;7 (1):21-4.

McCaughan JS Jr, Guy JT, Hicks W, Laufman L, Nims TA, Walker J. Photodynamic therapy for cutaneous and subcutaneous malignant neoplasms. *Arch Surg.* 1989 Feb;124 (2):211-6.

McLoone N, Donnelly RF, Walsh M, Dolan OM, McLoone S, McKenna K, McCarron PA. Aminolaevulinic acid diffusion characteristics in 'in vitro' normal human skin and actinic keratosis: implications for topical photodynamic therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2008 Aug;24 (4):183-90.

Meyer-Bertz F. Untersuchungen über die biologische (photodynamische) wirkung des hämatoporphyrins und anderer derwate dês blut und gallenfarbstoffs. *Dtsch Arch Klin Med.* 1913;112:476-503.

Moan J. Properties for optimal PDT sensitizers. *J Photochem Photobiol B.* 1990 May;5 (3-4):521-4.

Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy: update. *Br J Dermatol.* 2008 Dec;159 (6):1245-66.

Nakano A, Tamada Y, Watanabe D, Ishida N, Yamashita N, Kuhara T, Yanagishita T, Kawamura C, Akita Y, Matsumoto Y. A pilot study to assess the efficacy of photodynamic therapy for Japanese patients with actinic keratosis in relation to lesion size and histological severity. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2009 Feb;25 (1):37-40.

-
- Nakaseko H, Kobayashi M, Akita Y, Tamada Y, Matsumoto Y. Histological changes and involvement of apoptosis after photodynamic therapy for actinic keratoses. *Br J Dermatol*. 2003 Jan;148 (1):122-7.
- Nootheti PK, Goldman MP. Aminolevulinic acid-photodynamic therapy for photorejuvenation. *Dermatol Clin*. 2007 Jan;25 (1):35-45.
- Park MY, Sohn S, Lee ES, Kim YC. Photorejuvenation induced by 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in patients with actinic keratosis: a histologic analysis. *J Am Acad Dermatol*. 2010 Jan;62 (1):85-95.
- Peng Q, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Nesland JM. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research. *Photochem Photobiol*. 1997a Feb;65 (2):235-51.
- Peng Q, Warloe T, Berg K, Moan J, Kongshaug M, Giercksky KE, Nesland JM. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. Clinical research and future challenges. *Cancer*. 1997b Jun 15;79 (12):2282-308.
- Perednia DA, Gaines JA, Rossum AC. Variability in physician assessment of lesions in cutaneous images and its implications for skin screening and computer-assisted diagnosis. *Arch Dermatol*. 1992 Mar;128 (3):357-64.
- Piacquadio DJ, Chen DM, Farber HF, Fowler JF, Jr., Glazer SD, Goodman JJ, Glazer SD, Goodman JJ, Hruza LL, Jeffes EW, Ling MR, Phillips TJ, Rallis TM, Scher RK, Taylor CR, Weinstein GD. Photodynamic therapy with aminolevulinic acid topical solution and visible blue light in the treatment of multiple actinic keratoses of the face and scalp: investigator-blinded, phase 3, multicenter trials. *Arch Dermatol*. 2004 Jan;140 (1):41-6.

-
- Raab O. Ueber die wirkung fluoreszierenden stoffe auf infusorien. *Z Biol.* 1900;39:521-46.
- Redbord KP, Hanke CW. Topical photodynamic therapy for dermatologic disorders: results and complications. *J Drugs Dermatol.* 2007 Dec;6 (12):1197-202.
- Ross EV. Laser versus intense pulsed light: Competing technologies in dermatology. *Lasers Surg Med.* 2006 Apr;38(4):261-72.
- Rossi R, Mori M, Lotti T. Actinic keratosis. *Int J Dermatol.* 2007 Sep;46(9):895-904.
- Ruiz-Rodriguez R, Alvarez JG, Jaén P, Acevedo A, Córdoba S. Photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid for recalcitrant familial benign pemphigus (Hailey-Hailey disease). *J Am Acad Dermatol.* 2002 Nov;47(5):740-2.
- Ruiz-Rodriguez R, Lopez-Rodriguez L. Nonablative skin resurfacing: the role of PDT. *J Drugs Dermatol.* 2006 Sep;5 (8):756-62.
- Ruiz-Rodriguez R, Sanz-Sánchez T, Córdoba S. Photodynamic photorejuvenation. *Dermatol Surg.* 2002 Aug;28 (8):742-4; discussion 744.
- Salasche SJ, Levine N, Morrison L. Cycle therapy of actinic keratoses of the face and scalp with 5% topical imiquimod cream: An open-label trial. *J Am Acad Dermatol.* 2002 Oct;47(4):571-7.
- Sharman WM, Allen CM, van Lier JE. Role of activated oxygen species in photodynamic therapy. *Methods Enzymol.* 2000;319:376-400.

Smith S, Piacquadio D, Morhenn V, Atkin D, Fitzpatrick R. Short incubation PDT versus 5-FU in treating actinic keratoses. *J Drugs Dermatol*. 2003 Dec;2 (6):629-35.

Smith SR, Morhenn VB, Piacquadio DJ. Bilateral comparison of the efficacy and tolerability of 3% diclofenac sodium gel and 5% 5-fluorouracil cream in the treatment of actinic keratoses of the face and scalp. *J Drugs Dermatol*. 2006 Feb;5(2):156-9.

Stern RS, Coopman SA. The measure of youth. *Arch Dermatol*. 1992 Mar;128(3):390-3.

Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, Christophers E. Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. *Br J Dermatol*. 2001 May;144(5):1050-3.

Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, Salasche S, Papadopoulos L, Ulrich C, Christophers E. A randomized, double-blind, vehicle-controlled study to assess 5% imiquimod cream for the treatment of multiple actinic keratoses. *Arch Dermatol*. 2002 Nov;138(11):1498-502.

Strasswimmer J, Grande DJ. Do pulsed lasers produce an effective photodynamic therapy response? *Lasers Surg Med*. 2006 Jan;38 (1):22-5.

Szeimies RM, Abels C, Fritsch C, Karrer S, Steinbach P, Bäuml W, Goerz G, Goetz AE, Landthaler M. Wavelength dependency of photodynamic effects after sensitization with 5-aminolevulinic acid in vitro and in vivo. *J Invest Dermatol*. 1995 Nov;105 (5):672-7.

Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, Sidoroff A, Hempel M, Ulrich J, Proebstle T, Meffert H, Mulder M, Salomon D, Dittmar HC, Bauer JW, Kernland K, Braathen L. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol.* 2002 Aug;47 (2):258-62.

Tarstedt M, Rosdahl I, Berne B, Svanberg K, Wennberg AM. A randomized multicenter study to compare two treatment regimens of topical methyl aminolevulinate (Metvix)-PDT in actinic keratosis of the face and scalp. *Acta Derm Venereol.* 2005;85(5):424-8.

Taub AF. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. *J Drugs Dermatol.* 2004 Jan-Feb;3 (1 Suppl):S8-25.

Thai KE, Fergin P, Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Murrell D, Anderson C, Weightman W, Reid C, Watson A, Foley P. A prospective study of the use of cryosurgery for the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol.* 2004 Sep;43(9):687-92.

Touma D, Yaar M, Whitehead S, Konnikov N, Gilchrest BA. A trial of short incubation, broad-area photodynamic therapy for facial actinic keratoses and diffuse photodamage. *Arch Dermatol.* 2004 Jan;140 (1):33-40.

Tschen EH, Wong DS, Pariser DM, Dunlap FE, Houlihan A, Ferdon MB, Phase IV ALA-PDT Actinic Keratosis Study Group. Photodynamic therapy using aminolaevulinic acid for patients with nonhyperkeratotic actinic

-
- keratoses of the face and scalp: phase IV multicentre clinical trial with 12-month follow up. *Br J Dermatol*. 2006 Dec;155 (6):1262-9.
- Tutrone WD, Saini R, Caglar S, Weinberg JM, Crespo J. Topical therapy for actinic keratoses, I: 5-Fluorouracil and imiquimod. *Cutis*. 2003a May;71 (5):365-70.
- Tutrone WD, Saini R, Caglar S, Weinberg JM, Crespo J. Topical therapy for actinic keratoses, II: Diclofenac, colchicine, and retinoids. *Cutis*. 2003b May;71 (5):373-9.
- Varma S, Wilson H, Kurwa HA, Gambles B, Charman C, Pearse AD, Taylor D, Anstey AV. Bowen's disease, solar keratoses and superficial basal cell carcinomas treated by photodynamic therapy using a large-field incoherent light source. *Br J Dermatol*. 2001 Mar;144 (3):567-74.
- von Tappeiner H, Jodblauer, A. Uber die wirkung der photodynamischen (fluorescierenden) stoffe auf protozoan und enzyme. *Dtsch Arch Clin Med*. 1904;80:427-87.
- Waibel JS. Photorejuvenation. *Dermatol Clin*. 2009 Oct;27 (4):445-57,vi.
- Whited JD, Horner RD, Hall RP, Simel DL. The influence of history on interobserver agreement for diagnosing actinic keratoses and malignant skin lesions. *J Am Acad Dermatol*. 1995 Oct;33 (4):603-7.
- Wolf JE Jr, Taylor JR, Tschien E, Kang S. Topical 3.0% diclofenac in 2.5% hyaluronan gel in the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol*. 2001 Nov;40(11):709-13.

Yantsos VA, Conrad N, Zabawski E, Cockerell CJ. Incipient intraepidermal cutaneous squamous cell carcinoma: a proposal for reclassifying and grading solar (actinic) keratoses. *Semin Cutan Med Surg.* 1999 Mar;18 (1):3-14.

Zane C, Capezzer R, Sala R, Venturini M, Calzavara-Pinton P. Clinical and echographic analysis of photodynamic therapy using methylaminolevulinate as sensitizer in the treatment of photodamaged facial skin. *Lasers Surg Med.* 2007 Mar;39 (3):203-9.

NORMAS ADOTADAS

NORMAS ADOTADAS

BIREME. Centro Latinoamericano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde. DeCS: descritores em ciências da saúde [citado em 01 abr 2006]. Disponível em: <http://decs.bvs.br/>.

Sociedade Brasileira de Anatomia. Comissão Federativa da Terminologia Anatômica. Terminologia anatômica internacional. São Paulo: Manole; 2001.

UNIFESP. Escola Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Plástica Reparadora. Orientação normativa para elaboração e apresentação de teses. São Paulo; 2008.

ABSTRACT

ABSTRACT

BACKGROUND: Photodynamic rejuvenation is the term used to the treatment of actinic keratosis and photodamage with photodynamic therapy. **OBJECTIVE:** Evaluate the efficacy of photodynamic therapy with aminolevulinic acid and intense pulsed light in the treatment of actinic keratosis and photodamage. **METHODS:** Fourty three patients mean age 71,3 years, were randomized in three groups: Control (IPL 18J); Treatment I (ALA+ IPL 16J); and Treatment II (ALA+ IPL 18J) and evaluated clinically an photographically by two observers in Pre, 48hs, 8 weeks and 12 weeks Post-Treatment using Griffth's Photonumeric Scale. Five actinic keratosis were marked as target in Pre-Treatment and biopsies Pre and Post-Treatment were done in one lesion to evaluate atypias and loss of cellular polarity. **RESULTS:** Non parametric tests showed marked improvement in mottled pigmentation, texture fine wrinkles in Groups Treatment I and II. In Control Group improvement only in mottled pigmentation. Actinic Keratosis clearance in Groups Treatment I and II were 51,2% and 68,4% respectively, whereas in Group Control it was 5%. In relation to Control Group, Groups Treatment I and II showed significant reduction of atypias and improvement in loss of cellular polarity. **CONCLUSIONS:** Photodynamic therapy with aminolevulinic acid and intense pulsed light is effective in the treatment of photodamage and actinic keratosis. The resolution of actinic keratosis was better with higher levels of energy.

KEYWORDS: 1. Photodynamic therapy; 2. Aminolevulinic Acid/therapeutic use; 3. Photodamage; 4. Actinic Keratosis; 5. Adults. 6. Human.

APÊNDICES

APÊNDICE I. CLASSIFICAÇÃO DE PELE, SEGUNDO FITZPATRICK

QUADRO 6. Classificação de pele, segundo FITZPATRICK (1988).

FOTOTIPO	COR DA PELE	CARACTERÍSTICA	DME
I	Branca	Sempre queima, nunca bronzeia.	1,5J/cm ²
II	Branca	Sempre queima. Dificilmente bronzeia.	2,5J/cm ²
III	Branca	Às vezes queima. Bronzeia moderadamente.	3,5J/cm ²
IV	Marrom	Raramente queima. Bronzeia com facilidade.	4, 5J/cm ²
V	Marrom escuro	Queima muito raramente. Bronzeia facilmente. Indivíduo natural e moderadamente pigmentado.	5,5J/cm ²
VI	Negra	Não queima. Bronzeia muito. Indivíduo naturalmente muito pigmentado.	6, 5J/cm ²

FONTE: FITZPATRICK (1998).

APÊNDICE II. DROGAS FOTOSENSIBILIZANTES

1	Amiodarona
2	5 Fluorouracil (5-FU)
3	Griseofulvina
4	Isotretinoína, Tretinoína
5	Metotrexate
6	Anti-inflamatórios não esteroidais (Piroxicam, Benoxaprofen)
7	Fenotiazídicos
8	Quinolonas
9	Erva de St John
10	Sulfoniluréias
11	Tetraciclina
12	Diuréticos Tiazídicos

APÊNDICE III. ORIENTAÇÕES PÓS-TRATAMENTO

DURANTE AS PRIMEIRAS 48 HORAS	
1	Evitar exposição direta a luz brilhante ou visível. O ALA é eliminado do organismo naturalmente após 24 horas. Portanto, evite expor-se a qualquer iluminação natural ou artificial excessiva neste período.
2	Usar chapéu de aba larga ou guarda-chuva escuro. Se puder evitar sair durante o dia, melhor.
3	Protetor solar de amplo espectro, fornecido a cada duas horas.
4	Lavar o rosto somente com o sabonete fornecido, diluído em água NÃO USAR NENHUM OUTRO PRODUTO NA PELE ATÉ SEU ÚLTIMO RETORNO EM 12 SEMANAS.
5	Dormir com dois ou mais travesseiros nas primeiras duas noites.
6	Se houver muita sensação de ardor, tomar uma Aspirina ou Novalgina.
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Retorno para reavaliação e fotografias será em dois dias. Compareça dia ____/____/, as ____ h. ▪ Em caso de dúvidas, entre em contato conosco (☎ 8434-4004). ▪ Lembre-se: vermelhidão, inchaço e crostas podem acontecer dependendo do tipo de aplicação e da resposta de sua pele. Isto é ESPERADO e melhorará em, no máximo, 4 a 5 dias.

APÊNDICE IV

QUADRO 7. Randomização dos pacientes nos grupos de pesquisa.

SUJEITO	GRUPO	SUJEITO	GRUPO
1°	Pesquisa 1	26°	Pesquisa 2
2°	Controle	27°	Pesquisa 1
3°	Pesquisa 2	28°	Controle
4°	Pesquisa 1	29°	Pesquisa 1
5°	Pesquisa 1	30°	Pesquisa 1
6°	Pesquisa 2	31°	Pesquisa 2
7°	Controle	32°	Pesquisa 2
8°	Pesquisa 2	33°	Pesquisa 2
9°	Pesquisa 2	34°	Pesquisa 1
10°	Controle	35°	Pesquisa 2
11°	Pesquisa 1	36°	Pesquisa 1
12°	Pesquisa 1	37°	Pesquisa 1
13°	Pesquisa 1	38°	Pesquisa 1
14°	Pesquisa 2	39°	Controle
15°	Pesquisa 2	40°	Pesquisa 2
16°	Pesquisa 1	41°	Controle
17°	Controle	42°	Pesquisa 1
18°	Controle	43°	Controle
19°	Pesquisa 2	44°	Pesquisa 2
20°	Pesquisa 1	45°	Controle
21°	Pesquisa 1	46°	Pesquisa 2
22°	Pesquisa 2	47°	Pesquisa 1
23°	Pesquisa 2	48°	Pesquisa 1
24°	Pesquisa 1	49°	Pesquisa 2
25°	Pesquisa 2	50°	Pesquisa 2

APÊNDICE V

TABELA 11. Testes de comparação interobservadores.

OBSERVADORES		MÉDIA	DESVIO PADRÃO	n	IC	p-valor
Alterações texturais	Obs 1	2,60	0,80	86	0,17	<0,001*
	Obs 2	2,88	0,89	86	0,19	
Rugas finas	Obs 1	2,84	0,68	86	0,14	1,000
	Obs 2	2,84	0,78	86	0,16	
Alterações pigmentares	Obs 1	2,41	0,68	86	0,14	0,007*
	Obs 2	2,58	0,77	86	0,16	
Rugas profundas	Obs 1	3,15	0,86	86	0,18	0,593
	Obs 2	3,17	0,81	86	0,17	
Geral	Obs 1	2,75	0,81	344	0,09	<0,001*
	Obs 2	2,87	0,84	344	0,09	
Resposta ao tratamento	Obs 1	2,95	0,82	43	0,24	0,248
	Obs 2	3,05	0,87	43	0,26	

^(*) p-valores considerados de significância estatística.

Teste de Wilcoxon

APÊNDICE VI

TABELA 12. Concordância dos observadores nos domínios.

	KAPPA	p-valor
Alterações texturais	43,4%	<0,001*
Rugas finas	74, 2%	<0,001*
Alterações pigmentares	47,5%	<0,001*
Rugas profundas	75,4%	<0,001*
Geral	61,3%	<0,001*
Resposta ao tratamento	57,4%	<0,001*

(*) p-valores considerados de significância estatística.

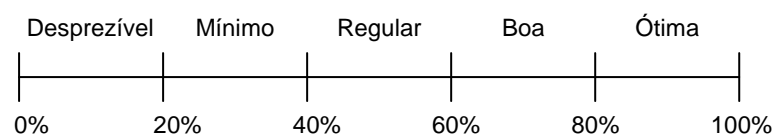
ÍNDICE DE KAPPA

Concordância Boa apenas em Rugas Finas, Rugas Profundas e Geral.

Nas demais variáveis, seria uma concordância apenas Regular.

Divisão arbitrária para interpretação dos resultados:

KAPPA	CORRESPONDÊNCIA
< 20%	Desprezível
21 a 40%	Mínimo
41 a 60%	Regular
61 a 80%	Bom
> 81%	Ótimo



APÊNDICE VII

TABELA 13. Comparação dos grupos no Observador 2.

GRUPO (OBS 2)		MÉDIA	DESVIO PADRÃO	n	IC	p-valor	
Alterações texturais	Controle	3,13	1,13	8	0,78		
	Pré	Grupo I	3,25	1,06	16	0,52	0,244
		Grupo II	3,74	0,45	19	0,20	
	Pós	Controle	2,38	0,74	8	0,52	
		Grupo I	2,06	0,77	16	0,38	0,691
		Grupo II	2,32	0,48	19	0,21	
Rugas finas	Controle	2,75	0,71	8	0,49		
	Pré	Grupo I	2,94	1,12	16	0,55	0,356
		Grupo II	3,16	0,76	19	0,34	
	Pós	Controle	2,75	0,71	8	0,49	
		Grupo I	2,50	1,03	16	0,51	0,676
		Grupo II	2,53	0,61	19	0,28	
Alterações pigmentares	Controle	3,13	0,35	8	0,24		
	Pré	Grupo I	3,00	1,10	16	0,54	0,385
		Grupo II	2,95	0,71	19	0,32	
	Pós	Controle	2,50	0,53	8	0,37	
		Grupo I	2,00	0,73	16	0,36	0,023*
		Grupo II	1,89	0,46	19	0,21	
Rugas profundas	Controle	3,13	0,83	8	0,58		
	Pré	Grupo I	2,88	1,20	16	0,59	0,635
		Grupo II	3,37	0,68	19	0,31	
	Pós	Controle	3,13	0,83	8	0,58	
		Grupo I	2,88	1,20	16	0,59	0,771
		Grupo II	3,32	0,67	19	0,30	
Resposta ao Tratamento	Controle	4,25	0,71	8	0,49		
	Grupo I	2,63	0,96	16	0,47	0,001*	
	Grupo II	2,79	0,71	19	0,32		

TABELA 14. p-Valores da TABELA 13.

			CONTROLE	GRUPO I
Alterações pigmentares	Pós	Grupo I	0,122	
		Grupo II	0,008*	0,161
Resposta ao tratamento		Grupo I	0,001*	
		Grupo II	0,001*	0,939

(*) p-valores considerados de significância estatística.

APÊNDICE VIII

TABELA 15. Comparação entre grupos para resposta ao tratamento - Tolerância à TFD.

RESPOSTA TRATAMENTO		MÉDIA	MEDIANA	DESVIO PADRÃO	Q1	Q3	n	IC	p-valor
Eritema	Controle	0,75	1,0	0,71	0,0	1,0	8	0,49	
	Grupo I	2,69	3,0	0,70	2,0	3,0	16	0,35	<0,001*
	Grupo II	2,88	3,0	0,78	3,0	3,0	17	0,37	
Edema	Controle	0,38	0,0	0,74	0,0	0,3	8	0,52	
	Grupo I	2,19	2,0	1,11	1,0	3,0	16	0,54	0,001*
	Grupo II	2,06	2,0	0,83	2,0	2,0	17	0,39	
Crostras erosões	Controle	1,13	1,0	0,83	0,8	2,0	8	0,58	
	Grupo I	2,63	3,0	0,62	2,0	3,0	16	0,30	0,001*
	Grupo II	2,76	3,0	0,83	2,0	3,0	17	0,40	
Desconforto	Controle	1,38	1,0	0,52	1,0	2,0	8	0,36	
	Grupo I	1,73	2,0	0,59	1,0	2,0	15	0,30	0,218
	Grupo II	1,88	2,0	0,78	1,0	2,0	17	0,37	
Satisfação	Controle	1,00	1,0	0,00	1,0	1,0	2	- x -	
	Grupo I	3,38	3,0	0,52	3,0	4,0	8	0,36	0,023*
	Grupo II	2,79	3,0	0,89	2,0	3,0	14	0,47	

(*) p-valores considerados de significância estatística.

TABELA 16. p-Valores da TABELA 16.

		CONTROLE	GRUPO I
Eritema	Grupo I	<0,001*	
	Grupo II	<0,001*	0,333
Edema	Grupo I	0,001*	
	Grupo II	<0,001*	0,893
Crostras erosões	Grupo I	0,001*	
	Grupo II	0,001*	0,529
Satisfação	Grupo I	0,023*	
	Grupo II	0,032*	0,112

(*) p-valores considerados de significância estatística.

ANEXOS

ANEXO I. FOLHA DE APROVAÇÃO DO PROTOCOLO CEP. 0127/06

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina

Comitê de Ética em Pesquisa
Hospital São Paulo

São Paulo, 31 de março de 2006.
CEP 0127/06

Ilmo(a). Sr(a).
Pesquisador(a) ALESSANDRA HADDAD
Co-Investigadores: Ivan Oliveira Santos
Disciplina/Departamento: Cirurgia Plástica/Cirurgia da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo
Patrocinador: Recursos Próprios

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA INSTITUCIONAL

Ref: Projeto de pesquisa intitulado: "Estudo aberto prospectivo controlado para avaliação dos melhores parâmetros para o tratamento de queratoses actínicas difusas faciais pela terapia fotodinâmica com uso da luz intensa pulsada e ácido 5 aminolevulinico 20% tópico".

CARACTERÍSTICA PRINCIPAL DO ESTUDO: Estudo clínico com intervenção terapêutica randomizado com controle da intervenção.

RISCOS ADICIONAIS PARA O PACIENTE: risco mínimo, desconforto leve com coleta de sangue.

OBJETIVOS: Avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica com ALA 20% tópico e dois níveis diferentes de luz intensa pulsada no tratamento das queratoses actínicas faciais difusas.

RESUMO: Serão selecionadas 50 pacientes com idade entre 18 e 75 anos de ambos os sexos, cujo critérios de inclusão serão: a presença de 5 ou mais queratoses actínicas em face ou couro cabeludo, fotoenvelhecimento moderado/severo, sem tratamento das lesões nos últimos 6 meses e ter tipo de pele na classificação de Fitzpatrick entre I e IV. Os pacientes serão fotografados antes e 8 semanas após o tratamento em posições padronizadas de AP, perfil direito e esquerdo e a 45 graus. As fotografias serão identificadas por iniciais e números além de datas e a identidade do paciente será preservada. Os pacientes serão selecionados de maneira randomizada através de sorteios em caixas contendo 5 opções de tratamento e o paciente sorteará uma delas retirando um papel que determinará em qual grupo será alocado. Serão alocados em 5 grupos de tratamento sendo: controle, tratamento com luz intensa pulsada (LIP); grupo II, aplicação do LIP mais levulan Kerastick - ALA a 20J 1Passe; grupo III, LIP +ALA20J - 2 Passes; grupo IV, LIP +ALA25J - 1 Passe e grupo V, LIP + ALA -25J 2 Passes. Os pacientes serão avaliados fotograficamente e através de um questionário será avaliado a qualidade vida e auto estima, bem como DLIQ cuja a coleta de dados serão avaliados estatisticamente. Escalas de graduação para foto envelhecimento serão comparadas antes e depois dos tratamentos (análise multivariada).

FUNDAMENTOS E RACIONAL: desenvolvimento e aprimoramento de método terapêutica.

MATERIAL E MÉTODO: descritas as avaliações com os procedimentos que serão realizados por equipe especializada.

TCLE: adequado.

DETALHAMENTO FINANCEIRO: sem financiamento específico R\$ 2007,00.

CRONOGRAMA: 18 meses.

OBJETIVO ACADÊMICO: doutorado.

ENTREGA DE RELATÓRIOS PARCIAIS AO CEP PREVISTOS PARA: 26/03/2007 e 20/03/2008.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo/Hospital São Paulo **ANALISOU** e **APROVOU** o projeto de pesquisa referenciado.

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do estudo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Atenciosamente

Prof. Dr. José Osmar Medina Pestana
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da
Universidade Federal de São Paulo/ Hospital São Paulo

ANEXO II. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO ABERTO, PROSPECTIVO, CONTROLADO PARA AVALIAÇÃO DOS MELHORES PARÂMETROS PARA O TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS DIFUSAS FACIAIS, PELA TERAPIA FOTODINÂMICA, COM USO DA LUZ INTENSA PULSADA E ÁCIDO 5 AMINOLEVULÍNICO 20% TÓPICO.

Página 1 de 3

A legislação brasileira exige que seu médico obtenha seu consentimento livre e esclarecido para tratamentos médicos ou cirúrgicos, principalmente se fizerem parte de alguma pesquisa clínica como este estudo.

Em conformidade com a lei, solicitamos que assine este termo confirmando que discutiu com a Dra Alessandra Haddad sobre seu problema e o tratamento proposto, incluindo seus riscos e benefícios.

Sua médica conversou com você sobre os problemas e riscos comuns do procedimento e, para mantê-lo bem informado, solicitamos que leia este termo e assegure-se de que teve oportunidade de tirar todas as dúvidas a respeito do procedimento, fez as perguntas que julgou necessárias e obteve respostas satisfatórias para elas. Caso ainda tenha perguntas, teremos prazer de explicar.

1. O meu quadro clínico inclui sinais de envelhecimento da pele devido a ação do sol:

- Manchas
- Rugas finas
- Queratoses actínicas difusas (lesões ásperas que podem se transformar em câncer de pele)
- Vasinhas visíveis

FAREI PARTE COMO PACIENTE DO ESTUDO ABERTO PROSPECTIVO CONTROLADO PARA AVALIAÇÃO DOS MELHORES PARÂMETROS PARA O TRATAMENTO DE QUERATOSES ACTÍNICAS DIFUSAS FACIAIS PELA TERAPIA FOTODINÂMICA COM USO DA LUZ INTENSA PULSADA E ÁCIDO 5 AMINOLEVULÍNICO 20% TÓPICO.

Pelo presente documento, autorizo e indico a Dra Alessandra Haddad e sua equipe a realizar em _____, o seguinte procedimento médico:

TERAPIA FOTODINÂMICA COM LUZ INTENSA PULSADA + ÁCIDO AMINOLEVULÍNICO A 20% (LEVULAN).

Fotografias serão tiradas e você responderá a um questionário, antes do tratamento.

Página 2 de 3

Antes e depois do tratamento será feita uma pequena biopsia em uma das lesões pré-cancerígenas, redondinha de 3 mm, sob anestesia local. Este procedimento não tem risco e tem por finalidade diagnosticar sua lesão antes do tratamento e avaliar como ela respondeu ao tratamento.

Você será sorteado para um dos 3 grupos de estudo, sendo que em um deles o chamado grupo controle o LEVULAN não será aplicado. Nos demais, a energia do *LASER* que será usada é que pode variar.

Este tratamento consiste na aplicação tópica do produto LEVULAN durante duas horas e, em seguida, o tratamento com o aparelho de luz pulsada (exceto no grupo controle). Uma fina camada de gel gelado será aplicada e toda sua face será tratada. A sensação é de calor a cada disparo dado. Seus olhos serão protegidos com óculos especiais para este fim.

Após o tratamento, podem aparecer graus variáveis dos seguintes sintomas:

- Inchaço
- Crostas
- Manchas castanhas
- Vermelhidão
- Manchas arroxeadas

Todos desaparecem em uma semana

DURANTE AS 48 HORAS APÓS O PROCEDIMENTO A EXPOSIÇÃO SOLAR É EXPRESSAMENTE PROIBIDA E VOCÊ DEVERÁ APLICAR O FILTRO SOLAR FORNECIDO 3 VEZES AO DIA.

2. Após o tratamento você deverá retornar às visitas de acompanhamento, no dia seguinte, na semana seguinte após 30,60 e 180 dias. Em todas, serão avaliados os resultados através de fotografias e questionários.
3. É dada liberdade a você de recusar-se a participar do estudo ou retirar seu consentimento, em qualquer fase deste estudo, sem qualquer prejuízo ao seu acompanhamento nesta instituição.
4. Os dados desta pesquisa são confidenciais e garantimos sigilo e privacidade no manuseio das informações.
5. Em caso de danos causados por este estudo, haverá ressarcimento das despesas decorrentes de seu tratamento.
6. Autorizei, também, que os médicos realizem quaisquer outros procedimentos que julgarem recomendáveis para o meu bem estar, incluindo a aplicação de anestésico local caso se faça necessário.
7. Em caso de danos causados por este estudo haverá ressarcimento das despesas decorrentes de seu tratamento.
8. Autorizei, também, que os médicos realizem quaisquer outros procedimentos que julgarem recomendáveis para o meu bem estar, incluindo a aplicação de anestésico local.

Página 3 de 3

9. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa. O pesquisador principal é a Dra Alessandra Haddad que pode ser encontrada na casa da Cirurgia Plástica, à Rua Borges Lagoa, 806 tel 5576.4118 ou 3045.9845. Se você tiver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o comitê de ética em pesquisa – Rua Botucatu, 572 - 1º andar, cj. 14, tel 5571.1062 ou email: cep@unifesp.epm.br.
10. Direito de confidencialidade: as informações serão analisadas em conjunto com outros pacientes. Não será divulgada sua identidade pessoal.
11. A pesquisadora irá usar os dados coletados somente para esta pesquisa.

Pelo presente documento, declaro que li (ou foi lido para mim) este termo de consentimento e compreendi todas informações nele contidas.

ESTE CONSENTIMENTO TEM VALIDADE ATÉ QUE SEU TODO OU PARTE SEJA POR MIM REVOGADO POR ESCRITO.

Data: Horário: AM / PM

Assinatura do Paciente _____

Assinatura do pesquisador _____

Testemunha _____

Fornei as informações e explicações expostas no presente documento e respondi a todas as perguntas formuladas pelo paciente referentes ao procedimento e a tratamentos subseqüentes ou acompanhamento se necessários.

Assinatura do Médico _____

_____ Data _____
Assinatura do Paciente

_____ Data _____
Assinatura da Testemunha

ANEXO III. PREPARO DO LEVULAN

DOSAGE AND ADMINISTRATION

LEVULAN KERASTICK for Topical Solution is intended for direct application to individual lesions diagnosed as actinic keratoses and not to perilesional skin. This product is not intended for application by patients or unqualified medical personnel. Application should involve either scalp or face lesions, but not both simultaneously. The recommended treatment frequency is: one application of the LEVULAN Topical Solution and one dose of illumination per treatment site per 8-week treatment session. Each individual LEVULAN KERASTICK should be used for only one patient. Photodynamic therapy for actinic keratoses with LEVULAN KERASTICK for Topical Solution is a two stage process involving a) application of the product to the target lesions with LEVULAN KERASTICK, followed 14 to 18 hours later by b) illumination with blue light using the BLU-U Blue Light Photodynamic Therapy Illuminator. The second visit, for illumination, must take place in the 14-18 hour window following application. Patients in clinical trials usually received application in the late afternoon, with illumination the following morning.

TABLE 6 Schedule for LEVULAN and Blue Light Administration

LEVULAN KERASTICK Topical Solution Application	Time Window for Blue Light Illumination
8 am	8 pm to Midnight
7 am	8 pm to 1 am
6 am	10 pm to 2 am
5 am	11 pm to 3 am
4 am	Midnight to 4 am
3 am	1 am to 5 am
2 pm	2 am to 6 am
1 pm	3 am to 7 am
12 pm	4 am to 8 am
11 am	5 am to 9 am
10 am	6 am to 10 am
9 am	7 am to 11 am
8 am	8 am to Noon
7 am	9 am to 1 pm
6 am	10 am to 3 pm
5 pm	Noon to 4 pm

Treated lesions that have not completely resolved after 8 weeks may be treated a second time with LEVULAN KERASTICK for Topical Solution Photodynamic Therapy. Patients did not receive follow-up past 12 weeks after the initial treatment, so the incidence of recurrence of treated lesions past 12 weeks and the role of further treatment is not known.

Step A - LEVULAN KERASTICK for Topical Solution Application:

Actinic keratoses targeted for treatment should be clean and dry prior to application of LEVULAN KERASTICK for Topical Solution. Preparation:

The LEVULAN KERASTICK Topical Solution should be prepared as follows:



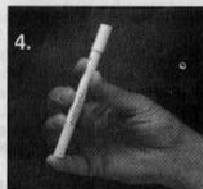
1. Hold the LEVULAN KERASTICK so that the applicator cap is pointing up.



2. Crush the bottom ampule containing the solution vehicle by applying finger pressure to Position A on the cardboard sleeve.



3. Crush the top ampule containing the ALA HCl powder by applying finger pressure to Position B on the cardboard sleeve. NOTE: To ensure both ampules are crushed continue crushing the applicator downward, applying finger pressure to Position A.



4. Holding the LEVULAN KERASTICK between the thumb and forefinger, point the applicator cap away from the face, shake the LEVULAN KERASTICK gently for at least 3 minutes to completely dissolve the drug powder in the solution vehicle.

Product Package

Product Package	NDC number
Individual LEVULAN KERASTICK for Topical Solution, 20%	67308-101-01
Carton of 6 LEVULAN KERASTICKS for Topical Solution, 20%	67308-101-06

Storage Conditions: Store between 20°– 25°C (68°– 77°F); excursions permitted to 15°– 30°C (59°– 86°F) [See USP Controlled Room Temperature]. The LEVULAN KERASTICK for Topical Solution should be used immediately following preparation (dissolution). Solution application must be completed within 2 hours of preparation. An applicator that has been prepared must be discarded 2 hours after mixing (dissolving) and a new LEVULAN KERASTICK for Topical Solution used, if needed.



LEVULAN[®], KERASTICK[®], BLU-U[®], DUSA Pharmaceuticals, Inc.[®] and DUSA[®] are registered trademarks of DUSA Pharmaceuticals, Inc.[®]

Manufactured by: DUSA Pharmaceuticals, Inc.[®]
25 Upton Drive
Wilmington, MA 01887

Revision: D LAB-0530

For more information please contact:

DUSA[®]
1-877-533-3872
or
1-978-657-7500
www.dusapharma.com

FONTES CONSULTADAS

FONTES CONSULTADAS

CONOVER WU. Pratical Nonparametric Statistics. 1º ed. New York: Jonh Willy & Sons. Inc.; 1971. 462p.

DANIEL WW. Biostatistics: a foundation foranalysis in the health sciences. 6th ed. Georgia -USA: John Wiley & Sons. Inc.; 1995. 780 p.

FITZPATRICK TB. Dematology in General Medicine. 5th ed. New York: McGraw-Hill; 1999. 320 p.

FONSECA JS, MARTINS GA. Curso de Estatística. 6ª ed. São Paulo: Editora Atlas; 1996. 1996p.

GOLD MH. Dermatologic Clinics. Philadelphia: Saunders; Jan 2007,vol. 25 (1). Photodynamic Therapy; p. 1-126.

GOLDMAN MP. Cutaneous and Cosmetic Laser Surgery: Textbook [DVD]. Great Britain: Mosby; 2006. Capítulo 11, Photodynamic therapy; p. 277.

MAROCO J. Análise Estatística com utilização do SPSS. 2ª ed. Lisboa: Silabo; 2003. 508p.

SPIGEL MYR. Estatística - Coleção Schaum. 3ª ed. São Paulo: Makron Books; 1993. 643p.

VIEIRA S. Bio Estatística Tópicos Avançados. 2ª ed. Rio de Janeiro: Campus; 2004. 232 p.

VIEIRA S. Introdução à Bioestatística. 2ª ed. rev. apl. Rio de Janeiro: Campus; 1991. 203p.