

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS
TESE DE DOUTORADO**

**ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DE MICROAGULHAMENTO SEGUIDO DE 5-
FLUOROURACIL 5% OU 0,5% VERSUS USO DE 5-FLUOROURACIL 5% OU
0,5% ISOLADO EM CERATOSSES ACTÍNICAS DA FACE**

CÉLIA LUIZA PETERSEN VITELLO KALIL

ORIENTADOR

Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos

TESE DE DOUTORADO

ENSAIO CLÍNICO RANDOMIZADO DE MICROAGULHAMENTO SEGUIDO DE 5-FLUOROURACIL 5% OU 0,5% VERSUS USO DE 5-FLUOROURACIL 5% OU 0,5% ISOLADO EM CERATOSSES ACTÍNICAS DA FACE

CÉLIA LUIZA PETERSEN VITELLO KALIL

ORIENTADOR

Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Medicina: Ciências Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre, junho de 2019

CIP - Catalogação na Publicação

Kalil, Célia Luiza Petersen Vitello

Ensaio clínico randomizado de microagulhamento seguido de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% versus uso de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% isolado em ceratoses actínicas da face / Célia Luiza Petersen Vitello Kalil. -- 2019.

109 f.

Orientador: Renato Marchiori Bakos.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. ceratose actínica. 2. administração de fármacos. 3. campo de cancerização. 4. agulhas. 5. 5-fluorouracil. I. Bakos, Renato Marchiori, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

À minha família, Roberto, Pedro e Carolina, presença essencial em minha vida, propiciando e valorizando o alcance dos meus objetivos e minha evolução pessoal, profissional e intelectual. O incentivo e a compreensão que vocês me oferecem faz com que mais unida a vocês eu me sinta.

Aos meus pais, Luiz e Célia, meu amor eterno e agradecimento por todo esforço que sempre tiveram, impulsionando-me e mostrando-me que, com perseverança, fé, honestidade e moral, eu alcançaria minhas metas.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos, pelo estímulo e incansável auxílio em elucidar minhas dúvidas e questionamentos. Aprendi, e aprendo, a cada uma de suas orientações como a pesquisa e o estudo da Dermatologia são feitos com seriedade, dignidade e conhecimento científico.

Aos meus professores e formadores do meu alicerce na Dermatologia, em especial Dr. Sebastião de Almeida Prado Sampaio, Dr. César Duílio Varejão Bernardi, Dr. Roberto Lopes Gervini e Dr. Antônio Carlos Gerbase, o meu agradecimento.

Aos meus irmãos, Dr. José Angelo La Porta Vitelo, por ter me mostrado o amor e a ética na Medicina, e Dr. Luiz Rache Vitello Filho, por me ensinar que um sonho não é impossível.

Aos meus sogros e cunhados pelo afeto e apoio.

À minha “fiel escudeira”, amiga, secretária, Sra. Aldina Cristina de Sousa Castros, por todo o companheirismo, esforço e compreensão em todos os momentos do nosso convívio que se fez e se faz presente, resolvendo, com afeto e precisão, o que se torna necessário, em especial para a realização deste estudo.

À Dra. Clarissa Prieto Herman Reinehr, parceira dermatológica e amiga, mostrando, com seu afeto e dinamismo, o caminho para as melhores soluções em nossos estudos.

À Sra. Vera Susana Vargas Ribeiro, por sua amizade, dinamismo, carinho e atenção.

À minha fraternal amiga, Dra. Valéria Campos, pelo estímulo, amizade e pela presença incentivadora em minha vida.

Às funcionárias da Clínica Dermatológica Dra. Célia Kalil, em especial Srta.

Fabiana Ferreira e Srta. Priscila Gonçalves, por todo auxílio.

À Dra. Laura Milman, Dra. Franciele Lira, Dra. Manuela da Silva, pelo auxílio na seleção dos pacientes para a execução deste trabalho.

Aos meus professores e aos colegas do Doutorado, pela amizade que formamos.

À Farmacêutica Christine Chaves, pelo esforço, auxílio e incentivo científicos aos estudos, em especial neste.

Ao Sr. Rafael Magalhães, pela motivação e apoio para a realização de pesquisas, em especial desta.

Às secretárias do Centro de Pesquisas Clínicas (CPC), Eloisa Fagundes e Andrea Ramos Arambo, pelo apoio e colaboração.

À Equipe da Bioética, Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG-HCPA), em especial a Sra. Bruna Genro, pelos seus auxílios e orientações.

Aos estatísticos, Sra. Vania Naomi Hirakata (HCPA) e Sr. Sérgio Kakuta Kato, por seus auxílios na tabulação dos dados deste estudo.

Ao Fundo de Incentivo a Pesquisa (FIPE) do HCPA, pelo apoio.

Aos pacientes, pela participação neste estudo, sempre tão colaborativos, interessados no evoluir dos tratamentos médicos, principalmente na área dermatológica e, especialmente, para a realização deste trabalho.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gilberto Schwartzmann, PPGCM-UFRGS
Profa. Dra. Marcia Graudenz, PPGCM-UFRGS
Prof.Dr.Emerson Andrade Lima
Profa. Dra. Flávia Reginatto

INFORMAÇÕES GERAIS

Local de pesquisa: Serviço de Dermatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Endereço: Rua Ramiro Barcelos, 2350 – Largo Eduardo Zaccaro Faraco

Telefone: (+55 51) 3359-8571

Nome: Célia Luiza Petersen Vitello Kalil

Endereço: Rua Félix da Cunha, 1009/401. Moinhos de Vento.

CEP: 905700001, Porto Alegre, RS.

Telefones: (+55 51) 3346-1307/ 99955-3222

E-mail: celia@celiakalil.com.br

Orientador:

Prof. Dr. Renato Marchiori Bakos – Professor Adjunto do Departamento de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RESUMO

A ação cumulativa da radiação solar sobre a pele determina uma série de alterações na mesma, podendo causar lesões cutâneas benignas, pré-malignas ou malignas. A ceratose actínica é considerada uma lesão cutânea pré-maligna frequente, que ocorre em áreas expostas ao sol, em pessoas idosas ou em adultos de meia- idade e pele clara. Há vários métodos de tratamento disponíveis para ceratoses actínicas, incluindo crioterapia por nitrogênio líquido, curetagem, eletrocoagulação, terapia fotodinâmica, *peelings* químicos, 5-fluorouracil, imiquimode, diclofenaco de sódio, mebutato de ingenol, *laser* fracionado ablativo, microagulhamento, entre outros.

O 5-fluorouracil é um antimetabólito muito utilizado no tratamento da ceratose actínica em pacientes com elevada exposição solar. Seu uso tópico, no entanto, pode ser, por vezes, menos eficaz, tendo em vista a baixa absorção cutânea e os efeitos colaterais – que levam o paciente a descontinuar o tratamento –, além do seu potencial tóxico, quando da absorção sistêmica pelas altas concentrações disponíveis do fármaco e utilização de forma inadvertida pelo paciente. Novos métodos de entrega transepidérmica/transdérmica de fármacos, denominada de *drug delivery*, como, por exemplo, o microagulhamento, estão sendo amplamente discutidos na literatura. A técnica aumenta a permeabilidade do estrato córneo por criar microcanais que facilitam a permeação de micro e macromoléculas, podendo ser uma alternativa para melhorar a resposta clínica com o 5-fluorouracil na ceratose actínica. O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do microagulhamento para promover a administração de 5-fluorouracil em diferentes concentrações (0,5% e 5%) para o tratamento de ceratoses actínicas da face em menor duração (duas vezes ao dia por três dias) do que o convencional (duas vezes ao dia por 15 dias). Quando o procedimento é realizado em conjunto a uma formulação adequada ao *drug delivery* e de menor concentração, pode-se ter, também, redução dos efeitos colaterais, diminuição da toxicidade sistêmica e maior adesão ao tratamento pelo paciente. O uso da técnica de entrega transepidérmica/transdérmica pode melhorar os resultados no tratamento da ceratose actínica, com menos efeitos colaterais, boa aceitação do paciente, baixo custo e sem de afastamento das atividades laborais.

A proteção da luz solar é parte integrante do manejo de pacientes com

ceratose actínica. O uso de fotoprotetores adequados com fator de proteção solar 30, no mínimo, exerce efeito benéfico quando a sua aplicação ocorre de maneira adequada e diária.

Neste estudo foram avaliados quarenta e quatro pacientes com ceratoses actínicas da face submetidos ao microagulhamento 1,0mm em um lado da face. Os pacientes foram randomizados em grupos 5-fluorouracil 5% e 0,5%. Avaliações clínicas e subjetivas ocorreram nos dias 21 e 111. Dois pacientes não completaram o estudo.

Clareamento completo das lesões de ceratoses actínicas foi similar entre os grupos nas hemifaces submetidas ao microagulhamento e do uso isolado de 5-fluorouracil 0,5% e 5%. O tratameto com microagulhamento e 5-fluorouracil 5% foi superior ao microagulhamento e 5-fluorouracil 0,5%, quando comparado à redução das ceratoses actínicas. O tratamento com microagulhamento e 5-fluorouracil 5% mostrou menos efeitos adversos em comparação com a 5-fluorouracil 5% isolada.

Uso tópico de 5-fluorouracil 5% e 0,5% depois do microagulhamento por três dias foi efetivo para o tratamento de ceratoses actínicas da face, não sendo inferior ao uso isolado de 5-fluorouracil 5% e 0,5% por 15 dias, após um seguimento de três meses. Assim sendo, o microagulhamento pode potencializar o tratamento com 5-fluorouracil, reduzindo o tempo de tratamento sem perder a eficácia.

Palavras-chave: ceratose actínica, administração de fármacos, campo de cancerização, agulhas, 5-fluorouracil.

ABSTRACT

Sun damage determines a series of cutaneous effects, like the formation of benign, pre-malignant or malignant skin lesions. The actinic keratosis is considered a frequent premalignant skin lesion, which occurs in sun-exposed areas, in elderly people or in middle-aged adults and fair skin. There are several treatment methods available for actinic keratoses, including liquid nitrogen cryotherapy, curettage, electrocoagulation, photodynamic therapy, chemical peels, 5-fluorouracil, imiquimod, sodium diclofenac, ingenol mebutate, ablative fractional laser, microneedle, among others.

5-fluorouracil is an antimetabolite highly used for the treatment of actinic keratosis in patients with severe sun damage. However, topical use can be sometimes less effective because of low dermal absorption and side effects profile – which can lead to treatment interruption – as well as potentially toxic systemic absorption with high drug concentrations and inadvertent use by the patient. New methods of transepidermal/transdermal delivery, denominated drug delivery, such as microneedling, are being widely discussed in literature. The technique increases stratum corneum permeability by creating microchannels that facilitate micro and macromolecules permeation and could be an alternative to improve the clinical response to 5-fluorouracil in actinic keratosis. The aim of this study was to evaluate the effect of microneedling to promote 5-fluorouracil delivery at different concentrations (0.5% and 5%) for the treatment of facial actinic keratoses in a shorter treatment duration of the treatment (twice a day for three days) than the classical one (twice a day for 15 days). When the procedure is performed with a suitable formulation for drug delivery and with lower drug concentrations, there could be less side effects and systemic toxicity decrease while patient treatment compliance increases. The use of transepidermal/transdermal delivery may improve treatment results in actinic keratosis with better side effects profile, lower costs and good patient response, without withdrawal from work.

The protection of sunlight is an integral part of the management of patients with actinic keratosis. The use of adequate photoprotectors with sun protection factor 30, at least, exerts a beneficial effect when applied properly and daily.

In this study, forty-four patients with facial actinic keratoses were submitted to 1.0mm microneedling in one side of the face. Patients were randomized into 5% 5-

fluorouracil and 0.5% 5-fluorouracil groups. Clinical and subjective evaluations occurred on day 21 and 111. Two patients didn't conclude the study.

Complete clearance of actinic keratoses was similar between groups on the sides submitted to microneedling and 5-fluorouracil and to 5-fluorouracil alone in 5% 5-fluorouracil and in 0.5% 5-fluorouracil group. The treatment with microneedling and 5% 5-fluorouracil was superior to microneedling and 0.5% 5-fluorouracil when comparing reduction in actinic keratoses. The treatment with microneedling and 5% 5-fluorouracil showed less local adverse effects in comparison to 5% 5-fluorouracil alone.

Topical 5% and 0.5% 5-fluorouracil delivery after microneedling for three days was effective for treating facial actinic keratoses and was not inferior to 5% and 0.5% 5-fluorouracil alone for 15 days after three months of follow-up. Therefore, microneedling may potentiate 5-fluorouracil treatment, reducing treatment time without losing efficacy.

Key words: actinic keratosis, drug administration, field cancerization, needles, 5-fluorouracil.

ABREVIATURAS

α -TGF = *Transforming Growth Factor Alpha* (Alfa Fator de Transformação do Crescimento)

β -TGF = *Transforming Growth Factor Beta* (Beta Fator de Transformação do Crescimento)

μ = Micrômetro

5-FU = 5-Fluorouracil

AH = Ácido Hialurônico

AK-FAS= *Actinic Keratosis Field Assessment Scale* (Escala de avaliação de campo de ceratose actínica)

AS = Ácido Salicílico

Bcl-2 = *B-cell lymphoma* (Linfoma de Células B2)

CA = Ceratose Actínica

CAPES = Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CBC = Carcinoma Basocelular

CEC = Carcinoma Espinocelular/Epidermoide/ Escamoso

CK = *Cytokeratin Subtypes* (Subtipos de Citoceratinas)

cm = Centímetro

CO₂ = Dióxido de Carbono

CsAs = Ceratoses Actínicas

Da = Dalton

DFMO = 2-2-(Difluormetil)-de-Ornitina

DLQI-BRA = *Dermatology Life Quality Index – Brazil* (Índice Dermatológico de Qualidade de Vida-Brasil)

DNA = *Deoxyribonucleic Acid* (Ácido Desoxiribonucleico)

DPD = Dihidropirimidina Desidrogenase

Dr. = Doutor

DS = Diclofenaco de Sódio

Er:YAG = *Erbium-Doped Yttrium Aluminum Garnet*

EC = Estrato Córneo

EUA = Estados Unidos da América

Fase-S = Fase de Síntese

FPS = Fator de Proteção Solar

G = Gama

HCPA = Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IPCA = Indução Percutânea de Colágeno com Agulhas

Laser(s) = Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation
(Amplificação de Luz por Emissão Estimulada de Radiação)

LED = *Light Emitting Diode* (Diodo Emissor de Luz)

LFA = *Laser Fracionado Ablativo*

LILACS = Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

LIP = Luz Intensa Pulsada

LogP = *Log Partition Coefficient* (Coeficiente de Partição)

MAL = Metilaminolevulenoato

mg = Miligrama

mm = Milímetro

MTO = *Make To Order* (Fazer para Encomendar)

N = Normal

NL = Nitrogênio Líquido

nm = Nanômetro

OMS = Organização Mundial da Saúde

PCI = *Percutaneous Collagen Induction* (Indução Percutânea de Colágeno)

PDT = *Photodynamic Therapy* (Terapia Fotodinâmica)

PDGF = *Platelet Derived Growth Factors* (Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas)

PPD = *Persistent Pigmented Darkening* (Escurecimento Pigmentado Persistente)

PubMed = *Public or Publisher Medline*

QS = *Quality Switched* (Qualidade Comutada)

RNA = *Ribonucleic Acid* (Ácido Ribonucleico)

RS = Rio Grande do Sul

RUV = Radiação Ultravioleta

SBD = Sociedade Brasileira de Dermatologia

SciELO = *Scientific Electronic Library Online* (Biblioteca Científica Conectada Eletrônica)

TCLE = Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEWL = *Transepidermal Water Loss* (Perda de Água Transepidermal)

TFD = Terapia Fotodinâmica

TFD – ALA = Terapia Fotodinâmica com Ácido 5-Aminolevulínico

TFD – MAL = Terapia Fotodinâmica com Metilaminolevulenato

TP53 = *Tumor Protein 53* (Proteína de Tumor 53)

TS = Thymidylate Synthase (Síntese de Timedilate)

U.S.FDA = *United States Food and Drug Administration* (Departamento de Controle de Alimentos e Drogas – Estados Unidos da América)

UV = Ultravioleta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: CsAs de couro cabeludo (calvo). Fonte: Acervo pessoal	34
Figura 2: CsAs na hemiface direita e campo de cancerização. Fonte: Acervo pessoal	36
Figura 3: Sinais dermatoscópios de CA	38
Figura 4: Modelo de aparelho de microagulhamento. Fonte: Acervo pessoal.....	50
Figura 5: Espessura da pele: Secção transversal através da pele humana e vias de penetração de princípios ativos na pele íntegra	57
Figura 6: Mapa Conceitual	64

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 1: Prisma 2009 Flow Diagram.....	23
---	----

ÍNDICE

RESUMO	10
ABSTRACT.....	12
1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA	22
3. CERATOSE ACTÍNICA	24
3.1 Definição.....	24
3.2 Etiopatogenia	26
3.3 Fatores Epidemiológicos.....	29
3.4 Diagnóstico e Classificação	33
3.5 Localização.....	34
3.6 Apresentação Clínica.....	35
3.7 Diagnóstico Diferencial da CA.....	37
3.8 Métodos Diagnósticos	38
3.8.1 Dermatoscopia	37
3.8.2 Exame Anatopatológico	39
3.8.3 Exame Imunohistoquímico	40
3.9 Tratamentos.....	41
3.9.1 5-FU.....	42
3.9.2 Microagulhamento.....	48
3.9.3 Drug Delivery - Entrega Transepidérmica/Transdérmica de Fármacos.....	54
3.9.4 Combinação de Tratamentos	59
3.9.5 Fotoproteção	62
4. JUSTIFICATIVA.....	63
5. HIPÓTESES EM ESTUDO.....	64
5.1 Para eficácia	64
5.1.1 H0.....	64
5.1.2 Hipótese alternativa.....	65
5.2 Para o tempo de tratamento	64
5.2.1 H0.....	64
5.2.2 Hipótese alternativa.....	64
6. MAPA CONCEITUAL	65
7. OBJETIVOS.....	66
7.1 Objetivo principal	66
7.2 Objetivo específico.....	66
8. REFERÊNCIAS.....	67
9. ARTIGO	77
10. ANEXOS	91

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de cânceres na pele geralmente acontece quando diferentes estímulos oncogênicos levam à produção de clones aberrantes. Falhas no reparo do DNA permitem um crescimento celular desordenado, fazendo com que estes clones persistam e se proliferem de maneira pouco controlável.

Os cânceres de pele são divididos em duas categorias: cânceres de pele não melanoma e melanoma. Dos referidos como cânceres de pele não melanoma, os de maior incidência são o CBC e o CEC¹⁻³.

Atualmente, a ocorrência de câncer de pele é muito comum em humanos, sendo referido como fator predisponente a excessiva exposição à RUV, presente, principalmente, na luz solar⁴.

A CA, também denominada de ceratose solar ou senil, é uma proliferação intraepidérmica de ceratinócitos displásicos que se desenvolvem em resposta à exposição crônica à RUV, sendo assim considerada lesão cutânea pré-maligna. As CsAs são consideradas pré-maligna da pele, constituídas por proliferação atípica de ceratinócitos que podem evoluir para câncer de pele não melanoma, especialmente CEC. Devido a isto, e considerando as taxas de mortalidade e custos de cuidados de saúde com o tratamento associados à evolução da CA para CEC invasivo, o manejo terapêutico da CA tem sido evidenciado como de elevada importância em termos de saúde pública em muitos países^{1,5,6}.

CsAs estão entre as lesões cutâneas mais frequentemente diagnosticadas na prática dermatológica. Estima-se que 60% dos indivíduos acima dos 40 anos de idade tenha, no mínimo, uma lesão de CA. Acomete ambos os gêneros, com maior prevalência em homens, geralmente a partir da quarta para quinta década de vida. As CsAs também são mais prevalentes em indivíduos de pele clara, especialmente naqueles tipos de pele referidos como fototipos, classificados como I e II de Fitzpatrick. A escala de fototipos de Fitzpatrick é uma classificação numérica

usada para estimar a resposta de diferentes tipos de pele à luz UV, variando de I a VI. Apresentam-se, principalmente, em áreas fotoexpostas como face, cabeça, ombros, tórax e dorso das mãos, podendo ocorrer em braços, antebraços e membros inferiores, sobretudo se levarmos em consideração a fotoexposição e o fototipo do paciente, bem como sua atividade laboral.

Podem comprometer a aparência dos pacientes que as apresentem pelo aspecto, muitas vezes desagradável, de suas manifestações, prejudicando, também, a sua qualidade de vida.

Considerando o número de lesões de CsAs, área acometida, risco de evolução para câncer de pele com a possibilidade da presença do campo de cancerização, a escolha da terapêutica apropriada é de extrema importância. Uma variedade de medicações tópicas - como 5-FU, imiquimode, DS, mebutato de ingenol, diversos procedimentos dermatológicos, uso de *lasers*, TFD, entre outros - são descritos como acessíveis para o tratamento das CsAs^{1,7-11}.

O fármaco 5-FU constitui um agente anticancerígeno e é considerado como um dos tratamentos de referência no tratamento do câncer de pele não melanoma. Atualmente, o uso tópico do 5-FU pode ser limitado pela baixa permeação cutânea, retenção no EC e pelos efeitos colaterais de seu uso, que fazem com que o paciente abandone o tratamento. O 5-FU também é utilizado no tratamento da CA em pacientes que apresentem alto índice de exposição à RUV.

A formulação de uso tópico com 5-FU é utilizada no tratamento da CA duas vezes ao dia por duas semanas, sendo que, anteriormente, foi utilizado por até quatro semanas. Cerca de 30% dos pacientes apresentam dor, prurido, queimação, irritação, inflamação, infecção secundária e ressecamento no local da aplicação, podendo, muitas vezes, levar o paciente ao abandono do tratamento.

Atualmente, o 5-FU está disponível comercialmente em creme e em solução nos EUA, enquanto no Brasil apenas em creme. Estas formulações atuam somente como veículos e não facilitam a permeação do fármaco através da pele. Outra desvantagem é a presença do fármaco na forma inativa, o que leva a um curto período de exposição nas lesões com concentrações terapêuticas e a uma baixa retenção no

tecido, resultando em um aumento na frequência da aplicação e duração do tratamento.

Assim, torna-se necessário um sistema efetivo de entrega do fármaco que altere a biodistribuição do ativo, de modo que uma dose efetiva chegue ao sítio de ação e aumente a biodisponibilidade do 5-FU¹².

Novos métodos de entrega transepidérmica/transdérmica de fármacos - como *lasers* -, novas formas farmacêuticas e permeadores químicos e físicos estão sendo amplamente estudados na literatura. Torna-se necessário avaliar outros métodos de entrega transepidérmica/transdérmica, como o microagulhamento, utilizado com sucesso para aumentar a permeabilidade de micro e macromoléculas. Esse sucesso se explica na medida em que o microagulhamento cria um microporo no EC, bem como novas formulações capazes de melhorar a resposta terapêutica, diminuir a duração do tratamento e, ainda, minimizar os efeitos colaterais relacionados ao uso do 5-FU.

A aplicação de produtos tópicos contendo altas concentrações do 5-FU pode, quando comparada a produtos com menores concentrações do fármaco, resultar em uma grande exposição sistêmica. Uma formulação com menor concentração do fármaco pode minimizar a toxicidade local e sistêmica. Estudos demonstram que formulações com 0,5% de 5-FU têm eficácia similar no clareamento das lesões de CA em relação às formulações convencionais com 5% de 5-FU^{13,14}.

2. REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA

A revisão da literatura foi realizada através da base de dados PubMed e a partir da utilização das palavras chaves (“Keratosis, actinic”[Mesh] OR “Actinic Keratoses” OR “Keratoses, Actinic” OR “Actinic Keratosis”) AND (“Fluorouracil”[Mesh] OR “5FU” OR “5- FU” OR “5-Fluorouracil” OR “5 Fluorouracil” OR “Fluoruracil” OR “5-FU Lederle” OR “5 FU Lederle” OR “5-FU Medac” OR “5 FU Medac” OR “5-HU Hexal” OR “5 HU Hexal” OR “Adrucil” OR “Carac” OR “Efudix” OR “Fluoro-Uracile ICN” OR “Fluoro Uracile ICN” OR “Efudex” OR “Fluoroplex” OR “Flurodex” OR “Fluorouracil Mononitrate” OR “Fluorouracil Monopotassium Salt” OR

“Fluorouracil Monosodium Salt” OR “Fluorouracil Potassium Salt” OR “Fluorouracil-GRY” OR “Fluorouracil GRY” OR “Fluorouracile Dakota” OR “Dakota, Fluorouracile” OR “Fluorouracilo Ferrer Far” OR “Fluracedyl” OR “Haemato-FU” OR “Haemato FU” OR “Neofluor” OR “Onkofluor” OR “Ribofluor” OR “5-Fluorouracil-Biosyn” OR “5 Fluorouracil Biosyn”) AND (“Drug Delivery Systems”[Mesh] OR “Dosage Forms” OR “Drug Administration Routes” OR “Drug Carriers”) AND (“Needles”[Mesh] OR “Needle” OR “Hypodermic Needles” OR “Hypodermic Needle” OR “Needle, Hypodermic” OR “Needles, Hypodermic”), na base de dados SciELO utilizando as palavras chaves (“ceratose actínica” OR “ceratose solar”) AND (“agulhas”) AND (“administração cutânea” OR “Administração Cutânea de Medicamentos” OR “Administração Dérmica de Medicamentos” OR “Administração Percutânea” OR “Administração Transcutânea” OR “Administração Transdérmica”) AND (“fluorouracil” OR “fluorouracil”), composta de Decs e seus respectivos sinônimos. No banco de testes da CAPES, no período de 1963 a 2019, não foram encontrados artigos referentes ao tratamento combinado de microagulhamento e 5-fluorouracil para ceratose actínica. A partir da leitura de outros artigos que compuseram a referência bibliográfica desta tese, destaca-se um artigo de 2014, referente ao microagulhamento e 5-FU, que descreve o aumento da permeabilidade cutânea com o uso do tratamento combinado¹⁵.(15) Além disso, na base de dados Pubmed, ao utilizar os termos (“Keratosis, actinic”[Mesh] OR “Actinic Keratoses” OR “Keratoses, Actinic” OR “Actinic Keratosis”) AND (“Drug Delivery Systems”[Mesh] OR “Dosage Forms” OR “Drug Administration Routes” OR “Drug Carriers”) AND (“Needles”[Mesh] OR “Needle” OR “Hypodermic Needles” OR “Hypodermic Needle” OR “Needle, Hypodermic”OR “Needles, Hypodermic”), foi encontrado um artigo referente à permeabilidade de mebutato de ingenol associado ao microagulhamento¹⁶.

PRISMA 2009 Flow Diagram

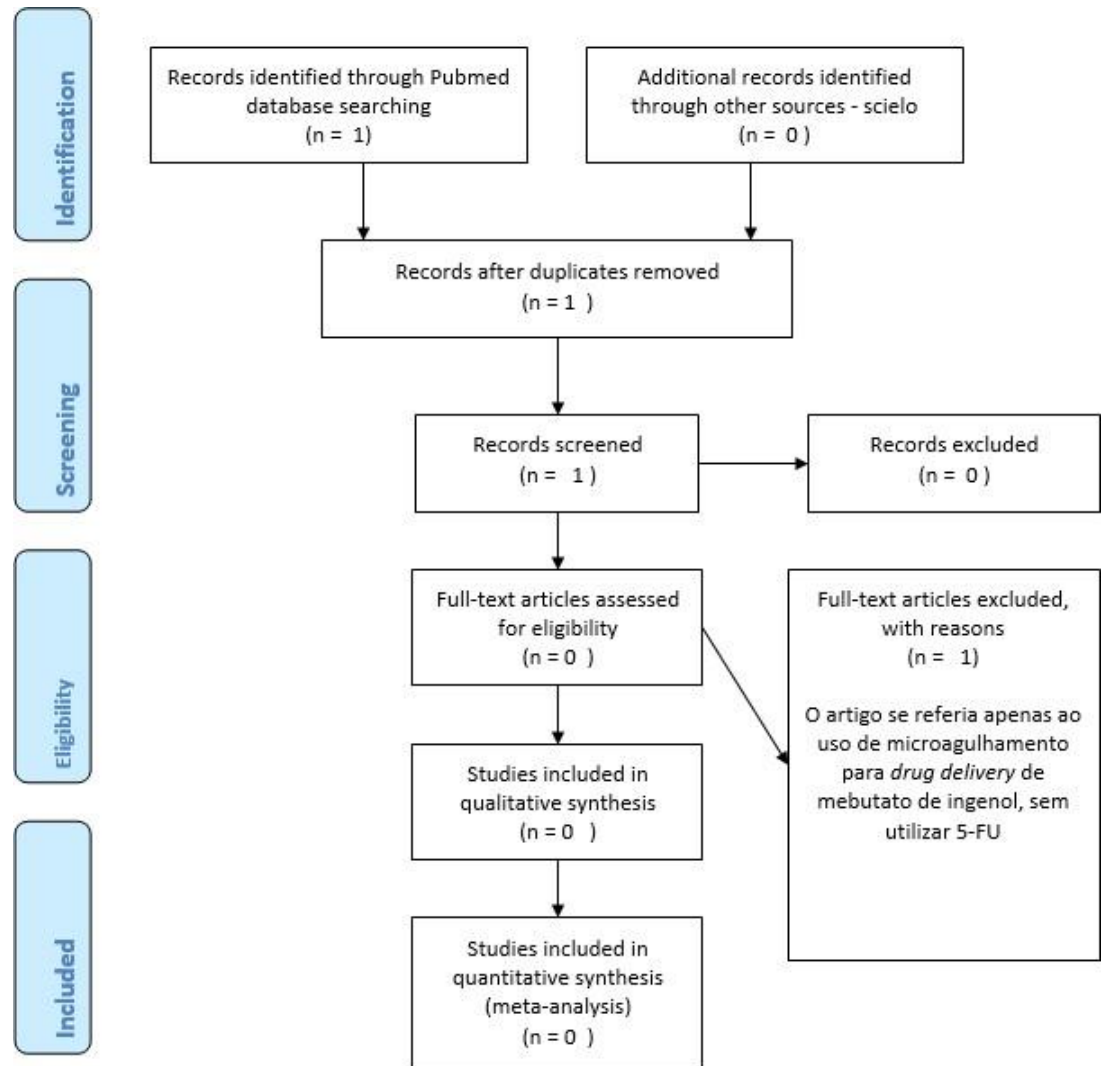


Diagrama 1: Prisma 2009 Flow Diagram ¹⁷

Para mais informações acesse: www.prisma-statement.org.

3. CERATOSE ACTÍNICA

3.1 Definição

A CA ou ceratose solar ou ceratose senil é uma patologia dermatológica comum em fototipos claros e em idosos^{1,18}.

Dubreuilh foi quem primeiro a descreveu, em 1896, fazendo a diferenciação

entre ceratose seborreica (verruga senil) e ceratose solar (ceratose senil) através de achados microscópicos, demonstrando que a ceratose solar tinha uma “tendência natural a degenerar em um câncer epitelial”. Assim, introduziu o conceito de que se tratava de uma lesão cutânea pré-cancerosa. A denominação *keratoma senilis* foi proposta por Freudenthal, posteriormente, em 1926, descrevendo os achados histopatológicos distintos da ceratose solar e sua “transição” para câncer de pele. Sutton Jr., em 1938, referiu que a ceratose solar não se tratava de lesão cutânea pré-cancerosa, outrossim de um carcinoma de células escamosas superficiais¹⁸. Em um artigo de 2000, Cockerell CJ. refere que Pinkus, em 1958, renomeou-a como CA. O termo CA foi desenvolvido com base na aparência clínica e na textura destas lesões, sem, contudo, levar em consideração a histopatologia ou a patobiologia das mesmas¹⁹.

CA apresenta proliferação de ceratinócitos neoplásicos transformados pela exposição à RUV e restritos à epiderme. É extremamente prevalente, sendo observada na maioria das pessoas caucasianas de meia-idade e idosas com histórico de exposição significativa ao sol. Enquanto permanecem confinadas à epiderme, essas lesões são denominadas de CsAs. Porém, quando se estendem mais profundamente, envolvendo a derma papilar e/ou reticula, são denominadas com característica invasiva. A denominação CA foi desenvolvida com base na aparência clínica e na textura dessas lesões cutâneas, sem, contudo, levar em consideração a histopatologia ou patobiologia¹⁹.

Assim, a CA é considerada como pré-cancerosa intraepidérmica, que pode evoluir para CEC^{1,20}. Alguns autores descrevem a CsAs como neoplasias *in situ* com características de malignidade desde a sua formação, oriundas de ceratinócitos com modificações clonais em seu DNA, semelhantes aquelas observadas no CEC. Essas modificações incluem pleomorfismo celular, perda de polaridade, aumento no número de mitoses, mutações idênticas na proteína P53 - como as que ocorrem no CEC^{18,19,21-24}.

3.2 Etiopatogenia

É uma patologia de pele que normalmente se desenvolve em áreas expostas

ao sol de forma crônica, principalmente por efeito cumulativo deste sobre a pele. Com uma prevalência de até 60% em determinadas populações, a CA é a mais comum lesão cutânea, possuindo potencial de progressão para o câncer de pele invasivo não melanoma: CEC invasivo^{1,25}. Ainda que a exposição à RUV exerça certos efeitos benéficos sobre a pele, a exposição excessiva à RUV é capaz de induzir inflamação, imunossupressão, falha de apoptose e diferenciação da multiplicação celular. Cumulativamente, essas ações resultam em mutagênese e, finalmente, em carcinogênese. Todas essas alterações têm atuação nos principais mediadores envolvidos na patobiologia da CA. Existem três possibilidades evolutivas para essas ceratoses na ausência de tratamento: (1^a) remissão espontânea, que pode ser comum; (2^a) permanência estável, sem progressão adicional para carcinoma; ou (3^a) transformação em CEC invasivo, que pode metastatizar. Os efeitos da RUV sobre a pele são complexos, não estando, ainda, totalmente esclarecido como todos os mediadores da progressão da CA estão inter-relacionados. No entanto, alguns desses fatores evolutivos da CA para CEC - especialmente invasivo - representam potenciais alvos terapêuticos, considerando, também, que o direcionamento da terapia para os efeitos da RUV, em vários níveis diferentes, poderia interromper - e, possivelmente, reverter - os mecanismos que levam à transformação maligna da CA²⁶.

A análise genética demonstra que as mutações induzidas pela RUV e as alterações na expressão gênica podem estar presentes em CsAs com evolução para CEC. O diagnóstico e o tratamento de início precoce são indicados para a resolução das CsAs e áreas danificadas circunjacentes, com possibilidade de presença de campo de cancerização, reduzindo, assim, o risco de CEC invasivo²².

A etiologia da CA é considerada multifatorial, envolvendo tanto o paciente quanto fatores ambientais. Em relação ao paciente, torna-se mais presente a partir da quarta década de vida, mais comum em homens, fototipos baixos, com efélides em áreas fotoexpostas, histórico de CA e/ou câncer de pele não melanoma. Em relação aos fatores ambientais, incluem-se os pacientes que trabalham ou praticam atividades físicas ao ar livre, que se bronzeiam excessivamente (RUV) ou usem fontes artificiais de exposição UV. Dentre estes fatores, a idade avançada, a excessiva exposição ao sol por efeito cumulativo da RUV, histórico ou presença de

CA e câncer de pele não melanoma são os mais significantes²⁷⁻³¹.

Os papilomas vírus humano - particularmente o beta papiloma vírus -, que podem causar tumores mucocutâneos epiteliais e epidérmicos em humanos e que desempenham um papel importante na etiologia das CsAs e câncer de pele não melanoma, podem estar associados com a etiologia das mesmas em imunossuprimidos, especialmente em pacientes transplantados³². CsAs são lesões de displasia dos ceratinócitos resultante de exposição solar crônica, tendo a capacidade de progredir para CEC invasivo. Há, contudo, discordâncias sobre se as CsAs constiutem lesões pré-malignas, CEC superficial *in situ* ou epifenômenos da pele cronicamente danificada pelo sol²⁰.

O fator que desencadeia a CA é a exposição à RUV, que por sua vez leva à mutação do DNA. Uma substituição de timina por citosina em certas áreas do gene p53, também conhecido como TP53 ou proteína de tumor, é uma mutação comum identificada tanto na CA como no CEC e que leva a uma alteração na reparação do DNA e subsequente falha da apoptose^{33,34}. Um estudo revelou que a mutação no gene p53 está presente em 53% dos casos de CA e em 69 a 90% de CEC, o que implica no potencial envolvimento das mutações do gene p53 na conversão da CA em CEC³⁵.

Os três tipos principais de raios UV que o sol emite são conhecidos como UVA, UVB e UVC. Entre 94-97% da radiação que atinge a superfície da terra é composta por raios UVA. Já os raios UVB, que são parcialmente absorvidos pela camada de ozônio, representam de 3 a 6% da RUV. Por fim, os raios UVC são, quase em sua totalidade, filtrados pela camada de ozônio na atmosfera, atingindo a superfície terrestre em níveis mínimos²⁶.

Os raios UVA (320-400nm) constituem uma grande causa de fotoenvelhecimento, tendo em vista a sua capacidade de penetrar profundamente na pele. Os raios UVA são conhecidos por induzir danos indiretos ao DNA, criando radicais livres através de espécies reativas de oxigênio e diminuindo a atividade das células apresentadoras de antígeno da epiderme.

Os raios UVB, também conhecidos como “raios solares”, têm um comprimento de onda de 290 a 320nm e estão mais associados ao câncer de pele do que os raios UVA. Isto ocorre porque os raios UVB causam danos diretos ao DNA, induzindo à formação de dímeros de pirimidina de ciclobutano e fotoprodutos de pirimidina.

Além de danificar diretamente o DNA, a radiação UV altera a pele de maneira a causar imunossupressão, o que também pode levar ao câncer de pele, embora o mecanismo exato não seja claro³⁶.

Em relação aos mecanismos envolvidos no surgimento das CsAs, pode-se mencionar: inflamação, estresse oxidativo, imunossupressão, apoptose prejudicada, desregulação do ciclo celular e alteração da proliferação celular e remodelamento tecidual.

O processo inflamatório é mediado pela via do ácido araquidônico, pela produção de citocinas pró-inflamatórias e pela ativação de mastócitos e de fator inibitório da migração de macrófagos. Os resultados da ativação desses mediadores incluem peroxidação lipídica, aumento nos níveis intralesionais de linfócitos T e células de Langerhans, aumento do p53 e Bcl-2 e redução no Fas (cd95) e Fas-ligand, que são fatores iniciais importantes no processo de apoptose de células mutadas pela radiação UV²⁶.

A ligação entre inflamação e desenvolvimento das CsAs tem relação com a observação de lesões que evoluíram para CEC. Em vários casos, foi observado que tais lesões cutâneas passaram por uma fase inflamatória antes de se tornarem invasivas. Tal fato justifica a efetividade de terapias anti-inflamatórias no tratamento de CsAs^{37,38}.

O estresse oxidativo também deve ser considerado, uma vez que está envolvido no processo de fotocarcinogênese resultante da exposição excessiva à RUV, levando à produção de espécies reativas de oxigênio e culminando com a peroxidação lipídica e destruição celular, com danos ao DNA genômico e mitocondrial²⁶.

Pacientes em uso crônico de medicamentos imunossupressores sistêmicos compõem um grupo de risco específico para neoplasias e displasias cutâneas decorrentes dos efeitos carcinogênicos da RUV³⁹. Pacientes imunossuprimidos apresentam maior prevalência de CsAs, assim como maior risco de progressão destas para CEC⁴⁰.

A patogênese para desenvolvimento das CsAs nos pacientes imunossuprimidos envolve os fatores já relacionados anteriormente. Além disso, envolve aspectos relacionados às medicações imunossupressoras, que podem, inclusive, atuar como agentes carcinogênicos. Nesse sentido, há evidência científica que aponta para o aumento do risco de desenvolver CEC com uso de azatioprina, ciclosporina, tacrolimus, prednisolona e inibidores da m-TOR (*Mammalian Target of Rapamycin*) - como sirolimus e everolimus⁴¹.

Ademais, o fato de o paciente ter imunossupressão crônica influencia as vias de correção de mutações pré-oncogênicas, afetando-as em suas funções^{42,43}.

Síndromes genéticas associadas à deficiência dos mecanismos de reparo do DNA, ou à deficiência na biossíntese de melanina, ou a uma maior vulnerabilidade aos danos causados pela RUV, resultam em um risco maior para o desenvolvimento de CA. Incluem, nesse sentido, o xeroderma pigmentoso e o albinismo. A síndrome de Rothmund-Thompson, uma desordem genética de instabilidade cromossômica, é conhecida por estar associada à CA e ao CEC²⁵.

3.3 Fatores Epidemiológicos

Acomete ambos os gêneros, sendo um pouco mais frequente em homens, devido à maior carga média de exposição UV deste último. Em termos de idade, ocorre de forma mais frequente entre a quarta e a quinta década de vida.

Em relação às populações, há importantes variações. A incidência é entre 11 e 26% em pacientes acima dos 40 anos de idade, sendo esta mais elevada em climas mais quentes - onde a população está mais exposta à radiação UV - e em fototipos baixos - como I-II de Fitzpatrick. Por outro lado, é menos frequente em

fototipos acima destes^{20,22,30,32,44-48}. Há estudos que mostram uma prevalência de 37,5% em indivíduos brancos com 50 anos de idade ou mais^{20,49,50}.

Em indivíduos acima de 40 anos e caucasianos, nos EUA, as CsAs apresentam prevalência entre 11 a 26%. Na Austrália, por sua vez, a prevalência é de 40-60%⁵¹.

Em relação à prevalência da CA, a OMS estima que os maiores índices são observados em indivíduos caucasianos que moram em regiões próximas à linha do Equador⁵².

A prevalência das CsAs pode variar de acordo com o fototipo dos pacientes e grau de exposição à RUV, devendo ser considerado, também, a localização geográfica. Assim, as CsAs são mais prevalentes na Austrália do que nos EUA, que por sua vez apresenta maior prevalência do que na Europa⁴⁹.

Na Austrália, a prevalência de CA estimada é de 40-50% da população acima dos 40 anos de idade⁵³.

Siegel *et al*, em 2004, referem que, nos EUA, a prevalência estimada foi de quase 40 milhões de pacientes acometidos de CsAs, representando um custo anual superior a um bilhão de dólares - considerando afastamentos das atividades laborais em decorrência dos tratamentos propostos. Os autores referem que a CA tem uma taxa de progressão anual para CEC que pode chegar a até 6%, considerando uma população de idosos com histórico de múltiplos carcinomas derivados de ceratinócitos. Assim, as CsAs são consideradas a maior preocupação de saúde pública nos EUA devido a sua alta prevalência, custo “substancial” de tratamento e potencial para progressão para carcinoma de origem nos ceratinócitos, especialmente CEC e CBC²⁰.

Na Europa, a prevalência varia conforme o país em estudo, mantendo-se o gênero masculino e a faixa etária acima de 40 anos como características dos pacientes mais acometidos por CsAs. Na Espanha, em um estudo onde 3877 pacientes foram avaliados, a prevalência geral de CsAs foi de 28,6%. A prevalência foi significativamente maior em homens do que em mulheres (38,4% vs. 20,8%),

aumentando conforme o avançar da idade em ambos os sexos (45,2% entre 71-80 anos)⁵⁴. Na Áustria, em outro estudo realizado a partir da avaliação de 4449 pacientes, atestou-se uma prevalência geral de CsAs de 31%, sendo maior em homens (39,2%) do que em mulheres (24,3%), aumentando conforme o avançar da idade em ambos os gêneros⁵⁵.

No que tange aos países do continente asiático - como China e Japão -, estes apresentam valores inferiores de prevalência das CsAs quando comparados aos países ocidentais: prevalência de CsAs de 0,52% e de 0,004%^{56,57}.

Em relação ao Brasil, a CA é o quarto diagnóstico dermatológico mais frequente⁵, sobretudo na região Sul, quando comparado as demais regiões do país. Em estudo realizado com 491 pacientes da cidade de Curitiba (PR), com idade média de 59,8 anos, a prevalência de CA foi de 60,79% nas mulheres e de 30,9% nos homens⁵⁸.

Em termos de incidência, um estudo mostrou que 60% da população acima dos 40 anos, com histórico de CA, desenvolve novas lesões em 12 meses. Por outro lado, somente 19% das pessoas que não tiveram CA no início do estudo apresentaram novas lesões após 12 meses⁵¹.

A localização geográfica também é muito importante, levando em consideração a taxa de RUV a que a população está exposta. Isto pode, inclusive, modificar as taxas de prevalência em populações que realizam migração, tendo como exemplo o que foi observado em estudo realizado com descendentes nipônicos em Bauru/SãoPaulo⁵⁹.

Em estudo realizado por Bakos *et al*, 2013, os autores analisaram, a partir de uma amostra de 117 indivíduos do sul do Brasil, a necessidade de um escore para avaliação de fatores de risco de melanoma cutâneo. Alguns desses fatores de risco são demonstrados e, entre eles, encontra-se a história familiar de melanoma, cabelos e cor da pele claros, presença de efélides e episódios de queimadura solar na infância. Entre outros fatores relacionados pelo estudo, as lesões pré-malignas - como as CsAs - são entendidas como fatores de risco. A presença de CsAs e

melanoma cutâneo não apresenta uma relação direta entre si, mas demonstra que as CsAs podem ser consideradas como fatores de risco para o desenvolvimento de neoplasias cutâneas⁶⁰.

Passos *et al*, 2003, em estudo de caso controle realizado em Pelotas (RS), observaram que pacientes com pele clara apresentaram seis vezes mais suscetibilidade para desenvolverem lesões cutâneas pré-malignas e malignas. Outros fatores de risco foram olhos (azuis) e cabelos claros (loiro ou ruivo), melanoses solares (principalmente no dorso das mãos), *cutis rhomboidalis nuchae*, por exemplo, como manifestações de fotodano⁶¹.

Nos EUA, as CsAs representam o terceiro motivo de consulta dermatológica, perdendo apenas para acne e dermatites em geral⁵¹. Tendo em vista o processo de envelhecimento global da população e o aumento geral em relação à faixa etária, provavelmente ocorrerá um acréscimo gradual na frequência de CsAs em indivíduos que se enquadrem nos fatores de predisposição⁶².

No Brasil, através de levantamento feito pela SBD, em 2006, foram analisados 57.343 pacientes acima de 65 anos. De acordo com o levantamento, as CsAs representaram o principal motivo de consulta dermatológica (17,2%). Ademais, o estudo mostrou que, na região Norte, as CsAs representaram 2,89% dos diagnósticos, enquanto, na região Sul, o percentual foi 7,4%^{5,58}. Em outro estudo feito pela SBD, no período de 21-26 de março de 2018, foram observados, através da avaliação *online* da resposta de seus associados às consultas dermatológicas feitas neste período, os dados registrados de 9.629 visitas. As causas mais frequentes de consulta foram acne (8,0%), fotoenvelhecimento (7,7%), câncer de pele não melanoma (5,4%) e CA (4,7%). As doenças identificadas tinham padrões distintos em relação ao gênero, cor da pele, região geográfica, tipo de financiamento para a consulta e faixa etária. Em relação às condutas médicas, a fotoproteção foi indicada em 44% das consultas, os procedimentos de diagnóstico cirúrgico foram realizados em 7,3%, os procedimentos cirúrgicos terapêuticos em 19,2% e os procedimentos estéticos em 7,1%⁶³.

As lesões de CsAs podem regredir espontaneamente, apresentar resolução

completa, persistir, ou mesmo progredir para CEC, particularmente na presença de múltiplas lesões de CsAs^{10,26}.

Alguns autores, porém, sugerem que, em lesões individuais de CA e sem tratamento adequado, cerca de 0,025 a 16%⁶⁴ dos casos - com referências que apontam até 20%⁵² - podem sofrer transformação maligna em um ano^{1,28,64-67}. Embora o risco de CA evoluir para CEC invasivo seja menor que 1%, este risco aumenta com o tempo e com o maior número de lesões de CsAs⁸.

O risco de transformação maligna de uma única lesão de CA, em um ano, varia de 0,075 a 0,096%. Assim, para um indivíduo com uma média de 7,7 lesões de CA na pele, a incidência de CEC deverá ser de 10,2% em 10 anos. Em 1995, um estudo mostrou que 97% dos casos de CEC estão associados a casos prévios de CA⁵³. Clinicamente, é difícil prever o curso evolutivo das CsAs. Ao mesmo tempo, não há métodos capazes de prever ou mesmo demonstrar qual ou quais lesões de CA irão evoluir para CEC invasivo⁶⁸. Assim, os *guidelines* atuais sugerem tratar todas as CsAs¹¹.

3.4 Diagnóstico e Classificação

Diversos sistemas de classificação para CA têm sido sugeridos, bem como distintos métodos de contagem destas. Uma vez que não há uma uniformidade de definição para CA - tida como “padrão ouro” de conceituação da CA - a validade dessas classificações permanece controversa. No entanto, examinar a relação entre CEC e CsAs, onde estas sejam definidas de maneiras distintas, poderia fornecer informações úteis sobre a utilidade desses sistemas de classificação, auxiliando na escolha da melhor opção terapêutica para o paciente^{20,69}.

Olsen classificou as CsAs da seguinte maneira: Grau I: facilmente palpáveis e pouco visíveis; Grau II: facilmente visíveis e palpáveis; e Grau III: visíveis e hiperkeratóticas⁷⁰.

Outras classificações são propostas por diversos autores. Goldberg et al, 1994, classificaram as CsAs - de acordo com exame clínico e características evolutivas - como sendo proliferativas e não proliferativas. As CsAs proliferativas são

resistentes à terapêutica e têm tendência ao crescimento e à evolução para CEC. As não proliferativas, por sua vez, não apresentam essas características⁷¹.

Cockerell, em 2000, através dos exames clínico e AP e observando os graus de atipias dos ceratinócitos, estabeleceu a seguinte classificação: Grau I: mácula plana sem hiperqueratose e sem superfície rugosa, podendo ser CA subclínica, com AP apresentando atipia de ceratinócitos somente no terço inferior da epiderme; Grau II: CA hiperqueratósica com variada induração e AP apresentando atipia nos dois terços inferiores da epiderme; Grau III: CA em placas induradas, que podem ser pigmentadas, ceratinócitos com intensa atipia envolvendo todo o epitélio¹⁹. Rówert-Ruber *et al*, em 2007, pelo exame AP, classificaram em: Grau I: ceratinócitos atípicos na camada basal e suprabasal da epiderme; Grau II: ceratinócitos atípicos nos dois terços inferiores da epiderme; Grau III: atipia superior a dois terços da epiderme com envolvimento do epitélio anexial⁷². Zalaudek *et al*, em 2014, classificaram pelos achados da dermatoscopia⁷³.

Há, ainda, a possibilidade de classificar as CsAs em sete subtipos, com base no exame AP: hipertrófico, atrófico, bowenoide, acantolítico, epidermolítico, liquenoide e pigmentado^{5,74,75}. Através dessa classificação, porém, pode ocorrer sobreposição de subtipos histológicos em uma única lesão⁷⁶.

3.5 Localização

Mais de 80% das lesões de CsAs ocorrem na cabeça, pescoço e nos membros superiores. Áreas frequentemente acometidas são face, couro cabeludo calvo, orelhas, dorso dos antebraços e das mãos, região inferior das pernas, ou seja, regiões anatômicas que representam áreas de fotoexposição crônica. Quando ocorrem nos lábios, são referidas como queilite actínica. As CsAs podem ocorrer tanto como lesões únicas, como múltiplas lesões ou no contexto denominado de campo de cancerização. Estratégias terapêuticas diferenciadas para o tratamento desses distintos subgrupos de pacientes são necessárias para oferecer a melhor resposta terapêutica. A pele com lesões de CsAs pode ser mais sensível ao trauma, ao passo que o sangramento pode ocorrer mais facilmente^{1,25,27,77}.



Figura 1: CsAs de couro cabeludo (calvo). Fonte: Acervo pessoal.

3.6 Apresentação Clínica

CsAs são lesões cutâneas máculo-papulosas, únicas ou múltiplas, recobertas por escamas secas, duras, de superfície áspera, de cor amarela a castanho escura, podendo ser também rósea com variantes eritematosas e, em geral, com 0,5 a 1,0cm de tamanho, podendo confluir e formando placas. As escamas são aderentes e, ao serem destacadas, podem ocasionar pequenas hemorragias. As lesões pigmentadas, frequentes nas áreas fotoexpostas de pessoas idosas (melanose actínica), também denominadas de CsAs pigmentadas, representam a forma inicial da CA^{1,48,78}.

Muitas lesões são assintomáticas, todavia, algumas podem cursar com prurido e causar sensação de queimação^{53,79,80}.

As lesões da CA têm curso crônico. O aparecimento de halo eritematoso, mesmo nas lesões pequenas e de infiltração na base, pode indicar transformação carcinomatosa. Lesões idênticas às CsAs podem ser determinadas pela ingestão de arsênico, contato com alcatrão da hulha e tratamento radioterápico¹.

As lesões detectáveis de CAs estão, muitas vezes, ligadas às alterações genéticas da pele circundante, onde as lesões subclínicas ou células displásicas podem estar presentes: campo de cancerização^{81,82}.

O conceito de campo de cancerização foi estabelecido por Slaughter, em 1953, para descrever a presença de tecido histologicamente anormal em torno de um carcinoma de células escamosas do trato gastrointestinal superior⁸³. O termo foi proposto para explicar o desenvolvimento de múltiplos tumores primários e recorrência de câncer no local. Isto explica, especificamente, como diversos órgãos, como na pele (cabeça e pescoço), nas áreas de otorrinolaringologia (cavidade oral, orofaringe e laringe), mas também vulva, esôfago, colo do útero, mama, cólon e bexiga podem apresentar campo de cancerização. A fisiopatologia específica do campo de cancerização parece ser similar para todos os órgãos relevantes anteriormente descritos. Depois de adquirir uma alteração genética, uma célula-tronco forma uma unidade clonal de células displásicas (fase inicial). Esta formação ("*patch* displásico") pode ocorrer em estreita conexão com a alteração genética inicial ou pode ocorrer anos depois. A expansão, principalmente horizontal, de um "*patch*" para um campo displásico em expansão é o próximo passo para malignidade (fase de expansão)⁸⁴.

O conceito de campo de cancerização também auxilia no entendimento do curso crônico do paciente com CsAs que apresenta tendência à recorrência, demonstrando a necessidade de tratar toda a extensão da área acometida com tais lesões cutâneas, a fim de que se tenha a remoção completa das CsAs e/ou uma remissão mais duradoura. Nestes casos, ao tratar pontualmente apenas lesões visíveis, a pele da área adjacente que apresente mutações está sendo negligenciada, o que não é adequado que aconteça. Ou seja, toda a área deve ser sempre tratada adequadamente⁸⁵. Diversos estudos vêm analisando, neste sentido, a melhor escolha de opção terapêutica⁸⁶.



Figura 2: CsAs na hemiface direita e campo de cancerização. Fonte: Acervo pessoal.

Clinicamente, as CsAs são as lesões iniciais mais precocemente detectáveis - como manchas ou regiões de ceratinócitos displásicos⁸⁷. Essas áreas que apresentam displasia ou campo de cancerização são responsáveis por grande parte da morbidade relacionada ao câncer de pele e pela mortalidade em receptores de transplantes de órgãos. Nos últimos anos, essas áreas constituíram o principal alvo de grande parte das iniciativas dermatológicas voltadas à redução do ônus do câncer de pele nos pacientes⁸⁴.

3.7 Diagnóstico Diferencial da CA

Deve ser diferenciada da ceratose seborreica e de outras ceratoses, como verruga vulgar e nevo melanocítico verrucoso.

Lesões isoladas de CA devem ser diferenciadas de lúpus eritematoso, doença de Bowen, ceratoacantoma, CBC e CEC^{1,32}.

Pode ser diferenciada, também, de estucoceratose, poroceratose, acantoma de células claras, psoríase, liquen plano – especialmente a apresentação liquenoide da CA – e lentigo maligno – relacionando com a apresentação pigmentada da CA de localização facial. A análise correta do diagnóstico diferencial é de extrema importância para a escolha da opção terapêutica adequada e, também, em relação ao prognóstico. Muitas vezes, a escolha de um método de recurso diagnóstico torna-se essencial para a realização correta do diagnóstico diferencial⁸⁸⁻⁹¹.

3.8 Métodos Diagnósticos

O diagnóstico da CA é geralmente clínico, sendo por inspeção visual e palpação^{10,82}. Mesmo sendo de diagnóstico clínico, pode-se utilizar recursos diagnósticos, principalmente aqueles que venham a auxiliar no diagnóstico diferencial da CA. Atualmente, se tem utilizado, com frequência, a dermatoscopia e, mais recentemente, a microscopia confocal. O exame AP, com os achados da histologia, também auxilia, em diversas ocasiões, no diagnóstico, demonstrando atipia celular presente na lesão de CA⁸¹.

3.8.1 Dermatoscopia

A dermatoscopia é um método não invasivo e de rápida execução, que auxilia tanto no diagnóstico das CsAs quanto no diagnóstico diferencial das mesmas⁹². Ela apresenta alta sensibilidade e especificidade para o diagnóstico, com percentuais de 98,7% e 95%, respectivamente^{23,93}.

Em relação às CsAs da face, são descritos quatro achados dermatoscópicos, entendidos como essenciais: (A) eritema formando pseudorrede vascular rósea-avermelhada circundando folículos pilosos; (B) escamas branco-amareladas; (C) vasos finos e ondulados circundando os folículos; e (D) aberturas foliculares preenchidas por *plugs* ceratóticos amarelados²³.

Na dermatoscopia, é característico de CA não pigmentada da face o denominado “padrão em morango”, que consiste em pseudorrede eritematosa com vasos ondulados em torno de folículos pilosos preenchidos com tampões ceratóticos amarelos em um fundo eritematoso¹⁰. Essa denominação refere-se à semelhança dos quatro achados descritos anteriormente com a superfície de um morango. Outro achado que pode ser encontrado é o sinal da roseta, visto na dermatoscopia com luz polarizada como uma figura que lembra um trevo de quatro folhas, formada por quatro pontos esbranquiçados circundando a abertura folicular^{10,23,24,94–96}.

A dermatoscopia das CsAs extrafaciais apresenta eritema e escamas superficiais, por vezes acompanhadas de vasos em ponto. A pseudorrede

eritematosa pode eventualmente ser encontrada, no entanto, esta é característica das lesões faciais^{23,93,97,98}.

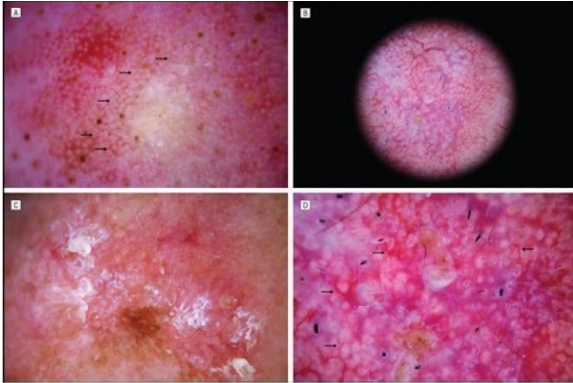


Figura 3: Sinais dermatoscópios de CA. A, Aberturas foliculares com tampões ceratóticos (setas). B, Pseudorede eritematosa. C, Escala de superfície: “padrão morango”. D, Vasos lineares ondulados em torno dos folículos pilosos (setas). Adaptado de ⁹³.

3.8.2 Exame Anatopatológico

O exame histopatológico é extremamente relevante para elucidar casos duvidosos, principalmente no diagnóstico diferencial e evolução para CEC.

Em que pese a constatação de que maioria das CsAs pode ser detectada clinicamente, há cenários clínicos - como a ausência de resposta aos tratamentos habitualmente propostos e a presença de algum achado não usual - que podem estar associados à progressão de CsAs para CEC. Nestes casos, opta-se pela a realização do exame AP^{19,72,78,99-101}.

Desta maneira, indica-se, também, a realização de biopsia quando: critérios maiores com lesões grandes (>1cm de diâmetro), presença de sangramento, ulceração ou induração, rápido crescimento lesional e eritema; critérios menores com prurido intenso sobre a lesão, dor, pigmentação, hiperkeratose e lesão palpável.

Histopatologicamente, há hiperkeratose e parakeratose, com áreas de atrofia e acantose na camada malpighiana, podendo ter a presença de ceratinócitos atípicos^{25,102}.

Yantsos *et al* desenvolveram um esquema de classificação diferente para CsAs, levando em consideração o nível de atipia na epiderme. De modo similar ao padrão utilizado na avaliação de lesões pré-malignas do colo uterino, as lesões são divididas em três níveis de neoplasia intraepitelial de ceratinócitos (NIC): nível I: com atipia restrita às camadas basal e suprabasal; nível II: com atipia estendendo-se aos dois terços inferiores da epiderme; e nível III: com atipia em todo o espessamento epidérmico¹⁰³.

Esquemas de classificação histológica habituais de CsAs não costumam avaliar os padrões de crescimento nos aspectos epidérmicos basais. L.Schmitz *et al* propõem que, além do grau de extensão ascendente da CA na epiderme, existam graus variados de extensão descendente¹⁰⁴.

3.8.3 Exame Imunohistoquímico

O exame imunohistoquímico não é realizado de forma rotineira para diagnóstico de CA. No entanto, o exame pode ser útil na diferenciação de lesões duvidosas, como doença de Paget ou melanoma¹⁰⁵. Pode ser usado, também, como forma de acompanhar a eficácia de tratamento indicado para CA¹⁰⁶. Além disso, visa à diferenciação de lesões cutâneas ceratinocíticas com melanocíticas ou de outras linhagens.

As ceratinas constituem as principais proteínas presentes nas células epiteliais, compreendendo trinta polipeptídeos diversos de ceratina^{107,108}. Cada um desses polipeptídeos é originado de um gene individual¹⁰⁹.

CsAs geralmente apresentam positividade para CK5/8, podendo ter positividade imunohistoquímica também para CK15 e CK19^{110,111}.

O exame imunohistoquímico mostra diversos subtipos de CK, tais como CK5/8, CK7, CK10 e CK19, auxiliando no diagnóstico diferencial de neoplasias intraepidérmicas de origem epitelial, tais como doença de Bowen, CA bowenoide, poroma écrino maligno intraepitelial e doença de Paget, que são as lesões cutâneas que mais comumente apresentam dificuldade diagnóstica. Aslan *et al*

demonstraram que a análise imunohistoquímica dessas citoceratinas, juntamente com exame AP e achados clínicos, pode fornecer auxílio no diagnóstico diferencial de neoplasias intraepidérmicas¹⁰⁵.

3.9 Tratamentos

As opções de tratamento direcionadas à lesão de CA visam à destruição ou remoção física de ceratinócitos atípicos - inclusive os que se apresentam em uma lesão única de CA. Isso se justifica na medida em que não se pode inferir com precisão, a partir da avaliação clínica, qual ou quais lesões de CA evoluirão ou não para carcinoma de pele não melanoma. Desta maneira, é recomendado que todas as lesões de CA sejam tratadas. Esses tratamentos são direcionados para as lesões de CA clinicamente manifestas (visíveis ou palpáveis). Opções de tratamento direcionadas para CsAs, onde possa ocorrer o campo de cancerização, visam, similarmente, à destruição, remoção ou remissão de ceratinócitos atípicos^{1,2,5,21,81,112-116}.

A CA pode ser tratada por razões estéticas e para aliviar os sintomas, especialmente quando estes estão presentes. Entretanto, a principal razão para o tratamento é a prevenção da ocorrência do CEC^{53,114}.

A escolha do tratamento depende das características do paciente, bem como do número e das características das lesões. Outros fatores que são levados em conta são os tratamentos anteriores e a sua localização anatômica, assim como a presença do campo de cancerização²⁸.

Como se trata de enfermidade crônica, é comum a combinação de distintos métodos terapêuticos, de forma associada ou em sequência.

Tratamentos como a crioterapia com NL, a curetagem e a eletro cauterização são úteis para lesões pontuais e com espessura insuficiente para eliminação por terapêutica tópica. Em casos de lesões extensas ou muito numerosas, são relacionados tratamentos tópicos como: TFD, mebutato de ingenol, imiquimode, DS,

5-FU em uso isolado ou combinado com AS. Além disso, há relatos de casos que foram tratados com dermoabrasão, *peelings* químicos, *lasers* (especialmente os LFA, como CO₂ e Er:YAG), entre outros^{1,20,25,33,53,114,117-121}.

Segundo revisão sistemática da Cochrane, os principais tratamentos para CA, baseados em ensaios clínicos randomizados, são os seguintes: curetagem, crioterapia, laser de CO₂, laser de Er:YAG, 5-FU 0.5% + AS10%, TFD-ALA, TFD-MAL, DS 3% em AH 2,5% gel, 5-FU 0,5% e 5%, imiquimode 2,5%, 3,75% e 5% (as diferentes concentrações de imiquimode incluem diferentes critérios de aplicação e frequência de uso), mebutato de ingenol 0,015% (face e couro cabeludo) e 0,05% (tórax e extremidades). Como conclusão, é referido que, para lesões individuais de CA, a TFD parece ser mais eficaz, ao mesmo tempo em que tem um resultado cosmético melhor do que a crioterapia. Para tratamentos direcionados em campo, DS, 5-FU, imiquimod e mebutato de ingenol tiveram eficácia semelhante, porém, os seus eventos adversos e desfechos cosméticos associados são diferentes. Esta revisão finaliza salientando que mais comparações diretas entre estes tratamentos são necessárias, a fim de determinar a melhor abordagem terapêutica¹¹⁴.

Um recente ensaio clínico randomizado investigou a efetividade de quatro tratamentos frequentemente usados para CsAs múltiplas. Foram relacionados tratamentos tópicos com 5-FU 5% creme, imiquimode 5% creme, TFD-MAL ou mebutato de ingenol 0,015% gel. Houve redução de, no mínimo, 75% no número de lesões de CA, sendo que, após 12 meses do término do tratamento, constatou-se que o 5-FU 5% creme foi o mais efetivo.¹²²

Dentre opções recentemente descritas, podemos destacar o uso do microagulhamento, geralmente associado ao *drug delivery*, como potencializador dos tratamentos usuais¹¹⁸.

3.9.1 5-FU

Desde que foi introduzido como agente tópico de quimioterapia no início dos anos 1960, o 5-FU tem sido muito utilizado devido a diversos fatores, tais como: eficácia; baixo custo; bons resultados cosméticos; relativa ausência de efeitos

colaterais no tratamento dermatológico de muitas condições pré-câncer, alguns tumores benignos e malignos, além de algumas patologias dermatológicas¹²³.

Em 1962, Falkson e Schukz descreveram aspectos inflamatórios na pele e eventual clareamento de múltiplas lesões de CsAs em pacientes tratados com 5-FU sistêmico para câncer.¹²⁴ Posteriormente, Omura e Torre observaram o mesmo¹²⁵. Klein *et al* e Dillaha *et al* introduziram o uso do 5-FU na terapêutica dermatológica^{117,125-127}.

O 5-FU, que constitui uma molécula hidrofílica e aniônica¹⁰, é classificado como um antimetabólito, sendo usado para o tratamento de vários tipos de cânceres - incluindo câncer de mama, cabeça e pescoço, colorretal¹⁵ e vitiligo^{128,129}. Permanece estável em solução em temperatura ambiente por vários meses e precipita em refrigeração¹²³.

Um estudo de meta-análise sobre o uso tópico do 5-FU em indicações dermatológicas, com ampla gama de eficácia e níveis de evidência, demonstrou que a evidência é mais forte para o seu uso no tratamento de CA, CEC e CBC^{129,130}. Desde 1970, as concentrações de 1%, 2% e 5% são aprovadas, pelo FDA, para uso tópico voltado ao tratamento de CsAs em diversas localizações do corpo (duas aplicações ao dia, por duas a quatro semanas)^{28,121}. Em creme a 0,5%, foi aprovado, desde 2000, apenas para lesões de CsAs no couro cabeludo e face (uma aplicação ao dia, por duas a quatro semanas)^{121,131,132}.

O uso de 5-FU para o tratamento da CA é melhor indicado quando há múltiplas lesões, ao invés de terapias mais invasivas - como a crioterapia²⁸.

É um agente ablativo químico que inibe a síntese do DNA, previne a proliferação celular e causa a necrose tumoral. Formulações em creme e solução de 5-FU, administradas duas vezes ao dia por seis semanas, são aprovadas para o tratamento do CBC¹³³ e CA²⁸. Entretanto, as formulações convencionais não são capazes de penetrar nas camadas profundas do tumor, tendo em vista a sua natureza hidrofílica (LogP= - 0.89). O uso do 5-FU para o tratamento do CBC é limitado a casos superficiais, não sendo recomendado para formas mais agressivas

e nodulares do CBC¹⁵. Conforme demonstrado por Mohs *et al*, 1978, a aplicação tópica do 5-FU no CBC invasivo pode confundir do ponto de vista clínico, uma vez que, embora a sua aplicação apresente melhora na superfície, as partes profundas da lesão continuam a crescer despercebidamente¹³⁴.

Várias novas abordagens têm sido estudadas para melhorar a permeação transdérmica do fármaco¹³⁵. Paolino *et al*, 2008, descreveram uma formulação em niossomas para aumentar a permeação percutânea e a atividade antitumoral do 5-FU. As niossomas exibiram um aumento de oito vezes na permeação percutânea do 5-FU através da pele, quando comparada a solução aquosa do fármaco. Outros estudos demonstraram o uso de permeadores como a azona, miristato de isopropila, álcool laurílico, iontoforese e eletroporação, bem como o uso de novas formulações farmacêuticas (microemulsões e nanogéis) para aumentar a permeabilidade do 5-FU¹³⁶.

Métodos físicos para aumentar a permeabilidade cutânea do 5-FU também têm sido estudados. Fang *et al*, 2004, estudaram o efeito de uma série de métodos físicos como a iontoforese, eletroporação, *laser* Er:YAG e combinações na permeabilidade do 5-FU. A iontoforese e a eletroporação, por exemplo, aumentaram significativamente a permeabilidade cutânea do fármaco. Entretanto, o *laser* Er:YAG, que causa uma remoção controlada do EC, foi o mais efetivo, confirmando que o EC é que limita a permeabilidade cutânea do 5-FU¹³⁷.

Naguib *et al*, 2014, demonstraram que o uso do microagulhamento aumenta a permeabilidade tópica do 5-FU 5%, *in vitro*, numa magnitude de 4,5 vezes em comparação ao tecido sem o pré-tratamento com as microagulhas de 0,5mm de comprimento. O mesmo estudo avaliou se o pré-tratamento com o microagulhamento na pele de ratos pode, em razão do incremento de sua permeabilidade cutânea, aumentar a atividade antitumoral do 5-FU. Células de melanoma foram implantadas subcutaneamente na área de aplicação de um creme com 5-FU, sendo que foi verificado sua habilidade de inibir o crescimento do tumor. O creme com o fármaco foi mais efetivo na inibição do crescimento tumoral quando houve o pré-tratamento com o microagulhamento. Nesse estudo, não foram observadas mudanças no peso corporal dos ratos, sugerindo que a combinação do

pré-tratamento com o microagulhamento e a aplicação tópica do 5-FU é segura¹⁵.

O 5-FU é uma molécula análoga da timina, que funciona como uma falsa base²⁸ e compete por enzimas com metabólitos normais, como o uracil^{138,139}. Após entrar na célula, como um nucleotídeo natural, ele necessita ser ativado^{139,140}. Este processo bioquímico inclui uma série de caminhos enzimáticos, levando a três alvos definidos: TS, RNA e DNA¹⁴⁰. Após ligar-se à enzima TS, ele inibe a síntese de nucleotídeos de timina a partir da deoxiuridina. A depleção de timina resulta na redução do DNA e leva à apoptose celular²⁸. Eventualmente, é incorporado no RNA e inibe a formação do DNA através de uma ligação covalente que bloqueia a TS. Nenhum mecanismo imunológico foi identificado, porém, a intensa inflamação causada pelo 5-FU pode contribuir para a regressão do tumor¹³⁸. Diversos estudos demonstram que a superprodução da TS pelo tumor está relacionada à resistência ao tratamento com 5-FU¹⁴⁰. Como o 5-FU é um antimetabólito, a citotoxicidade majoritária ocorre durante a fase-S do ciclo de proliferação celular. O tempo de meia vida do fármaco é bem curto - aproximadamente 12 minutos - e, por isso, a exposição ao fármaco deve ser prolongada para alcançar o maior número de células na fase-S^{140,141}.

Um benefício adicional do 5-FU é sua habilidade de tornar lesões cutâneas de CA não visíveis clinicamente em lesões perceptíveis. Em pacientes com intenso fotodano e presença de lesões cutâneas desencadeadas pela intensa exposição à RUV, o tratamento com 5-FU pode ser efetivo para o diagnóstico de lesões adicionais, às vezes não tão perceptíveis²⁸.

Nos EUA, formulações tópicas com 5-FU estão disponíveis nas concentrações de 0,5% (creme), 1% (creme), 2% (solução) e 5% (creme e solução)^{28,121}. No Brasil, no entanto, somente o creme de 5-FU 5% é comercializado. Outras aplicações clínicas reportadas do 5-FU incluem psoríase, colesteatoma, lentigo maligno e algumas condições oftálmicas pré-malignas.

Alguns dos efeitos colaterais relatados com o uso tópico do 5-FU incluem fotossensibilidade, irritação, prurido, dor, sensação de queimação, eritema, vesiculação, erosão, ulceração, formação de crostas, xerose e alergia. Tais efeitos são decorrentes da atividade farmacológica do 5-FU e, geralmente, dependem da

concentração aplicada (0,5% ou 5%)^{28,121}.

Muitas vezes a associação de um anti-inflamatório hormonal - como corticoide de média ou alta potência, especialmente fluorado - na formulação de uso tópico do 5-FU pode reduzir o advento de efeitos colaterais decorrentes do uso do 5-FU¹⁴². Dermatite de contato com o uso do fármaco é rara, sendo esta geralmente associada aos conservantes ou aos componentes do creme¹³⁸.

Não se deve ultrapassar 500cm² de área de pele a ser tratada e, caso seja necessário ultrapassar tais medidas, o tratamento deve ser realizado em etapas. O uso tópico de 5-FU a 0,5% associado ao AS a 10% visa aumentar a permeação do 5-FU, uma vez que o AS é utilizado como agente ceratolítico¹⁴³⁻¹⁴⁵.

Assim como outros fármacos, formulações com altas concentrações de 5-FU resultam em grande absorção e exposição sistêmica²⁸. Quando o 5-FU é administrado topicamente na pele intacta, menos de 10% da dose é absorvida sistemicamente. Um estudo com pacientes com CA que receberam a aplicação de 1g de uma formulação com 5-FU 5%, duas vezes ao dia, mostrou que aproximadamente 6% da dose teve absorção sistêmica^{146,147}. Entretanto, outro estudo, ao comparar a absorção tópica do 5-FU 5% na pele intacta e lesada, encontrou que a absorção do fármaco pode ser 75 vezes maior na pele lesada do que na íntegra. Após uma única aplicação de 5-FU 5% creme na pele intacta, somente uma pequena percentagem foi detectada na urina (0,3% - 1,1%). Já em pacientes com dano epidérmico, a percentagem de absorção foi de 15,8% a 61,2%¹⁴⁷.

A aplicação de altas doses do 5-FU, quando comparada a formulações de menores concentrações, pode resultar em alta exposição sistêmica. A toxicidade sistêmica resultante pode ser mais severa em pacientes com deficiência da DPD - uma enzima chave que degrada 80 a 90% do fluorouracil. Um caso grave de toxicidade sistêmica aconteceu em um paciente com deficiência de DPD após exposição tópica ao 5-FU^{121,148}. A DPD é a primeira enzima da cadeia de reações que regula o catabolismo endógeno do 5-FU^{121,140,148}.

Em uma comparação entre pacientes utilizando 5-FU 0,5% (uma vez ao dia) com pacientes aplicando 5-FU 5% (duas vezes ao dia) no tratamento da CA, a concentração urinária do fármaco variou 40 vezes mais quando utilizada a formulação a 5%²⁸. A diferença na excreção do fármaco entre os dois grupos pode representar as diferenças na absorção ou biodisponibilidade das duas preparações, possivelmente como resultado de diferentes veículos usados nas respectivas formulações. Veículos são conhecidos por afetar significativamente a absorção, pela pele, dos ingredientes ativos. Entretanto, a absorção sistêmica do fármaco foi mínima, mesmo depois de repetidas aplicações (5mg para o tratamento de menor concentração e 50mg para o de maior concentração, após a aplicação tópica), medidas pela concentração sérica do fármaco. Porém, há uma variação individual entre pacientes no metabolismo do 5-FU e as concentrações plasmáticas do fármaco. A formulação a 0,5% creme foi mais bem tolerada pelos pacientes em relação à concentração a 5% creme, sendo que todos os efeitos colaterais foram considerados de média ou moderada intensidade¹⁴⁷.

Outro estudo, no entanto, mostrou que a percentagem de 5-FU retido na pele, após 24 horas da aplicação de uma formulação a 0,5%, é de 86-92%. Para a formulação a 5%, o percentual é de 54%^{13,28}. Esses resultados sugerem a diminuição significativa da absorção sistêmica quando utilizada a formulação a 0,5%. O grande fluxo transdérmico através da pele tem alto potencial de exposição sistêmica e ocorrência de efeitos adversos, sendo que o agente tópico ideal deve ter mínima permeação para a circulação sanguínea, assim como a maior parte do fármaco deve ficar retida no seu sítio de ação¹³.

Um estudo com pacientes com verrugas vulgares tratados com uma solução de 5-FU 0,5% e AS 10% mostrou que a média da absorção sistêmica foi de 0,085%, após uma única aplicação, e de 0,035% após de múltiplas aplicações¹⁴⁹.

Ademais, o uso do 5-FU 5% tem sido relato para melhora do fotoenvelhecimento em pacientes que apresentem CsAs na face. O fluorouracil tópico causa lesão epidérmica, que estimula a cicatrização de feridas e o remodelamento dérmico, resultando em melhor aparência. Estes achados observados através do exame AP. O mecanismo do fluorouracil tópico na pele

fotoenvelhecida segue um padrão previsível de cicatrização, conforme observado com o tratamento com *laser* - especialmente o LFA -, no fotoenvelhecimento^{7,150}.

Como já foi mencionado, a alta incidência de CA, a sua evolução para CEC e a longevidade etária da população tem aumentado os custos de tratamento, especialmente na população idosa dos EUA. Nesse sentido, tratamentos como o 5-FU podem apresentar uma redução da incidência de neoplasias e, conseqüentemente, com redução de custos^{151,152}.

Em relação ao microagulhamento e o uso de 5-FU 5%, Naguib *et al* demonstraram que a permeabilidade da pele e a atividade anti-tumoral do 5-FU 5%, tanto *in vitro* como *in vivo*, foi significativamente reforçada quando a área de aplicação foi pré-tratada com microagulhas. Concluíram que a tecnologia de microagulhas pode ser integrada na terapia tópica com 5-FU, de modo a melhorar sua eficácia¹⁵.

O 5-FU demonstra ser um bom candidato para *drug delivery*, considerando, também, o veículo da formulação que promova maior penetrância, melhor deposição do fármaco na pele, menor potencial de irritação, facilidade de aplicação e, ainda, característica de liberação sustentada com toxicidade cutânea reduzida^{10,12,153,154}.

3.9.2 Microagulhamento

O microagulhamento é uma nova modalidade terapêutica em dermatologia. Através do trauma físico da penetração das microagulhas, induz a uma “cascata” de cicatrização na área tratada, com danos mínimos na epiderme, permitindo, assim, o aumento da absorção de terapias tópicas pelo EC. Ao longo dos últimos anos, o microagulhamento tem sido cada vez mais utilizado, pois é um procedimento relativamente simples, bem tolerado e oferece benefícios cosméticos e terapêuticos. A capacidade de tratar áreas localizadas de patologias dermatológicas levou à produção numerosos estudos que avaliam seu potencial terapêutico, como, por exemplo, em patologias com inflamação local, correção de cicatrizes, discromias, rejuvenescimento cutâneo com melhora do fotodano, melasma, acne, hiperidrose, estrias, alopecias e outros tratamentos dermatológicos, mostrando ser uma

terapêutica emergente. Seu uso como agente terapêutico na dermatologia pode ser isolado ou associado a outros tratamentos, assim como coadjuvante ao *drug delivery*¹⁵⁵.

Geralmente, o procedimento, em comparação com outras terapias, tem poucos efeitos colaterais, sendo que os mais referidos - como eritema, edema e descamação da pele - se resolvem espontaneamente de um a dois dias após o procedimento. O risco de infecção local é baixo e, geralmente, ocorre por cuidados inadequados nos dias que se seguem ao procedimento. É altamente eficaz, podendo ser uma opção terapêutica para diversas indicações dermatológicas, independentemente do fototipo do paciente. O aparecimento de despigmentação era uma complicação temida em fototipos altos (Fitzpatrick IV, V, VI), porém, é raramente observado quando não ocorre exposição à RUV na área submetida ao microagulhamento¹⁵⁶⁻¹⁵⁹.

Mesmo sendo um tratamento seguro para muitos pacientes, as contraindicações incluem infecção bacteriana ou viral prévia na área de tratamento, acne inflamatória, predisposição a quelóide, pacientes imunocomprometidos e a presença de melanoma no local a ser microagulhado¹⁶⁰. Deve-se ter cuidado ao realizar o microagulhamento concomitantemente em áreas próximas as de injeção de toxina botulínica, a fim de evitar a difusão indesejada da mesma¹⁶¹.

O microagulhamento é um processo que envolve perfurações repetitivas da pele com microagulhas esterilizadas. O microagulhamento também leva a indução percutânea de colágeno, com estímulo a sua produção através de uma “cascata” inflamatória que leva a neocolagênese e neoangiogênese, poupando a pele da desepitelização. A sua concepção original remonta ao ano de 1995, quando Orentreich e Orentreich desenvolveram o conceito de *subcision*® usando agulhas hipodérmicas para induzir a cicatrização de feridas em cicatrizes cutâneas deprimidas¹⁶². Em 2006, Desmond Fernandes, cirurgião plástico sul-africano, desenvolveu o primeiro aparelho para realização do microagulhamento, que, posteriormente, deu origem ao produto que hoje se encontra disponível no mercado. Ele avaliou 480 pacientes com cicatrizes, estrias, rugas e flacidez. Os pacientes foram avaliados através de acompanhamento clínico, fotografias e exame AP.

Observou, em exame AP corado pelo método de Giemsa, após seis meses do procedimento de microagulhamento, que houve aumento em 4x nas bandas de colágeno e elastina no pós-procedimento¹⁶³.

No Brasil, Andrade Lima e colaboradores realizaram estudo experimental com microagulhamento em pele de porco vivo, a fim de estabelecer a relação do comprimento das agulhas dos cilindros utilizados no procedimento com a profundidade do dano. Foram realizadas biopsias nas áreas de microagulhamento submetidas ao procedimento com cilindros contendo 192 agulhas de 0,5 a 2,5mm. Através do exame AP da área, imediatamente após o procedimento, puderam estabelecer a relação entre o comprimento da agulha utilizada no rolo e o dano provocado na pele, facilitando, assim, a escolha do instrumento nas diferentes indicações. Propuseram, também, classificação para a injúria provocada pelo microagulhamento em: leve (agulhas de 0,5mm), moderada (agulhas de 1.0mm a 1,5mm) e profunda (agulhas de dois a 2,5mm)^{156,164}.

O microagulhamento constitui um procedimento realizado com um *roller*, o qual é composto de microagulhas, tendo sido desenvolvido para aumentar a permeabilidade cutânea, especialmente por criar microcanais na pele que aumentam o transporte transepidérmico/transdérmico de fármacos, tanto de pequenas como de macromoléculas. Essas microagulhas são longas o suficiente para atravessar a barreira cutânea - EC - e permitir o transporte de fármacos, não estimulando nervos e não causando dor por ação direta nos mesmos¹⁶⁴⁻¹⁶⁸.

Uma variedade de aparelhos para microagulhamento tem sido desenvolvida para tratar cicatrizes e rugas, permitir o rejuvenescimento da pele e melhorar a sua aparência. O instrumento utilizado para a realização do microagulhamento é constituído, na maioria das vezes, por um rolo de polietileno encravado por agulhas de aço inoxidável e estéreis, alinhadas simetricamente em fileiras e perfazendo, em média, um total de 192 unidades, variando segundo o fabricante. O comprimento das agulhas mantém-se ao longo de toda a estrutura do rolo e varia de 0,25mm a 2,5mm, de acordo com o modelo do aparelho. Comumente, a intervenção é realizada sob anestesia local, sendo bem tolerada pelo paciente, principalmente quando as microagulhas não ultrapassam 1mm de comprimento^{118,164}.



Figura 4: Modelo de aparelho de microagulhamento. Fonte: Acervo pessoal.

A base do microagulhamento depende do trauma físico. O trauma gerado pela penetração da agulha na pele induz à regeneração da derme. As agulhas penetram no EC e criam pequenos orifícios, conhecidos como microcanais ou microcondutos, com danos mínimos à epiderme. O microagulhamento é um processo técnico-dependente, sendo que a familiarização com o aparelho usado e o domínio da técnica são fatores que influenciam diretamente no resultado. A pressão vertical exercida sobre o *roller* não deve ultrapassar 5-6N, alcançando, assim, uma distribuição uniforme dos pertuítos, uma vez que uma força superior poderá levar a danos em estruturas anatômicas mais profundas e ocasionar mais dor do que o esperado. Os movimentos de vai e vem devem se guiar por um padrão uniforme de petéquias em toda a área tratada. Uma média entre 10 e 15 passadas são usadas por área tratada - realizadas em oito direções (vertical, para cima e baixo; horizontal, da direita para esquerda; e em ambas as direções diagonais) – parecendo essa média ser suficiente. Teoricamente, 15 passadas permitem um dano de 250-300 puncturas/cm. Microagulhas penetram na epiderme somente por puncturas, que cicatrizam rapidamente^{118,164,167,169}.

O tempo de aparecimento do padrão de petéquias varia de acordo com a espessura da pele tratada e com o comprimento da microagulha escolhida. Sendo assim, a pele mais fina e frouxa, comumente fotoenvelhecida, apresentará padrão uniforme de petéquias mais precocemente do que a pele espessa e fibrosada, observada em pacientes com cicatrizes de acne, por exemplo¹⁶⁴.

Gupta e colaboradores demonstraram que o microagulhamento é útil para o *drug delivery* transepidérmico/transdérmico, ressaltando a potencialização de fármacos que continham desmopressina, DNA, insulina, hormônio do crescimento, oligonucleotídeos, bem como de vacinas contra o vírus Influenza, hepatites B e C, difteria, antrax e papiloma vírus em animais. Mais recentemente, o microagulhamento tem sido usado para a vacina contra o vírus Influenza em humanos e para a administração de naltrexona, anestésicos tópicos e insulina¹⁶⁵. Hou e colaboradores descrevem diversas indicações terapêuticas dermatológicas do microagulhamento e ressaltam a sua ação como facilitadora da entrega de medicamentos por via transdérmica¹⁵⁵.

As microagulhas podem ser fabricadas em matrizes únicas ou com múltiplas agulhas ocas ou sólidas. As sólidas podem promover o *drug delivery* via difusão passiva por criar microcanais que aumentam a permeabilidade da pele, seguido da aplicação do fármaco. Para que a entrega transepidérmica/transdérmica do fármaco seja eficiente, é desejável que os microcanais fiquem abertos por um tempo maior. Isto pode ser alcançado através da oclusão. Entretanto, é necessário que os poros fechem rapidamente após a retirada da oclusão, a fim de prevenir infecções¹⁶⁵.

Para prolongar o *drug delivery* utilizando o microagulhamento, é importante determinar a extensão e a duração do aumento da permeabilidade da pele. Após o rompimento do EC, uma secreção lamelar é imediatamente iniciada e seguida pela síntese de lipídeos, que são necessários para restaurar e manter a função barreira. Contudo, a presença da oclusão na pele retarda significativamente estes mecanismos, levando a um período maior de restauração da barreira cutânea¹⁶⁵.

A técnica de microagulhamento inicia com a perda da integridade da barreira cutânea - tendo como alvo a dissociação dos ceratinócitos -, levando à liberação de citocinas (interleucina-1 α , interleucina-8, interleucina-6, TNF- α) e resultando em vasodilatação dérmica e migração de ceratinócitos para restaurar o dano epidérmico. Três fases da cicatrização são descritas: a primeira, a de injúria, quando ocorre liberação de fatores de crescimento com ação sobre os ceratinócitos e fibroblastos (o fator de crescimento de transformação α e β – TGF- α e TGF- β –, o fator de crescimento derivado das plaquetas – PDGF –, a proteína III ativadora do tecido

conjuntivo e o fator de crescimento do tecido conjuntivo); a segunda fase, a de cicatrização, onde os neutrófilos são substituídos por monócitos para ocorrer a angiogênese, epitelização e proliferação celular; e, na terceira fase, ou de maturação, o colágeno tipo III, que é predominante na fase inicial do processo de cicatrização, vai sendo lentamente substituído por colágeno tipo I, mais duradouro^{156,164}.

Para que toda esta cascata inflamatória se instale, o trauma provocado pela a agulha deve atingir, na pele, a profundidade de 1 a 3mm, com preservação da epiderme, que foi apenas perfurada - não removida. Centenas de microlesões são criadas, resultando em colunas de coleção de sangue na derme, acompanhadas de edema da área tratada e hemostasia praticamente imediata. A intensidade dessas reações é proporcional ao comprimento da agulha utilizada no procedimento. Exemplificando, a profundidade de 1mm oferece hematoma quase microscópico. Entretanto, é necessário compreender que a agulha não penetra totalmente no processo de rolamento. Estima-se que uma agulha penetre aproximadamente 50 a 70% de sua extensão. Portanto, quando o comprimento da agulha é de 1mm, o dano ficaria limitado à derme superficial e, conseqüentemente, a resposta inflamatória seria bem mais limitada do que a provocada por uma agulha de comprimento maior¹⁶⁴. O exame microscópico, realizado imediatamente após a injúria, mostra ectasia vascular com extravasamento de hemácias. Tal achado é observado de forma superficial, acometendo a derme papilar na agulha de comprimento de 0,5mm e estendendo-se à derme reticular nas agulhas de maior comprimento. A quantidade de hemorragia gerada é proporcional ao aumento do comprimento das agulhas. A epiderme encontra-se aparentemente íntegra à microscopia óptica, exceto no do local de passagem da agulha. Nenhuma lesão no tecido celular subcutâneo é observada. A partir desses dados, os autores propõem a classificação da injúria em leve (agulhas de comprimento de 0,25 e 0,5mm), moderada (1,0 e 1,5mm) e profunda (2,0 e 2,5mm), relacionando-a ao comprimento da agulha e sua capacidade de provocar o trauma planejado^{156,164}.

Estudos *in vivo* realizados em porcos Guineia mostraram que o microagulhamento aumenta a permeabilidade cutânea em pelo menos 48 horas, demonstrado pela perda de água transepidermal (TEWL). Diversos estudos também demonstraram o aumento da permeabilidade cutânea através da medida da TEWL.

Outras técnicas para avaliar o tempo de abertura do poro encontradas na literatura são a espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de impedância elétrica e, mais recentemente, microscopia confocal e tomografia óptica¹⁶⁵. Um estudo com voluntárias, que foram submetidas a diversas aplicações de microagulhamento na face e com variados comprimentos de microagulhas, avaliou a TEWL, hidratação do EC e eritema antes, imediatamente e após o tratamento (quatro, oito e setenta e duas horas após o tratamento e por três dias). A TEWL foi mensurada a partir do uso de evaporímetro em condições ambientais adequadas. Foi demonstrado que a função barreira do EC estava totalmente recuperada 72 horas após o tratamento com microagulhamento - com microagulhas com 0,15 e 0,25mm de comprimento¹⁷⁰.

Ensaio clínicos, ao longo dos últimos anos, esclarecem que as aplicações do microagulhamento na dermatologia vão além das indicações cosméticas, incluindo o tratamento da CA¹¹⁸. Assim, o microagulhamento é um método efetivo para uso em *drug delivery* de medicamentos para o tratamento de várias indicações dermatológicas, cosméticas ou não^{170,171}.

Muitos fatores podem afetar o *drug delivery* e a permeabilidade através da pele após o microagulhamento. Alguns desses parâmetros incluem as propriedades da droga (como ionização, concentração, lipossomas ou nanopartículas), presença de cossolventes, pH, viscosidade e presença de permeadores^{12164,172-176}.

3.9.3 *Drug Delivery* - Entrega Transepidérmica/Transdérmica de Fármacos

A história do *drug delivery* tem menos de 70 anos. Sistemas de liberação transdérmica foram introduzidos no mercado dos EUA no final dos anos 1970, porém, a liberação transdérmica de medicamentos já fora descrita há mais tempo. Existem relatos anteriores sobre o uso de emplastos de mostarda para aliviar a congestão de vias aéreas e sobre os emplastos de beladona usados como analgésicos. Os emplastos, uma vez aplicados sobre a pele e em conjunto a ação do calor do corpo, agiam por difusão passiva através da pele - a base da administração transdérmica de drogas¹⁷⁶.

O sistema de *drug delivery* também tem apresentado indicação para o tratamento de doenças cardíacas, câncer, diabetes, doença de Parkinson e doença de Alzheimer. Além disso, tem apresentado indicações na dermatologia e em vacinas¹⁷⁶⁻¹⁸⁰.

A pele intacta é praticamente impermeável à maioria dos ativos, sendo que a biodisponibilidade destes varia de 1 a 5%. Apenas moléculas pequenas, com baixo peso molecular (≤ 500 Da) e lipofílicas penetram com facilidade na pele íntegra. Macromoléculas e drogas hidrofílicas não podem permear livremente pelo EC. Assim, a entrega tópica de fármacos de forma passiva é restrita^{172,181-185}. Sistemas transepidérmicos/transdérmicos para *drug delivery* têm sido utilizados extensivamente na prática clínica, melhorando a performance dos tratamentos médicos, especialmente por evitar o metabolismo de primeira passagem pelo fígado^{172,183-185}.

O EC, com a espessura que varia - conforme a área corporal considerada - de 10 a 20 μm , bem como a epiderme subjacente, *in vivo*, com uma espessura de 75 a 150 μm , representa uma barreira física que separa o corpo humano do meio ambiente e faz com que a entrega mais profunda dos fármacos na pele seja um problema complexo. Os anexos cutâneos desempenham um importante papel como rota de penetração na aplicação tópica de medicamentos¹⁸⁰. Desta maneira, a aplicação clínica do *drug delivery* é limitada pelo EC, que constitui a principal barreira da pele. Por causa de sua característica hidrofóbica e carga negativa, o transporte de moléculas hidrofílicas e ionizadas representa um grande desafio^{137,172}.

O microagulhamento associado ao *drug delivery* na entrega de medicamentos pode ser explorado como uma ferramenta potencial para que macromoléculas que não são efetivamente administradas por meio de via transdérmica convencional, possam ser assim administradas¹⁸².

Existem muitos estudos que demonstram a importância da administração de medicamentos transcutâneos em sistemas de *drug delivery*, bem como a capacidade de se criar um reservatório de longo prazo na derme para compostos aplicados topicamente. As vantagens da administração transcutânea de preparações são: (1) minimamente invasiva ou mesmo não invasiva; (2) melhora da farmacocinética; e (3)

entrega direcionada de medicamentos. Protocolos de tratamento em dermatologia, oncologia, cosmetologia etc., baseiam-se nesta entrega transcutânea de fármacos¹⁸⁶. Assim, o transporte de fármacos através da pele tem vantagens em relação às vias oral e parenteral, tais como ser de fácil acesso, não invasivo, seguro, efetivo e possuir maior comodidade posológica. Essas vantagens resultam em melhor aderência ao tratamento e menor frequência de efeitos colaterais^{137,172}.

Recentemente, foi demonstrado que as nanopartículas são mais adequadas para penetrar, de forma eficiente, nos anexos cutâneos, sobretudo nos folículos pilosos. A penetração de micro e nanopartículas na pele também pode ocorrer através dos ductos das glândulas sebáceas (diâmetro: 10 a 70 μ m), dos ductos das glândulas sudoríparas (diâmetro: 60 a 80 μ m), ou pelos poros na epiderme (diâmetro menor que 10nm). No entanto, a densidade e as dimensões destas vias naturais variam amplamente entre os locais anatômicos e entre os indivíduos. Ao contrário das nanopartículas, as micropartículas (>10 μ m) não penetram nem nos orifícios foliculares e nem no EC¹⁸⁶.

As menores microesferas, com <3 μ m de diâmetro, penetram bem nos anexos cutâneos, porém, também são observadas nas camadas superficiais do EC - e nunca na epiderme viável. Portanto, para uma entrega eficaz de micro e nanopartículas, estratégias, incluindo vários métodos complexos de aprimoramentos químico e físico, foram desenvolvidas¹⁸⁶. Essas estratégias têm sido estudadas para aumentar a permeabilidade cutânea - como iontoforese^{14,169}, eletroporação^{137,187}, *lasers* (fracionados ablativos e não ablativos, não fracionados, QS), LIP^{137,188}, microagulhamento¹⁶⁵, radiofrequência, ultrassom (sonoforese), dermoabrasão, entre outros^{137,165,169,187}.

Como requisitos ideais numa formulação para *drug delivery*, deve-se considerar que a mesma seja anidra (sem água), a fim de dificultar a proliferação de micro-organismos e não causar ardência, sensibilidade e comedões; além de ser mais fluida para melhorar a penetração dos ativos – e fazendo com que a oclusão ocorra para aumento do tempo de abertura dos microcanais e diminuição da perda de TEWL -, incrementando, assim, a hidratação cutânea e favorecendo a penetração dos ativos, inclusive hidrofílicos e macromoléculas. Preferir ativos

lipofílicos associados ao microagulhamento, principalmente em razão da característica lipídica do EC. Considerar, também, o microbioma da pele, onde as proteínas derivadas podem resultar na formação de uma cobertura estável de nanopartículas. Essa cobertura pode dificultar a entrega do fármaco. Além disso, há a barreira química da superfície cutânea, formada por peptídeos microbianos produzidos pelos queratinócitos e células imunes e pelo pH ácido da pele (entre 4,7 e 5,75) que, associados a outros fatores (microbioma, TEWL, por exemplo), que pode até mesmo blindar o *drug delivery* de fármacos^{118,172,189-192}.

O uso do *drug delivery* possibilita a entrega do fármaco nas diferentes camadas da pele: epiderme, derme e podendo chegar até a hipoderme. Com a entrega do fármaco à circulação sistêmica, o método vem ganhando espaço em diversas áreas da medicina. Desta maneira, torna-se de extrema importância o conhecimento da técnica, bem como o domínio da profundidade da entrega do fármaco, a fim de compreender se esse método é indicado para ter ação terapêutica na camada da pele proposta para tal finalidade¹⁷².

Diversos métodos têm sido relacionados com seus usos associados ao *drug delivery*. Entre eles, o microagulhamento e LFA, sendo que ambos têm se mostrado efetivos, especialmente no tratamento da CA. É importante, também, considerar a espessura da pele na área tratada, especialmente no que se refere ao microagulhamento, ao comprimento das microagulhas e ao *drug delivery*. Com as diferentes áreas da superfície da pele, há também uma importante diferença na sua espessura dentro do corpo humano, que é um fator importante na absorção da terapêutica. Portanto, a análise na espessura da pele é um fator a ser avaliado como relevante, na medida em que essa espessura é amplamente variável devido a vários fatores. Esses fatores incluem raça, sexo, idade e, inclusive, as diferentes áreas do corpo. Ademais, foi demonstrado que o envelhecimento e a diabetes têm efeito na espessura da pele. Em particular, verificou-se que a espessura da gordura subcutânea da pele, em diferentes regiões do corpo, era mais fina no envelhecimento da mesma e em pacientes diabéticos¹⁹³.

Portanto, a consideração da espessura da pele necessita ser examinada ao se escolher um local ativo para o *drug delivery* de fármacos, em geral¹⁹⁴(200), e para

o microagulhamento, em específico¹⁹⁵.

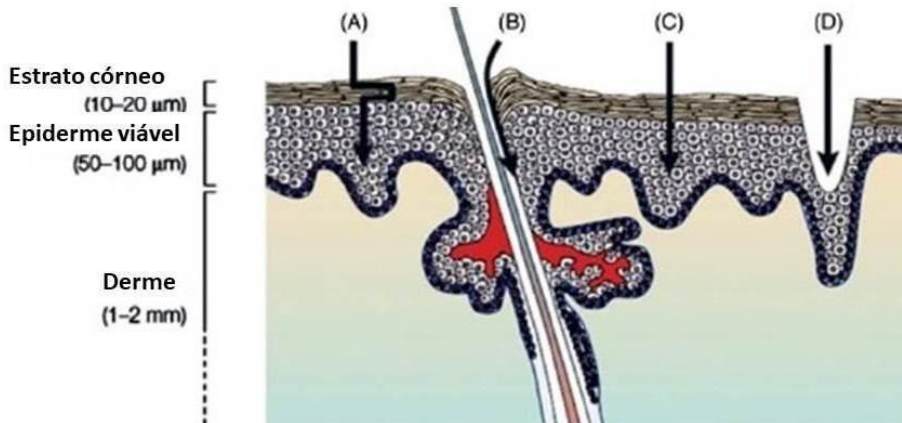


Figura 5: Espessura da pele: Secção transversal através da pele humana e vias de penetração de princípios ativos na pele íntegra: (A) intracelular, (B) folículos pilosos e glândulas sudoríparas, (C) estrato córneo, (D) representa os microcanais que podem ser criados pelo microagulhamento na pele. Adaptado de ¹⁹³.

Kim *et al* aplicaram a técnica de microagulhas para criar microcanais, utilizando nanopartículas de ouro (71nm de diâmetro) para a avaliação deste estudo. O diâmetro (70µm) e a profundidade (300µm) dos canais estavam próximos aos parâmetros dos microcanais que são criados com a técnica do LFA. No entanto, os microcanais oriundos das microagulhas não apresentavam paredes coaguladas, como o que ocorre quando se utiliza o LFA, impedindo a difusão imediata das partículas para fora dos microcanais. Os sinais de recuperação do EC persistiram ao longo de 40 dias. Demonstraram que, durante o mês após o experimento com o microagulhamento, as partículas deixaram os canais e foram, gradualmente, sendo distribuídas na derme¹⁹⁵.

Haedersdal *et al* realizaram uma revisão sistemática com dados pré-clínicos e evidência clínica para o uso de LFA no *drug delivery*. Foram analisados diversos estudos que tratavam sobre terapia LFA-*drug delivery*, onde lesões pré-neoplásicas cutâneas, fotodano, cicatrizes, onicomicose e anestesia tópica foram avaliadas com esta terapêutica. O maior nível de evidência de melhora foi para o uso do LFA e TFD-MAL no tratamento de CsAs, com eficácia, a longo prazo, superior a TFD convencional¹⁸⁸.

São raros os efeitos adversos e as complicações descritas com o uso do *drug*

delivery. Em uma série de casos publicada em 2014, três pacientes desenvolveram granulomas após o uso tópico de sêrum de vitamina C, que foi aplicado antes do microagulhamento. Foram realizadas culturas bacteriológicas, testes cutâneos de hipersensibilidade das principais substâncias da formulação e os resultados foram negativos. A presença de conservantes, antioxidantes, agentes químicos estabilizantes e fragrância podem explicar a origem do granuloma. A aplicação de produtos tópicos, antes do microagulhamento, pode introduzir partículas imunogênicas para dentro da derme e potencializar reação de hipersensibilidade local ou sistêmica¹⁹⁶.

Em um relato de caso publicado em 2017, uma paciente foi submetida ao microagulhamento no colo e dorso das mãos, seguido de *drug delivery* com AH em ambas as áreas anatômicas. A paciente utilizou, em domicílio e por sua conta, creme a base de arnica apenas no dorso das mãos, onde apresentou reação cutânea compatível com dermatite de contato ao creme a base de arnica, potencializada pela ruptura da barreira do EC pelo microagulhamento, favorecendo, assim, a toxicidade direta da arnica sobre as células¹⁹⁷.

Em relação à necessidade da fórmula de *drug delivery* ser estéril, os estudos na literatura não utilizam uma formulação estéril para tal finalidade, tanto manipulados quanto industrializados. Não há relato de caso de infecção com o uso de fórmulas não estéreis^{189–191}.

Lima *et al* avaliaram o potencial bactericida do ácido retinoico 3% e 5% em soluções para *peelings* com e sem tonalizante. Além disso, avaliaram a segurança e a tolerância de seu uso imediatamente após o microagulhamento em *drug delivery*. As amostras, avaliadas em tempos diversos, mostraram capacidade bactericida sobre os agentes testados e as soluções, quando usadas após o microagulhamento, não causaram intercorrências¹⁹⁸.

3.9.4 Combinação de Tratamentos

A combinação de tratamentos para CA visa maximizar a eficácia e minimizar os seus efeitos adversos.

Entre os tratamentos, a crioterapia tem sido usada em combinação com 5-FU, imiquimode 3,75% ou 5% e mebutato de ingenol 0,015%, demonstrando, quando comparada apenas com o seu uso isolado, uma maior redução no número de lesões. A natureza heterogênea dos protocolos de tratamento, concentrações de fármacos e regimes de dosagem tornam a comparação de resultados dos estudos, muitas vezes, impossível.

O *drug delivery* tem sido usado para melhorar a penetrância dos fármacos no tratamento da CA. Para tal finalidade, estudos iniciais mostravam o uso de retinoides tópicos, por seu efeito esfoliativo, e *lasers*, pela ação ablativa. Pré-tratamentos utilizando tretinoína antes da terapia com 5-FU e tazaroteno antes da TFD-ALA falharam em demonstrar sua eficácia no tratamento da CA. O pré-tratamento com LFA de CO₂ antes da TFD-MAL resultou em maior eficácia - em comparação com a TFD-MAL sozinha⁷.

Torezan *et al* realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a eficácia e segurança do uso do microagulhamento - 1,5mm de comprimento das microagulhas - precedendo a TFD-MAL. O estudo comparou o microagulhamento com o método convencional de curetagem precedendo TFD-MAL em dez pacientes com múltiplas CsAs e fotodano na face. Os pacientes foram randomizados para receber, em uma hemiface (direita), o tratamento convencional e, na outra (esquerda), o outro tratamento. Foi realizada uma única sessão de tratamento em ambos os grupos. Foram analisados, antes e após 30 e 90 dias dos tratamentos propostos, os quesitos clareamento das CsAs, melhora do fotodano e efeitos colaterais, sendo que, em relação a estes (eritema, edema, crosta e dor), foram mais comuns e intensos na hemiface que recebeu o microagulhamento precedendo a TFD-MAL. Um paciente teve, sete dias após a sessão, infecção bacteriana na hemiface submetida ao microagulhamento. O clareamento das CsAs (88,3%) foi igual em ambas as hemifaces. Em relação aos resultados cosméticos e melhora do fotodano, o grupo que foi submetido ao método de microagulhamento precedendo a TFD-MAL mostrou que este é seguro e efetivo, com melhores resultados em relação ao método convencional - quando avaliados os dois requisitos anteriormente mencionados. Concluíram que mais estudos são necessários para demonstrar que a adição do

microagulhamento ao método TFD-MAL promove melhora e diminuição do número das CsAs¹⁹⁹.

Spencer e Freeman realizaram um estudo com 20 pacientes, cada um com pelo menos quatro lesões de CsAs, não hiperkeratóticas, em cada lado da face. Os pacientes foram randomizados em dois grupos. Um dos grupos utilizou microagulhamento seguido da aplicação de TFD-ALA. Já o outro grupo realizou TFD-ALA em monoterapia. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos, com melhora de 89% das CsAs no grupo que associou microagulhamento e TFD-ALA. Ademais, esse grupo pareceu apresentar melhora cosmética, tendo sido considerado um tratamento seguro e bem tolerado pelos pacientes. Por outro lado, o grupo que realizou TFD-ALA em monoterapia apresentou melhora de 69% nas lesões de CA²⁰⁰.

Braun *et al* realizaram um estudo em uma paciente de 59 anos de idade. A paciente possuía inúmeras CsAs e campo de cancerização nas pernas, sendo que, no membro inferior esquerdo, houve uma divisão da área tratada em quatro quadrantes. Em cada um desses quadrantes, foram realizados os seguintes tratamentos em separado: apenas microagulhamento; apenas mebutato de ingenol 0,05% em gel; microagulhamento precedendo mebutato de ingenol; mebutato de ingenol precedendo microagulhamento. Todas as reações inflamatórias, decorrentes dos tratamentos, desapareceram em duas semanas, apresentando bom resultado cosmético e, significativamente, melhor resposta para a combinação de tratamentos, principalmente para o microagulhamento precedendo mebutato de ingenol. A paciente não apresentou nenhum efeito colateral sistêmico¹⁶.

O LFA (CO₂ ou Er:YAG) também tem sido usado para auxiliar o tratamento das CsAs em uso isolado. Mais frequentemente, porém, tem sido utilizado em estudos para otimizar o *drug delivery* de fármacos, como, por exemplo, o 5-FU 5%, com resultados promissores, mostrando a remissão completa ou praticamente completa das lesões de CsAs, especialmente em campo de cancerização^{165,201}.

O uso da TFD-MAL ou TFD-ALA seguidas da aplicação de imiquimode 5% tem mostrado melhores resultados na remoção das CsAs do que cada um dos tratamentos isolados.

Lanoue *et al* realizaram uma revisão de diversos estudos controlados e randomizados, comparando hemifaces e mostrando que o uso de imiquimode e TFD apresentou melhores resultados cosméticos que 5-FU, ácido tricloroacético, DS, mebutato deinganol, procedimentos cirúrgicos e terapia com *laser*. O uso da TFD-MAL precedido por microagulhamento teve melhores resultados cosméticos do que a TFD-MAL, somente⁷.

O uso de *peelings* químicos de média profundidade seguidos por crioterapia é relatado em estudos pouco controlados. Os efeitos colaterais incluem hipopigmentação, hiperpigmentação e potencial de cicatrização inadequada, dependendo da profundidade do *peeling*²⁵.

3.9.5 Fotoproteção

A fotoproteção exerce papel importante no manejo dos pacientes com CsAs. O uso de maneira adequada e diária, em áreas fotoexpostas à RUV, de fotoprotetores - tanto orgânicos (ou químicos) como inorgânicos (ou físicos, como dióxido de titânio e óxido de zinco) – isolados, ou, preferencialmente, associados em formulações com FPS 30 e PPD 10, no mínimo, traz benefícios adequados. É importante salientar, também, a proteção contra luz visível (400-760nm)^{202,203}.

Deve-se evitar o uso de filtro solar, mesmo inorgânico, enquanto a barreira cutânea não estiver íntegra, especialmente após procedimentos de microagulhamento e LFA. Genina *et al* mostraram que as nanopartículas de dióxido de titânio (filtro inorgânico) permanecem na derme, numa profundidade de 230µm, por pelo menos um mês^{186,204,205}.

O efeito benéfico da aplicação diária de filtro solar foi demonstrado em vários estudos, que forneceram evidências de uma redução da incidência de novas CsAs, bem como uma redução da contagem no total de lesões CsAs nos grupos designados para a aplicação regular de filtro solar com FPS 60.

A fotoproteção visa, também, ajudar a reparar o DNA danificado, podendo ter

um papel importante na redução da incidência do fotoenvelhecimento, por sua vez relacionado à exposição solar crônica e ao câncer de pele não-melanoma^{206,207}.

4. JUSTIFICATIVA

Tendo em vista a escassez de dados referentes ao assunto na literatura e a alta prevalência de CsAs na população do sul do Brasil, em que fototipos baixos são frequentes (Fitzpatrick I a II), a investigação de modalidades terapêuticas alternativas para a CA se faz pertinente.

Em que pese a eficácia comprovada do 5-FU isolado no manejo das CsAs, seu uso é, por vezes, limitado por um tempo de tratamento prolongado (15-30 dias) e por efeitos colaterais significativos. É possível que a sua associação ao microagulhamento possa reduzir o seu tempo de uso, sem redução da eficácia. É possível, também, que o carreamento da medicação facilite a permeação do 5-FU às células displásicas.

5. HIPÓTESES EM ESTUDO

5.1 Para eficácia:

5.1.1 H0

O microagulhamento não é eficiente no tratamento de CsAs da face.

5.1.2 Hipótese alternativa

O microagulhamento é eficiente no tratamento de CsAs da face.

5.2 Para o tempo de tratamento:

5.2.1 H0

O microagulhamento não reduz o tempo de tratamento das CsAs da face com 5-FU.

5.2.2 Hipótese alternativa

O microagulhamento reduz o tempo de tratamento das CsAs da face com 5-FU.

6. MAPA CONCEITUAL

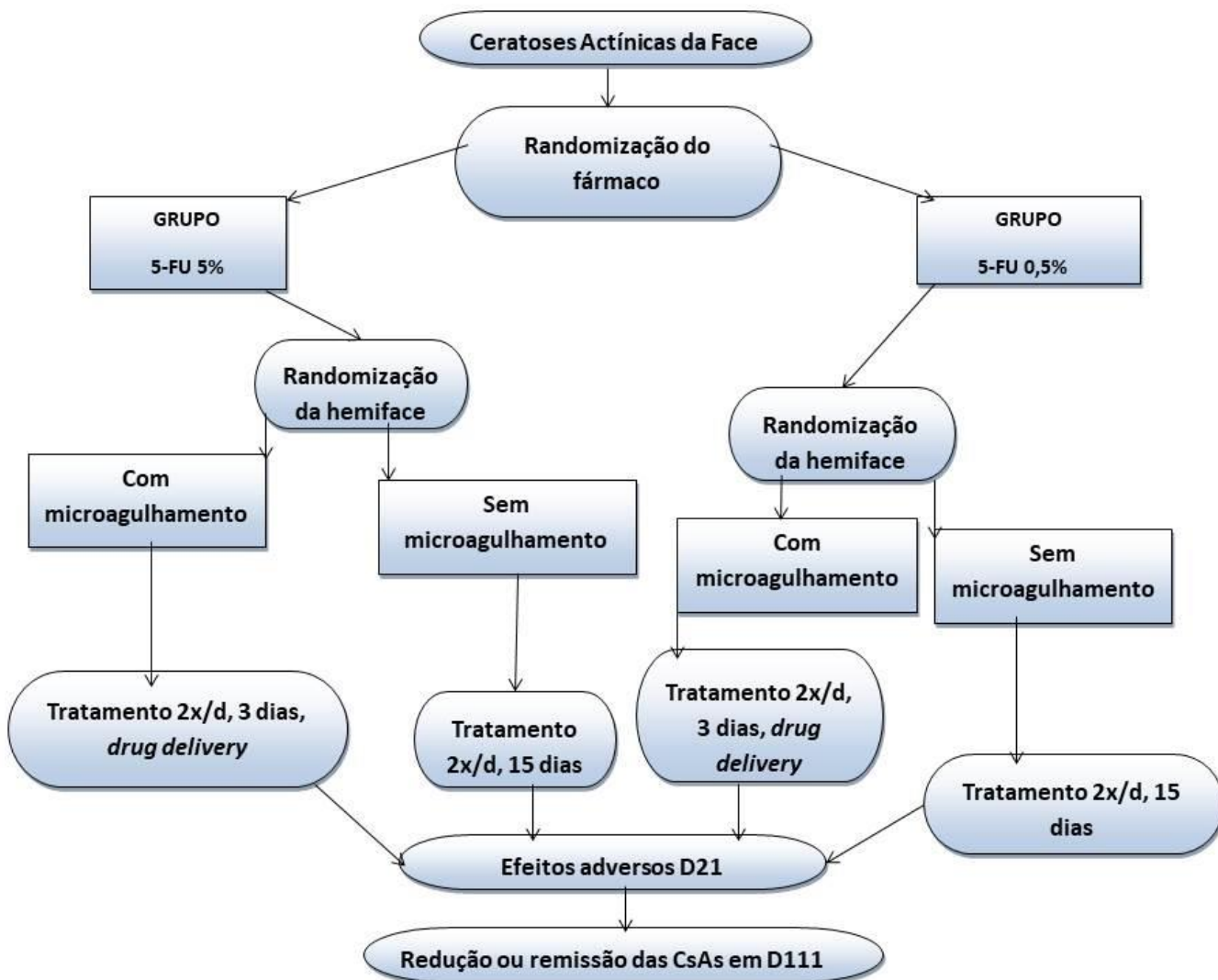


Figura 6: Mapa Conceitual

7. OBJETIVOS

7.1 Objetivo principal

Avaliar a resposta clínica de tratamento de CsAs da face com microagulhamento em uma das hemifaces, seguido de três dias de tratamento com 5-FU, em *drug delivery*, com uma de duas concentrações propostas (0,5% ou 5%), conforme a randomização, em relação à posologia convencional das duas concentrações e através da contagem da quantidade absoluta das lesões.

Comparar a resposta clínica do tratamento com duas concentrações de 5- FU (0,5% ou 5%) para CsAs nas hemifaces não microagulhadas.

7.2 Objetivo específico

Avaliar a eficácia clínica pela quantidade de lesões, efeitos colaterais da técnica do microagulhamento com *drug delivery* associada à aplicação tópica de diferentes concentrações de 5-FU.

8. REFERÊNCIAS

- 1 Evandro A. Rivitti. *Dermatologia de Sampaio e Rivitti*. 4th ed. Artes Médicas, 2018.
- 2 Gloster HM, Brodland DG. The epidemiology of skin cancer. *Dermatol Surg* 1996; **22**: 217–26.
- 3 Silverberg E, Boring CC, Squires TS. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1990; **40**: 9–26.
- 4 Qadir MI. Skin cancer: Etiology and management. *Pak J Pharm Sci* 2016; **29**: 999–1003.
- 5 Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol* 2012; **87**: 425–34.
- 6 Peris K, Calzavara-Pinton PG, Neri L, Girolomoni G, Malara G, Parodi A *et al*. Italian expert consensus for the management of actinic keratosis in immunocompetent patients. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2016; **30**: 1077–1084.
- 7 Lanoue J, Do T, Goldenberg G. Therapies for actinic keratosis with a focus on cosmetic outcomes. *Cutis* 2015; **96**: 165–72,93.
- 8 Ayer G. Photo damage and actinic keratosis: a case study approach. *Dermatological Nurs* 2017; **6**: 22–25.
- 9 Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988; **124**: 869–71.
- 10 Bologna J, Schaffer J V., Duncan KO, Ko CJ. *Dermatology essentials*. 2014 <https://www.elsevier.ca/ca/product.jsp?isbn=9781455708413> (accessed 25 May 2019).
- 11 Goldenberg G. Treatment considerations in actinic keratosis. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2017; **31**: 12–16.
- 12 Puri R, Jain S. Ethogel topical formulation for increasing the local bioavailability of 5-fluorouracil. *Anticancer Drugs* 2012; **23**: 1.
- 13 Levy S, Furst K, Chern W. A comparison of the skin permeation of three topical 0.5% fluorouracil formulations with that of a 5% formulation. *Clin Ther* 2001; **23**: 901–7.
- 14 Kaur RR, Alikhan A, Maibach HI. Comparison of topical 5-fluorouracil formulations in actinic keratosis treatment. *J. Dermatolog. Treat.* 2010; **21**: 267–271.
- 15 Naguib YW, Kumar A, Cui Z. The effect of microneedles on the skin permeability and antitumor activity of topical 5-fluorouracil. *Acta Pharm Sin B* 2014; **4**: 94–99.
- 16 Braun SA, Gerber PA, Hevezi PA. Needling-Assisted Drug Delivery : Enhanced Response to Ingenol Mebutate After Microneedling. *Dermatologic Surg* 2017; **43**: 978–979.
- 17 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, Group TP. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 2009; **6**: e1000097.
- 18 Heaphy MR, Ackerman AB. The nature of solar keratosis: A critical review in historical perspective. *J Am Acad Dermatol* 2000; **43**: 138–150.
- 19 Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma ("actinic keratosis"). *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 11–7.
- 20 Siegel JA, Korgavkar K, Weinstock MA. Current perspective on actinic keratosis: a review. *Br J Dermatol* 2017; **177**: 350–358.
- 21 Cohen JL. Actinic keratosis treatment as a key component of preventive strategies for nonmelanoma skin cancer. *J Clin Aesthet Dermatol* 2010; **3**: 39–44.
- 22 Rigel DS, Stein Gold LF. The importance of early diagnosis and treatment of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 2013; **68**: S20–S27.
- 23 Zalaudek I, Giacomel J, Argenziano G, Hofmann-Wellenhof R, Micantonio T, Di Stefani A *et al*. Dermoscopy of facial nonpigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol* 2006; **155**: 951–956.
- 24 Martín JM, Bella-Navarro R, Jordá E. Vascular Patterns in Dermoscopy. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Ed)* 2012; **103**: 357–375.

- 25 Werner RN, Stockfleth E, Connolly SM, Correia O, Erdmann R, Foley P *et al.* Evidence- and consensus-based (S3) Guidelines for the Treatment of Actinic Keratosis - International League of Dermatological Societies in cooperation with the European Dermatology Forum - Short version. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2015; **29**: 2069–2079.
- 26 Berman B, Cockerell CJ. Pathobiology of actinic keratosis: Ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *J Am Acad Dermatol* 2013; **68**: S10–S19.
- 27 Frost CA, Green AC. Epidemiology of solar keratoses. *Br J Dermatol* 1994; **131**: 455–64.
- 28 Rahvar M, Lamel SA, Maibach HI, Maibach HI. Randomized, vehicle-controlled trials of topical 5-fluorouracil therapy for actinic keratosis treatment: an overview. *Immunotherapy* 2012; **4**: 939–945.
- 29 Siegel JA, Luber AJ, Weinstock MA, Department of Veterans Affairs Topical Tretinoin Chemoprevention Trial and Department of Veterans Affairs Keratinocyte Carcinoma Chemoprevention Trial Groups. Predictors of actinic keratosis count in patients with multiple keratinocyte carcinomas: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol* 2017; **76**: 346–349.
- 30 Hensen P, Müller ML, Haschemi R, Ständer H, Luger TA, Sunderkötter C *et al.* Predisposing factors of actinic keratosis in a North-West German population. *Eur J Dermatol* 2009; **19**: 345–54.
- 31 Naldi L, Chatenoud L, Piccitto R, Colombo P, Placchesi EB, La Vecchia C *et al.* Prevalence of Actinic Keratoses and Associated Factors in a Representative Sample of the Italian Adult Population. *Arch Dermatol* 2006; **142**: 722–6.
- 32 Goldberg LH, Mamelak AJ. Review of actinic keratosis. Part I: etiology, epidemiology and clinical presentation. *J Drugs Dermatol* 2010; **9**: 1125–32.
- 33 Stockfleth E, Sibbring G, Alarcon I. New Topical Treatment Options for Actinic Keratosis: A Systematic Review. *Acta Derm Venereol* 2016; **96**: 17–22.
- 34 Pattison DI, Davies MJ. Actions of ultraviolet light on cellular structures. *EXS* 2006; : 131–57.
- 35 Nelson MA, Einspahr JG, Alberts DS, Balfour CA, Wymer JA, Welch KL *et al.* Analysis of the p53 gene in human precancerous actinic keratosis lesions and squamous cell cancers. *Cancer Lett* 1994; **85**: 23–9.
- 36 Guerra KC, Crane JS. *Skin Cancer Prevention*. StatPearls Publishing, 2019 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30137812> (accessed 25 May 2019).
- 37 Wang L, Eng W, Cockerell CJ. Effects of ultraviolet irradiation on inflammation in the skin. *Adv Dermatol* 2002; **18**: 247–86.
- 38 Bowden GT. Prevention of non-melanoma skin cancer by targeting ultraviolet-B-light signalling. *Nat Rev Cancer* 2004; **4**: 23–35.
- 39 Ulrich C, Jürgensen JS, Degen A, Hackethal M, Ulrich M, Patel MJ *et al.* Prevention of non-melanoma skin cancer in organ transplant patients by regular use of a sunscreen: a 24 months, prospective, case-control study. *Br J Dermatol* 2009; **161**: 78–84.
- 40 Nashan D, Meiss F, Müller M. Therapeutic strategies for actinic keratoses--a systematic review. *Eur J Dermatol*; **23**: 14–32.
- 41 Howard MD, Su JC, Chong AH. Skin Cancer Following Solid Organ Transplantation: A Review of Risk Factors and Models of Care. *Am J Clin Dermatol* 2018; **19**: 585–597.
- 42 O'Reilly Zwald F, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: Advances in therapy and management: part II. *J Am Acad Dermatol* 2011; **65**: 263–279.
- 43 O'Reilly Zwald F, Brown M. Skin cancer in solid organ transplant recipients: Advances in therapy and management: part I. *J Am Acad Dermatol* 2011; **65**: 253–261.
- 44 Fargnoli MC, Altomare G, Benati E, Borgia F, Broganelli P, Carbone A *et al.* Prevalence and risk factors of actinic keratosis in patients attending Italian dermatology clinics. *Eur J Dermatol* 2017; **27**: 599–608.
- 45 Schaefer I, Augustin M, Spehr C, Reusch M, Kornek T. Prevalence and risk factors of actinic keratoses in Germany - analysis of multisource data. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2014; **28**: 309–313.

- 46 Zagula-Mally ZW, Rosenberg EW, Kashgarian M. Frequency of skin cancer and solar keratoses in a rural southern county as determined by population sampling. *Cancer* 1974; **34**: 345–9.
- 47 Engel A, Johnson ML, Haynes SG. Health effects of sunlight exposure in the United States. Results from the first National Health and Nutrition Examination Survey, 1971-1974. *Arch Dermatol* 1988; **124**: 72–9.
- 48 Anwar J, Wrone DA, Kimyai-Asadi A, Alam M. The development of actinic keratosis into invasive squamous cell carcinoma: Evidence and evolving classification schemes. *Clin Dermatol* 2004; **22**: 189–196.
- 49 Flohil SC, van der Leest RJT, Dowlathshahi EA, Hofman A, de Vries E, Nijsten T. Prevalence of Actinic Keratosis and Its Risk Factors in the General Population: The Rotterdam Study. *J Invest Dermatol* 2013; **133**: 1971–1978.
- 50 Spencer JM, Hazan C, Hsiung SH, Robins P. Therapeutic decision making in the therapy of actinic keratoses. *J Drugs Dermatol* 2005; **4**: 296–301.
- 51 Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 4–7.
- 52 Lucas R, Prüss-Üstün A, World Health Organization. *Solar ultraviolet radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation*. World Health Organization, Public Health and the Environment, 2006.
- 53 Segatto MM, Dornelles SIT, Silveira VB, Frantz G de O. Comparative study of actinic keratosis treatment with 3% diclofenac sodium and 5% 5-fluorouracil. *An Bras Dermatol* 2013; **88**: 732–8.
- 54 Ferrándiz C, Plazas MJ, Sabaté M, Palomino R, EPIQA Study Group. Prevalence of actinic keratosis among dermatology outpatients in Spain. *Actas Dermosifiliogr* 2016; **107**: 674–680.
- 55 Eder J, Prillinger K, Korn A, Geroldinger A, Trautinger F. Prevalence of actinic keratosis among dermatology outpatients in Austria. *Br J Dermatol* 2014; **171**: 1415–1421.
- 56 Zhao Y, Li CY, Wen CM, Wei YB, Li RY, Wang G *et al*. The prevalence of actinic keratosis in patients visiting dermatologists in two hospitals in China. *Br J Dermatol* 2016; **174**: 1005–1010.
- 57 Naruse K, Ueda M, Nagano T, Suzuki T, Harada S, Imaizumi K *et al*. Prevalence of actinic keratosis in Japan. *J Dermatol Sci* 1997; **15**: 183–7.
- 58 Perfil nosológico das consultas dermatológicas no Brasil. *An Bras Dermatol* 2006; **81**: 549–558.
- 59 Agale S, Bharambe B, Bhatia V, D’Costa G. Childhood actinic keratosis in an albino transforming into squamous cell carcinoma. *Indian Dermatol Online J* 2012; **3**: 199.
- 60 Bakos L, Mastroeni S, Bonamigo RR, Melchi F, Pasquini P, Fortes C *et al*. A melanoma risk score in a Brazilian population. *An Bras Dermatol* 2013; **88**: 226–232.
- 61 Rocha FP da, Menezes AMB, Almeida Junior HL de, Tomasi E. Marcadores e fatores de risco para queratoses actínicas e carcinomas basocelulares: um estudo de caso-controle. *An Bras Dermatol* 2004; **79**: 441–454.
- 62 WARINO L, TUSA M, CAMACHO F, TEUSCHLER H, FLEISCHER AB, FELDMAN SR. Frequency and Cost of Actinic Keratosis Treatment. *Dermatologic Surg* 2006; **32**: 1045–1049.
- 63 Miot HA, Penna G de O, Ramos AMC, Penna MLF, Schmidt SM, Luz FB *et al*. Profile of dermatological consultations in Brazil (2018). *An Bras Dermatol* 2018; **93**: 916–928.
- 64 Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 23–4.
- 65 Marks R, Rennie G, Selwood TS. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma. *Lancet (London, England)* 1988; **1**: 795–7.
- 66 Lanoue J, Chen C, Goldenberg G. Actinic keratosis as a marker of field cancerization in excision specimens of cutaneous malignancies. *Cutis* 2016; **97**: 415–20.
- 67 Criscione VD, Weinstock MA, Naylor MF, Luque C, Eide MJ, Bingham SF *et al*. Actinic keratoses. *Cancer* 2009; **115**: 2523–2530.
- 68 Dréno B, Cerio R, Dirschka T, Nart I, Lear J, Peris K *et al*. A Novel Actinic Keratosis Field

- Assessment Scale for Grading Actinic Keratosis Disease Severity. *Acta Derm Venereol* 2017; **97**: 1108–1113.
- 69 Oshyvalova OO, Kaliuzhna LD, Kropelnytskyi VO. Clinical forms of actinic keratosis and levels of dysplasia of the epidermis. *Wiad Lek*; **70**: 1072–1078.
- 70 Olsen EA, Abernethy ML, Kulp-Shorten C, Callen JP, Glazer SD, Huntley A *et al*. A double-blind, vehicle-controlled study evaluating masoprocol cream in the treatment of actinic keratoses on the head and neck. *J Am Acad Dermatol* 1991; **24**: 738–43.
- 71 Goldberg LH, Joseph AK, Tschen JA. Proliferative actinic keratosis. *Int J Dermatol* 1994; **33**: 341–5.
- 72 Röwert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, Ulrich C, Eberle J, Kerl H *et al*. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol* 2007; **156**: 8–12.
- 73 Zalaudek I, Piana S, Moscarella E, Longo C, Zendri E, Castagnetti F *et al*. Morphologic grading and treatment of facial actinic keratosis. *Clin Dermatol* 2014; **32**: 80–87.
- 74 Rosen T, Lebwohl MG. Prevalence and awareness of actinic keratosis: Barriers and opportunities. *J Am Acad Dermatol* 2013; **68**: S2–S9.
- 75 Ko CJ. Actinic keratosis: Facts and controversies. *Clin Dermatol* 2010; **28**: 249–253.
- 76 Roewert-Huber J, Stockfleth E, Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis - an update. *Br J Dermatol* 2007; **157**: 18–20.
- 77 Harvey I, Frankel S, Marks R, Shalom D, Nolan-Farrell M. Non-melanoma skin cancer and solar keratoses II analytical results of the South Wales Skin Cancer Study. *Br J Cancer* 1996; **74**: 1308–1312.
- 78 Moy RL. Clinical presentation of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 2000; **42**: 8–10.
- 79 Peris K, Micantonio T, Piccolo D, Concetta M. Dermoscopic features of actinic keratosis. *JDDG* 2007; **5**: 970–975.
- 80 Butani A, Arbesfeld DM, Schwartz RA, Schwartz RA. Premalignant and Early Squamous Cell Carcinoma. *Clin Plast Surg* 2005; **32**: 223–235.
- 81 Boone MALM, Suppa M, Marneffe A, Miyamoto M, Jemec GBE, Del Marmol V. A new algorithm for the discrimination of actinic keratosis from normal skin and squamous cell carcinoma based on *in vivo* analysis of optical properties by high-definition optical coherence tomography. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2016; **30**: 1714–1725.
- 82 Costa C, Scalvenzi M, Ayala F, Fabbrocini G, Monfrecola G. How to treat actinic keratosis? An update. *J Dermatol Case Rep* 2015; **9**. doi:10.3315/jdcr.2015.1199.
- 83 SLAUGHTER DP, SOUTHWICK HW, SMEJKAL W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953; **6**: 963–8.
- 84 Ulrich C. Topical Treatment of Field Cancerization. 2009, pp 439–446.
- 85 Torezan LAR, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol* 2013; **88**: 775–86.
- 86 Figueras Nart I, Cerio R, Dirschka T, Dréno B, Lear JT, Pellacani G *et al*. Defining the actinic keratosis field: a literature review and discussion. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2018; **32**: 544–563.
- 87 Hitt R, Echarri MJ. Molecular biology in head and neck cancer. *Clin Transl Oncol* 2006; **8**: 776–779.
- 88 Moscarella E, Rabinovitz H, Zalaudek I, Piana S, Stanganelli I, Oliviero MC *et al*. Dermoscopy and reflectance confocal microscopy of pigmented actinic keratoses: a morphological study. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2015; **29**: 307–314.
- 89 Nascimento MM, Shitara D, Enokihara MMSS, Yamada S, Pellacani G, Rezza GG. Inner gray halo, a novel dermoscopic feature for the diagnosis of pigmented actinic keratosis: Clues for the differential diagnosis with lentigo maligna. *J Am Acad Dermatol* 2014; **71**: 708–715.
- 90 Pock L, Drlík L, Hercogová J. Dermoscopy of pigmented actinic keratosis? A striking

- similarity to lentigo maligna. *Int J Dermatol* 2007; **46**: 414–416.
- 91 Lallas A, Argenziano G, Moscarella E, Longo C, Simonetti V, Zalaudek I. Diagnosis and management of facial pigmented macules. *Clin Dermatol* 2014; **32**: 94–100.
- 92 Tschandl P, Argenziano G, Bakos R, Gourhant J-Y, Hofmann-Wellenhof R, Kittler H *et al.* Dermoscopy and entomology (entomodermoscopy). *J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft* 2009; **7**: 589–596.
- 93 Huerta-Brogeras M, Olmos O, Borbujo J, Hernández-Núñez A, Castaño E, Romero-Maté A *et al.* Validation of Dermoscopy as a Real-time Noninvasive Diagnostic Imaging Technique for Actinic Keratosis. *Arch Dermatol* 2012; **148**: 1159.
- 94 Kittler H, Marghoob AA, Argenziano G, Carrera C, Curiel-Lewandrowski C, Hofmann-Wellenhof R *et al.* Standardization of terminology in dermoscopy/dermatoscopy: Results of the third consensus conference of the International Society of Dermoscopy. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 1093–1106.
- 95 Cuellar F, Vilalta A, Puig S, Palou J, Salerni G. New Dermoscopic Pattern in Actinic Keratosis and Related Conditions. *Arch Dermatol* 2009; **145**. doi:10.1001/archdermatol.2009.86.
- 96 Çayirli M, Köse O, Demiriz M. Dermatoscopy of facial non-pigmented actinic keratosis regarding to grades of the lesions. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2013; **27**: 1185–1187.
- 97 Reinehr CPH, Garbin GC, Bakos RM. Dermatoscopic Patterns of Nonfacial Actinic Keratosis. *Dermatologic Surg* 2017; **43**: 1385–1391.
- 98 Lee JH, Won CY, Kim GM, Kim SY. Dermoscopic features of actinic keratosis and follow up with dermoscopy: A pilot study. *J Dermatol* 2014; **41**: 487–493.
- 99 Vieira RAMAR, Minicucci EM, Marques MEA, Marques SA. Actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lip: clinical, histopathological and immunogenetic aspects. *An Bras Dermatol*; **87**: 105–14.
- 100 Werner RN, Jacobs A, Rosumeck S, Erdmann R, Sporbeck B, Nast A. Methods and Results Report - Evidence and consensus-based (S3) Guidelines for the Treatment of Actinic Keratosis -International League of Dermatological Societies in cooperation with the European Dermatology Forum. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2015; **29**: e1–e66.
- 101 Quaedvlieg PJF, Ostertag JU, Krekels GA, Neumann HAM. Delayed wound healing after three different treatments for widespread actinic keratosis on the atrophic bald scalp. *Dermatol Surg* 2003; **29**: 1052–6; discussion 1056.
- 102 Ulrich M, Reinhold U, Skov T, Elvang Søndergaard R, Guitera P. Histological examination confirms clinical clearance of actinic keratoses following treatment with ingenol mebutate 0.05% gel. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 71–80.
- 103 Yantsos VA, Conrad N, Zabawski E, Cockerell CJ. Incipient intraepidermal cutaneous squamous cell carcinoma: a proposal for reclassifying and grading solar (actinic) keratoses. *Semin Cutan Med Surg* 1999; **18**: 3–14.
- 104 Schmitz L, Gambichler T, Gupta G, Stücker M, Stockfleth E, Szeimies RM *et al.* Actinic keratoses show variable histological basal growth patterns - a proposed classification adjustment. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2018; **32**: 745–751.
- 105 Aslan F, Demirkesen C, Cağatay P, Tuzuner N. Expression of cytokeratin subtypes in intraepidermal malignancies: a guide for differentiation. *J Cutan Pathol* 2006; **33**: 531–538.
- 106 Bobyr I, Campanati A, Consales V, Martina E, Molinelli E, Diotallevi F *et al.* Ingenol mebutate in actinic keratosis: a clinical, videodermoscopic and immunohistochemical study. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2017; **31**: 260–266.
- 107 Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; **31**: 11–24.
- 108 Heid HW, Moll I, Franke WW. Patterns of expression of trichocytic and epithelial cytokeratins in mammalian tissues. II. Concomitant and mutually exclusive synthesis of trichocytic and epithelial cytokeratins in diverse human and bovine tissues (hair follicle, nail bed and matrix, li. *Differentiation* 1988; **37**: 215–30.
- 109 Perkins W, Campbell I, Leigh IM, MacKie RM. Keratin expression in normal skin and epidermal

- neoplasms demonstrated by a panel of monoclonal antibodies. *J Cutan Pathol* 1992; **19**: 476–82.
- 110 Ichikawa E, Watanabe S, Otsuka F. Immunohistochemical localization of keratins and involucrin in solar keratosis and Bowen's disease. *Am J Dermatopathol* 1995; **17**: 151–7.
- 111 Çayirli M, Köse O, Demiriz M. Clinical, dermoscopic and immunohistochemical assessment of actinic keratoses and evaluation of the effectiveness of diclofenac therapy with immunohistochemical analysis. *Arch Dermatol Res* 2013; **305**: 389–395.
- 112 de Berker D, McGregor JM, Mohd Mustapa MF, Exton LS, Hughes BR. British Association of Dermatologists' guidelines for the care of patients with actinic keratosis 2017. *Br J Dermatol* 2017; **176**: 20–43.
- 113 Gupta AK, Paquet M. Network meta-analysis of the outcome 'participant complete clearance' in nonimmunosuppressed participants of eight interventions for actinic keratosis: a follow-up on a Cochrane review. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 250–259.
- 114 Gupta AK, Paquet M, Villanueva E, Brintnell W. Interventions for actinic keratoses. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; **12**: CD004415.
- 115 Ianhez M, Fleury LFF, Miot HA, Bagatin E, Bagatin E. Retinoids for prevention and treatment of actinic keratosis. *An Bras Dermatol* 2013; **88**: 585–93.
- 116 Stockfleth E. Topical management of actinic keratosis and field cancerisation. *G Ital Dermatol Venereol* 2009; **144**: 459–62.
- 117 Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, Schwartz RA. Topical pharmacotherapy for skin cancer. part II. *J Am Acad Dermatol* 2014; **70**: 965.e1-965.e12.
- 118 Lee S, McAuliffe DJ, Kollias N, Flotte TJ, Doukas AG. Permeabilization and recovery of the stratum corneum in vivo: the synergy of photomechanical waves and sodium lauryl sulfate. *Lasers Surg Med* 2001; **29**: 145–50.
- 119 Chitwood K, Etzkorn J, Cohen G. Topical and Intralesional Treatment of Nonmelanoma Skin Cancer: Efficacy and Cost Comparisons. *Dermatologic Surg* 2013; **39**: 1306–1316.
- 120 Dirschka T, Gupta G, Micali G, Stockfleth E, Basset-Séguin N, Del Marmol V *et al.* Real-world approach to actinic keratosis management: practical treatment algorithm for office-based dermatology. *J Dermatolog Treat* 2017; **28**: 431–442.
- 121 Micali G, Lacarrubba F, Nasca MR, Ferraro S, Schwartz RA. Topical pharmacotherapy for skin cancer. *J Am Acad Dermatol* 2014; **70**: 979.e1-979.e12.
- 122 Jansen MHE, Kessels JPHM, Nelemans PJ, Kouloubis N, Arits AHMM, van Pelt HPA *et al.* Randomized Trial of Four Treatment Approaches for Actinic Keratosis. *N Engl J Med* 2019; **380**: 935–946.
- 123 Goette DK. Topical chemotherapy with 5-fluorouracil. A review. *J Am Acad Dermatol* 1981; **4**: 633–49.
- 124 FALKSON G, SCHULZ EJ. Skin changes in patients treated with 5-fluorouracil. *Br J Dermatol* 1962; **74**: 229–36.
- 125 Omura EF, Torre D. Inflammation of Actinic Keratoses Due to Systemic Fluorouracil Therapy. *JAMA J Am Med Assoc* 1969; **208**: 150.
- 126 KLEIN E, MILGROM H, HELM F, AMBRUS J, TRAENKEL HL, STOLL HS. Tumors of the skin: effects of local use of cytostatic agents. *Skin (Los Angeles)* 1962; **1**: 81–7.
- 127 DILLAHA CJ, JANSEN GT, HONEYCUTT WM, BRADFORD AC. Selective cytotoxic effect of topical 5-fluorouracil. *Arch Dermatol* 1963; **88**: 247–56.
- 128 Mohamed HA, Mohammed GF, Gomaa AHA, Eyada MMK. Carbon dioxide laser plus topical 5-fluorouracil: a new combination therapeutic modality for acral vitiligo. *J Cosmet Laser Ther* 2015; **17**: 216–223.
- 129 Anbar TS, Westerhof W, Abdel-Rahman AT, Ewis AA, El-Khayyat MA. Effect of one session of ER:YAG laser ablation plus topical 5Fluorouracil on the outcome of short-term NB-UVB phototherapy in the treatment of non-segmental vitiligo: a left-right comparative study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2008; **24**: 322–329.

- 130 Prince GT, Cameron MC, Fathi R, Alkousakis T. Topical 5-fluorouracil in dermatologic disease. *Int J Dermatol* 2018; **57**: 1259–1264.
- 131 Gupta AK, Weiss JS, Jorizzo JL. 5-fluorouracil 0.5% cream for multiple actinic or solar keratoses of the face and anterior scalp. *Skin Therapy Lett* 2001; **6**: 1–4.
- 132 Stough D, Bucko AD, Vamvakias G, Rafal ES, Davis SA. Fluorouracil cream 0.5% for the treatment of actinic keratoses on the face and anterior scalp: interim results of an 18-month open-label study. *J Clin Aesthet Dermatol* 2008; **1**: 16–21.
- 133 Fang J-Y, Liu P-F, Huang C-M. Decreasing systemic toxicity via transdermal delivery of anticancer drugs. *Curr Drug Metab* 2008; **9**: 592–7.
- 134 Mohs FE, Jones DL, Bloom RF. Tendency of fluorouracil to conceal deep foci of invasive basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 1978; **114**: 1021–2.
- 135 Khan MA, Pandit J, Sultana Y, Sultana S, Ali A, Aqil M *et al*. Novel carbopol-based transfersomal gel of 5-fluorouracil for skin cancer treatment: *in vitro* characterization and *in vivo* study. *Drug Deliv* 2015; **22**: 795–802.
- 136 PAOLINO D, COSCO D, MUZZALUPO R, TRAPASSO E, PICCI N, FRESTA M. Innovative bola-surfactant niosomes as topical delivery systems of 5-fluorouracil for the treatment of skin cancer. *Int J Pharm* 2008; **353**: 233–242.
- 137 Fang J-Y, Hung C-F, Fang Y-P, Chan T-F. Transdermal iontophoresis of 5-fluorouracil combined with electroporation and laser treatment. *Int J Pharm* 2004; **270**: 241–9.
- 138 Desai T, Chen CL, Desai A, Kirby W. Basic Pharmacology of Topical Imiquimod, 5-Fluorouracil, and Diclofenac for the Dermatologic Surgeon. *Dermatologic Surg* 2012; **38**: 97–103.
- 139 Pinedo HM, Peters GF. Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol* 1988; **6**: 1653–1664.
- 140 Milano G, Chamorey A-L. Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil with consideration of chronopharmacokinetics. *Chronobiol Int* 2002; **19**: 177–89.
- 141 Ceilley RI. Mechanisms of action of topical 5-fluorouracil: Review and implications for the treatment of dermatological disorders. *J Dermatolog Treat* 2012; **23**: 83–89.
- 142 Breza T, Taylor R, Eaglstein WH. Noninflammatory destruction of actinic keratoses by fluorouracil. *Arch Dermatol* 1976; **112**: 1256–8.
- 143 *5-Fluorouracil 0.5% and Salicylic Acid 10.0% (Actikerall)*. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health, 2017 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29381294> (accessed 25 May 2019).
- 144 Stockfleth E, Kerl H, Zwingers T, Willers C. Low-dose 5-fluorouracil in combination with salicylic acid as a new lesion-directed option to treat topically actinic keratoses: histological and clinical study results. *Br J Dermatol* 2011; **165**: 1101–1108.
- 145 Malvey J, Alarcon I, Montoya J, Rodríguez-Azaredo R, Puig S. Treatment monitoring of 0.5% 5-fluorouracil and 10% salicylic acid in clinical and subclinical actinic keratoses with the combination of optical coherence tomography and reflectance confocal microscopy. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2016; **30**: 258–265.
- 146 Dillaha CJ, Jansen GT, Honeycutt WM, Holt GA. Further studies with topical 5-fluorouracil. *Arch Dermatol* 1965; **92**: 410–7.
- 147 Levy S, Furst K, Chern W. A pharmacokinetic evaluation of 0.5% and 5% fluorouracil topical cream in patients with actinic keratosis. *Clin Ther* 2001; **23**: 908–20.
- 148 Johnson MR, Hageboutros A, Wang K, High L, Smith JB, Diasio RB. Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999; **5**: 2006–11.
- 149 Senff H, Reinel D, Matthies C, Witts D. Topical 5-fluorouracil solution in the treatment of warts--clinical experience and percutaneous absorption. *Br J Dermatol* 1988; **118**: 409–14.
- 150 Sachs DL, Kang S, Hammerberg C, Helfrich Y, Karimipour D, Orringer J *et al*. Topical Fluorouracil for Actinic Keratoses and Photoaging. *Arch Dermatol* 2009; **145**: 659–66.

- 151 Yeung H, Baranowski ML, Swerlick RA, Chen SC, Hemingway J, Hughes DR *et al.* Use and Cost of Actinic Keratosis Destruction in the Medicare Part B Fee-for-Service Population, 2007 to 2015. *JAMA Dermatology* 2018; **154**: 1281.
- 152 Yoon J, Phibbs CS, Chow A, Weinstock MA. Impact of topical fluorouracil cream on costs of treating keratinocyte carcinoma (nonmelanoma skin cancer) and actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 2018; **79**: 501-507.e2.
- 153 Sabitha M, Sanoj Rejinold N, Nair A, Lakshmanan V-K, Nair S V., Jayakumar R. Development and evaluation of 5-fluorouracil loaded chitin nanogels for treatment of skin cancer. *Carbohydr Polym* 2013; **91**: 48–57.
- 154 Jain SK, Puri R. Development, characterization and in vivo localization study of topical 5-fluorouracil gels: a comparative study with conventional formulation. *Curr Drug Deliv* 2014; **11**: 401–14.
- 155 Hou A, Cohen B, Haimovic A, Elbuluk N. Microneedling. *Dermatologic Surg* 2017; **43**: 321– 339.
- 156 Lima E de A. *IPCA® - Indução Percutânea de Colágeno com Agulhas - 9788527730211 - Livros na Amazon Brasil*. 1st ed. Guanabara Koogan: Guanabara, 2016<https://www.amazon.com.br/IPCA-Indução-Percutânea-Colágeno-Agulhas/dp/8527730219>.
- 157 Costa IMC, Costa MC. Microneedling for Varicella Scars in a Dark-Skinned Teenager. *Dermatologic Surg* 2014; **40**: 333–334.
- 158 Cohen BE, Elbuluk N. Microneedling in skin of color: A review of uses and efficacy. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 348–355.
- 159 El-Domyati M, Abdel-Wahab H, Hossam A. Combining microneedling with other minimally invasive procedures for facial rejuvenation: a split-face comparative study. *Int J Dermatol* 2018; **57**: 1324–1334.
- 160 Alster TS, Graham PM. Microneedling. *Dermatologic Surg* 2017; **44**: 1.
- 161 Braghiroli CS, Conrado LA. Microagulhamento e distribuição transepidermica de drogas. *Surg Cosmet Dermatology* 2018; **10**. doi:10.5935/scd1984-8773.20181041265.
- 162 Iriarte C, Awosika O, Rengifo-Pardo M, Ehrlich A. Review of applications of microneedling in dermatology. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2017; **Volume 10**: 289–298.
- 163 Fernandes D. Minimally Invasive Percutaneous Collagen Induction. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2005; **17**: 51–63.
- 164 De Andrade Lima E V, de Andrade Lima M, Takano D. Microagulhamento: estudo experimental e classificação da injúria provocada. *Surg Cosmet Dermatology* 2013; **5**: 110– 114.
- 165 Gupta J, Gill HS, Andrews SN, Prausnitz MR. Kinetics of skin resealing after insertion of microneedles in human subjects. *J Control Release* 2011; **154**: 148–155.
- 166 El-Domyati M, Barakat M, Awad S, Medhat W, El-Fakahany H, Farag H. Multiple microneedling sessions for minimally invasive facial rejuvenation: an objective assessment. *Int J Dermatol* 2015 DEC; **54(12)**: 1361–1369.
- 167 Pahwa M, Pahwa P, Zaheer A. “Tram Track Effect” After Treatment of Acne Scars Using a Microneedling Device. *Dermatologic Surg* 2012; **38**: 1107–1108.
- 168 Tsai M-T, Lee I-C, Lee Z-F, Liu H-L, Wang C-C, Choia Y-C *et al.* In vivo investigation of temporal effects and drug delivery induced by transdermal microneedles with optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2016; **7**: 1865.
- 169 Fang J-Y, Hwang T-L, Huang Y-B, Tsai Y-H. Transdermal iontophoresis of sodium nonivamide acetate. V. Combined effect of physical enhancement methods. *Int J Pharm* 2002; **235**: 95– 105.
- 170 Han TY, Park KY, Ahn JY, Kim SW, Jung HJ, Kim BJ. Facial Skin Barrier Function Recovery After Microneedle Transdermal Delivery Treatment. *Dermatologic Surg* 2012; **38**: 1816–1822.
- 171 Pierre MBR, Rossetti FC. Microneedle-based drug delivery systems for transdermal route. *Curr Drug Targets* 2014; **15**: 281–91.

- 172 Kalil, Célia. Campos, Valéria. *Drug Delivery Em Dermatologia Fund E Aplicacoes Praticas*. 1st ed. ELSEVIER TECNICO: Rio de Janeiro, 2018 <https://www.dilivros.com.br/livro-drug-delivery-em-dermatologia--fund-e-aplicacoes-praticas-9788535292107,kal010.html>.
- 173 Milewski M, Brogden NK, Stinchcomb AL. Current aspects of formulation efforts and pore lifetime related to microneedle treatment of skin. *Expert Opin Drug Deliv* 2010; **7**: 617–629.
- 174 Brogden NK, Milewski M, Ghosh P, Hardi L, Crofford LJ, Stinchcomb AL. Diclofenac delays micropore closure following microneedle treatment in human subjects. *J Control Release* 2012; **163**: 220–229.
- 175 Witting M, Obst K, Pietzsch M, Friess W, Hedtrich S. Feasibility study for intraepidermal delivery of proteins using a solid microneedle array. *Int J Pharm* 2015; **486**: 52–58.
- 176 Paudel KS, Milewski M, Swadley CL, Brogden NK, Ghosh P, Stinchcomb AL. Challenges and opportunities in dermal/transdermal delivery. *Ther Deliv* 2010; **1**: 109–31.
- 177 Park K. The drug delivery field at the inflection point: Time to fight its way out of the egg. *J Control Release* 2017; **267**: 2–14.
- 178 Prausnitz MR. Microneedles for transdermal drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; **56**: 581–587.
- 179 Brogden NK, Banks SL, Crofford LJ, Stinchcomb AL. Diclofenac Enables Unprecedented Week-Long Microneedle-Enhanced Delivery of a Skin Impermeable Medication in Humans. *Pharm Res* 2013; **30**: 1947–1955.
- 180 Purdon CH, Azzi CG, Zhang J, Smith EW, Maibach HI. Penetration enhancement of transdermal delivery--current permutations and limitations. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 2004; **21**: 97–132.
- 181 Bos JD, Meinardi MM. The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Exp Dermatol* 2000; **9**: 165–9.
- 182 Bariya SH, Gohel MC, Mehta TA, Sharma OP. Microneedles: an emerging transdermal drug delivery system. *J Pharm Pharmacol* 2012; **64**: 11–29.
- 183 Gómez C, Costela Á, García-Moreno I, Llanes F, Teijón JM, Blanco D. Laser treatments on skin enhancing and controlling transdermal delivery of 5-fluorouracil. *Lasers Surg Med* 2008; **40**: 6–12.
- 184 Leite-Silva VR, de Almeida MM, Fradin A, Grice JE, Roberts MS. Delivery of drugs applied topically to the skin. *Expert Rev Dermatol* 2012; **7**: 383–397.
- 185 Jacques SL, McAuliffe DJ, Blank IH, Parrish JA. Controlled removal of human stratum corneum by pulsed laser. *J Invest Dermatol* 1987; **88**: 88–93.
- 186 Genina EA, Bashkatov AN, Dolotov LE, Maslyakova GN, Kochubey VI, Yaroslavsky I V. *et al.* Transcutaneous delivery of micro- and nanoparticles with laser microporation. *J Biomed Opt* 2013; **18**: 111406.
- 187 Weaver JC, Vaughan TE, Chizmadzhev Y. Theory of electrical creation of aqueous pathways across skin transport barriers. *Adv Drug Deliv Rev* 1999; **35**: 21–39.
- 188 Haedersdal M, Erendsson AM, Paasch U, Anderson RR. Translational medicine in the field of ablative fractional laser (AFXL)-assisted drug delivery: A critical review from basics to current clinical status. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 981–1004.
- 189 Donnelly RF, Singh TRR, Woolfson AD. Microneedle-based drug delivery systems: Microfabrication, drug delivery, and safety. *Drug Deliv* 2010; **17**: 187–207.
- 190 McCrudden MTC, McAlister E, Courtenay AJ, González-Vázquez P, Raj Singh TR, Donnelly RF. Microneedle applications in improving skin appearance. *Exp Dermatol* 2015; **24**: 561–566.
- 191 Doddaballapur S. Microneedling with dermaroller. *J Cutan Aesthet Surg* 2009; **2**: 110.
- 192 Lin C-H, Aljuffali IA, Fang J-Y. Lasers as an approach for promoting drug delivery via skin. *Expert Opin Drug Deliv* 2014; **11**: 599–614.
- 193 Y. L, K. H. Skin thickness of Korean adults. *Surg Radiol Anat* 2002; **24**: 183–189.
- 194 Cheung K, Das DB. Microneedles for drug delivery: trends and progress. *Drug Deliv* 2014; **23**: 1–17.

- 195 Kim CS, Wilder-Smith P, Ahn Y-C, Liaw L-HL, Chen Z, Kwon YJ. Enhanced detection of early-stage oral cancer in vivo by optical coherence tomography using multimodal delivery of gold nanoparticles. *J Biomed Opt* 2009; **14**: 034008.
- 196 Soltani-Arabshahi R, Wong JW, Duffy KL, Powell DL. Facial Allergic Granulomatous Reaction and Systemic Hypersensitivity Associated With Microneedle Therapy for Skin Rejuvenation. *JAMA Dermatology* 2014; **150**: 68.
- 197 Cercal Fucci-da-Costa AP, Reich Camasmie H. Drug Delivery After Microneedling. *Dermatologic Surg* 2018; **44**: 593–594.
- 198 Lima E de A, Lima M de A, Araújo CEC de, Nakasawa YMM, Leal NC. Investigação sobre o uso do ácido retinoico a 3% e a 5% em soluções para peeling como agente para drug delivery após indução percutânea de colágeno com agulhas (IPCA®): perfil de segurança e protocolo de uso. *Surg Cosmet Dermatology* 2018; **10**: 22–27.
- 199 Torezan L, Chaves Y, Niwa A, Sanches JA, Festa-Neto C, Szeimies R-M. A Pilot Split-Face Study Comparing Conventional Methyl Aminolevulinate-Photodynamic Therapy (PDT) With Microneedling-Assisted PDT on Actinically Damaged Skin. *Dermatologic Surg* 2013; **39**: 1197–1201.
- 200 Spencer JM, Freeman SA. Microneedling Prior to Levulan PDT for the Treatment of Actinic Keratoses: A Split-Face, Blinded Trial. *J Drugs Dermatol* 2016; **15**: 1072–4.
- 201 Petersen Vitello Kalil CL, Herman Reinehr CP, de Mattos Milman L, Bakos RM. Combination Therapies. *Dermatologic Surg* 2019; **45**: 485–487.
- 202 Chance E. Treatment of Unwanted Pigment. *Facial Plast Surg* 2014; **30**: 016–025.
- 203 Mahmoud BH, Ruvolo E, Hexsel CL, Liu Y, Owen MR, Kollias N *et al*. Impact of Long-Wavelength UVA and Visible Light on Melanocompetent Skin. *J Invest Dermatol* 2010; **130**: 2092–2097.
- 204 Cevc G, Vierl U. Nanotechnology and the transdermal route A state of the art review and critical appraisal. *J Control Release* 2010; **141**: 277–299.
- 205 Lademann J, Richter H, Teichmann A, Otberg N, Blume-Peytavi U, Luengo J *et al*. Nanoparticles – An efficient carrier for drug delivery into the hair follicles. *Eur J Pharm Biopharm* 2007; **66**: 159–164.
- 206 Calzavara-Pinton P, Ortel B, Venturini M. Non-melanoma skin cancer, sun exposure and sun protection. *G Ital Dermatol Venereol* 2015; **150**: 369–78.
- 207 Leccia M-T, Lebbe C, Claudel J-P, Narda M, Basset-Seguín N. New Vision in Photoprotection and Photorepair. *Dermatol Ther (Heidelb)* 2019; **9**: 103–115.

9. ARTIGO

RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF 5-FLUOROURACIL 5% AND 0.5% AFTER MICRONEEDLING FOR THE TREATMENT OF FACIAL ACTINIC KERATOSES

Submission: Journal of the America Academy of Dermatology (JAAD)

Manuscript number: JAA-D-19-01314.

Register number (REBEC): RBR-2bqy9p

Authors

1. Célia Luiza Petersen Vitello Kalil
2. Clarissa Prieto Herman Reinehr
3. Renato Marchiori Bakos

Highest Earned Academic Degrees

1. PhD in Medical Sciences by the Universidade Federal do Rio Grande do Sul
2. Master in Medical Sciences by the Universidade Federal do Rio Grande do Sul
3. PhD in Medical Sciences by the Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Institutional Affiliations

HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Location:

Ramiro Barcelos Street, 2350, Santana - Porto Alegre, RS - Brazil - 90035-000

Correspondent author: Célia Luiza Petersen Vitello Kalil

E-mail: celia@celiakalil.com.br

Adress: Ramiro Barcelos Street, 2350, Santana - Porto Alegre, RS - Brazil - 90035-000

Phone: 55 51 33461307 / 55 51 999553222

RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF 5-FLUOROURACIL 5% AND 0.5% AFTER MICRONEEDLING FOR THE TREATMENT OF FACIAL ACTINIC KERATOSES

ABSTRACT

Introduction:

Topical 5-fluorouracil (5-FU) is extensively used to treat actinic keratosis although side effects sometimes limit optimal treatment completion. Microneedling acting as a facilitator agent for skin penetration might be an interesting tool to shorten treatment regimens.

Objectives:

To evaluate the effect of microneedling to promote 5-FU delivery at different concentrations (0.5% and 5%) for actinic keratoses treatment in a shorter treatment duration.

Methods:

Forty-four patients with facial actinic keratoses were submitted to 1.0mm microneedling on one side of the face. Patients were randomized into 5% 5-FU and 0.5% 5-FU groups for three days on the entire face. Then continued with topical application of 5-FU on the side without microneedling for another 12 days. Microneedling sides received placebo for more 12 days. Clinical, subjective evaluations for efficacy and safety and application of Dermatology Life Quality Index – Brazil (DLQI-BRA) occurred on day 21 and 111.

Results:

44 patients aged 47 to 85 years-old (mean 66.16, SD 9.12) were included. Complete clearance of actinic keratoses was similar between groups on the sides submitted to microneedling and 5-FU and to 5-FU alone in 5% 5-FU (60% of patients versus 75%, $p= 0.453$) and in 0.5% 5-FU group (40.9% versus 40.9%). Microneedling and 5% 5-FU was superior to microneedling and 0.5% 5-FU when comparing reduction in actinic keratoses (97% versus 89%, $p=0.025$). Microneedling and 5% 5-FU showed less local adverse effects in comparison to 5% 5-FU alone ($p=0.011$).

Discussion:

Topical 5% and 0.5% 5-FU delivery after microneedling for three days was effective for treating facial actinic keratoses and was not inferior to 5% and 0.5% 5-FU alone for 15 days after three months of follow-up. Therefore, microneedling may potentiate 5-FU treatment, reducing treatment time without losing efficacy.

Key words: actinic keratosis, drug administration, field cancerization, needles, 5-fluorouracil.

ARTICLE**Introduction**

Actinic keratoses (AKs) are pre-neoplastic lesions, that tend to occur in sun exposed area, with a potential to evolve into non-melanoma skin cancer^{1,2}. For this reason, all lesions should be promptly treated^{2,3}.

Although several methods are available for AK treatment, a gold standard for their management is not available in meta-analysis and systematic reviews^{4,5}. A recommendation to use field cancerization treatment periodically can be observed:⁴.

In a recent randomized clinical trial to investigate the effectiveness of four common regimens to treat AKs 5% 5-FU cream, 5% imiquimod cream, photodynamic therapy-methyl aminolevulinate (MAL-PDT) and 0.015% ingenol mebutate gel were compared. Overall all regimens were effective, but 5% 5-FU cream was the most effective after 12 months of follow-up⁶.

Topical 5% 5-FU is generally used twice daily for two to four weeks; however, the side effects observed, such as burning sensation, crust formation, erythema, pruritus and ulceration, sometimes limit treatment completion by the patients and reduce treatment efficacy^{7,8}. In this way, novel regimens that promote drug delivery and that could shorten treatment duration might be helpful. Microneedling allows drug delivery by increasing stratum corneum permeability through the creation of microchannels that allow permeation of micro and macromolecules⁹⁻¹¹.

The objective of this study is to evaluate the effect of microneedling to promote 5-FU delivery at two different concentrations (0.5% and 5%) for AK treatment in a shorter regimen than the classical 5-FU prescription.

Methods

Population:

Forty-four patients diagnosed with facial AKs in a reference tertiary hospital from Brazil (Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil) were recruited to participate from June 2016 to March 2018. Sample size was calculated with WINPEPI software, version 11.43, based on the study by Segatto *et al*/2013 (mean at the end of the study with 5-FU of 3.15 ± 2.15), with the capability to detect a significant difference between the mean of two lesions, considering a standard deviation of 2.15 to the groups, was of 40 patients (80 sides of the face, 20 to each group)¹². Due to possible losses during the study final sample size was of 44 patients. We included patients presenting at least five AKs on the face. Exclusion criteria were patients with chronic renal failure, previous AKs treatment with PDT, 5-FU and other topical medications as imiquimod, diclofenac and ingenol mebutate, chemical peels and fractional ablative lasers in the last 12 months, skin cancer in the area to be treated, history of hypertrophic and keloid scars, hematologic conditions

(anemia, leukopenia), pregnancy, breastfeeding or allergies to any of the products used in the study.

Microneedling and treatment randomization

Patients were randomized to receive either 5% 5-FU or 0.5% 5-FU to treat AK (www.randomizer.org). A second randomization process was performed for each patient to define in a split-face protocol which side of the face would receive a single pre-treatment session of microneedling prior to the application of topical 5-FU.

Topical anesthetic (10% lidocaine plus 7% tetracaine cream-gel) was applied 40 minutes before and removed immediately before the procedure with 0.2% chlorhexidine. Microneedling was performed with a 1.0mm long needles disposable device (Dr. Roller, Moohan Enterprise CO., Gyeonggi-do, South Korea) following standard procedures described elsewhere¹³. Then skin was cleaned with 0.9% saline and 5-FU was applied on the whole face, in different concentrations, according to the following protocols:

5% 5-FU group – after microneedling was performed on one side of the face, a 3- day regimen twice a day of 5% 5-FU cream was immediately initiated. After three days the formulation was changed to a placebo cream, that was applied twice daily for more 12 days on the side of the face that received microneedling. On the side that didn't receive microneedling patient continued using 5% 5-FU cream twice day for more 12 days.

0.5% 5-FU group - after microneedling was performed on one side of the face, a 3- day regimen twice a day of 0.5% 5-FU serum anidrous was immediately initiated. After three days the formulation was changed to a placebo cream, that was applied twice daily for more 12 days on the side of the face that received microneedling. On the side that didn't receive microneedling patient continued using 0.5% 5-FU cream twice a day for more 12 days.

Blinding

All procedures were performed by the same dermatologist not blinded to protocol arms. All clinical evaluations were performed by an experienced dermatologist blinded to the patient's management. Clinical examination was performed on day 21 and on day 111 after treatment. Patients were blinded regarding to the concentration of the drug used.

Clinical evaluation

Patients were evaluated by clinical inspection before and after treatment.

On day 21 patients were clinically evaluated, by a blinded dermatologist, photographic registration was performed and patients answered the adverse effects scores scale (low: slight erythema; moderate: erythema plus scaling; intense: severe erythema and scaling)¹⁴, the DLQI-BRA and the subjective perceived efficacy questionnaire.

On day 111 patients were submitted to a second follow-up to evaluate efficacy endpoints (complete or partial response and AKs count number).

Statistics

SPSS (Statistical Package for Social Sciences, IBM Corp, Armonk, NY) version 18.0 was used for statistical analysis. Significance level considered was 5% ($p < 0.05$). Qualitative variables were described through absolute and relative frequencies and quantitative variables through median and standard deviation.

Association between qualitative variables and groups were performed with Fisher Exact Test; association among qualitative variables in relation to side of the face (with or without microneedling) was performed with McNemar Test. Median comparison among quantitative variables in relation to groups was performed with T-

Test for independent data and the comparison of the mean quantity of AK between sides of the face with the T-Test for paired data. Non-Parametric Mann-Whitney Test was used to compare the mean degree of adverse effects among groups; comparison between sides of the face was performed with the Wilcoxon Non- Parametric Test.

Ethical considerations

The study was approved at the local Ethics Committee in accordance with principles of the Declaration of Helsinki. All patients gave their written consent before starting their participation.

Results

The sample was composed of forty-four patients aged 47 to 85 years-old (mean age 66.16, SD 9.12), composed of 24 female patients (54.5%), Fitzpatrick phototypes II (79.5%) and III (20.5%).

Data about treatment groups are specified in Table 1. Two patients from the 5% 5-FU group didn't conclude the study protocol, one of them on day fourth to the fact that he loss the medication and the other on day nine referring intense adverse effects on both sides.

Table 1 – Demographic characteristics of patients with AKs from each treatment group

	Group			p
	Total	5% 5-FU	0.5% 5-FU	
Gender				
Female	24 (57.1)	10 (50.0)	14 (63.6)	0.364
Male	18 (42.9)	10 (50.0)	8 (36.4)	0.364
Phototype				
II	34 (81.0)	15 (75.0)	19 (86.4)	0.457
III	8 (19.0)	5 (25.0)	3 (13.6)	0.457
Age	65.60 ± 8.91	65.65 ± 10.21	65.55 ± 7.69	0.661
Number of lesions				
Right side	20.17 ± 9.91	22.35 ± 12.50	18.18 ± 6.44	0.335
Left side	18.57 ± 9.22	20.55 ± 10.83	16.77 ± 6.28	0.345

*n(%); Mean ± Standard deviation

Although we could observe a large number of patients with complete response in the 5% 5-FU and 0.5% 5-FU groups, we could not find statistically significant difference between microneedling sides and areas treated with 5-FU alone in each group. When compared 5% 5-FU alone was superior to 0.5% 5-FU alone to achieve complete remission, while no difference was observed between microneedling treated areas (Table 2).

Table 2 – Number of patients with complete clearance of AKs after three months of follow-up

Side of the face	Group		p
	5% 5-FU	0.5% 5-FU	
Microneedling + 5-FU	12 (60.0)	9 (40.9)	0.354
5-FU alone	15 (75.0)	9 (40.9)	0.033
p	0.453	1.000	

*n(%)

Regarding to the AKs mean percentage reduction (Table 3), in the 5% 5-FU group we could not observe a difference between microneedling side and 5-FU alone. Similar data were observed in 0.5% 5-FU group. Interestingly 5% 5-FU group was superior to 0.5% 5-FU group when microneedling areas were compared and also when comparing sides treated with 5-FU alone.

Table 3 – Proportion of lesions reduction in patients with facial AKs in each treatment group

Side of the face	Group		p
	5% 5-FU	0.5% 5-FU	
Microneedling + 5-FU	97.05 ± 4.99	89.11 ± 14.2	0.025
5-FU alone	98.16 ± 4.20	89.91 ± 14.33	0.015
p	0.219	0.774	

Mean ± Standard deviation

After three months all groups presented a significant reduction in the mean number of AKs, as observed in Table 4, but we could not observe statistically significant difference between sides of the face treated with microneedling and 5-FU in comparison to 5-FU alone.

Table 4 - Actinic keratosis count in patients from each group before treatment and after three months

Side of the face	Group					
	5% 5-FU			0.5% 5-FU		
	Before	3 months	p	Before	3 months	p
Microneedling + 5-FU	21.95 ± 11.40	0.55 ± 0.76	<0.001	17.55 ± 7.57	1.77 ± 2.20	<0.001
5-FU alone	20.95 ± 12.03	0.30 ± 0.57	<0.001	17.41 ± 6.18	2.05 ± 3,35	<0.001
p	0.371	0.135		0.879	0.596	

Mean ± Standard deviation

Overall adverse effects related to treatment were similar among groups. Areas treated with microneedling showed also similar adverse effects rates with regard to the 5-FU concentration ($p=0.230$). Contrastingly areas treated with 5% 5-FU alone presented increased rates of erythema, crusts and exfoliation or scaling ($p<0.001$). When comparing patients of the 5% 5-FU group we observed less adverse effects on the side of the face submitted to microneedling before treatment ($p=0.011$). In the 0.5% 5-FU group, no difference was observed between sides of the face regarding to side effects ($p=0.157$) (Table 5).

Table 5 - Local adverse effects in patients with AKs for each treatment group on Day 21

Adverse effects	Group					
	5% 5-FU			0.5% 5-FU		
	Microneedling	Drug alone	p	Microneedling	Drug alone	p
Low	6 (30.0)	1 (5.0)		8 (36.4)	6 (27.3)	
Moderate	10 (50.0)	8 (40.0)	0.011	14 (63.6)	16 (72.7)	0.157
Intense	4 (20.0)	11 (55.0)		0 (0.0)	0 (0.0)	

*n(%)

Discussion

Considering that AKs are potentially precursors of squamous cell carcinoma, to identify novel and effective therapeutic methods is essential to offer alternatives for patients,^{1-3,15}. Therapeutic options include destructive therapies, such as cryotherapy, curettage, chemical peels, as well as chemotherapeutic agents, such as 5-FU, imiquimod, tretinoin and ingenol mebutate¹⁵. Besides, treatment with lasers and PDT are also reported. Haedersdal *et al* demonstrated a higher level of evidence of improvement in the treatment of AKs with the use of ablative fractional laser (AFL) and topical therapy MAL-PDT¹⁶.

In our study, we observed that 5% 5-FU and 0.5% 5-FU drug delivery after microneedling for three days is effective and safe to treat facial AKs and is not inferior respectively to 5% 5-FU and 0.5% 5-FU alone for a 15 days regimen. It shows that microneedling may potentiate 5-FU treatment, reducing the expected time of treatment without losing efficacy. In line with our study Torezan *et al* evaluated the efficacy and safety of microneedling assisted PDT, with 1.5mm long microneedles and topical MAL-PDT. They compared in a split-face trial conventional MAL-PDT regimen after superficial curettage preparation with microneedling preparation in patients with multiple AKs and facial sun damage. In 10 patients they observed similar clearance rates of AKs, average AKs clearance was 88.3%, in both sides (90.5% for microneedling-assisted PDT and 86% for conventional PDT). Side effects were more common and intense on the side treated with microneedling + MAL-PDT. Regarding the cosmetic results as photoaging signs, microneedling + MAL-PDT showed better results and was safe and effective¹⁷.

Spencer *et al* also performed a randomized trial to investigate microneedling effect before a 5-aminolevulinic acid (ALA) PDT single session in 20 patients with multiple AKs. They could demonstrate a reduction in AKs count, respectively, of 89% and 69% ($p < 0.05$) for microneedling and ALA-PDT sides and ALA-PDT alone. Although we could not demonstrate in our study that microneedling sides would increase percentage reduction of AKs in comparison to 5-FU regimens alone, indeed the percentage reduction was relevant for both 5% and 0.5% 5-FU groups (respectively, 97% and 89%)¹⁸.

Braun *et al* observed in a case report that the presence of numerous lesions of AKs and cancerization field, on the left lower leg, showed a good cosmetic result and a significantly better response to the combination of microneedling 0.5mm long microneedles before the application of 0.05% ingenol mebutate gel in comparison to areas treated with microneedling or mebutate ingenol alone¹⁰. In our study, the distribution of the mean percentage of reduction of the amount of AK in relation to the groups and microneedling, it was observed that there was no significant difference in the mean percentage of reduction of the number of AK lesions in relation to achievement or not of microneedling.

We could also observe that 5% 5-FU regimens with microneedling and 5% 5-FU alone were respectively superior to 0.5% 5-FU regimens with microneedling and 0.5% 5-FU alone for AKs percentage reduction and AKs count. Previous data on 5-FU regimens alone demonstrated similar rates of complete clearance after treatment (43%) when comparing both concentrations (0.5% and 5%) of the drug and the percent reduction of AKs from baseline was not statistically significant between groups (67% for the 0.5% cream and 47% for the 5% cream); besides that, the 0.5% 5-FU formulation was preferred by 85% of the patients because of tolerability and less skin irritation ($p=0.003$)¹⁹.

Our results demonstrate that 5% 5-FU might be preferable for drug delivery protocols after microneedling when treating facial AK.

With regard to local side effects 5% 5-FU alone showed higher rates of erosion, erythema and desquamation on day 21 in comparison to 5% 5-FU after microneedling ($p=0.011$). Indeed it demonstrates that microneedling followed by a 3- day regimen of 5-FU reduces toxicity of the drug, leading to a faster recovery. To the best of our knowledge, this is the first trial in which it is demonstrated that microneedling might reduce an active drug regimen without losing efficacy with reduced local side effects in comparison to the active drug alone.

Our study might present some limitations. While 5% 5-FU is commercially available in Brazil, we needed a pharmaceutical formulation for topical 0.5% 5-FU since it does not exist commercially in our country. Nevertheless, we are confident that 0.5% 5-FU formulation met standard quality level to be evaluated in the study. Moreover our

results are limited to three months of follow-up. We believe that data on efficacy and safety in treating facial AKs with microneedling drug delivery with 5-FU are trustworthy. Similarly to other trials that have been published for AKs management with other drugs or regimens, long-term follow-up might be necessary to determine its efficacy for more than three months.

Conclusions

In this trial we could show that the delivery of 5-FU after microneedling is effective for treating facial AKs. It permits to use 5-FU for only three days after microneedling not losing efficacy in comparison to conventional 5-FU regimens. Additionally, it allows faster recovery leading patients to present lower local side effects rates after 21 days.

Acknowledgements

We would like to thank FIPE–HCPA (Fundo de Incentivo a Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre) that granted this study. We also thank Mrs. Aldina Cristina Sousa Castros, Mrs. Vania Naomi Hirakata (HCPA) and Mr. Sérgio Kakuta Kato for their assistance in tabulating data. Finally, we thank FARMATEC for the assistance in compounding formulas and MTO company that kindly donated rollers for the study.

References

- 1 Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision. *An Bras Dermatol* 2012; **87**: 425–34.
- 2 Rigel DS, Stein Gold LF. The importance of early diagnosis and treatment of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 2013; **68**: S20–S27.
- 3 Cohen JL. Actinic keratosis treatment as a key component of preventive strategies for nonmelanoma skin cancer. *J Clin Aesthet Dermatol* 2010; **3**: 39–44.
- 4 Gupta AK, Paquet M, Villanueva E, Brintnell W. Interventions for actinic keratoses. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; **12**: CD004415.
- 5 Gupta AK, Paquet M. Network meta-analysis of the outcome ‘participant complete clearance’ in nonimmunosuppressed participants of eight interventions for actinic keratosis: a follow-up on a Cochrane review. *Br J Dermatol* 2013; **169**: 250–259.
- 6 Jansen MHE, Kessels JPHM, Nelemans PJ, Kouloubis N, Arits AHMM, van Pelt HPA *et al*. Randomized Trial of Four Treatment Approaches for Actinic Keratosis. *N Engl J Med* 2019; **380**: 935–946.
- 7 Levy S, Furst K, Chern W. A pharmacokinetic evaluation of 0.5% and 5% fluorouracil topical cream in patients with actinic keratosis. *Clin Ther* 2001; **23**: 908–20.
- 8 Guimarães COZ, Miot HA, Bagatin E. Five percent 5-fluorouracil in a cream or for superficial peels in the treatment of advanced photoaging of the forearms: a randomized comparative study. *Dermatol Surg* 2014; **40**: 610–7.
- 9 Leite-Silva VR, de Almeida MM, Fradin A, Grice JE, Roberts MS. Delivery of drugs applied topically to the skin. *Expert Rev Dermatol* 2012; **7**: 383–397.
- 10 Braun SA, Gerber PA, Hevezi PA. Needling-Assisted Drug Delivery. *Dermatologic Surg* 2017; **43**: 978–979.
- 11 Donnelly RF, Singh TRR, Woolfson AD. Microneedle-based drug delivery systems: Microfabrication, drug delivery, and safety. *Drug Deliv* 2010; **17**: 187–207.
- 12 Segatto MM, Dornelles SIT, Silveira VB, Frantz G de O. Comparative study of actinic keratosis treatment with 3% diclofenac sodium and 5% 5-fluorouracil. *An Bras Dermatol* 2013; **88**: 732–8.
- 13 De Andrade Lima E V, de Andrade Lima M, Takano D. Microagulhamento: estudo experimental e classificação da injúria provocada. *Surg Cosmet Dermatology* 2013; **5**: 110–114.
- 14 Rahvar M, Lamel SA, Maibach HI, Maibach HI. Randomized, vehicle-controlled trials of topical 5-fluorouracil therapy for actinic keratosis treatment: an overview. *Immunotherapy* 2012; **4**: 939–945.
- 15 Rossi R, Mori M, Lotti T. Actinic keratosis. *Int J Dermatol* 2007; **46**: 895–904.
- 16 Haedersdal M, Erendsson AM, Paasch U, Anderson RR. Translational medicine in the field of ablative fractional laser (AFXL)-assisted drug delivery: A critical review from basics to current clinical status. *J Am Acad Dermatol* 2016; **74**: 981–1004.
- 17 Torezan L, Chaves Y, Niwa A, Sanches JA, Festa-Neto C, Szeimies R-M. A Pilot Split-Face Study Comparing Conventional Methyl Aminolevulinic Acid-Photodynamic Therapy (PDT) With Microneedling-Assisted PDT on Actinically Damaged Skin. *Dermatologic Surg* 2013; **39**: 1197–1201.
- 18 Spencer JM, Freeman SA. Microneedling Prior to Levulan PDT for the Treatment of Actinic Keratoses: A Split-Face, Blinded Trial. *J Drugs Dermatol* 2016; **15**: 1072–4.

09. ANEXOS

ANEXO 1

QUESTIONÁRIO DE IDENTIFICAÇÃO

Projeto de pesquisa: **Ensaio clínico randomizado de microagulhamento seguido de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% versus uso de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% isolado**

Data da avaliação: / / _____

1. Dados de identificação do paciente

1.1 Paciente nº:

1.2 Nome completo:

1.3 Prontuário:

1.4 Idade:

1.5 Data de nascimento:

1.6 Endereço:

1.7 Telefone para contato:

1.8 Cidade:

1.9 Profissão:

2. História médica pregressa e familiar

2.1 Histórico prévio de câncer de pele: () Sim, quantos? _____ () Não

2.2 Quais os tipos?

() CBC () CE () MM () Outros () desconhece o tipo

2.3 Tem alguma doença? () Sim, qual? _____ () Não

2.4 Tabagismo: () Sim () Não () No passado

Quantos cigarros por dia e por quantos anos?

2.5 Toma alguma medicação?

() Sim, qual? _____

() Não

2.6 Familiares diretos com câncer de pele? () Sim () Não

2.7 Tratamento prévio na face: () Sim () Não

2.8 Se sim, quanto tempo? _____ Qual? _____

2.9 Histórico de cicatrizes hipertróficas e/ ou queloidianas: () Sim Não ()

2.10 Distúrbio hemorrágico: () Sim Não ()

2.11 Terapêutica aguda ou crônica com anticoagulante: () Sim Não ()

2.12 História prévia de herpes na área tratada: () Sim Não ()

2.13 História prévia de alergia a anestésicos: () Sim Não ()

3. Fototipo segundo Fitzpatrick:

() I; () II; () III; () IV; () V; () VI

4. Exame Clínico:

Topografia das lesões: _____

Número de lesões:

() contagem possível, quantas lesões? _____

() presença de campo de cancerização, múltiplas lesões com impossibilidade de contagem

Presença de eritema: () Sim () Não

Presença de descamação: () Sim () Não

Demarcação das lesões e tamanho:



Lado microagulhado: () Direito () Esquerdo

Produto utilizado: () Efurix® ou () Solução anidra de 5-FU 0,5%

Data e assinatura do responsável pelo estudo ou do técnico responsável designado por ele:

___/___/_____

ANEXO 2

ÍNDICE DE QUALIDADE DE VIDA EM DERMATOLOGIA (DLQI)

No. Hospital:

Data:

Nome:

Endereço:

Diagnóstico:

Escore DLQI:

Tempo de avaliação: () D21 () D111

O objetivo deste questionário é medir o quanto seu problema de pele afetou sua vida NO DECORRER DA ÚLTIMA SEMANA. Marque, com um X, a melhor resposta para cada pergunta

1. Na última semana, quanto a sua pele coçou, esteve sensível, dolorida ou ardida?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada

2. Na última semana, você ficou com vergonha ou se preocupou com a sua aparência por causa de sua pele?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada

3. Na última semana, quanto sua pele interferiu nas suas compras ou nas suas atividades dentro e fora de casa?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

4. Na última semana, quanto sua pele influenciou na escolha das roupas que você vestiu?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

5. Na última semana, quanto sua pele afetou as suas atividades sociais ou de lazer?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

6. Na última semana, quanto sua pele atrapalhou a prática de esportes?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

7. Na última semana, sua pele impediu você de trabalhar ou ir à escola?

Sim Não Não relevante

Caso sua resposta tenha sido NÃO: Na última semana, quanto sua pele lhe causou problemas no trabalho ou na escola?

Muito Um pouco Nada

8. Na última semana, quanto a sua pele lhe causou problemas com o seu parceiro, parentes ou amigos mais próximos?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

9. Na última semana, quanto o seu problema de pele lhe causou dificuldades sexuais?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

10. Na última semana, quanto o seu tratamento para a pele foi um problema, deixando sua casa desorganizada ou tomando muito o seu tempo?

Muitíssimo Muito Um pouco Nada Não relevante

Pedimos a gentileza de verificar se todas as perguntas foram respondidas por você. Muito obrigado.

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

© A.Y. Finlay, G.K. Khan, 1992.

Interdita a reprodução, ainda que parcial, do presente documento.

ANEXO 3

Dear Celia,

I am writing this email on behalf of Professor Finlay. Thank you for your interest in the DLQI. We are happy to give you formal permission to use the DLQI in your Actinic Keratosis study as you have described. There will be no charge.

It is a requirement that the copyright statement must always be reproduced at the end of every copy of the DLQI. You can find the validated translations of the DLQI, as well as further information, at <http://www.cardiff.ac.uk/dermatology/> (click on Quality of Life).

Please do not hesitate to contact me should you require any further clarification or help.

Best Wishes,

Faraz

Dr Faraz Mahmood Ali MBBCh MRCP

Clinical Research Fellow in Dermatology

Department of Dermatology, School of Medicine,

Cardiff University, 3rd Floor Glamorgan House, Heath Park, Cardiff, Wales, UK, CF14 4XN

e: alifm@cf.ac.uk

t: +44 (0)29 2074 5874

ANEXO 4

Orientações de aplicação da formulação recebida

Você está recebendo uma formulação e deverá aplicá-la conforme o descrito abaixo. É muito importante que você siga rigorosamente o modo de uso para o sucesso tanto do tratamento quanto do estudo.

Aplicar o produto em todo o rosto pela manhã e à noite por três dias. No quarto dia, haverá troca de tubos, completando mais 12 dias de tratamento. Realizar a aplicação do produto recebido com massagem suave com os dedos, até a sua completa absorção.

1. Não aplicar qualquer produto na região do tratamento da pesquisa que possa interferir na avaliação do estudo;
2. Evitar o contato do produto com os olhos. Se, por acidente, houver contato do produto com os olhos, enxague abundantemente com água;
3. Não alterar hábitos cosméticos, incluindo higiene;
4. Não realizar limpeza de pele, esfoliação ou outros tratamentos na área de aplicação do produto;
5. Não se expor à luz solar de forma excessiva e não se submeter a câmaras de bronzeamento artificial;
6. Não alterar os hábitos de dieta;
7. Não alterar tratamento hormonal e anticoncepcional;
8. Respeitar as condições de uso do produto sob investigação;
9. Não participar, durante a vigência deste estudo ou no período de exclusão especificado, de estudo clínico em outro centro de investigação
10. Descrever qualquer tratamento médico realizado de forma concomitante ao estudo;
11. Não alterar significativamente o estilo de vida: alimentação, tabagismo, esporte;
12. Não tomar, no dia do procedimento, banhos do tipo banheira, mar, piscina, ou, ainda, sauna ou banho turco;
13. Retornar a visita agendada no centro de investigação, respeitando as datas e horários de visitas;
14. Não permitir o uso do produto por outra pessoa.

ANEXO 5

Orientações de aplicação da formulação recebida

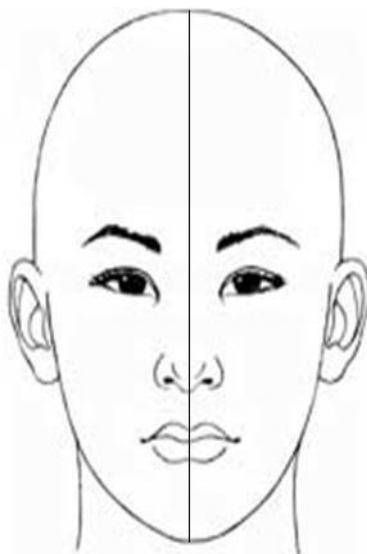
Você está recebendo uma nova formulação e deverá aplicá-la conforme o descrito abaixo. É muito importante que você siga rigorosamente o modo de uso para o sucesso tanto do tratamento quanto do estudo.

Realizar a aplicação do produto recebido com massagem suave com os dedos, até a sua completa absorção.

No lado direito do rosto: aplicar o medicamento, cujo rótulo indica LADO DIREITO, 2 vezes ao dia, por mais 12 dias, pela manhã e à noite.

No lado esquerdo do rosto: aplicar o medicamento, cujo rótulo indica LADO ESQUERDO, 2 vezes ao dia, por mais 12 dias, pela manhã e à noite.

Lado Direito: Aplicar o produto cujo rótulo indica **LADO DIREITO** 2 vezes ao dia por mais 12 dias, pela manhã e à noite.



Lado Esquerdo: Aplicar o produto cujo rótulo indica **LADO ESQUERDO** 2 vezes ao dia por mais 12 dias, pela manhã e à noite.

1. Não aplicar qualquer produto na região experimental que possa interferir na avaliação do estudo;
2. Evitar o contato do produto com os olhos. Se, por acidente, houver contato do produto com os olhos, enxague abundantemente com água;
3. Não alterar hábitos cosméticos, incluindo higiene;
4. Não realizar limpeza de pele, esfoliação ou outros tratamentos na área de aplicação do produto;
5. Não se expor à luz solar de forma excessiva e não se submeter a câmaras de bronzeamento artificial;
6. Não alterar os hábitos de dieta;

7. Não alterar tratamento hormonal;
8. Não alterar método contraceptivo medicamentoso;
9. Respeitar as condições de uso do produto sob investigação;
10. Não participar, durante a vigência deste estudo ou no período de exclusão especificado, de estudo clínico em outro centro de investigação;
11. Descrever qualquer tratamento médico realizado de forma concomitante ao estudo;
12. Não tomar vacinas;
13. Não alterar significativamente o estilo de vida: alimentação, tabagismo, esporte;
14. Não tomar, no dia do procedimento, banhos do tipo banheira, mar, piscina, ou, ainda, sauna ou banho turco;
15. Retornar a visita agendada no centro de investigação, respeitando as datas e horários de visitas;
16. Não permitir o uso do produto por outra pessoa.

ANEXO 6

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO PESSOAL

O objetivo deste questionário é medir o resultado do tratamento realizado na sua face. Marque, com um X, a melhor resposta.

Produto utilizado: () Formulação A ou () Formulação B

Lado microagulhado: () Direito () Esquerdo

INFORMAÇÃO DO VOLUNTÁRIO – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO PESSOAL

Data da avaliação: ___/___/___ Paciente nº:

Nome completo:

- 1- A sua pele apresentou alguma melhora com o tratamento?
() SIM () NÃO
- 2- Você notou alguma diferença no resultado entre o lado direito e esquerdo?
() SIM () NÃO
- 3- Se a resposta anterior foi SIM: Qual lado você percebeu melhor resposta ao tratamento?
() LADO DIREITO () LADO ESQUERDO

Para as questões abaixo, responda conforme seu grau de satisfação:

- 4- Aparência geral do lado direito:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 5- Aparência geral do lado esquerdo:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 6- Pigmentação da pele no lado direito:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 7- Pigmentação da pele no lado esquerdo:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 8- Textura da pele (aspereza) no lado direito:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 9- Textura da pele (aspereza) no lado esquerdo:
() MUITÍSSIMO () MUITO () POUCO () NADA
- 10- Como você classificaria a dor do procedimento realizado no seu rosto no lado direito (microagulhamento):
() MUITO DOLORIDO () RAZOAVELMENTE DOLORIDO
() POUCO DOLORIDO () INDOLOR
- 11- Quais os efeitos colaterais que você teve com o tratamento (24,29) no lado direito?
() DOR () VERMELHIDÃO () RESSECAMENTO

- IRRITAÇÃO ESFOLIAÇÃO DA PELE DOR DE CABEÇA (
 COCEIRA SUOR QUEIMAÇÃO
 OUTRO. QUAL? _____

12- Quais os efeitos colaterais que você teve com o tratamento (24,29) no lado esquerdo?

- DOR VERMELHIDÃO RESSECAMENTO (
 IRRITAÇÃO ESFOLIAÇÃO DA PELE DOR DE CABEÇA (
COCEIRA SUOR QUEIMAÇÃO
 OUTRO. QUAL? _____

Data e assinatura do voluntário:

_____/_____/_____

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Produto utilizado: () Concentração A ou () Concentração B

Lado microagulhado: () Direito () Esquerdo

Tempo de avaliação: () D21 () D111

INFORMAÇÃO DO VOLUNTÁRIO – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO CLÍNICA

Data da avaliação: ____/____/____

Dados de identificação do paciente

Paciente nº: _____ Prontuário: _____

Nome completo: _____

1. Exame Clínico:

Topografia das lesões: _____

Número de lesões:

() contagem possível, quantas lesões? _____

() presença de campo de cancerização, múltiplas lesões com impossibilidade de contagem

Presença de eritema: () Sim () Não

Presença de descamação: () Sim () Não

2. A pele do paciente apresentou alguma melhora clínica com o tratamento?

() SIM () NÃO

3. Aparência geral:

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

4. Pigmentação da pele:

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

5. Textura da pele:

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

6. Tamanho das lesões:

() 0 () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

Demarcação das lesões e tamanho:



Data e assinatura do responsável pelo estudo ou do técnico responsável designado por ele:

_____/_____/_____

ANEXO 8

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar do estudo clínico **“Ensaio clínico randomizado de microagulhamento seguido de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% versus uso de 5-fluorouracil 5% ou 0,5% isolado em ceratoses actínicas da face”**.

O objetivo deste estudo é comparar a eficácia do tratamento da ceratose actínica em dois diferentes grupos: 1) com o uso do microagulhamento, em um lado de seu rosto, associado a um medicamento, que será passado em todo o rosto, com 5- fluorouracil a 0,5%; 2) com o uso do microagulhamento, em um lado de seu rosto, associado ao tratamento, que é considerado referência, em todo o rosto, com o medicamento 5- fluorouracil a 5%. O microagulhamento é realizado com um aparelho chamado Dr. Roller, que é composto de várias microagulhas. Essas microagulhas, à medida que o aparelho é rolado na superfície de sua pele em diferentes direções, irão formar pequenos “canais”, permitindo, assim, que o medicamento, a ser aplicado posteriormente, alcance uma maior penetração. Sua pele será anestesiada com um creme anestésico, a fim de minimizar qualquer desconforto ou dor antes do procedimento de microagulhamento.

Você utilizará apenas um dos tratamentos até o final do estudo, podendo ser com formulação a 0,5% ou 5%. O grupo ao qual você pertencerá será definido por sorteio, não podendo ser escolhido por nenhum participante.

O médico responsável pelo estudo conversará com você sobre a lesão de pele que você possui, bem como sobre o procedimento chamado microagulhamento, que será realizado em um lado do seu rosto para tratamento, em conjunto com alguns cremes que serão aplicados. Você terá toda a assistência durante a pesquisa e poderá solicitar informações sobre o que não estiver claro antes, durante e depois da sua participação.

Você receberá a aplicação de uma sessão do procedimento microagulhamento em um lado do rosto (definido por sorteio e que não poderá ser escolhido por nenhum participante) e, posteriormente, receberá um medicamento para usar em casa. Esse medicamento deverá ser usado em ambos os lados da face, pela manhã e à noite, por 3 dias. No quarto dia, você virá para troca dos tubos do medicamento,

completando mais 12 dias de tratamento. O medicamento será aplicado imediatamente após o procedimento no rosto pelo técnico responsável do estudo. Posteriormente, você irá aplicar o medicamento em casa, conforme explicado pessoalmente e por escrito na folha informativa ao participante, que traz as orientações de uso. Você receberá um sabonete específico para limpeza do rosto e um filtro solar para aplicar em seguida, sendo estes fornecidos pelos pesquisadores.

Os riscos implicados com os tratamentos do estudo são pequenos. Entretanto, você poderá apresentar, eventualmente, sensação de desconforto discreta. Além disso, outros sintomas, que são esperados e normais para o procedimento de microagulhamento - como "pinicamento", ardência, coceira e leve vermelhidão -, devem ser leves e possivelmente reversíveis. Ao longo dos dias da aplicação do medicamento chamado 5-fluorouracil, poderão ocorrer, na área aplicada, efeitos como coceira, vermelhidão e sensação de queimação. Esses efeitos, na maioria das vezes, não impedem a continuidade do tratamento. Em caso de irritação superior na pele, o pesquisador irá acompanhá-lo até o seu desaparecimento. Os potenciais benefícios do estudo estão relacionados à resposta terapêutica favorável ao tratamento das ceratoses actínicas.

Você também deve informar ao responsável pelo estudo caso necessite realizar qualquer outro tratamento médico, incluindo o uso de novos medicamentos.

Caso você aceite participar, sua identidade não será revelada em momento algum e somente os pesquisadores terão acesso aos seus dados. Serão realizadas fotografias do seu rosto para comparar e verificar os resultados. Essas fotografias poderão ser usadas para apresentações médicas e para publicações de estudos em revistas médicas. Neste caso, serão tomados todos os cuidados para que não seja possível lhe identificar (olhos serão cobertos e o nome não será divulgado). Além disso, ao assinar este termo, você autoriza o acesso, por parte dos pesquisadores, aos dados clínicos do seu prontuário que se relacionam ao tratamento e que sejam necessários para a pesquisa.

A sua participação no presente projeto é totalmente voluntária. Você é livre para aceitar ou recusar a sua participação neste estudo, bem como para retirar o seu consentimento a qualquer momento, sem nenhum prejuízo ao seu atendimento neste hospital.

Você não terá custo com relação aos procedimentos previstos no estudo. Igualmente não está previsto nenhuma forma de pagamento ou reembolso.

Se concordar em participar desse estudo, você deve comparecer ao Centro de Pesquisa Clínica (CPC), no Hospital de Clínicas de Porto Alegre, no quarto dia e no vigésimo primeiro dia após o microagulhamento e noventa dias após o término do tratamento. Em todas as visitas, será avaliada a resposta ao tratamento através de novas fotografias. Em duas dessas visitas (primeiro e sétimo dia após o término do tratamento), serão aplicados, também, questionários a serem preenchidos pelo pesquisador. Após 21 dias, você responderá um questionário para avaliar o tratamento. Na primeira visita, em que será realizado o procedimento de microagulhamento, você precisará dispor de mais ou menos uma (1) hora. Nas demais visitas ao Centro de Pesquisa Clínica, o tempo médio necessário será de, aproximadamente, 30 minutos.

Os pesquisadores ficam à disposição para eventuais esclarecimentos sobre quaisquer aspectos relacionados à pesquisa. Pesquisador responsável: Dr. Renato Marchiori Bakos, Professor da Faculdade de Medicina da UFRGS, Ambulatório HCPA Zona 13, telefone (51) 33598023 e também pelo telefone (51) 33598571. A pesquisadora Dra. Célia Luiza Petersen Vitello Kalil também poderá esclarecer suas dúvidas nestes mesmos contatos. Você também poderá contatar o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), no 2º andar do HCPA, sala 2227, ou através do telefone 33597640, das 8h às 17h, de segunda à sexta.

Declaro que li atentamente e entendi este termo de consentimento, que foi explicado verbalmente a mim pelo responsável do estudo e assinado por ele e por mim, em duas vias. Uma via foi dada a mim e fui informado que devo mantê-la durante todo o período do estudo.

Local e Data: Porto Alegre, _____/_____/_____

Pesquisador: _____ Participante: _____

Ass.: _____ Ass.: _____

ANEXO 9

Imagens



Figura 1: 5-FU 5% , hemiface esquerda foi submetida ao microagulhamento



Figura 2: 5-FU 5% , hemiface direita foi submetida ao microagulhamento



Figura 3: 5-FU 0,5% , hemiface direita foi submetida ao microagulhamento



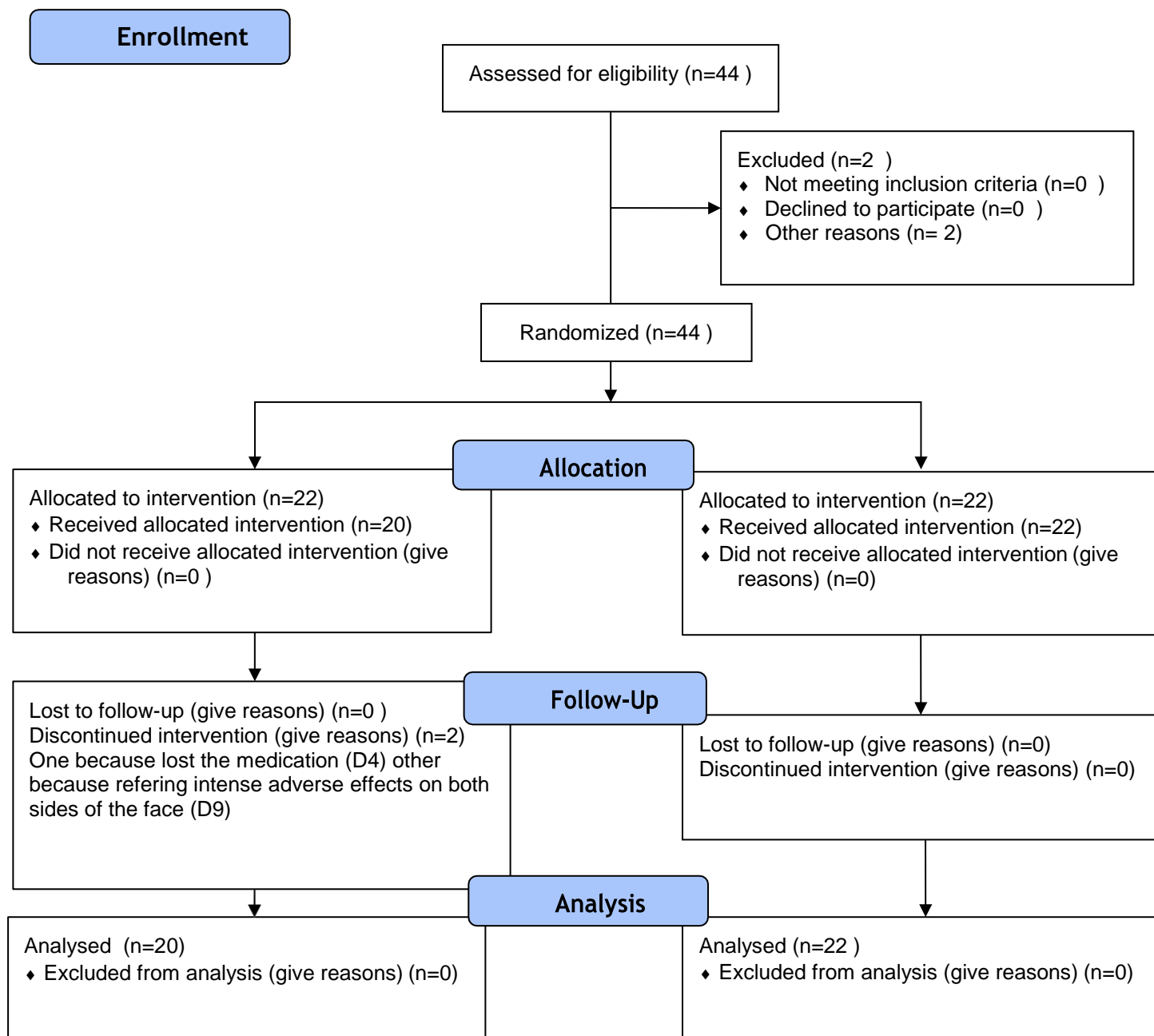
Figura 4: 5-FU 0,5% , hemiface esquerda foi submetida ao microagulhamento



CONSORT

TRANSPARENT REPORTING of TRIALS

CONSORT 2010 Flow Diagram





CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*

Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	<u>77</u>
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	<u>77-78</u>
Introduction			
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale	<u>78-80</u>
	2b	Specific objectives or hypotheses	<u>79</u>
Methods			
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	<u>79-81</u>
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	<u>79-80</u>
Participants	4a	Eligibility criteria for participants	<u>79-81</u>
	4b	Settings and locations where the data were collected	<u>80-81</u>
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	<u>79-81</u>
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	<u>79-81</u>
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	<u>No applicable</u>
Sample size	7a	How sample size was determined	<u>80</u>
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	<u>No applicable</u>
Randomisation:			
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence	<u>81</u>
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	<u>81</u>
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	<u>81</u>
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	<u>81-82</u>
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	<u>81</u>

		assessing outcomes) and how	
Statistical methods	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	<u>79-80</u>
	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	<u>80-81</u>
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	<u>80-81</u>
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	<u>81</u>
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	<u>81</u>
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	<u>79</u>
	14b	Why the trial ended or was stopped	<u>No applicable</u>
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	<u>82 - Table 1</u>
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	<u>82-83</u>
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	<u>81-84</u>
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	<u>81-84</u>
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	<u>81-84</u>
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	<u>83-84</u>
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	<u>85-87</u>
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	<u>77-88</u>
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	<u>77-88</u>
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	<u>76</u>
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	<u>No applicable</u>
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	<u>81,88</u>

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up to date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.