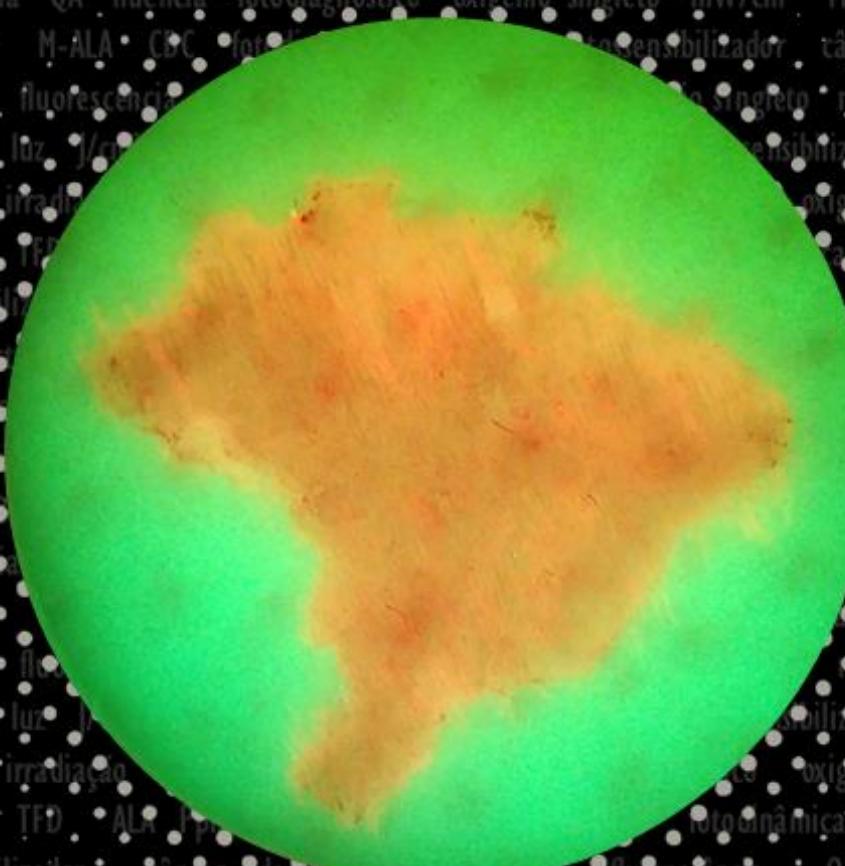


TERAPIA FOTODINÂMICA DERMATOLÓGICA

PROGRAMA TFD BRASIL

VOLUME 2

EDIÇÃO



VANDERLEI S. BAGNATO

MICHELLE B. REQUENA

ORGANIZADORES

**Terapia fotodinâmica
dermatológica: Programa TFD
Brasil**

Volume 2

Organização



IFSC UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO
Instituto de Física de São Carlos

Apoio e suporte financeiro



CENTRO DE PESQUISAS EM ÓPTICA E FOTÔNICA



Vanderlei S. Bagnato e Michelle B. Requena
[Organizadores]

**Terapia fotodinâmica
dermatológica: Programa TFD
Brasil**

Volume 2

Copyright© dos autores

Todos os direitos garantidos. Qualquer parte desta obra pode ser reproduzida, transmitida ou arquivada desde que levados em conta os direitos dos autores.

Vanderlei S. Bagnato e Michelle B. Requena [Organizadores]

Terapia fotodinâmica. São Carlos: Even3 Publicações Editora, 2023. 312 p.

ISBN 978-85-5722-550-3

1. Terapia fotodinâmica. 2. Câncer de pele não melanoma. 3. Lesões pré-malignas. 4. Estudo clínico. 5. Autores. I. Terapia fotodinâmica dermatológica: Programa TFD Brasil

CDD - 610

Capa: Michelle B. Requena. Mirian D. Stringasci, Lilian T. Moriyama e Dianeth Sara L. Bejar

Editor: Michelle Barreto Requena

Editora do e-book: Even3 Publicações

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programma-tfd-brasil-309087

Sumário

Prefácio	7
Câncer de pele: um problema de várias faces	9
Fundamentos de terapia fotodinâmica	21
Lesões com indicação e desafios da TFD tópica	32
Produtos farmacológicos nacionais.....	41
Formulações tópicas do ácido 5-aminolevulínico: fundamentos, aplicações e inovações nas formulações farmacêuticas	50
Equipamentos para tratamento e monitoramento de terapia fotodinâmica	66
Terapia fotodinâmica Brasil – Protocolo clínico desenvolvido e resultados do programa nacional.....	75
A terapia fotodinâmica e sua disponibilidade no Sistema Único de Saúde	85
Casos de TFD aplicados na Santa Casa de Misericórdia de São Carlos-SP	98
Terapia fotodinâmica no Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA) - Rio de Janeiro	112
Avaliação da resposta terapêutica em longo prazo de pacientes portadores de carcinoma basocelular submetidos à terapia fotodinâmica	120
Análise comparativa entre terapia fotodinâmica plataforma LINCE versus criocirurgia no tratamento do carcinoma basocelular de baixo risco – estudo prospectivo randomizado ...	139
Tratamento do câncer de pele por TFD guiada por fluorescência de campo amplo em idosos na região nordeste do RGS – série de casos.....	152

Tratamento das ceratoses actínicas em MMSS e face com terapia fotodinâmica (TFD) em Sinop (MT).....	160
Terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência no tratamento da queilite actínica	171
Sistemas de irradiação de áreas extensas para o tratamento de campo de cancerização com terapia fotodinâmica	181
Dispositivo de irradiação de área grande ergonômico para aplicação de terapia fotodinâmica	191
Dispositivo para monitoramento da terapia fotodinâmica por imagens de infravermelho.....	200
Dispositivo de irradiação portátil para realização de parte da terapia fotodinâmica fora do ambiente hospitalar	206
Desenvolvimento do protocolo “Single visit” e resultados	215
Uso de dermógrafo para otimização da entrega do creme.....	234
Utilização da termografia na discriminação e no monitoramento de leões de pele.....	245
Princípios do uso de tempo de vida de fluorescência na caracterização e diagnóstico de lesões	253
Microagulhas dissolvíveis contendo ALA para otimização da terapia fotodinâmica	273
A terapia sonofotodinâmica na oncologia	287
Uso do aumento da temperatura na superfície para promover o aumento da produção da PpIX no tecido.....	305

Prefácio

A incidência de câncer de pele não melanoma no Brasil e no mundo tem altos índices e cresce continuamente. Detectadas suspeitas de alteração na pele, o médico normalmente acompanha a evolução da lesão com relação à assimetria, bordas, coloração e diâmetro. Comprovado que se trata de lesão maligna, a opção que a medicina indica de forma mais frequente é a cirurgia. Dependendo da localização e extensão, também pode ser necessária cirurgia plástica para reconstrução e reparo. Em certos casos, pode-se recomendar ainda a quimioterapia ou mesmo a radioterapia. Soluções, portanto, existem, mas elas precisam de infraestrutura apropriada e médicos especializados alocados de forma distribuída pelo país para suprir a tão alta demanda. Como nem sempre todos estes fatores estão simultaneamente reunidos o suficiente nas diversas posições geográficas do país, o câncer de pele acaba por não receber a atenção adequada e se transforma em um problema de saúde pública de alta relevância.

Soluções adequadas para os problemas de saúde devem estar intrinsecamente conectadas com a realidade econômica. Na prática, dado o alto índice de lesões e a logística para o tratamento pelo sistema público de saúde, o tempo que leva entre o diagnóstico e o tratamento de fato faz com que ocorram acúmulo e agravamento dos casos. O mesmo ocorre para o tratamento de queratoses actínicas, lesões pré-malignas que afetam um número extremamente elevado de pessoas e que podem evoluir para lesões graves de câncer de pele. O problema é que as queratoses actínicas, em geral, acometem áreas relativamente grandes de forma disseminada, dificultando sua remoção cirúrgica. Tratamentos tópicos podem ser adotados, mas então novamente recaímos no problema de custo e eficiência que dependem ainda da administração pelo próprio paciente.

Ao apresentar todos estes aspectos relevantes ao tratamento do câncer de pele, o que se quer mostrar é que é imperativo que as opções de tratamento sejam ampliadas. Apenas adotando novas abordagens será possível superar as barreiras que se apresentam para vencer o desafio do câncer de pele frente à realidade brasileira. Neste contexto, a terapia fotodinâmica (TFD) já é uma técnica bem estabelecida em todo o mundo, e apresenta muitas vantagens para o tratamento do câncer de pele não melanoma e também para as queratoses actínicas, mesmo aquelas que acometem grandes áreas. A simplicidade da técnica, aliada à facilidade em treinar profissionais e realizar procedimentos em ambulatórios, tornam a TFD uma excelente opção terapêutica. Outros países, entre eles França, Alemanha, Estados Unidos, China e Japão, vêm produzindo um grande

número de avanços nesta técnica. Poucos, no entanto, têm superado os desenvolvimentos e avanços feitos no Brasil, particularmente em decorrência do projeto TFD Brasil. Este projeto é resultado de um esforço para melhorar a eficiência da técnica e tornar dispositivos de irradiação e fármacos acessíveis, e foi inicialmente financiado pelo BNDES e pela Finep, e, posteriormente, pela FAPESP e o CNPq. Como consequência deste esforço, a TFD vem se tornando uma realidade no Brasil, e as inovações introduzidas permitiram atingir excelentes margens de eficiência. Somos o único país fora da Europa e da América do Norte a produzir os equipamentos e fármacos vinculados a um programa com a participação de inúmeros centros espalhados pelo país. Com a evolução do nosso protocolo, as duas sessões tradicionais de irradiação espaçadas de uma semana passaram a ser aplicadas em um único dia, e como resultado foi possível atingir cerca de 95% de eliminação de lesões. As inovações em TFD não param por aí: estamos caminhando para ampliar ainda mais a eficiência com o uso de microagulhas dissolvíveis e com iniciativas para diminuir o tempo de incubação e a dor do paciente durante o tratamento.

Espalhados pelo Brasil, tivemos cerca de 70 centros parceiros ao nosso projeto, o que o coloca como um dos maiores estudos clínicos multicêntricos para câncer de pele em todo o mundo. Atualmente, contamos com a participação de novos parceiros internacionais, incluindo o apoio da organização americana *Global Health* e o suporte da agência de pesquisas médicas americana, o *National Institutes for Health* (NIH), para os novos desafios. Consideramos que agora é a hora e o Brasil o local para incorporar a TFD na medicina social, dadas as suas inúmeras vantagens.

Neste segundo volume do livro “Terapia fotodinâmica dermatológica: Programa TFD Brasil” fazemos um apanhado geral de todo o progresso do programa TFD Brasil, descrevendo seus desdobramentos, os quais trazem resultados positivos de grande monta e elevada relevância. Reunimos aqui os avanços gerais e os resultados de parceiros clínicos, e procuramos demonstrar quanto preparados já estamos para que a TFD seja uma opção sempre presente nos serviços de saúde no Brasil.

Aos numerosos parceiros deste programa, nossos sinceros agradecimentos, pois estes avanços não seriam possíveis sem sua participação e motivação. Em especial, nossos agradecimentos às empresas que produziram os equipamentos e fármacos, ao Hospital Amaral Carvalho em Jaú-SP, e ao Instituto Nacional do Câncer (INCA) no Rio de Janeiro-RJ, grandes parceiros e legitimadores deste projeto.

Câncer de pele: um problema de várias faces

Vanderlei S. Bagnato e Michelle B. Requena

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

O câncer de pele não melanoma é o tipo de câncer mais incidente no país, sendo considerado um problema de saúde pública que implica em problemas econômicos, sociais e de logística relacionados ao tratamento desta população. Neste contexto, a terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica ambulatorial efetiva, de simples aplicação e que exige infraestrutura mínima para implementação sendo, portanto, uma opção alternativa viável para lidar com estes problemas no Brasil. Este capítulo descreve um breve histórico da evolução da pesquisa e aplicação da TFD no Grupo de Óptica do IFSC-USP e as consequências dessa evolução para o cenário atual da TFD no Brasil, incluindo a perspectiva de incorporação da técnica no Sistema Único de Saúde.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605402

Câncer de pele: um problema de várias faces

1. Câncer de pele e o uso da terapia fotodinâmica

A principal organização de saúde dos EUA, a *National Institute for Health* (NIH), deu em 2013 um destaque especial ao câncer de pele descrevendo-o como “um vilão silencioso que rouba a cena da saúde da população”, alertando ao problema na capa de sua revista (Figura 1) [1]. Aqui no Brasil, serão praticamente mais que 200 mil novos casos de câncer de pele não melanoma para serem tratados por ano nos próximos anos, considerando a progressão da estimativa do Instituto Nacional de Câncer (INCA) feita em 2020 [2]. Se for tratado rapidamente, há grandes chances de cura, se demorar, as complicações começam a aparecer. Este é o nosso grande obstáculo, resolver rápido o problema, principalmente dentro da atuação da medicina social.



Figura 1. Capa da revista “NIH MedlinePlus the Magazine” publicada em 2013.

É necessário ter técnicas que permitam realizar de forma simples, segura e que sejam minimamente invasivas na eliminação destas lesões. O Sistema Único de Saúde (SUS) não tem conseguido levar adiante o tratamento de forma ágil e no número de procedimentos diários que

precisamos. Com a pandemia do SARS-COV2, a COVID19, a situação ficou muito pior. Os casos de câncer de pele foram deixados como baixa prioridade perante o problema maior, e agora, após dois anos, podemos imaginar que o número de pessoas precisando de atendimento com relação a este tipo de lesão, já supera o meio milhão de pessoas.

No Brasil, o câncer de pele tem várias faces. Primeiramente é um *problema de saúde*. Com um número de novos casos anuais, entre homens e mulheres, que beira os 200 mil [2], qualquer doença se torna um problema de saúde e que deve ser olhado segundo os olhos técnicos da gestão de saúde pública. O sistema de saúde deve estar preparado para lidar com o problema de forma completa. É também um *problema econômico*, pois sendo a maioria das pessoas atingidas pela doença dependentes de custeio público para sua solução, o problema torna-se econômico, entrando aqui o fato que para poder mitigar isto, as tabelas de pagamento por lesão removida cirurgicamente estão muito aquém do custo verdadeiro, criando problemas adicionais de *déficit* para as instituições que praticam a saúde pública. É um *problema de logística*, pois os centros de tratamento do país estão localizados em alguns pontos, sendo necessário para os pacientes grandes deslocamentos e estadias fora de seu local de residência. Este fato cria sérios problemas de transporte das pessoas e, principalmente, sobrecarrega os pacientes que devem arcar com tais custos na maioria das vezes. Finalmente, é um *problema social*, atingindo indiscriminadamente as diversas classes sociais, os menos providos de recursos ficam dependentes de longas esperas, fato que torna a situação pior e cria um fator de desencorajamento para procura de tratamento nos instantes iniciais do aparecimento da lesão, agravando o problema dentre as classes menos privilegiadas economicamente. É comum, ao visitarmos famílias, descobrir que sempre há membros sêniores com lesões seja de queratoses actínias, queilites labiais ou mesmo lesões de câncer de pele, e que não procuraram ainda o serviço médico.

Um problema multifacetado desta forma precisa ter solução que não

Câncer de pele: um problema de várias faces

resolve apenas um aspecto, mas o conjunto. Ter técnicas que se encaixem na realidade econômica da nação, que são fáceis de serem aplicadas pelos profissionais da saúde e que possam ser colocadas em diversos centros são alguns dos requisitos a serem cumpridos. Neste contexto, a terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica que se aproxima de forma adequada de ser uma solução para parte deste problema.

A TFD é uma técnica que, embora recente, já é bastante estudada e desenvolvida, tendo como base a aplicação de um agente fotossensibilizador (“fármaco”) e uma luz de comprimento de onda (“cor”) específica para ativar o fármaco, uma vez que esta esteja localizada na lesão (o que leva um tempo e que depende, por sua vez, do fármaco utilizado e do meio de administração do mesmo). A combinação de fármaco e luz leva a uma foto-reação que produz agentes citotóxicos gerados a partir da presença de oxigênio molecular, levando aquela parte do tecido biológico à morte. A reação fotodinâmica não ocorre com a administração do fármaco ou com a utilização da luz isoladamente.

A TFD é de uso bastante amplo, atingindo diversos tipos de tumores e localizações. No caso de câncer ou lesões de pele em geral, o acúmulo do fotossensibilizador é induzido no paciente através da aplicação de um creme contendo ácido aminolevulínico (ALA) ou um de seus derivados (aminolevulinato de metila, M-ALA). Uma vez colocado sobre as lesões, o ALA começa um processo de penetração nas células e entra em seu metabolismo, produzindo a protoporfirina IX (PpIX), uma porfirina endógena. Assim, o ALA é dito ser um agente precursor da PpIX, a qual é de fato o agente fotossensibilizador. A PpIX que constitui as moléculas a serem excitadas pela luz e a produção de espécies reativas de oxigênio e subsequente morte celular. Seu princípio é simples e funciona bem se pudermos garantir que todos os ingredientes necessários estão presentes.

Ao longo destes últimos 25 anos, temos desenvolvido a técnica dentro de nossos laboratórios e com os parceiros clínicos, de modo a torná-la bem equipada e com resultados satisfatórios. Nossa trabalho iniciou em 1997,

quando junto ao Hospital Amaral Carvalho de Jaú, montamos uma facilidade com lasers e demos início aos primeiros tratamentos (Figura 2).



Figura 2. Primeira instalação a laser para TFD no Hospital Amaral Carvalho de Jaú. Uma sala completa dedicada ao aparelho, sendo que a luz era levada por fibras ópticas às salas de tratamento.

Na época, as lesões tratadas eram preferencialmente em regiões de cabeça e pescoço, mas logo depois migramos para outras regiões anatômicas. O sucesso da técnicaatraia muitas pessoas de diversos locais do país e os resultados iam ficando cada vez melhores. Para as lesões de pele e uso de medicamento sistêmico, tínhamos um sucesso de cerca de 90%, um dos casos está ilustrado na Figura 3.

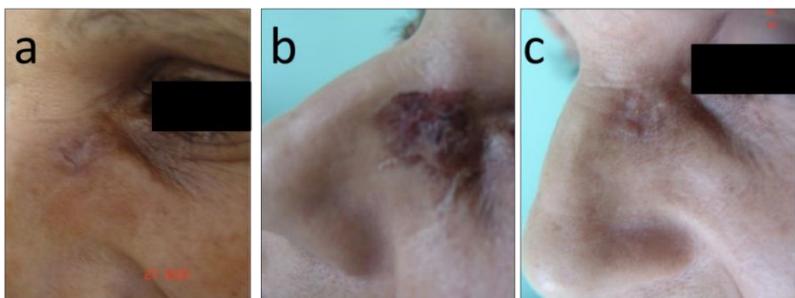


Figura 3. Paciente tratado com carcinoma basocelular e droga sistêmica no inicio dos procedimentos de TFD no Hospital Amaral Carvalho em Jaú, sendo a) antes do tratamento, b) 30 dias após o tratamento e c) 6 meses após o tratamento.

Câncer de pele: um problema de várias faces

No entanto, a droga sistêmica, apesar de ser excelente para as lesões de cavidade bucal, esôfago, bexiga, e outras várias, era inconveniente para as lesões de pele por ser cara e provocar sensibilidade à luz de toda a pele por um período de cerca de 15 dias. Ao redor de 2005, nosso laboratório começou a realização dos ensaios e pesquisa clínica com a medicação tópica, inicialmente baseada no ALA e, posteriormente, no M-ALA. Com o uso do creme tópico, iniciamos uma nova rota de melhoria da eficiência e da forma de realização do procedimento.

O princípio da técnica é simples: passa-se uma pomada, se espera algumas horas e ilumina-se a lesão com a luz específica. O instrumento (LINCE®, MMOptics, São Carlos, SP) desenvolvido pelas empresas brasileiras conjugou pela primeira vez um sistema para verificar que a lesão está preparada para ser tratada bem como saber se o tratamento foi bem sucedido após a iluminação (Figura 4). Este procedimento chama-se “monitoramento por fluorescência óptica”.



Figura 4. Equipamento LINCE®, o primeiro a conjugar monitoramento por fluorescência ao tratamento por TFD.

Com o uso de fluorescência óptica (Figura 5a) guiando o procedimento (Figura 5b), o sucesso da aplicação tópica foi aumentando. Com um rendimento inicial abaixo de 80% de eliminação completa das lesões,

passou-se rapidamente a mais de 85% [3]. Isto já é um resultado significativo demonstrando que não havia um limite intrínseco da técnica, e motivou a introdução de diversas outras melhorias para se chegar hoje a mais de 95% de eficiência na eliminação das pequenas lesões de carcinoma basocelular [4]. Hoje, como evolução do dispositivo, temos estudos clínicos em andamento para avaliação da eficiência com um dispositivo portátil de irradiação (Figura 5c) para permitir que parte do tratamento seja feito fora do hospital, mantendo a mesma taxa de cura (mais detalhes no capítulo: *Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico*).

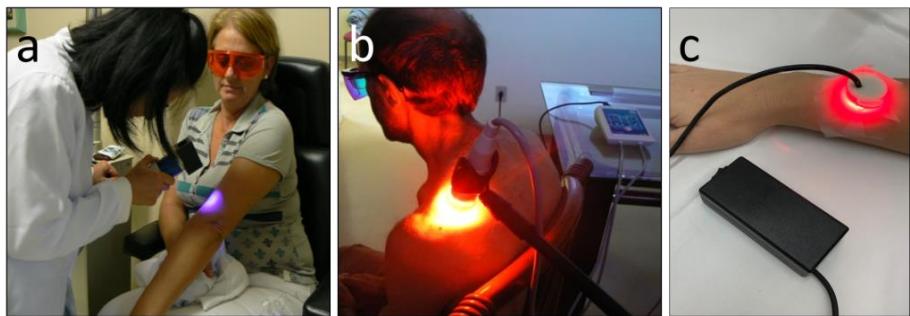


Figura 5. Da introdução do a) procedimento guiado por fluorescência, aos b) protótipos de irradiação até o c) dispositivo “PDT home”; demonstrando como a evolução da pesquisa tornou a técnica melhor, segura e eficiente.

Ao longo destes mais de 15 anos, mais de 12 alunos de pós-graduação aliados a mais de 8 pós-doutores e cerca de 70 parceiros clínicos espalhados pelo país, tornou a técnica uma realidade copiada no mundo. São mais de 30 trabalhos científicos em excelentes revistas, colocando a prova os procedimentos e realizando discussões diversas. A Figura 6 contem algumas das publicações relacionadas à otimização da técnica obtida em experimentos pré-clínicos e resultados da aplicação em estudos clínicos.

Câncer de pele: um problema de várias faces

The figure displays a grid of 16 academic publications, likely from Elsevier journals, arranged in a 4x4 grid. Each publication includes the journal title, volume, issue, and page numbers, along with abstracts and some with full text or links.

- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Volume 2, Issue 2, June 2005, Pages 107-118
REVIEW
PDT experience in Brazil: A regional profile
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Volume 11, Issue 1, March 2014, Pages 22-26
Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project
- British Journal of Dermatology**
Full Access
Topical photodynamic therapy for Bowen's disease of the digit in epidermolysis bullosa
- Optimized photodynamic therapy with systemic photosensitizer following debulking technique for nonmelanoma skin cancers**
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
Case report
Photodynamic therapy in combination with surgery for the treatment of an extensive squamous cell carcinoma in situ - A case report
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
Field cancerization treatment using topical photodynamic therapy: A comparison between two aminolevulinic derivatives
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
Single visit PDT for basal cell carcinoma – A new therapeutic protocol
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
A new photodynamic therapy protocol for nodular basal cell carcinoma treatment: Effectiveness and long-term follow-up
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
A quantitative study of *in vivo* protoporphyrin IX fluorescence build up during occlusive treatment phases
- Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care**
- Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, journal homepage: www.elsevier.com/locate/pdpdt
Identification of skin lesions through aminolevulinic acid-mediated photodynamic detection
- Lasers in Medical Science**
https://doi.org/10.1007/s10103-019-02771-y
ORIGINAL ARTICLE
Topical and intradermal delivery of PpIX precursors for photodynamic therapy with intense pulsed light on porcine skin model
- Cancer Control**, Volume 26, 1-12
DOI: 10.1177/1073274019846885
SAGE
Journal of
BIPHOTONICS
Full Article
Assessment of ALA-induced PpIX production in porcine skin pretreated with microneedles
- J. Biophotonics** 1–7 (2014) / DOI 10.1002/jbio.201400011
JOURNAL OF APPLIED PHYSICS 124, 044701 (2015)
Discrimination of benign-versus-malignant skin lesions by thermographic images using support vector machine classifier

Figura 6. Algumas das publicações que relatam os avanços introduzidos pelo grupo brasileiro ao cenário mundial para discussões e aperfeiçoamento da TFD [3-16].

O uso de uma técnica como esta pode transformar em muito fácil o tratamento do câncer de pele. Sendo de fácil treinamento dos profissionais, a TFD pode chegar às regiões do Brasil que a medicina ainda tem tido dificuldades em chegar. Além disto, ela é rápida e poderia evitar

as longas esperas por cirurgias. Finalmente, o custo da técnica encaixa-se perfeitamente na realidade econômica da nação.

A ação fotodinâmica no tratamento de tumores tem sido amplamente utilizada no mundo e já adotada como parte das técnicas recomendadas por países da Europa e EUA. Além disso, ela é também recomendada pelo INCA [17], pela Sociedade Brasileira de Dermatologia [18], Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica [19] e Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica [20]. Sua eficácia tem aumentado de forma acentuada nos últimos anos. Em recente feito pelo *British Journal of Dermatology* (BJD) e publicado em 2018, mostra-se uma revisão sistemática com metanálise para o tratamento com TFD de carcinoma basocelular de baixo risco, com resultados muito aceitáveis, considerando a TFD como um tratamento eficaz, com excelentes resultados estéticos e segurança [21]. Salientamos, no entanto, que os resultados mais recentes superam em muitas estas revisões de literatura que levam em conta a TFD desde seus primórdios. Este é um ponto que deve sempre ser considerado com cuidado. Os avanços que grupos de pesquisa, como o nosso no Brasil, promoveu, melhorou muito a TFD com aplicação tópica, a ponto de ser comparada com resultados obtidos pelas melhores cirurgias. A técnica esta agora sendo considerada para aprovação junto ao SUS, e isto trará benefícios a todos, desde os pacientes até os profissionais da saúde.

O impacto na saúde pública que esta aprovação deve ter é imenso. Como dito pelo próprio responsável pelo setor de câncer de pele do INCA, A TFD pode mudar a forma de manuseio do câncer de pele não melanoma no Brasil, pela sua facilidade de instalação, baixo custo e rapidez no manuseio do paciente. A não internação gera grandes vantagens para a técnica. Além deste impacto na saúde, teremos impacto econômico. O custo do tratamento está ligado basicamente ao custo do medicamento, que já atinge níveis de preços compatíveis como a realidade econômica do SUS e o número de pacientes a serem tratados. O equipamento, se paga em alguns procedimentos e tem longa durabilidade. O grande impacto

Câncer de pele: um problema de várias faces

pretendido advém da capilaridade que o processo pode ter. Não sendo necessário o transporte de pacientes, já que TFD é segura e sem efeitos colaterais, deve permitir tratamentos mais rápidos, fato essencial para não permitir evolução dos tumores basocelular que aparecem em centenas na população brasileira.

Além de tudo isto, temos enormes perspectivas do uso da técnica para tratamento das regiões de cancerização, as queilites labiais e também as queratoses actínicas (QA) presentes em muitos brasileiros (uma vez cada lesão de QA pode evoluir para carcinoma espinocelular a uma taxa estimada entre 0,025% e 16% ao ano [22]). Os avanços com o desenvolvimento de micro agulhas solúveis, e fontes para realização de TFD fora dos hospitais adicionam ainda mais perspectivas para esta técnica e sua aprovação.

É por todas estas considerações que a técnica de TFD deve ser familiar a todos e chegar à aprovação dentro do sistema SUS.

Referências bibliográficas

- [1] Skin cancer strike anyone. *NIH MedlinePlus the Magazine*, 2013, pp. 4–10.
- [2] Câncer de pele não melanoma. *Instituto Nacional de Câncer - INCA*, <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/pele-nao-melanoma> (2022, accessed 9 November 2022).
- [3] Buzzá HH, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, *et al.* Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care. *Cancer Control* 2019; 26: 107327481985688.
- [4] Ramirez DP, Moriyama LT, De Oliveira ER, *et al.* Single visit PDT for basal cell carcinoma – a new therapeutic protocol. *Photodiagnosis Photodyn* 2019; 26: 375–382.
- [5] Souza CS, Felício LBA, Bentley MV, *et al.* Topical photodynamic therapy for Bowen's disease of the digit in epidermolysis bullosa. *Br J Dermatol* 2005; 153: 672–674.
- [6] Souza CS, Neves ABS, Felício LAB, *et al.* Optimized photodynamic therapy

- with systemic photosensitizer following debulking technique for nonmelanoma skin cancers. *Dermatologic Surg* 2007; 33: 194–198.
- [7] Buzzá HH, Silva APD, Vollet Filho JD, *et al.* Photodynamic therapy: Progress toward a scientific and clinical network in Latin America. *Photodiagnosis Photodyn Ther*; 13. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2015.08.004.
 - [8] Salvio AG, Stringasci MD, Requena MB, *et al.* Photodynamic therapy in combination with surgery for the treatment of an extensive squamous cell carcinoma in situ - A case report. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 30: 101700.
 - [9] Oliveira ER, Inada NM, Blanco KC, *et al.* Field cancerization treatment using topical photodynamic therapy: A comparison between two aminolevulinate derivatives. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.101603.
 - [10] Salvio AG, Veneziano DB, Moriyama LT, *et al.* A new photodynamic therapy protocol for nodular basal cell carcinoma treatment: Effectiveness and long-term follow-up. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2022; 37: 1–7.
 - [11] Campbell CL, Brown CTA, Wood K, *et al.* A quantitative study of in vivo protoporphyrin IX fluorescence build up during occlusive treatment phases. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2017.02.004.
 - [12] Andrade CT, Vollet-Filho JD, Salvio AG, *et al.* Identification of skin lesions through aminolaevulinic acid-mediated photodynamic detection. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 409–415.
 - [13] Fujita AKL, Rodrigues PGS, Requena MB, *et al.* Fluorescence evaluations for porphyrin formation during topical PDT using ALA and methyl-ALA mixtures in pig skin models. *Photodiagnosis Photodyn Ther*; 15. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2016.05.008.
 - [14] Rodrigues PGS, Menezes PFC, Fujita AKL, *et al.* Assessment of ALA-induced PpIX production in porcine skin pretreated with microneedles. *J Biophotonics* 2015; 8: 723–729.
 - [15] Requena MB, Vollet Filho JD, de Nardi AB, *et al.* Topical and intradermal delivery of PpIX precursors for photodynamic therapy with intense pulsed light on porcine skin model. *Lasers Med Sci*. Epub ahead of print 22 March 2019. DOI: 10.1007/s10103-019-02771-y.
 - [16] Stringasci MD, Salvio AG, Neto DS, *et al.* Discrimination of benign-versus-malignant skin lesions by thermographic images using support vector

Câncer de pele: um problema de várias faces

- machine classifier. *J Appl Phys* 2018; 124: 044701.
- [17] Versão para profissionais de saúde, <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-pele-nao-melanoma/profissional-de-saude> (2022, accessed 9 November 2022).
 - [18] Câncer da pele, <https://www.sbd.org.br/doencas/cancer-da-pele> (2022, accessed 9 November 2022).
 - [19] Terapia Fotodinâmica (PDT), <https://www.sbcd.org.br/procedimentos/oncologicos/terapia-fotodinamica-pdt> (accessed 9 November 2022).
 - [20] Tumores Cutâneos, <http://www2.cirurgiaplastica.org.br/cirurgias-e-procedimentos/face/tumores-cutaneos> (2022, accessed 9 November 2022).
 - [21] Collier NJ, Haylett AK, Wong TH, *et al.* Photodynamic therapy for basal cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2018; 179: e237–e237.
 - [22] Ratushny V, Gober MD, Hick R, *et al.* From keratinocyte to cancer: The pathogenesis and modeling of cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Clinical Investigation*. Epub ahead of print 2012. DOI: 10.1172/JCI57415.

Fundamentos de terapia fotodinâmica

Lilian Tan Moriyama e Clóvis Grecco

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

A terapia fotodinâmica é uma modalidade terapêutica bem estabelecida aplicada clinicamente na oncologia, oftalmologia, dermatologia, odontologia, entre outras áreas. Essa terapia baseia-se na ativação por luz de um agente fotossensibilizador, resultando na transferência de energia e desencadeando a formação de espécies reativas de oxigênio que são citotóxicas, capazes de induzir células à morte. Para que a terapia fotodinâmica seja corretamente indicada e aplicada no tratamento de doenças, é de extrema importância conhecer os fundamentos envolvidos. Neste capítulo apresentamos os conceitos básicos de interação da luz com tecidos biológicos e da fotoquímica e fotofísica envolvidas na TFD.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605404

1 Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica que se baseia em processos fotoquímicos e fotofísicos para induzir células à morte. Esta terapêutica tem sido utilizada no tratamento local de diversas neoplasias e vem conquistando espaço dentre as modalidades de tratamento do câncer no mundo e no Brasil. Para que essas reações fotoquímicas e fotofísicas ocorram, três ingredientes são primordiais: um fotossensibilizador, a luz e o oxigênio molecular presente no tecido.

A primeira etapa para aplicação da TFD é a administração de uma substância conhecida como fotossensibilizador (FS), que pode ser aplicada por via sistêmica, local ou tópica em um paciente que tenha uma lesão neoplásica (que pode ser maligna ou não). Após a administração do fotossensibilizador, aguarda-se um período de tempo para que o FS acumule-se preferencialmente nas células-alvo; em seguida, utilizando uma fonte de luz em comprimento de onda adequado ao FS que está sendo utilizado, é realizada a iluminação da lesão (Figura 1). Durante a iluminação, as moléculas do FS absorvem energia e vão para um estado energético mais alto, e ao retornarem para o estado fundamental, transferem energia para outras moléculas que estão ao seu redor, principalmente o oxigênio molecular, desencadeando a formação de espécies citotóxicas que levam as células e consequentemente o tecido-alvo à morte [1, 2].

Apesar de parecer um procedimento simples, para que a TFD seja um procedimento bem sucedido é importante o estabelecimento de uma correta dosimetria. Existe uma grande variação das propriedades ópticas durante o procedimento devido às interfaces fibra/ar/água/tecido. Quando a luz chega ao tecido, ainda há de se considerar os efeitos de espalhamento e absorção. Além disso, a existência de macromoléculas presentes no constituinte celular, a eficiência de geração de oxigênio singlet e a eficiência de formação de espécies reativas de oxigênio, são fatores importantes a serem considerados para estabelecer a dosimetria da TFD.

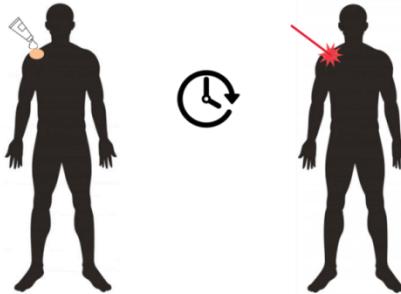


Figura 1. O procedimento padrão da TFD: inicia-se com a fotossensibilização do paciente/lesão, seguido de um tempo de espera para o acúmulo do FS no tecido alvo e finaliza com a iluminação da lesão.

Neste capítulo, serão apresentados: um breve comentário sobre a interação da luz com o tecido biológico, uma visão geral dos processos fotoquímicos que levam a produção de substâncias citotóxica, e a importância do oxigênio neste processo.

2 Interação da luz com os tecidos biológicos

A luz é o ingrediente que ativa as reações fotodinâmicas. É importante saber que a fonte de luz para a TFD deve ser adequada ao fotossensibilizador utilizado e deve ter algumas características específicas para o estabelecimento da correta dosimetria.

Quando a luz incide em um tecido biológico, diferentes processos podem acontecer: reflexão, refração, transmissão, espalhamento e absorção. A ocorrência destes processos depende das propriedades ópticas do tecido que são intrínsecas de cada tecido biológico. As possíveis interações que podem ocorrer entre luz e o tecido biológico estão representadas na Figura 2.

Sempre que um feixe de luz incide na superfície de um tecido biológico, uma pequena porção dele sofre reflexão especular, isto é, o ângulo do feixe refletido tem o mesmo ângulo do feixe incidente. Ao adentrar o tecido biológico, o feixe sofre o fenômeno da refração, que ocorre devido diferenças de índice de refração no meio, neste caso, ocorrem

Fundamentos de terapia fotodinâmica

desvios no ângulo de propagação da luz. O espalhamento da luz é o fenômeno cujo efeito é mais evidente, pois é ele que faz com que a luz sofra mudanças na direção de propagação, fazendo com que um volume de tecido seja iluminado. Um exemplo disso ocorre quando iluminamos a ponta do dedo com um *laser pointer* vermelho, o feixe colimado (de poucos milímetros de diâmetro) que atinge a pele propaga-se fazendo com que toda a ponta do dedo fique iluminada.

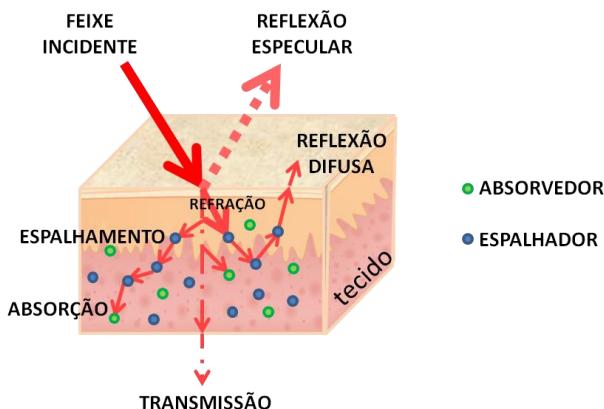


Figura 2. Possíveis interações que podem ocorrer entre a luz e o tecido biológico.

O espalhamento é também um dos grandes responsáveis pela perda de intensidade da luz conforme ela se propaga no tecido. No entanto, a absorção é o evento mais relevante para perda de intensidade de luz e é ela também que limita a profundidade de penetração nos tecidos. É a absorção de luz pelos cromóforos do tecido (água, melanina, oxi e desoxihemoglobina e citocromos) que promovem os efeitos biológicos de qualquer modalidade de fototerapia. Sem absorção de luz, não há efeito terapêutico. A Figura 3 sumariza os principais fenômenos da interação da luz com o tecido biológico e seus respectivos efeitos.

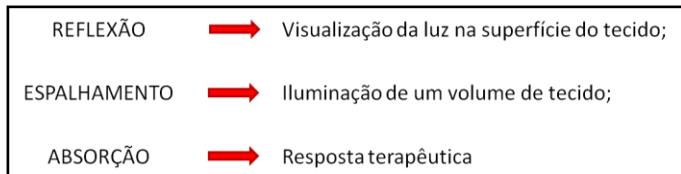


Figura 3. Tipos de interação da luz com o tecido e respectivo efeito promovido.

É importante ressaltar que essas interações dependerão do comprimento de onda da luz e da composição do tecido, de modo que a escolha da fonte de luz dependerá do efeito que se deseja promover no tecido. A Figura 4 mostra a profundidade de penetração da luz na pele para vários comprimentos de onda na região do ultravioleta até o infravermelho próximo.

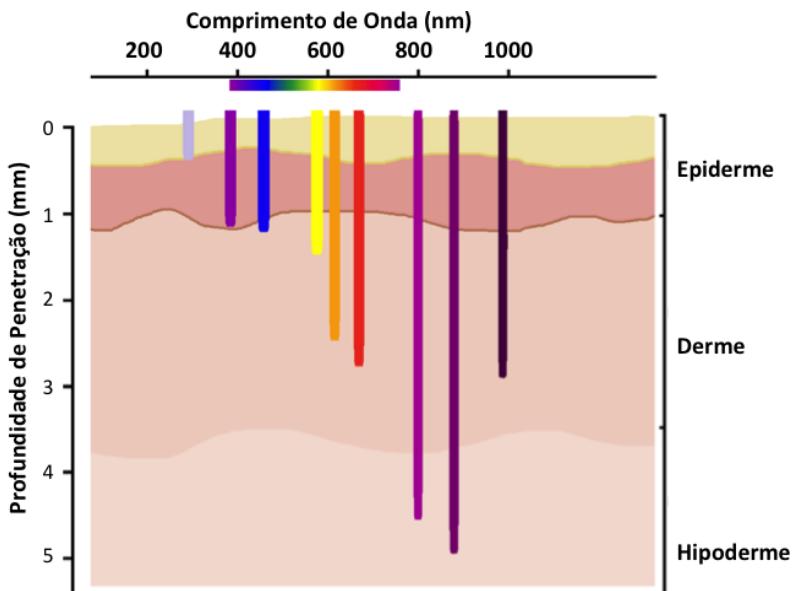


Figura 4. Profundidades de penetração da luz para diferentes comprimentos de onda. Comprimentos de onda menores são absorvidos pelos constituintes do tecido biológico, limitando a penetração da luz.

Observe que luz na região do ultravioleta apresenta penetração muito superficial na pele, restringindo-se apenas às primeiras camadas de célula da epiderme. Conforme se aumenta o comprimento de onda para a região

Fundamentos de terapia fotodinâmica

do vermelho, a penetração aumenta, podendo chegar a cerca de 3 mm de profundidade. Maiores profundidades podem ser alcançadas quando se utiliza comprimentos de onda na região do infravermelho próximo, no intervalo de 800 a 900 nm, aumentando para 1000 nm, a penetração da luz volta a diminuir, devido à alta absorção da água nesta região do espectro (Figura).

Esta penetração da luz na pele está diretamente relacionada aos constituintes do tecido, que absorvem luz de maneira diferente. Tanto a melanina quanto a hemoglobina, possuem alta absorção em comprimentos de onda na região do ultravioleta e azul, sendo pouco absorvedores em comprimentos de onda acima de 600 nm. No entanto, a água sendo um dos principais constituintes dos tecidos, apresenta uma alta absorção acima de 900 nm, de modo que a janela óptica biológica está na faixa de 600 a 1200 nm, onde a penetração da luz nos tecidos é máxima (Figura 5).

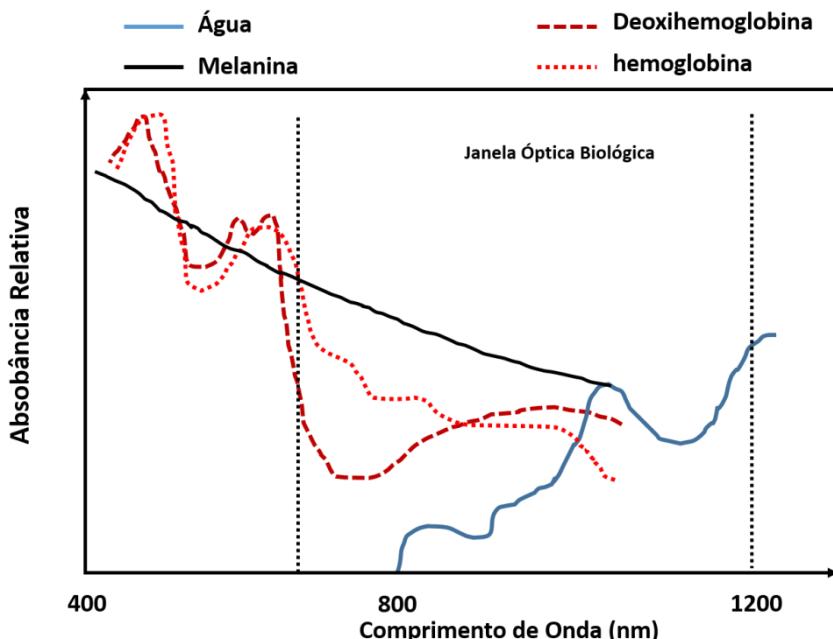


Figura 5. Absorbância relativa em função do comprimento de onda. A região entre as linhas pontilhadas indica a janela óptica, região onde ocorre maior penetração da luz devido a menor absorção pelos constituintes do tecido biológico.

3 Fotoquímica e fotofísica na terapia fotodinâmica

Como falado no início do capítulo, a TFD envolve a interação da luz com um fotossensibilizador e o oxigênio molecular para promover morte celular e tecidual.

A maioria dos fotossensibilizadores atualmente empregados em TFD apresenta alta absorbância na região do ultravioleta, conhecida como banda de absorção de Soret. Em comprimentos de onda mais longos, acima de 500 nm (início da cor verde) até 630 nm (vermelho), outras bandas de absorção aparecem conhecidas como bandas-Q. A Figura 6 mostra os espectros de absorção de dois tipos de fotossensibilizadores utilizados em TFD, um derivado de hematoporfirina e um derivado de clorina. Note que ambos possuem diversas bandas de absorção, o que faz com que possamos escolher diferentes comprimentos de onda para desencadear as reações fotodinâmicas, no entanto, quando se deseja promover um tratamento em maior profundidade possível, opta-se pelo uso de uma fonte de luz na região de 630 nm para o derivado de hematoporfirina e na região de 660 nm para o derivado de clorina.

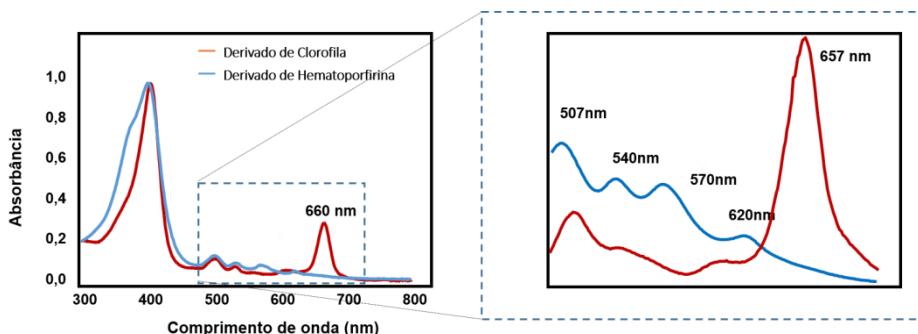


Figura 6. Exemplos de espectros de absorbância de fotossensibilizadores empregados na TFD: um derivado de hematoporfirina e um derivado de clorina. Em destaque, as bandas de absorbância destes FSs, próximas a janela óptica biológica.

Novos FS têm sido sintetizados com a finalidade de aumentar ou deslocar bandas de absorbância para a região do infravermelho (janela

Fundamentos de terapia fotodinâmica

óptica biológica) onde há maior penetração da luz no tecido, de modo que um maior volume de lesão pode ser tratado.

Para melhor compreender os eventos fotoquímicos e fotofísicos da TFD, podemos observar o diagrama de Jablonski adaptado, mostrado na Figura 7, onde estão representados os níveis energéticos do fotossensibilizador e os eventos que podem ocorrer quando uma molécula de FS absorve energia a partir de um fóton. Observe que o estado fundamental do FS é o estado singleto (S_0), que ao absorver um fóton é excitado para um estado eletrônico de maior energia e de curto tempo de vida.

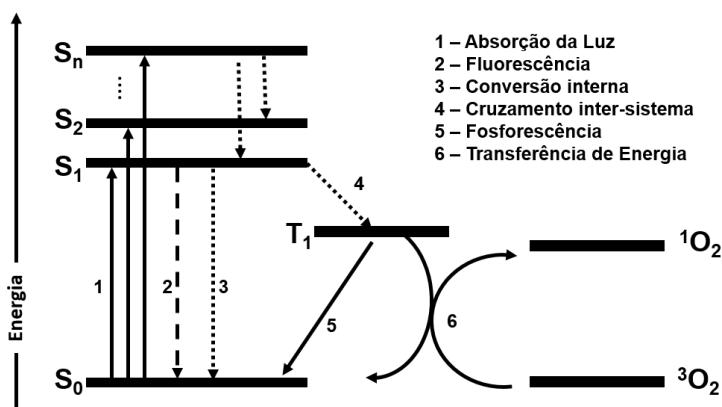


Figura 7. Diagrama de Jablonski adaptado, mostrando os possíveis níveis de energia que a molécula pode alcançar após absorção de energia e a transferência de energia para o oxigênio molecular.

Para cada nível eletrônico existente (S_n) em uma molécula há vários níveis vibracionais, ao ser excitado para um desses níveis, o elétron decai rapidamente para o menor nível vibracional do referido estado excitado. Este fenômeno é chamado de relaxação vibracional, e é muito mais rápido (da ordem de 10^{-12} s) que o decaimento entre estados eletrônicos. Após alcançar o menor nível vibracional do estado eletrônico S_1 , o FS pode voltar ao estado S_0 emitindo fluorescência ou interagindo com outras moléculas, por um processo não radiativo chamado conversão interna (CI).

No estado S_1 , o FS pode transferir carga elétrica para os constituintes do meio gerando espécies oxidativas [3].

Neste estado S_1 , há a probabilidade do FS realizar uma transição chamada de cruzamento intersistema (ISC, do inglês *intersystem crossing*), para um estado tripleto (T_1) metaestável de tempo de vida mais longo. O tempo de vida neste estado é da ordem de microssegundos a milissegundos, que pode resultar no retorno diretamente para o estado fundamental, por emissão de fosforescência ou através de meios não radiativos. No estado tripleto, a molécula pode sofrer *quenching* (supressão), doando energia para o O_2 presente na célula e retornando para o estado fundamental. A molécula de O_2 que recebe esta energia vai de um estado fundamental tripleto para um estado singuleto, o qual é por sua vez, altamente citotóxico, por seu alto potencial reativo, desencadeando uma cascata de eventos que resulta na morte da célula (Figura 8) [3].

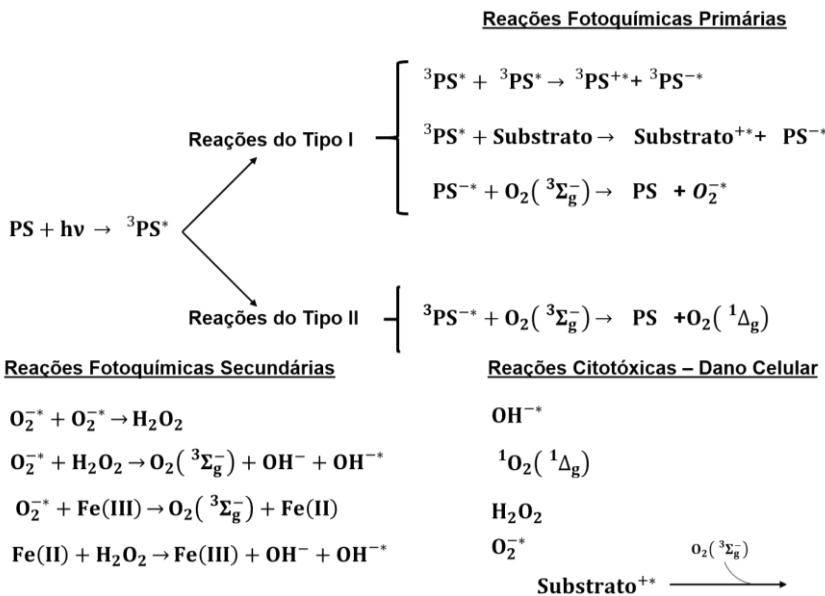


Figura 8. Reações fotoquímicas primárias e secundárias que ocorrem da absorção da energia luminosa pelo fotossensibilizador promovendo uma cascata de eventos que geram reações químicas que resultam na morte celular.

Fundamentos de terapia fotodinâmica

Vê-se, então, que o sucesso da TFD depende fundamentalmente da oxigenação do tecido durante a terapia. Considerando a importância da quantidade de O₂ nesta técnica, surge a necessidade de olhar com mais atenção para a quantidade de oxigênio consumida. Além disso, o oxigênio molecular (O₂) é o oxidante primário nas funções vitais de seres vivos, tendo participação importante na produção de energia na cadeia respiratória da mitocôndria. A insuficiência de O₂ intramitocondrial resulta na dificuldade da produção energética da célula, levando-a a morte [4].

A quantidade de oxigênio disponível no tecido torna-se um fator limitante para a produção de oxigênio singlet, e consequentemente para a TFD. É por isso que lesões hipóxicas não são indicadas para o tratamento devido à probabilidade de recidivas ou metástases.

Além das reações fotodinâmicas serem dependentes de oxigênio, a própria TFD possui um efeito sobre a oxigenação do tecido-alvo. Numa primeira etapa, as reações oxidativas promovidas pela TFD levam à depleção de oxigênio no sítio de tratamento. Em uma segunda etapa, alterações promovidas pela terapia podem levar à oclusão de vasos sanguíneos que consequentemente compromete a oxigenação tecidual.

Na literatura, há diversos trabalhos que relatam a relação entre a intensidade de luz utilizada (em mW/cm²) com os danos vasculares induzidos. O uso de intensidades mais baixas, menores que 100 mW/cm² em geral promovem danos vasculares de forma tardia, o que faz com que haja aporte sanguíneo e de oxigênio durante a terapia; enquanto que o uso de intensidades mais altas leva a um rápido dano vascular e consequentemente rápida depleção de oxigênio no sítio de tratamento [5–8].

Há mais de 50 anos que a TFD foi usada pela primeira vez em tratamentos oncológicos, desde então seu potencial tem sido amplamente explorado, principalmente, em tratamentos dermatológicos e oftalmológicos.

A escolha do tipo de droga e sua dose, o comprimento de onda de ativação, e o intervalo droga-luz, podem aumentar a efetividade e também reduzir os efeitos colaterais da terapia, para isso, o protocolo de tratamento deve ser otimizado e padronizado. Os pesquisadores da área de TFD não devem estar focados apenas em desenvolver novos fotossensibilizadores, ou novos equipamentos, mas sim em pacotes de tratamentos completos que consistem do FS, a fonte de luz e o protocolo específico otimizado para uma aplicação em particular.

A avaliação cuidadosa dos campos de aplicação para a TFD e a otimização e padronização de protocolos clínicos para determinados tipos de lesão, podem contribuir para o estabelecimento da TFD para o tratamento de câncer.

Referências bibliográficas

- [1] Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, et al. Photodynamic Therapy. *JNCI J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889–905.
- [2] Bagnato VS. *Terapia Fotodinâmica Dermatológica: Programa TFD Brasil*. São Carlos: Compacta grafica e editora, 2015.
- [3] Wilson BC, Patterson MS. The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. *Physics in Medicine and Biology*. Epub ahead of print 2008. DOI: 10.1088/0031-9155/53/9/R01.
- [4] Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy. *Free Radical Biology and Medicine* 1998; 24: 835–847.
- [5] Xu T, Li Y, Wu X. Application of lower fluence rate for less microvasculature damage and greater cell-killing during photodynamic therapy. 2004; 150–154.
- [6] Sitnik TM, Henderson BW. The Effect of Fluence Rate on Tumor and Normal Tissue Responses. 1998; 67: 462–466.
- [7] Henderson BW, Busch TM, Snyder JW. Fluence Rate as a Modulator of PDT Mechanisms. 2006; 1–5.
- [8] Veenhuizen RB, Stewart F a. The importance of fluence rate in photodynamic therapy: is there a parallel with ionizing radiation dose-rate effects? *Radiother Oncol* 1995; 37: 131–5.

Lesões com indicação e desafios da TFD tópica

Kate. C. Blanco¹, Alessandra Keiko L. Fujita¹, Natália M. Inada¹, Vanderlei S. Bagnato¹ e Ana Gabriela Salvio²

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

² Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil.

A terapia fotodinâmica (TFD) é aprovada para o tratamento de diversas lesões tópicas tais como queratoses actínicas, carcinomas basocelulares (CBC) superficiais e nodulares, e doença de Bowen (DB). Além de lesões de câncer de pele a TFD tópica também é utilizada para tratamento de lesões de pele como psoriase, acne, verrugas e linfoma cutâneo. Os protocolos de aplicação variam os tipos, concentrações de fotossensibilizadores e fontes de luz com resultados variados de eficácia. Neste capítulo, será revisado sobre as principais indicações do ácido aminolevulínico e seus derivados em lesões tópicas, além dos principais desafios para aumentar a eficácia da técnica durante as aplicações.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605405

1 Introdução

Os avanços de estudos relacionados a reações fotodinâmicas induziram a realização de ensaios clínicos para avaliação de muitas indicações tópicas para o uso da TFD nas últimas décadas, incluindo doenças inflamatórias e infecciosas (psoríase, acne, verrugas comuns e linfoma cutâneo de células T), tumores, rejuvenescimento da pele e lesões vasculares [1–3].

Nos últimos anos, a TFD à base de ácido 5-aminolevulínico (ALA-TFD) evoluiu rapidamente e foi amplamente aplicada no tratamento de doenças de pele por todo o mundo. Estudos randomizados duplo cego de fase II e III em grandes grupos de pacientes foram então realizados por longos períodos de tempo para aprimorar diretrizes da aplicação da TFD em lesões de câncer de pele como o carcinoma CBC. Os tumores cutâneos epidérmicos de crescimento irregular e invasivo apresentam protuberâncias que são localizadas normalmente na face, cabeça e pescoço e por isso apresentam dificuldades no procedimento incluindo a iluminação devido por exemplo a região anatômica da localização da lesão além da profundidade dessas lesões que necessitam de procedimentos coadjuvantes. Portanto, diretrizes sobre mecanismos de ação, protocolo terapêutico, aplicações clínicas, reações adversas e outros desafios referentes à prática clínica realizada por dermatologistas estão sendo sempre atualizadas.

Normalmente, a avaliação dos interferentes é realizada regularmente antes e depois do tratamento. Imagem das lesões tem sido avaliadas durante o exame clínico e novos métodos de diagnóstico não invasivos para auxiliar na avaliação e confirmação da indicação da TFD. Assim, várias indicações terapêuticas aprovadas para a TFD e suas limitações e contraindicações será o foco principal deste capítulo.

2 Indicações

Nos últimos anos, a aplicação clínica da ALA-TFD tem se tornado

Lesões com indicação e desafios da TFD tópica

cada vez maior incluindo o tratamento de lesões pré-cancerosas como QAs, malignidades cutâneas como CBC, DB e linfomas T, além de carcinoma espinocelular invasivo (CE), acne, fotoenvelhecimento, queilite actínica (QAc) e líquen esclero atrófico. Os níveis de evidência e graus de recomendação para as principais aplicações são alergia à porfirina, aos componentes da formulação tópica, em caso de uso de medicamentos fotossensíveis, gravidez e lactação.

2.1 Queratose actínica

O diagnóstico e tratamento da QA em estágios iniciais pode prevenir sua transformação em lesão maligna. Como a QA tende a ocorrer em áreas fotoexpostas, como couro cabeludo, face e antebraços, é importante atentar para o resultado cosmético durante a remoção das lesões, portanto, a TFD pode ser usada como o tratamento padrão para QA com um bom nível de recomendação para grau I e II [4, 5].

Tabela 1. Classificação clínica da queratose actínica segundo as diretrizes a associação de dermatologia britânica [6].

Grau da lesão	Característica clínica
I	Lesões apenas visíveis e palpáveis
II	Lesões vermelhas e escamosas
III	Lesões mais espessas e hiperceratóticas

Os protocolos de indicação, uma vez a cada 1 a 2 semanas, de ALA-TFD excitada por luz vermelha convencional para QA incluem: a limpeza da lesão (1); a formulação contendo ALA a 10–20% deve ser aplicada na superfície da lesão e em sua área ao redor dentro de 1 cm e a lesão deve ser protegida da luz por 1 a 6 h pela oclusão (2); depois de limpar o ALA da superfície da lesão, a luz vermelha com densidade de energia de 100 a 150 J/cm² e densidade de potência de 50-120 mW/cm² é recomendada para irradiação (3). O número de sessões pode aumentar conforme a resposta ao tratamento.

O principal desafio da TFD no tratamento de lesões de QA é a dor durante o tratamento. Nestes casos, a luz solar pode ser considerada para pacientes com evidência I para áreas múltiplas ou grandes de lesões localizadas no couro cabeludo e na face. Outro caso especial de TFD para tratamento de QA são os casos de grau III confirmadas por biópsia, necessitando de múltiplas sessões de TFD (até 6).

2.2 Queilite actínica

A queilite actínica é uma lesão pré-cancerosa dos lábios, é considerada uma QAc que se localiza nos lábios. Sua similaridade com a QAc da pele está na etiologia comum de ambas as doenças (relacionadas à exposição solar) e por também apresentar alta probabilidade de evoluir para CE. Clinicamente ela é descrita como ressecamento, erosões e perda do limite do lábio inferior, observada principalmente em indivíduos de pele clara. A queilite actínica apresenta taxa de depuração e bom efeito cosmético quando tratada exclusivamente por TFD ou quando combinada com laser de CO₂ para lesões em estágios iniciais [7]. O acompanhamento pós TFD em curtos intervalos de tempo são sugeridos para controlar o desenvolvimento de CEC. Além disso, a remoção cirúrgica combinada com ALA-TFD também pode ser realizada. Os protocolos recomendados de ALA-TFD para queilite actínica são iguais aos do ALA-TFD excitado com luz vermelha convencional para QAc.

2.3 Carcinoma basocelular

A ALA-TFD é aplicada para o tratamento clínico de CBC superficial e nodular com profundidade inferior a 2 mm. Tem bom efeito de cura e ótimo efeito cosmético [7].

Para CBC superficial, o pré-tratamento é igual ao de QA. Sugere-se avaliar a profundidade do CBC nodular que seja inferior a 2 mm para realização da ALA-TFD. Para a realização do ALA-TFD de CBC nodular, é necessário o uso de lâmina ou cureta cirúrgica ou laser de CO₂ para a

Lesões com indicação e desafios da TFD tópica

remoção do tumor superior. Em seguida, a solução de ALA de 10 a 20% é aplicado na lesão e na área ao redor de 1 cm, a qual é protegida da luz por 1–6 h, e então o excesso de ALA é retirado da superfície da lesão e irradiado com luz vermelha com densidade de energia de 100–200 J/cm² e densidade de potência de 50 a 150 mW/cm². O tratamento deve ser realizado uma vez a cada 1 a 3 semanas e se não houver melhora das lesões em 3 semanas deve ser escolhido outro tratamento e se a cura das lesões apresentarem evolução uma nova sessão da TFD pode ser realizada com no máximo 6 sessões.

2.4 Doença de Bowen

Para a DB - carcinoma de células escamosas *in situ* - o grau de evidência da ALA-TFD é I, sendo indicada principalmente para casos em que o tratamento cirúrgico resultaria em comprometimento estético do local. Os protocolos indicados para DB são iguais aos do BCC. A biópsia pré-tratamento é necessária para excluir CEC invasivo. Em caso de as lesões recidivarem após diversas sessões de ALA-TFD, é recomendado modificar de tratamento [8].

2.5 Carcinoma de células escamosas

A cirurgia é o tratamento padrão para o CE. É uma forma comum de câncer de pele que se desenvolve nas células epidérmicas (camada mais superficial da pele), podendo desenvolver metástases tanto regionais (em linfonodos) quanto à distância (pulmões), portanto, podendo ser agressivo. No entanto, CECs microinvasivos, localizados, múltiplos, difíceis de tratar e bem diferenciados podem ser tratados com ALA-TFD. Nestes casos, se as lesões não diminuírem em apóis algumas sessões de ALA-TFD, é indicado alterar o método de tratamento. Os protocolos recomendados de modo paliativo para CEC são iguais aos do CBC, entretanto é necessário um acompanhamento rigoroso dos pacientes.

3 Desafios da TFD

A dor durante o tratamento com ALA afeta a experiência do paciente na TFD, na qual geralmente atinge um pico de alguns minutos após o início da irradiação e desaparece ou diminui após o final da irradiação. A grande quantidade de espécies reativas de oxigênio, tipo, localização e área das lesões da pele, além de parâmetros de iluminação podem estar relacionada com a sensação da dor. O manuseio da dor durante o tratamento é está em constante melhorias para o sucesso final do tratamento.

A características adversas representam alguns desafios da TFD que são avaliadas nos pacientes durante e após o procedimento e por isso diversas medidas de controle têm sido estudadas e conduzidas. Características como eritema, edema, prurido, sensação de queimação, exsudação e pústulas além da dor já descrita anteriormente são resultados de reações que podem ser amenizados com modificações do procedimento. Por exemplo, para a melhora do prurido intenso está sendo usado anti-histamínicos orais, a sensação dor após o tratamento está sendo amenizada com analgésicos via oral [9].

O sangramento após a curetagem pode atrapalhar na absorção do creme e consequentemente a formação da protoporfirina IX (PpIX), e na penetração da luz pela pele, assim diminuindo a eficácia do tratamento. Dessa forma é importante que o sangue não esteja presente no momento da aplicação do creme e iluminação, o qual pode atrapalhar no conjunto de fatores para que se tenha uma TFD de sucesso.

Na Figura 1, mostra um CBC no lábio superior esquerdo sem curetagem (A) e a imagem da fluorescência visualizado com o dispositivo EVINCE (MMOptics, São Carlos-SP, Brasil) após 3 horas da aplicação do creme, indicando o acúmulo adequado de PpIX na lesão e ao redor.

Lesões com indicação e desafios da TFD tópica

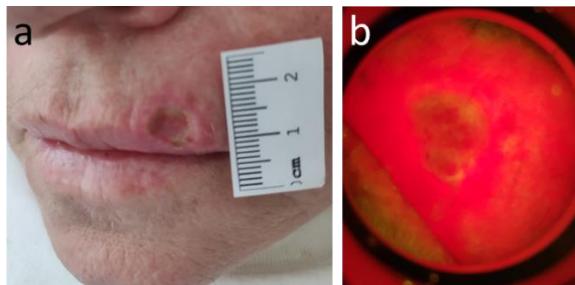


Figura 1. a) TFD de CBC no lábio superior esquerdo, sem curetagem. b) Imagem da fluorescência após 3 horas das aplicações do creme.

Para a solução do sangramento após a curetagem, muitos médicos tem à disposição o bisturi elétrico que é um instrumento cirúrgico que utiliza correntes de alta frequência (HF) para cortar e coagular tecidos, assim cauterizando pontos que persistem em sangrar. Porém, utilizar essa técnica pode ser prejudicial para o sucesso da cascata de processo fotoquímico e fotofísico da TFD, tanto para absorção do creme, quanto para a irradiação da lesão.

Ao usar o bisturi elétrico com a finalidade de cauterizar pontos que estão sangrando forma se uma barreira escura, como uma “queimadura”, na qual dificulta a absorção do creme e da luz na lesão.

A Figura 2 mostra CBC na ponta nasal em que foi utilizado o bisturi elétrico para cauterizar pontos que estavam sangrando após a curetagem (A); e a imagem de fluorescência da lesão após 3 horas da aplicação do creme, observa-se que a formação de PpIX na região da lesão cauterizada foi deficiente, enquanto ao redor, onde não se utilizou o bisturi elétrico foi possível observar maior acúmulo de PpIX.

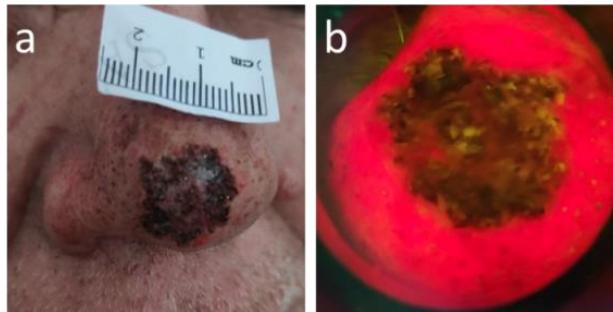


Figura 2. a) CBC ponta nasal; após a curetagem da lesão foi realizada a cauterização com bisturi elétrico. b) Imagem da fluorescência após 3 horas da aplicação do creme, onde o uso da técnica de cauterização com bisturi elétrico diminuiu o acúmulo de PpIX.

Dessa forma, o bisturi elétrico não é uma técnica adequada para quando o objetivo do tratamento seja se beneficiar dos processos fotofísicos e fotoquímicos da TFD. O aperfeiçoamento dos protocolos da TFD tópica continua a ser pesquisadas para aumentar a sua eficácia e ainda viabilizar novas indicações desde que os desafios para aplicação sejam superados.

Referências bibliográficas

- [1] Choi YM, Adelzadeh L, Wu JJ. Photodynamic therapy for psoriasis. *J Dermatolog Treat* 2014; 6634: 1–6.
- [2] Boen M, Brownell J, Patel P, et al. The Role of Photodynamic Therapy in Acne: An Evidence-Based Review. *American Journal of Clinical Dermatology*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1007/s40257-017-0255-3.
- [3] Huang A, Nguyen JK, Austin E, et al. Facial rejuvenation using photodynamic therapy with a novel preparation of ALA and hyaluronic acid in young adults. *Arch Dermatol Res*. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1007/s00403-020-02038-5.
- [4] Reshetov I V., Fatyanova AC, Babaeva Y V., et al. Modern aspects of photodynamic therapy of actinic keratoses. *Biomed Photonics*. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.24931/2413-9432-2019-8-2-25-30.

Lesões com indicação e desafios da TFD tópica

- [5] Oliver P. Update on Topical Photodynamic Therapy. *Dermatological Nurs* 2014; 13: 20–25.
- [6] De Berker D, McGregor JM, Hughes BR. Guidelines for the management of actinic keratoses. *Br J Dermatol* 2007; 156: 222–230.
- [7] Rossi R, Assad GB, Buggiani G, *et al.* Photodynamic therapy: Treatment of choice for actinic cheilitis? *Dermatol Ther*. Epub ahead of print 2008. DOI: 10.1111/j.1529-8019.2008.00224.x.
- [8] O'Connell KA, Okhovat JP, Zeitouni NC. Photodynamic therapy for Bowen's Disease (squamous cell carcinoma in situ) current review and update. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2018.09.009.
- [9] Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy: update. *Br J Dermatol* 2008; 159: 1245–1266.

Produtos farmacológicos nacionais

Ana Paula da Silva

PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil.

O interesse em pesquisa de novos compostos fotossensibilizadores, que possam ser empregados na Terapia Fotodinâmica, cresce exponencialmente no Brasil e no mundo. Com o desafio de desenvolver foto-fármacos nacionais para que a técnica pudesse ser difundida no mercado nacional, foi criada a PDT Pharma indústria de Prod. Farmacêuticos Ltda. A empresa tem se destacado em sintetizar e produzir medicamentos tópicos destinados ao tratamento do câncer de pele, a fim de atender as demandas da tecnologia emergente. Os medicamentos até então eram obtidos por importação, com preços elevados, inviabilizando a difusão da tecnologia terapêutica no mercado. Neste capítulo, serão discutidos alguns aspectos fundamentais dos principais fotossensibilizadores em uso, assim como, os em desenvolvimento, e perspectivas futuras de novas substâncias de interesse no Brasil.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605406

1 Introdução

O tratamento de doenças de pele tem sido um grande desafio no Brasil e no mundo. Por isso, a busca por soluções do problema a baixo custo, vem crescendo para que viabilize o tratamento de forma rápida, segura, minimamente invasiva e eficiente para a eliminação de lesões. Assim, um esforço de pesquisa muito importante vem sendo colocado em prática, pelo Grupo de Óptica (IFSC/USP) na viabilização de uma solução para o tratamento do carcinoma basocelular (CBC), um tipo de câncer de pele não melanoma. As pesquisas com terapia fotodinâmica (TFD) demonstraram resultados satisfatórios e se mostrou como um tratamento viável que pode ser disponibilizado para a sociedade como um meio alternativo para resolver a causa e/ou mitigar os efeitos desse tipo de doença. Entretanto, a necessidade de importação do medicamento com preços elevados, podem inviabilizar o uso da técnica e a difusão da tecnologia terapêutica no mercado.

Assim, fizeram-se necessárias ações para que a inovação terapêutica em desenvolvimento pudesse contar com o suprimento de foto-fármacos de maneira frequente, em quantidade abundante e a preços condizentes com o mercado brasileiro. Nesse sentido, foi criada a PDT Pharma Indústria e Comércio de Prod. Farmacêuticos Ltda., em 2009, originalmente, uma empresa *spin off* dos laboratórios de Química e Física da Universidade de São Paulo, campus de São Carlos. A PDT Pharma, participou do Projeto PDT Brasil para tratamento de câncer de pele em parceria com a empresa MMOptics, detentora da tecnologia dos equipamentos, e diversos centros de saúde do país. Foi pioneira na produção de medicamentos voltados para subsidiar a TFD para tratamento do câncer de pele e alimentou o início das operações da empresa, que era coordenada por uma equipe multidisciplinar de pesquisadores e doutores altamente qualificados, com experiência internacional e domínio técnico-científico. Neste histórico, a empresa realizou um estudo clínico com mais de 600 pacientes com câncer de pele (não melanoma), em parceria com o Hospital do Câncer de Jaú,

estado de S. Paulo, e em 2015 protocolou os resultados na ANVISA para o registro do medicamento (Número do Processo (ID): 25351227223201156).

Nos últimos anos, houve uma grande evolução do conhecimento sobre as propriedades de variados tipos de substâncias fotossensíveis, cuja função é absorver luz e induzir processos fotoquímicos. Paralelamente, a empresa vem desenvolvendo outras soluções para a TFD, tais como abordar algumas classes distintas de fotossensibilizadores (FS) as porfirinas, clorinas, ftalocianinas e a curcumina, que possui futuros promissores para aplicações em TFD. O diferencial da empresa é a verticalização do processo de produção do medicamento através da produção do insumo farmacêutico, realizada por metodologias aperfeiçoadas de rotas sintéticas descritas na literatura, e formulação do creme final. A tecnologia desenvolvida pela empresa possibilita a produção dos medicamentos a um preço condizente à realidade brasileira.

2 Fotossensibilizadores

Em diversos países do mundo, a TFD tópica é aprovada para o tratamento de doenças oncológicas cutâneas, tais como: queratoses actínicas, doença de Bowen e CBC superficial. Assim como para condições cutâneas não oncológicas, como acne vulgar, verrugas virais e esclerodermia localizada. [1] A TFD também tem mostrado o potencial terapêutico para o controle microbiano em diversas áreas, como por exemplo, em odontologia, podologia, entre outros. Porém, ainda é um grande desafio a produção de um FS ideal, limitações são encontradas e uma das estratégias é melhorar os FS disponíveis no mercado e desenvolver compostos mais adequados, eficientes e cada vez mais específicos para cada aplicação. [1–6]

Com o objetivo de disponibilizar a sociedade brasileira modernas técnicas para o tratamento de câncer de pele, a PDT Pharma, através de um esforço conjunto liderado pela Universidade de São Paulo, realizou um estudo clínico com mais de 600 pacientes. Neste projeto, realizado no

Produtos farmacológicos nacionais

centro de TFD em Jaú, e numa etapa posterior, ampliou o estudo para um número maior de localidades.

A técnica de TFD é de fácil aplicação, não exige grandes infraestruturas, fácil treinamento para os profissionais envolvidos. Ainda possui a vantagem de apresentar reduzidas alterações anátomo-funcionais e estéticas, o que contribui com a qualidade de vida do paciente tratado. Os principais medicamentos disponibilizados pela PDT Pharma para a realização do Projeto TFD Brasil, foram o Br-ALA (ácido 5-aminolevulínico) a 20%, e o M-BrALA (cloridrato de aminolevulinato de metila) a 20%. O objeto deste estudo foi comparar a segurança e eficácia destes medicamentos com o método comparador que foi o tratamento cirúrgico. Para ambos FS o mecanismo de ação é a produção de protoporfirina IX (PpIX) promovida pelas próprias células. Quando se administra o BrALA de forma tópica, é possível observar, após algumas horas, um acúmulo de PpIX. Posteriormente, irradia a lesão com luz vermelha (630 nm) e, efetuar o tratamento por TFD. Neste caso, o ALA que é um intermediário biossintético da hematoporfirina do sangue, funciona como um pró-fármaco que, em excesso no meio celular, fazem com que as células acelerem a produção de PpIX e acumulem o FS, possibilitando os tratamentos por TFD. [1, 2, 4]



Figura 1. Medicamentos utilizados no estudo clínico do Projeto TFD Brasil, a) BrALA (creme de ácido aminolevulínico a 20%) e b) M-BrALA (creme de cloridrato de aminolevulinato de metila a 20%).

Dentre várias, uma das grandes vantagens destes estudos, é que permite a restrição da fototoxicidade apenas ao local de aplicação do pró-fármaco BrALA, ao contrário dos derivados porfirínico sistêmicos, que podem causar fotossensibilidade geral e prolongada. O BrALA apresentou excelentes resultados, contudo, sua baixa permeabilidade na membrana celular, tem limitado algumas de suas aplicações clínicas. Alguns pacientes relatam bastante dor durante o uso desta terapia com ALA. [1, 2, 4]

Considerando isso, foram desenvolvidas melhorias terapêuticas, resultando em compostos como o cloridrato de-aminolevulinato de metila (Br-MALA). Neste caso, a permeabilidade deste éster é maior, e a ocorrência de dor é bem menor e, quando localizados no citoplasma, são hidrolisados antes de entrar na via biossintética da PpIX . [1, 2, 4]

Nesse estudo clínico o Br-ALA e M-BrALA utilizados no para o tratamento de carcinoma basocelular, apresentaram taxas de sucesso nos tratamentos acima dos 95%, quando comparado às cirurgias. [1]

Recentemente, Bagnato e colaboradores, em parceria com a PDT Pharma, vêm desenvolvendo intensas pesquisas utilizando o BrALA e M-BrALA em diversos tratamentos por TFD. Também tem demonstrado o potencial biomarcador para a detecção de tumores, por meio da administração tópica de ALA ou M-ALA, analisando sua fluorescência *in vivo* em resposta à excitação com luz. Como a PpIX apresenta alto rendimento de fluorescência quando irradiada com luz na região UV-Vis, o emprego do FS como precursor do biomarcador PpIX faz desta técnica útil para diagnóstico e tratamento de lesões. [1]

A fim de ampliar seu portfólio, a PDT Pharma, também tem colaborado em diversos projetos como fornecedora de foto-fármacos de classes distintas, tais como: porfirinas, clorinas, ftalocianinas e as curcumina. Esses FS são promissores para aplicações em terapia fotodinâmica, trazendo aos profissionais alternativas para o tratamento médico, minimamente invasivo e proporcionando melhor qualidade de vida

Produtos farmacológicos nacionais

aos pacientes.

Os compostos do tipo porfirinas, clorinas e ftalocianinas, apresentam boas absorvividades na região do vermelho entre 600-750 nm, excelentes rendimentos de produção de oxigênio singlet e apresentam características fotofísicas adequadas para o uso em TFD. Por isso, têm constituído parte significante dos fármacos empregados nesta terapia. [2–4]

As porfirinas e seus derivados tem desempenhado papel fundamental em terapia fotodinâmica, são compostos heterociclos aromáticos constituídos por quatro unidades pirrólicas. Podem ser aplicadas em diferentes tipos de tumores, como doença de Bowen, sarcoma de Kaposi. Também podem ser utilizadas em tratamentos profiláticos de diversos tipos de câncer, tais como de esôfago, gástrico, cervical e pulmonar. Dentro as porfirinas mais conhecidas estão o Photofrin® (EUA), o Photogem® (Rússia) e o Photosan® (Alemanha). Eles diferem entre si de acordo com o número de unidades monoméricas, diméricas e oligoméricas de hematoporfirina que os compõem. [2]

As clorinas são derivadas da clorofila, cujas funções estão correlacionadas à fotossíntese. Apresentam absorções na região entre 630-680 nm, facilitando os tratamentos de lesões mais profundas devido à alta penetração da luz vermelha nos tecidos.

Contudo, apenas uma pequena fração é utilizada como medicamento, devido a algumas características que tornam inviáveis sua produção, tais como: rotas sintéticas muito complexas, custo elevado de produção e dificuldade de purificação. [2]

Nesse cenário, surgiu a necessidade de produzir compostos nacionais e de baixo custo. Sendo assim, Uliana *et al* [2–4] desenvolveu a síntese da clorina-e6 diretamente da reação da cianobactéria *Spirulina máxima*, de forma efetiva e com elevado grau de pureza. O composto sintetizado é semelhante ao comercial Photoditazine®, cuja efetividade é bem estabelecida, porém, apresenta custo elevado. [2–4] Assim, também surgiu a cl-butil, por meio de modificações realizadas na molécula a fim de

conferir aos pigmentos características estruturais, de modo a se aproximarem das características de um fotossensibilizador ideal. Este FS tem sido utilizado para alguns tipos de câncer de pele, para o tratamento de degeneração macular da retina causada pela idade, miopia patológica, e outras doenças. [2–4]

As ftalocianinas são consideradas semelhantes ás porfirinas e estruturalmente diferentes, denominadas azaporfírinas. São definidas como pigmentos orgânicos de origem sintética, cuja estrutura apresenta um anel benzênico ligado a grupos pirróis, e estes ligados entre si por átomos de nitrogênio. [2] A banda de absorção de luz é na região de 600 nm – 750 nm, a molécula possui boa lipofilicidade que contribui para sua localização nas membranas plasmáticas, nos microssomos e nas mitocôndrias, e, consequentemente, para a ação fotodinâmica.

O Photosens® é um exemplo de composto comercial e foi desenvolvido no Instituto de Física Geral da Academia Russa de Ciência, sendo comercializado pela NIOPIK. Este fármaco se mostrou eficiente no tratamento de tumores de coroíde, olhos, pálpebra, sarcoma, cervical e bexiga. [2]

A curcumina é obtida a partir dos rizomas de cúrcuma longa, o açafrão, sendo composto por pigmentos curcuminóides, além de alguns terpenóides (óleos essenciais). [7]

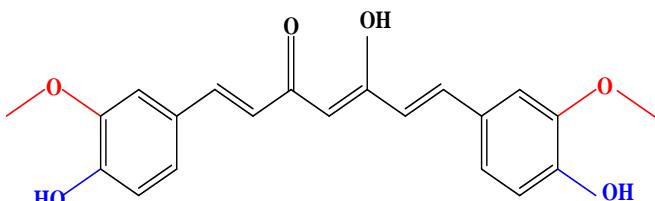


Figura 2. Estrutura química da curcumina.

A curcumina ao longo do último século, tem se revelado uma verdadeira panaceia natural. Por possuir vários efeitos biológicos, tem sido

Produtos farmacológicos nacionais

amplamente estudada em diversas aplicações, tais como em supressão da carcinogênese, evitando a proliferação de uma grande variedade de células tumorais (pele, pulmão, estômago, cólon e mama), atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, bactericidas, antifúngica, analgésica e com efeitos neuro-protetores para tratamento e prevenção de mal de Parkinson. [3–7]

Além deste amplo espectro de atividades terapêuticas, a curcumina tem despertado o interesse de diversos grupos de terapias fotônicas, principalmente por sua excelente atividade fotodinâmica. [3–6]

Bagnato *et al*, tem realizado estudos utilizando curcumina como FS em diversos ensaios clínicos na área de inativação de microrganismos. Mostraram que a curcumina inibiu algumas bactérias, tais como: *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e outras. [3–7] Podendo ser aplicada em tratamentos de desinfecção bucal, desinfecção de garganta, eliminação das larvas do mosquito da dengue, no tratamento da onicomicose, entre outros. [3–6] Além da sua utilização como FS, a curcumina também pode atuar em infecções superficiais localizadas e as ações farmacológicas podem ser intensificadas quando a curcumina é irradiada com luz azul em espectro UV-visível a 420 nm. [7]

3 Conclusão e considerações gerais

Nos últimos anos a busca de novos compostos fotossensíveis pela comunidade científica está cada vez mais intensa e com alto nível de sofisticação em relação às estruturas químicas e suas funcionalidades. A TFD pode viabilizar inúmeras curas e soluções de problemas neoplásicos, principalmente nas regiões mais afastadas do Brasil. Entretanto, quando o objetivo é fazer de um determinado fotossensibilizador um produto para o mercado farmacêutico e de ampla utilização, o maior desafio é minimizar os custos, garantindo altos níveis de inovação, bem como melhorias nas

foto-atividades tendo em mãos compostos simples e acessíveis. Nos últimos anos avançamos significantemente na solução de problemas para o tratamento de doenças de pele. Contudo, o desafio agora é avançar desenvolvendo formulações mais eficientes, garantindo que as moléculas cheguem até os alvos pretendidos com maior eficácia e com custo viável à população.

Referências bibliográficas

- [1] Buzzá HH, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, *et al.* Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care. *Cancer Control* 2019; 26: 107327481985688.
- [2] Oliveira KT de, Souza JM de, Gobo NR da S, *et al.* Basic Concepts and Applications of Porphyrins, Chlorins and Phthalocyanines as Photosensitizers in Photonic Therapies. *Rev Virtual Química* 2015; 7: 310–335.
- [3] Silva AP, Carbinatto FM, Bagnato VS, *et al.* A Promising Strategy for the Treatment of Onychomycosis with Curcumin and Photodynamic Therapy. *J Pharm Pharmacol* 2015; 3: 434–437.
- [4] Uliana MP, Silva AP, Inada NM, *et al.* Fotossensibilizadores. In: Bagnato VS, Inada NM, Blanco KC (eds) *Controle Microbiológico com ação Fotodinâmica*. São Carlos: Compacta Gráfica e Editora, 2017, pp. 45–60.
- [5] Silva AP, Inada NM. Onicomicose. In: Bagnato, V. S.; Inada, Natalia. M.; Blanco KC (ed) *Controle Microbiológico com ação fotodinâmica*. São Carlos: Compacta Gráfica e Editora, 2017, pp. 231–248.
- [6] Souza LM, Inada NM, Venturini FP, *et al.* Photolarvical effect of curcuminoids from Curcuma longa Linn. against Aedes aegypti larvae. *J Asia Pac Entomol* 2019; 22: 151–158.
- [7] Dias LD, Blanco KC, Mfouo-Tynga IS, *et al.* Curcumin as a photosensitizer: From molecular structure to recent advances in antimicrobial photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev* 2020; 45: 100384.

Formulações tópicas do ácido 5-aminolevulínico: fundamentos, aplicações e inovações nas formulações farmacêuticas

Natalia M. Inada, Lucas Danilo Dias e Geisiane Rosa da Silva

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

O ácido 5-aminolevulínico, ou simplesmente 5-ALA, é uma das substâncias químicas mais utilizadas na Terapia Fotodinâmica. A escolha e ampla disseminação se devem ao fato de, principalmente, ter seu mecanismo de ação elucidado muito antes do início do seu uso como pró-fármaco na geração da Protoporfirina IX (PpIX). Tanto o 5-ALA, como a PpIX, gerados endogenamente, são extremamente vantajosos quando se trata em seletividade e efeito localizado, com o mínimo ou nenhum efeito adverso. Outra vantagem é o baixo custo de síntese, que se eleva quando envolve mais tecnologia para a entrega seletiva ou programada e quando se soma aos processos de síntese, todos os custos para validação e aprovação do medicamento no mercado farmacêutico. Neste capítulo abordaremos tópicos que irão desde a anatomia da pele e os fatores envolvidos na permeação cutânea, até formulações farmacêuticas contendo 5-ALA, as inovações no desenvolvimento de produtos para a entrega “inteligente” e as aplicações em várias áreas médicas, como na dermatologia, ginecologia e para o diagnóstico de tumores.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605407

1 Introdução

O ácido aminolevúlico (5-ALA) é uma molécula precursora metabólica da protoporfirina IX (PpIX), responsável pela produção da *heme*. A PpIX pertence a uma classe de medicamentos chamados de fotossensibilizadores (FS), sendo amplamente utilizada para o tratamento tópico e não invasivo de alguns tipos de cânceres de pele mais superficiais, através do uso da Terapia Fotodinâmica (TFD). Este FS, também pode ser usado no diagnóstico por imagem, principalmente por ser superexpressada em tecidos cancerosos [1, 2]. Quando a concentração de 5-ALA é aumentada e, em seguida, é absorvida pelas células, há uma maior produção de PpIX endógeno, levando ao acúmulo do FS no interior das células. Este acúmulo quando combinado com a administração da luz local e o oxigênio molecular presente no tecido, geram espécies reativas citotóxicas (EROs) que podem levar à morte das células tumorais. Embora a ação seja eficaz e altamente conhecida o 5-ALA, tem uma difusão limitada nas membranas celulares, não permeando algumas barreiras cutâneas, devido as suas características físico-químicas, como a sua polaridade. Além da permeação o 5-ALA não é totalmente estável em ambientes fisiológicos, devido à diminuição da biodisponibilidade local, contribuindo para uma redução significativa no efeito terapêutico da TFD. Observando estes dois pontos entre a aplicação e a eficácia da TFD, e visando a melhoria dos efeitos terapêuticos do 5-ALA, muitos estudos são voltados na potencialização desta molécula, através de recursos Científicos, muitos destes embasados em nanotecnologia. Desde o uso simples de lipossomos e polímeros, a conjugações com metais, sílicas mesoporosas e dentrímeros até os estudos mais recentes com niossomas, fulereno e nanotubos de carbono a nanotecnologia é um novo marco no desenvolvimento de sistemas mais eficazes para a entrega controlada do pro-fármaco 5-ALA [3]. Logo, a nanotecnologia tem por principais objetivos, dentre outros, aumentar a eficácia, seletividade, distribuição e permeação das moléculas terapêuticas, tornando-se possível a melhora de

tratamentos e diagnósticos, possibilitando até mesmo novos usos da mesma molécula.

2 Anatomia da pele e absorção cutânea

A pele é composta, genericamente, por três principais camadas de tecidos: i) epiderme (superior); ii) derme ou cório (intermediária); iii) hipoderme ou tecido celular subcutâneo (profunda) (Figura 1). A camada superior (epiderme) é composta por epitélio pavimentoso estratificado, (espessura entre 0,04 - 1,6 mm, varia de acordo com a região do corpo), sendo constituída por quatro tipos principais de células (queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel) [4].

A camada intermediária (derme) é constituída por um denso estroma fibroelástico (tecido conjuntivo denso), sendo constituído por componentes vasculares e nervosos, órgãos anexiais da pele, glândulas sudoríparas e sebáceas, bem como os folículos pilosos. Vale salientar que, devido à presença de vasos sanguíneos e capilares na derme, é nesta camada que ocorre processos de absorção sistemática de fármacos e outras moléculas/íons [5]. Por fim, a terceira camada (hipoderme) é basicamente constituída por tecido adiposo, possuindo funções de reserva energética, regulação da homeotermia e também atua na proteção mecânica dos órgãos internos (Figura 1).

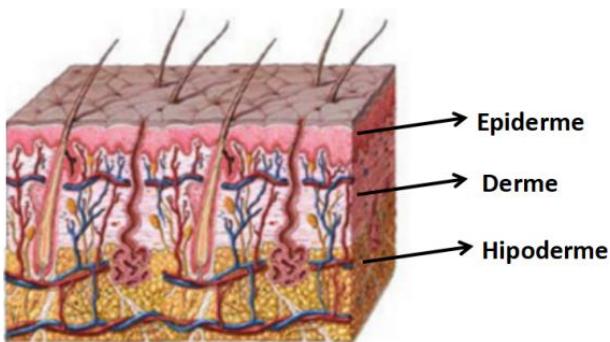


Figura 1. Representação esquemática da anatomia da pele (adaptado de <https://www.goconqr.com/flashcard/5928596/sistema-tegumentar>).

Relativamente à administração e absorção cutânea de fármacos, esta via de administração pode ser utilizada para entrega de fármacos para ação tópica, no tratamento de doenças dermatológicas, bem como na entrega de fármacos na corrente sanguínea, evitando mecanismos de degradação da molécula no trato gastrointestinal e/ou através da ação enzimática no fígado (mecanismo de primeira passagem) [6, 7]. Contudo, as formulações tópicas são majoritamente aplicadas no tratamento dermatológicas.

Uma das principais limitações da entrega de fármacos via administração tópica, está relacionada com o desafio de se obter fármacos com propriedades físico-químicas ideais. Neste caso, as moléculas biotivas necessitam atravessar as camadas da pele e atingir a corrente sanguínea com uma farmacocinética e dose pretendidas.

3 Tipos e características de formulações farmacêuticas tópicas

A absorção/permeação de fármacos na pele depende das características físico-químicas da própria molécula (estrutura molecular, concentração, massa molecular, coeficiente de partição ($\log P$), pH e pK_a), hidratação da pele e espessura da pele [8]. É preconizado que, moléculas com $\log P < 0$ são solúveis em água (hidrofílicos) e possuem baixa capacidade de permeação nas membranas celulares, contudo, compostos que apresentam $\log P = 2-3$ possuem uma maior permeabilidade na pele. Neste caso em específico, o 5-ALA possui um $\log P = -1,5$, ou seja, apresenta uma baixa permeabilidade nas camadas da pele [9, 10], necessitando assim de ser utilizado no tratamento de lesão cutâneas através do uso de uma formulação farmacêutica.

As formulações farmacêuticas tópicas são classificadas relativamente ao seu estado físico (líquidas, sólidas ou semi-sólidas), por exemplo, colóides, cremes, microemulsões, emulsões, loções, géis, aerossóis, soluções e pomadas [11]. Genericamente, as formulações tópicas possuem um papel fundamental no aumento e modulação da absorção de fármacos nas

diferentes camadas da pele, sejam elas com objetivos no tratamento de lesões cutâneas ou visando maximizar a absorção na corrente sanguínea [12].

As formulações líquidas possuem um solvente ou uma mistura de solventes que possuem a função de veicular um ou mais fármacos (dissolvidos e insolúveis) [13, 14]. Dentro das formulações líquidas, encontram-se também as suspensões e as emulsões. As suspensões são sistemas compostos de duas fases, uma fase líquida (externa) e uma fase sólida (interna), onde compostos estão insolúveis e dispersos em um líquido. Já as emulsões são sistemas de várias fases, caracterizado pela presença de um ou mais líquidos dispersos em outro líquido imiscível. As emulsões podem ser divididas em dois grupos: i) óleo em água (O/A): uma solução aquosa contendo óleo disperso; ii) água em óleo (A/O): uma fase oleosa contendo água ou uma solução aquosa dispersa. Neste tipo de formulação líquida, utiliza-se um excipiente chamado emulsificante que possui a função de reduzir a coalescência e a tensão interfacial existente entre as duas fases (aumentando a estabilidade do sistema) [15, 16].

As formulações sólidas são basicamente compostas pelos pós, ou seja, sólidos na forma de pós com uma baixa granulometria. No geral este tipo de formulação tópica é aplicada na redução de fricção (pele com pele) através da absorção de umidade [10, 11].

E por fim, as formulações semi-sólidas possuem um papel de destaque na aplicação e tratamento de lesões cutâneas. Dentre elas, destaca-se o creme, formulação que apresenta um ou mais fármacos dissolvidos ou dispersos em um veículo, podendo se apresentar na forma de emulsões O/A ou A/O, na presença de um agente emulsificante.

A escolha do tipo de emulsão deve ser baseada nas características e local da pele (por exemplo, espessura), bem como o local que se pretende entregar o princípio ativo utilizado. Outro exemplo é a pomada, formulação caracterizada por uma consistência mole, destinada a aplicação em peles ou mucosas. As pomadas possuem uma base

(hidrofóbicas, lipofílicas e oleoginoosas) que é utilizada para veicular e estabilizar o princípio ativo. Os géis são formulações formadas por dispersões coloidais onde o sólido é o dispersante e o líquido, o disperso [13, 14]. Além disso, os géis possuem uma consistência de gelatina, são livres de ácidos graxos, possuem um alto teor de água e baixa permeação cutânea.

4 Exemplos de formulações tópicas do ácido 5-aminolevulínico e derivados: Tratamento de Neoplasias Cutâneas e de Colo do Útero através da Terapia Fotodinâmica

Osiecka e co-autores reportaram o desenvolvimento de uma formulação lipossomal de 5-ALA e seu éster metílico (metvix) e avaliação comparativa (*in vitro* e *in vivo*) visando estudar a ação fotodinâmica e verificar se os precursores de fotossensibilizadores aprisionados em lipossomas podem induzir expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs) em modelo animal [17]. Neste exemplo, os autores desenvolveram um sistema nanoestruturado de entrega de drogas, nomeadamente os lipossomas, os quais possuem uma bicamada fosfolipídica, apresentando uma porção hidrofílica (núcleo, função de encapsular moléculas hidrofílicas) e outra lipofílica (responsável pelo aprisionamento dos agentes insolúveis) (Figura 2).

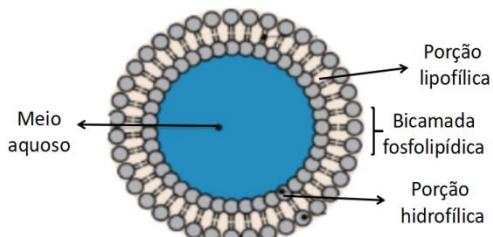


Figura 2. Representação esquemática de um lipossoma (adaptado de <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/liposome>)

Neste trabalho os autores reportaram a obtenção de lipossomas unilamelares, homogêneos, diâmetros entre 105 e 130 nm e encapsulação dos fotossensibilizadores em uma concentração de 110 mM. Além disso, os autores observaram uma estabilidade dos lipossomas em até quatro semanas. Grupos controles também foram preparados com os pró-fármacos, utilizando um creme de eucerin (20% m/m) como base. Após estudo dos lipossomas e os grupos controle *in vivo*, os autores observaram uma maior formação de protoporfirina IX utilizando os lipossomas, em comparação com os grupos controle (creme de eucerin). Posteriormente a avaliação dos lipossomas contendo 5-ALA e seu derivado éster metílico (metvix), estudos imunohistoquímicos revelaram que após a PDT, a intensidade de expressão de MMPs em animais saudáveis foi muito baixa.

Outro exemplo do desenvolvimento e uso de formulações tópicas contendo 5-ALA foi descrita por Hillemanns, em 1999, e avaliada no tratamento clínico de neoplasia intra-epitelial cervical (NIC) de alto grau [18, 19]. Neste estudo, uma solução de 5-ALA (20% m/m) (10 mL) dissolvida em uma solução de NaCl (0,9%) contendo propilenoglicol foi utilizada e aplicada topicalmente na região afetada. Relativamente ao protocolo de terapia fotodinâmica, os autores descreveram o uso de uma dose de 100 J/cm², em 635 nm, totalizando dez ciclos de PDT com a formulação de 5-ALA em sete pacientes com NIC de alto grau. Contudo, de acordo com os autores, em todos os casos não foi observado resultados satisfatórios e melhoria nas lesões. Uma das limitações neste estudo pode estar, possivelmente, relacionada à baixa permeabilidade do pró-fármaco na lesão e subsequente formação de PpIX (fotossensibilizador).

Neste contexto, diversos estudos com diferentes formulações tópicas contendo 5-ALA e seus derivados estão sendo desenvolvidas e descritas na literatura [20, 21]. Como um exemplo selecionado, Inada e co-autores descreveram a avaliação de uma formulação tópica do tipo creme contendo MAL (20% m/m) [22]. Os autores reportaram o estudo em 56 pacientes com NIC 1, dez com NIC 2 e 14 pacientes para o grupo de placebo. Após

avaliação do protocolo fotodinâmico utilizando o creme de MAL, os autores observaram que 75% ($n = 42$) dos pacientes com NIC 1 apresentaram resposta terapêutica completa, utilizando um dose de luz = 100-180 J/cm² (630 nm). Além disso, para os pacientes com NIC 2 e 3, foi relatado que 90% foram curados após um e dois anos de acompanhamento, respectivamente. No geral, o uso do creme contendo MAL e aplicado no protocolo de PDT, apresentou resultados promissores, sendo um procedimento não invasivo, rápido e de baixo custo, evitando a progressão da NIC e preservando o colo do útero.

5 O ácido 5-aminolevúlico para o diagnóstico por fluorescência

O acúmulo de fotossensibilizadores em lesões neoplásicas é utilizado para fins de diagnóstico devido às suas propriedades fluorescentes. Esta técnica é conhecida como diagnóstico por fluorescência [23] e tem sido amplamente empregada para diferenciação de tumores como o carcinoma basocelular [24–27], na localização de condiloma acuminado [28, 29], em neoplasia intraepitelial cervical [30, 31] e até mesmo para detecção de fungos causadores de onicomicoses [32].

Uma das estratégias que favorecem o uso de 5-ALA para fotodetecção do fotossensibilizador em tumores, se dá pelo fato do acúmulo preferencialmente da PpIX nas lesões neoplásicas em comparação ao acúmulo em tecido normal.

Os mecanismos envolvidos nesta distribuição preferencial não são totalmente compreendidos, mas várias propriedades do tecido tumoral parecem ser importantes. O alto número de receptores de LDL, baixo pH intersticial, redução da drenagem linfática e grande espaço intersticial com grandes quantidades de colágeno e vasculatura com vazamento, todos tendem a favorecer o acúmulo de fotossensibilizadores em tecidos de tumores [33]. Os resultados por Kessel (1996), juntamente com os artigos citados por ele neste trabalho sobre os níveis de receptores de LDL nos

Fundamentos, aplicações e inovações nas formulações do ALA

tecidos, sugerem que a afinidade dos componentes porfirínicos de hematoporfirina pela lipoproteína plasmática pode explicar o padrão de distribuição da fração de localização do tumor *in vivo*, resultando em uma razão mais alta de acúmulo de porfirina em tecidos neoplásicos *versus* tecido normal [33].

O uso 5-ALA para formação endógena de fotossensibilizadores é aplicado localmente incorporado num creme ou em solução para instilação, injeção sistêmica ou pela via oral. Logo após a aplicação (normalmente 1–3 h), quantidades suficientes de fotossensibilizadores se acumularão nas lesões neoplásicas para permitir o diagnóstico e a terapia [34].

A detecção de uma fluorescência de grande intensidade concentrada em lesões clinicamente observáveis e as subclínicas de condilomas HPV-induzidas indicam a penetração e a concentração seletiva de PpIX no epitélio anormal, e não, no tecido normal adjacente [29]. E outras estratégias foram realizadas com a finalidade de aumentar ainda mais a fluorescência da PpIX. Peng e colaboradores (1996) foram os primeiros a relatar um estudo comparativo sobre a eficácia de uma série de ésteres de ALA contra ALA. Isso mostrou que os ésteres metílico, etílico e propílico 1a-c produziram mais fluorescência da PpIX em tecidos humanos e murinos em comparação com ALA livre [35].

Embora o câncer cervical esteja diminuindo nos países desenvolvidos, ele é um desafio significativo para a saúde pública nas nações em desenvolvimento, como o caso do Brasil, onde existe uma necessidade médica não atendida de um método de diagnóstico de baixo custo e de fácil manuseio. Técnicas ópticas podem fornecer isso, o que facilitaria as abordagens de triagem e tratamento a serem totalmente implementadas numa única consulta clínica, proporcionando uma grande vantagem para os pacientes que não têm acesso fácil aos serviços de transporte [36].

O 5-ALA induz alta fluorescência em glioma de alto grau, sendo assim uma excelente estratégia para a ressecção cirúrgica. No entanto, os sinais de fluorescência induzida por 5-ALA em glioma de baixo grau ainda é

pouco compreendido. Um estudo teve como objetivo investigar a cinética em tempo real da PpIX em gliomas de baixo grau com base em medições baseadas em fluorescência hiperespectral e identificar fatores que predizem fluorescência. Pacientes com gliomas de grau II receberam 5-ALA numa concentração de 20 mg/kg de peso corporal, 4 horas antes da cirurgia [37]. Este é um dos trabalhos de fronteira para o uso do 5-ALA oral em diagnóstico por fluorescência.

O diagnóstico de fluorescência pela administração sublingual de 5-ALA em pacientes com lesões pré-malignas de cavidade oral e laringe mostrou-se promissor, com resultados do diagnóstico espectral-fluorescente se correlacionando bem com o resultados do diagnóstico por vídeo-fluorescente. Observou-se ainda que a indução de PpIX nos tecidos alterados patologicamente foi significativamente maior do que nos tecidos normais [38].

6 A nanotecnologia e o ácido aminolevulínico

Em meados dos anos de 1980 a primeira aplicação tópica do precursor 5-ácido aminolevulínico, para a produção da protoporfirina IX endógena, seguido da iluminação com luz, realizado pelos cientistas Kennedy e Pottier [39], foi um dos grandes experimentos que possibilitou a expansão do uso do ALA em aplicações com TFD até hoje conhecidas.

No entanto, ainda existem algumas limitações complexas do uso tópico da molécula do ALA, como sua instabilidade química em solução aquosa e em pH fisiológico, além da baixa permeação na pele. É um fato que um dos fatores limitantes da permeabilidade do ALA se dá pelo seu caráter polar, já que tem que passar pela barreira de proteção da pele, o extrato córneo, de caráter lipofílico. Além disso, altas concentrações do ALA são associadas a reações de degradação da molécula, reduzindo significativamente a produção de espécies reativas de oxigênio durante a TFD, podendo, até mesmo ser acumulativo e nocivo ao longo do tempo [1, 3]. Desde os estudos iniciais de Kennedy e Pottier, inúmeras pesquisas

Fundamentos, aplicações e inovações nas formulações do ALA

foram voltadas para a melhoria do uso daquele pró-fármaco, permitindo aplicações tópicas mais eficazes e seguras. Na década seguinte, nos anos de 1990, um dos maiores avanços que permitiram melhorar o desempenho da molécula do ALA, quanto a sua permeabilidade tópica, foi o uso dos estéres do ALA. Mas, mesmo com o uso destes estéres, o uso tópico foi e ainda é um grande desafio. Em função disso, outras tecnologias como o uso de diferentes fontes de luz, intensificadores químicos de permeação e injeções intracutâneas são ainda usados para o aumento da permeabilidade do pró-fármaco. Assim, outras abordagens inovadoras para o uso específico do 5-ALA foram surgindo ao longo do tempo, incluindo a nanotecnologia [3].

Na nanotecnologia, diferentes matrizes podem ser usadas para se carrear os FS, e aqui será citado uma breve revisão da literatura e, para um melhor conhecimento, recomenda-se a leitura do artigo de Thunshelle *et al* 2016 [3]. A década de 1990, também, marcou os primeiros estudos voltados para o desenvolvimento de nanocarreadores para o carreamento de diferentes FS. Um dos primeiros nanosistemas desenvolvidos foi uma estrutura de polialquilcianocrilato, conjugado a uma hematoporfirina. Lipossomas convencionais e peguilizados foram desenvolvidos para carrear o Foscan® e mais recentemente em 2018, um sistema de lipossoma foi aprovado pela União Europeia para o carreamento do 5-ácido aminolevulínico [1, 40, 41].

Lipossomas são utilizados por serem primordialmente compatível com a estrutura de bicamada lipídica, facilitando a permeabilidade do 5-ALA, como pode ser observado no trabalho de Lee *et al* (2012) [42]. Segundo Bragagni *et al* (2015) [43], lipossomas foram capazes de aumentar de 80 e 40% a permeação do fármaco e 50 a 100% do 5-ALA retido na pele em comparação com a solução aquosa do 5-ALA livre.

Muito utilizados por sua facilidade de manipulação, além de baixa toxicidade *in vitro* e *in vivo* biopolímeros são outras classes amplamente estudadas para o carreamento mais eficaz do 5-ALA. Shi e colaboradores

(2013) [44], desenvolveram uma nanopartícula polimérica de poli(ácido co glicólico) (PLGA) que permitiu diminuir em 90% a concentração do pró-fármaco 5-ALA para obter os mesmos efeitos de quando usada essa molécula não carreada. Outro grande feito deste mesmo polímero foi relatado por Allison *et al.* (2004) [41]. onde nanopartículas de PLGA, obteve eficiência de encapsulamento de 66%, aumentando eficácia da fototoxicidade em relação à molécula livre de ALA na mesma concentração. Em outro trabalho recente de Silva, G. R. (2021) nanopartículas de PLGA se mostraram mais seletivas para células tumorais, com viabilidade de 53%, apresentando menos danos oxidativos para células saudáveis de pele quando comparado com estudos do 5-ALA livre. [1]

Como pode ser visto, muitas estratégias podem ser utilizadas com diferentes objetivos para melhorar a eficácia de permeação de pró-fármacos, como o ácido aminolevulínico, que se pode contribuir para a aprimoração da TFD, de maneira muito eficaz.

Referências bibliográficas

- [1] Silva GR da. *Nanopartículas de poli (D, L-ácido lático-co-glicólico) (PLGA) para a entrega transdérmica do ácido aminolevulínico (5-ALA)*. Universidade de São Paulo, 2021. Epub ahead of print January 2021. DOI: 10.11606/T.76.2021.tde-01092021-154844.
- [2] Mondal SB, Gao S, Zhu N, *et al.* *NIH Public Access*. 2015. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.1016/B978-0-12-411638-2.00005-7. Real-time.
- [3] Connor Thunshelle, Rui Yin, Qiquan Chen and MRH. HHS Public Access. *Curr Dermatol Rep* 2016; 5: 179–190.
- [4] Menon GK. New insights into skin structure: Scratching the surface. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54: S3.
- [5] Hansen JT. *Netter Anatomia Clínica*. 2007.
- [6] Prista LVN. *Tecnologia Farmacêutica*. 3a ed. Calouste, 2008.
- [7] Vianna DR, Silva B V., Hamerski L. Electroporation and iontophoretic for

Fundamentos, aplicações e inovações nas formulações do ALA

- drug delivery across the skin. *Rev Virtual Química* 2010; 2: 271–279.
- [8] Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 1261–1268.
- [9] Uehlinger P, Zellweger M, Wagnières G, et al. 5-Aminolevulinic acid and its derivatives: Physical chemical properties and protoporphyrin IX formation in cultured cells. *J Photochem Photobiol B Biol* 2000; 54: 72–80.
- [10] Jarret C, Stauffer F, Henz ME, et al. Inhibition of Escherichia coli porphobilinogen synthase using analogs of postulated intermediates. *Chem Biol* 2000; 7: 185–196.
- [11] Margetts L, Sawyer R. Transdermal drug delivery: Principles and opioid therapy. *Contin Educ Anaesthesia, Crit Care Pain* 2007; 7: 171–176.
- [12] Dew N. *Cationic Aggregates in Gels*. 2011.
- [13] Zhao Y, Jones SA, Brown MB. Dynamic foams in topical drug delivery. *J Pharm Pharmacol* 2010; 62: 678–684.
- [14] Martins MRFM, Veiga F. Promotores de permeação para a liberação transdérmica de fármacos: uma nova aplicação para as ciclodextrinas. *Rev Bras Ciências Farm* 2002; 38: 33–54.
- [15] Goodarzi F, Zendehboudi S. A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries. *Can J Chem Eng* 2019; 97: 281–309.
- [16] McClements DJ, Jafari SM. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Adv Colloid Interface Sci* 2018; 251: 55–79.
- [17] Osiecka B, Jurczyszyn K, Symonowicz K, et al. *In vitro* and *in vivo* matrix metalloproteinase expression after photodynamic therapy with a liposomal formulation of aminolevulinic acid and its methyl ester. *Cell Mol Biol Lett* 2010; 15: 630–650.
- [18] Hillemanns P, Weingandt H, Baumgartner R, et al. Photodetection of cervical intraepithelial neoplasia using 5- aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Cancer* 2000; 88: 2275–2282.
- [19] Hillemanns P, Korell M, Schmitt-Sody M, et al. Photodynamic therapy in women with cervical intraepithelial neoplasia using topically applied 5-aminolevulinic acid. *Int J Cancer* 1999; 81: 34–38.

- [20] Schmitz L, Novak B, Hoeh AK, *et al.* Epidermal penetration and protoporphyrin IX formation of two different 5-aminolevulinic acid formulations in ex vivo human skin. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2016; 14: 40–46.
- [21] Zhang LW, Fang YP, Fang JY. Enhancement techniques for improving 5-aminolevulinic acid delivery through the skin. *Dermatologica Sin* 2011; 29: 1–7.
- [22] Inada NM, De Castro CA, Buzzá HH, *et al.* Long-term effectiveness and HPV clearance of low and high-grade cervical lesions treated with photodynamic therapy. In: *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*. 2019. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1117/12.2524706.
- [23] Berg K, Selbo PK, Weyergang A, *et al.* Porphyrin-related photosensitizers for cancer imaging and therapeutic applications. *J Microsc* 2005; 218: 133–147.
- [24] Ramirez DPDP, Kurachi C, Inada NMNM, *et al.* Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 22–26.
- [25] Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in dermatology from experimental state to clinic standard methods. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006; 25: 425–439.
- [26] Campbell CL, Brown CTA, Wood K, *et al.* A quantitative study of *in vivo* protoporphyrin IX fluorescence build up during occlusive treatment phases. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2017.02.004.
- [27] Blanco KC, Moriyama LT, Inada NM, *et al.* Fluorescence guided PDT for optimization of the outcome of skin cancer treatment. *Front Phys*; 3. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.3389/fphy.2015.00030.
- [28] Stefanaki IM, Georgiou S, Themelis GC, Vazgiouraki EM TA. Clinical and Laboratory Investigations *In vivo* fluorescence kinetics and photodynamic therapy in condylomata acuminata. *Br J Dermatol* 2003; 972–976.
- [29] Inada NM, da Costa MM, Guimarães OCC, *et al.* Photodiagnosis and treatment of condyloma acuminatum using 5-aminolevulinic acid and homemade devices. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2012; 9: 60–68.
- [30] Andrejevic-Blant S, Major A, Lüdicke F, *et al.* Time-dependent hexaminolaevulinate induced protoporphyrin IX distribution after topical application in patients with cervical intraepithelial neoplasia: A

Fundamentos, aplicações e inovações nas formulações do ALA

- fluorescence microscopy study. *Lasers Surg Med* 2004; 35: 276–283.
- [31] Inada NM, Buzzá HH, Leite MFM, *et al.* Long term effectiveness of photodynamic therapy for cin treatment. *Pharmaceuticals* 2019; 12: 1–11.
- [32] Kamp H, Tietz HJ, Lutz M, *et al.* Antifungal effect of 5-aminolevulinic acid PDT in *Trichophyton rubrum*. *Mycoses* 2004; 48: 101–107.
- [33] Kessel D. Porphyrin-lipoprotein association as a factor in porphyrin localization. *Cancer Lett* 1986; 33: 183–188.
- [34] Brown SB, Brown EA WI. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet Oncol* 2004; 5: 497–508.
- [35] Peng Q, Moan J, Warloe T, *et al.* Build-up of esterified aminolevulinic-acid-derivative-induced porphyrin fluorescence in normal mouse skin. *J Photochem Photobiol B Biol* 1996; 34: 95–96.
- [36] Inada NM, Buzzá HH, Carbinatto FM, *et al.* Optical techniques for the diagnosis and treatment of lesions induced by the human papillomavirus — A resource letter. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2018; 23: 106–110.
- [37] Kaneko S, Suero Molina E, Sporns P, Schipmann S, Black D SW. Fluorescence real-time kinetics of protoporphyrin IX after 5-ALA administration in low-grade glioma. *J Neurosurg* 2021; 1–7.
- [38] Alekseeva PM, Efendiev KT, Shiryaev AA, *et al.* Sublingual administration of 5-aminolevulinic acid for laser-induced photodiagnostics and photodynamic therapy of oral cavity and larynx cancers. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2021; 34: 102289.
- [39] Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin. IX: Basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B Biol*. Epub ahead of print 1990. DOI: 10.1016/1011-1344(90)85083-9.
- [40] Brasseur, N.; Brault, D.; Couvreur P. Adsorption of hematoporphyrin onto polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: carrier capacity and drug release. *Int J Pharm* 1991; 70: 129–35.
- [41] Allison RR, Downie GH, Cuenca R, *et al.* Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2004; 1: 27–42.
- [42] Lee WJ, Jung HJ, Kim JY, Lee SJ KD. Effect of photodynamic therapy on inflammatory acne using 3% liposomal 5-aminolevulinic acid emulsion and intense-pulsed light: A pilot study. *J Dermatol* 2012; 39: 728–9.

- [43] Bragagni M, Scozzafava A, Mastrolorenzo A, *et al.* Development and ex vivo evaluation of 5-aminolevulinic acid-loaded niosomal formulations for topical photodynamic therapy. *Int J Pharm* 2015; 494: 258–263.
- [44] Shi L, Wang H, Wang H. *In vitro* evaluation of 5-aminolevulinic acid (ALA) loaded PLGA nanoparticles. 2013; 2669–2676.

Equipamentos para tratamento e monitoramento de terapia fotodinâmica

Anderson Luis Zanchin

MMOptics, São Carlos, SP, Brasil.

Fundada em 1998 a MM Optics Ltda. (MMO) é uma empresa de base tecnológica, focada no desenvolvimento, fabricação e comercialização de equipamentos que utilizam as mais altas tecnologias disponíveis do mercado, tecnologias fotônicas (óptica e eletrônica). Possui vasto histórico de iniciativas de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P, D&I) que resultaram em equipamentos para o mercado, agregando inovação e fotônica em aplicações na área de saúde. Grande parte destas iniciativas ocorre em um estreito relacionamento com diversos Institutos de Ciência e Tecnologia (ICT's), entre elas o Instituto de Física de São Carlos – USP, o Hospital Amaral Carvalho de Jaú, a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP entre outras. Desta forma, a MMO vem desde sua criação oferecendo ao mercado equipamentos e técnicas inovadoras para tratamentos alternativos proporcionando maior qualidade de vida aos pacientes e melhores resultados aos profissionais usuários de suas tecnologias.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605408

1 Introdução

Dado alto volume de acometimento por doenças de pele na população jovem e principalmente senil, cada vez mais se faz necessário o desenvolvimento de novas tecnologias e equipamentos que possam trazer ao mercado e aos profissionais alternativas para tratamentos médicos. É sabido que a agilidade e rapidez nos diagnósticos auxiliam e muito os profissionais na tomada de decisão e resultam em maior probabilidade de sucesso nos resultados dos tratamentos. Por isso se faz necessário maiores investimentos em pesquisa e desenvolvimento de novos equipamentos e tecnologias que possibilitem rápida identificação de anomalias, bem como maior agilidade no atendimento aos pacientes acometidos. Sendo assim, empresas e pesquisadores de todo o mundo gastam muita energia, tempo e dinheiro pesquisando e desenvolvendo novas técnicas e equipamentos para tratamentos.

Por se tratar de procedimentos muitas vezes traumáticos, os procedimentos cirúrgicos vêm sendo nos últimos tempos amplamente estudados e pesquisados por empresas e pesquisadores a nível mundial, buscando oferecer à sociedade tratamentos minimamente invasivos, que possam ser realizados no atendimento ambulatorial e que possam ser menos traumáticos, proporcionando melhor qualidade de vida aos pacientes, bem como melhores resultados aos profissionais médicos que assistem seus pacientes com equipamentos e tecnologias alternativas. Existem atualmente inúmeros grupos de pesquisa pelo mundo que apresentam pesquisas e soluções através da terapia fotodinâmica. Nos últimos anos, os grandes avanços em pesquisas e equipamentos que pudessem auxiliar os profissionais no tratamento de lesões com Terapia Fotodinâmica, tecnologias estas que devem ser mais bem disseminadas e disponibilizadas ao conhecimento dos profissionais por parte das empresas e instituições de pesquisa para que possam chegar ao conhecimento dos profissionais e ser aplicadas nos pacientes, o que certamente trará benefício socioeconômico à população mundial.

2 Pesquisa e desenvolvimento

Com o objetivo de disponibilizar à sociedade brasileira modernas técnicas e equipamentos para tratamento de câncer é que realizamos projetos que compreendem grandes inovações tecnológicas, altos investimentos e muita dedicação profissional. No Brasil, existem vários grupos de pesquisa que estudam e propõem soluções através da terapia fotodinâmica. Se por um lado, há grandes progressos em pesquisa o mercado ainda não pode contar com muitas soluções e equipamentos nacionais, ainda ficando à mercê de equipamentos importados. Através de um esforço conjunto liderado pela Universidade de São Paulo, empresas como a (MM Optics e PDT Pharma) vem investindo alto em pesquisa e desenvolvimento para que possam entregar aos mercados soluções que auxiliem nos tratamentos com custos não tão elevados. Também na visão da empresa, esta é uma forma de disseminar as novas tecnologias de uma forma mais generalizada e que seja adequada a realidade do nosso país, pois os equipamentos importados são extremamente caros, inviabilizando a entrega de certos tipos de tecnologias aos nossos profissionais usuários e pacientes. Enquanto um projeto de Subvenção Econômica da FINEP aprovado pela MMO garantiu o desenvolvimento do equipamento há alguns anos atrás, hoje a MMO vem investindo em melhorias, novas tecnologias e inovações para toda sua linha de equipamentos, trazendo maior inovação e facilidade de operação por parte dos profissionais. Além disso, oferece também ao mercado maiores eficácia aos tratamentos onde seus equipamentos serão utilizados. Novas e novas versões e modelos de equipamentos estão sendo lançadas frequentemente pela MMO baseado nos estudos e investimentos realizados pela empresa.

3 Certificação, registro e requisitos regulamentares

Após realização de todas as definições, parametrizações e características para produto durante o longo processo de pesquisa clínica e desenvolvimento de produto, uma nova etapa muito importante deve ser

iniciada. Esta é a certificação do produto junto ao Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia (INMETRO) que se dá através de um organismo certificador de terceira parte, acreditado pelo INMETRO que valida toda documentação de projeto incluindo os ensaios laboratoriais, gerenciamento de riscos entre outros inúmeros documentos, e por sua vez certifica que o equipamento atende aos requisitos regulamentares junto ao INMETRO. Com a emissão do certificado é possível dar início ao processo de protocolo junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O registro do equipamento junto à ANVISA deve considerar a reunião de toda documentação do projeto desde a sua concepção, desenvolvimento clínico, gerenciamento dos riscos que o equipamento possa causar aos pacientes e usuários, acrescido da documentação acompanhante do equipamento ao usuário final. Com a realização do protocolamento de todos os documentos de forma eletrônica junto ao sistema da ANVISA, é gerada a taxa de registro do produto e o processo passa a correr dentro de um prazo pré determinado pela ANVISA. Toda documentação é analisada e em caso de haver alguma dúvida são enviadas exigências a serem cumpridas pela empresa para que o processo possa ser continuado, em caso de as exigências serem atendidas ou não haverem exigências, o processo é continuado e o registro do equipamento é emitido. Somente após a emissão do registro do produto por parte da ANVISA é que a empresa pode dar início à comercialização do mesmo. Este processo pode demorar cerca de seis meses entre ensaios e registro, permitindo que a empresa possa iniciar a comercialização do equipamento.

4 Equipamentos para tratamento de lesões de pele utilizando TFD

Atualmente a maior parte dos procedimentos médicos utilizados no tratamento de lesões de pele são procedimentos cirúrgicos, onde os profissionais médicos realizam os devidos exames e diagnósticos para que possam atuar protocolarmente no tratamento das doenças de pele. Com

Equipamentos para tratamento e monitoramento de TFD

isso os procedimentos cirúrgicos são realizados para que as lesões possam ser eliminadas, também de forma protocolar, após a identificação da extensão da lesão, os profissionais consideram a remoção de uma margem de segurança assegurando que não restará nenhuma porção de células doentes na região, garantindo a eficácia do procedimento cirúrgico. Os equipamentos disponíveis com tecnologia alternativa à alguns procedimentos, são utilizados no tratamento de lesões de pele e funcionam basicamente através de tecnologia fotônica. Desta forma, os resultados são obtidos da interação de uma substância particular em ação com uma radiação luminosa seletiva, o que faz com que as células doentes morram dando origem à um novo tecido sadio e renovado. Apesar de existirem equipamentos disponíveis para tratamentos através da Terapia Fotodinâmica (TFD) a técnica ainda não está largamente difundida no mercado, o que causa o desconhecimento dos profissionais da área criando certa objeção à utilização dos equipamentos e também da técnica, mas certamente auxiliaria no tratamento de grande parte da população evitando procedimentos cirúrgicos, tanto na rede privada quanto principalmente no Sistema Único de Saúde (SUS).

5 Tipos de equipamentos, evidenciação e tratamento utilizando TFD

No mercado nacional não existem muitas opções de equipamentos disponíveis, sendo a maior parte deles importados, o que impacta diretamente na falta de opção por tratamentos alternativos aos profissionais médicos de forma que possam optar por tecnologias menos invasivas, porém com resultados efetivamente comprovados.

A empresa MMO oferece ao mercado dois tipos de equipamentos que permitem opções aos profissionais médicos para procedimentos não cirúrgicos para alguns tipos de lesões de pele, o que permite aos profissionais maior aprimoramento na evidenciação de lesões, bem como tratamento por terapia fotodinâmica de determinados tipos de lesão.

Equipamentos para tratamento e monitoramento de TFD

São dois os equipamentos oferecidos ao mercado EVINCE e LINCE ambos devidamente registrados junto à ANVISA e disponíveis para comercialização no mercado nacional. Estes equipamentos permitem a perfeita delimitação de extensão das lesões por fluorescência e também o tratamento das mesmas através da tecnologia de TFD, ou seja, interações entre medicamentos e a luz resultando em transformações celulares.

Funções de evidenciação auxiliam os profissionais na detecção precisa da extensão das lesões, pois em procedimentos cirúrgicos é considerada uma margem de segurança no momento da retirada das lesões de pele. A evidenciação é dada através de fluorescência óptica, onde um medicamento fotossensível é aplicado sobre a lesão e as células doentes absorvem o mesmo. Desta forma, quando excitadas com radiação violeta, estas respondem aos estímulos de forma particular, emitindo sinais em tonalidade de cores diferentes, o que pode ser bem distinto e observado com os equipamentos de evidenciação. Já o tratamento é realizado de forma a fazer com que as células que absorveram a substância aplicada na lesão sejam consumidas durante o processo de terapia fotodinâmica, que ocorre durante a radiação da lesão com comprimento de onda seletivo, fazendo com que a droga seja consumida, e acarretando em morte celular apenas das células doentes, pois as células sadias não absorvem tal substância aplicada à lesão. Entretanto, após o tratamento e evidenciação de que a substância foi completamente consumida pelo processo, a lesão deve sumir em alguns dias, eliminando a doença.

5.1 LINCE

O equipamento LINCE foi desenvolvido baseado na mais alta tecnologia disponível no mercado para que pudesse atender os requisitos normativos bem como a oferecer extrema eficácia no tratamento das lesões de pele, carcinoma basocelular (CBC) e também queratose actínica/campo de cancerização. Este possui duas funções em uma mesma plataforma que permite os profissionais realizarem a evidenciação das lesões por

Equipamentos para tratamento e monitoramento de TFD

fluorescência óptica e o tratamento das mesmas por ação da TFD.

O equipamento permite que o profissional realize tratamentos na assistência médica ambulatorial, devendo aplicar o fármaco, ácido aminolevulínico (ALA), realizar a oclusão do local, aguardar o tempo necessário para absorção celular e realizar a evidenciação da lesão, que mostrará ao profissional a fluorescência realçada em tons de vermelho da área lesionada no visor da peça de mão. O equipamento permite o registro de fotos para arquivo com acessório simples para câmera ou celular. Com a delimitação exata da área lesionada, é possível iniciar o tratamento, que é dado através da TFD, interação entre o fármaco aplicado à pele e a irradiação luminosa em comprimento de onda seletivo. No entanto, a interação resulta em um tipo de oxigênio reativo às células doentes levando-as a morte. A técnica em conjunto com o equipamento possui taxa de eficácia de 95% no primeiro tratamento. Por se tratar de um equipamento compacto, é possível que os profissionais transportem o mesmo entre centros de tratamentos, clínicas especializadas, ambulatórios e bem como em viagens, trazendo maior comodidade aos profissionais e principalmente aos pacientes que não necessitam passar por procedimentos cirúrgicos para alguns casos. O que sem dúvida permite maior liberdade aos pacientes não interrompendo seu cotidiano e também ao sistema de saúde aliviando a ocupação de leitos hospitalares e despesas com cirurgias.



Figura 3. Imagem representativa do equipamento LINCE.

5.2 EVINCE

O equipamento EVINCE foi desenvolvido para que pudesse atender os requisitos normativos bem como a oferecer extrema eficácia na evidenciação do leito e extensão de lesões. Este possui a função de auxiliar os profissionais na evidenciação e delimitação das áreas a serem tratadas, permitindo aos profissionais registrar o antes de depois das lesões para geração de relatórios e análises comparativa das lesões e dos tratamentos. Este produto possui um acessório que permite ao profissional acoplar um simples celular ao mesmo para realizar a aquisição de imagens e vídeos em tempo real, este permite o acoplamento de vários tipos diferentes de aparelhos celulares e é de simples utilização, esta função permite aos profissionais grande auxílio na realização da anamnese dos pacientes e também documentação das imagens e dos tratamentos.

Este possui a mesma função em relação ao evidenciador disponível no equipamento LINCE, porém, por se tratar de um equipamento portátil a bateria, também pode ser utilizado em outras áreas de atuação, como odontologia, enfermagem e estética para que possa auxiliar os profissionais a visualizarem a formação de colônias de bactérias e microrganismos em tecidos moles, entre outras utilizações para evidenciação em tecidos duros.



Figura 2. Imagem representativa do equipamento EVINCE.

Equipamentos para tratamento e monitoramento de TFD

O acessório para acoplar o celular do equipamento EVINCE é constituído de uma peça de acrílico com formato ergonômico e que atende os mais diversos modelos de celular para registro de imagens. O suporte possui uma área emborrachada que auxilia o profissional no momento do registro de imagens, minimizando a movimentação do aparelho sobre o suporte. Este pode ser acoplado tanto ao equipamento LINCE quanto ao EVINCE, pois o sistema de acoplamento entre os equipamentos é o mesmo.



Figura 3. Imagem representativa do suporte para acoplamento de celular ao LINCE ou EVINCE.

A MMO possui a inovação em seu DNA e sempre busca entregar ao mercado bem como aos seus usuários, as mais altas tecnologias disponíveis no mercado para aplicações na área da saúde, que são desenvolvidas em parceria entre a empresa e instituições de pesquisas renomadas.

Esperamos que os profissionais, usuários e parceiros possam obter os mais positivos resultados em seus tratamentos com a utilização das soluções propostas pela empresa, e com a certeza de que seus equipamentos trarão muitos benefícios aos pacientes, e principalmente sócio econômicos ao nosso país, a MMO faz votos de que todos tenham muito sucesso!

Terapia fotodinâmica Brasil – Protocolo clínico desenvolvido e resultados do programa nacional

Hilde H. Buzzá¹, Michelle B. Requena¹, Mirian D. Stringasci¹, Lilian T. Moriyama¹, José Dirceu Vollet-Filho¹, Natalia M. Inada¹, Ana Paula da Silva¹, Cintia Teles de Andrade¹, Kate C. Blanco¹, Dora Patricia A. Ramirez¹, Cristina Kurachi¹, Ana Gabriela Salvio² e Vanderlei S. Bagnato¹

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

² Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil.

O programa TFD Brasil foi coordenado pelo Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica, do Instituto de Física de São Carlos, da Universidade de São Paulo. Contou com o apoio financeiro do BNDES e um programa de FINEP. Como resultado direto, foram formados 72 centros de tratamento para câncer de pele não melanoma em todas as regiões do Brasil e mais de 1600 lesões tratadas com biópsia pré e pós-tratamento. Com um protocolo de duas sessões separadas em uma semana, utilizando medicação e equipamento nacionais, foi atingida uma taxa de resposta completa global de 78% após 30 dias do tratamento. Centros inexperientes, após os anos do projeto, se tornaram potenciais disseminadores da técnica em sua região, aumentando sua taxa de tratamento com o tempo. Mais do que lesões tratadas, o Programa TFD Brasil atingiu o objetivo de tornar essa técnica uma realidade nacional.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605409

1 Introdução

O projeto Terapia Fotodinâmica Brasil começou em 2012 e contou com o financiamento do BNDES e da FINEP e o envolvimento de empresas e do setor acadêmico. A ideia do projeto foi legitimar a TFD no Brasil, com tecnologia brasileira, para o tratamento de pequenas lesões de câncer de pele não melanoma, tornando possível oferecer uma alternativa além da cirurgia para pacientes com essas lesões.

Assim, pacientes que antes aguardavam meses para pequenos atos cirúrgicos poderiam ser mais rapidamente atendidos, diminuindo as filas para casos mais graves. Como a TFD não requer grande infra-estruturas, o projeto também ajudou a disponibilizar tratamento para locais longes, capilarizando a possibilidade de tratar pacientes antes de encaminhá-los para grandes centros.

Esse projeto de alcance nacional e internacional envolveu instituições de pesquisas, empresas, hospitais e pequenas clínicas para tornar a técnica aplicável em larga escala. O Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social (BNDES) foi a fonte geral do financiamento para a instalação da técnica, além de um programa de subvenção da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) para parte do desenvolvimento do equipamento. O treinamento das equipes médicas foi feito pela equipe científica da Universidade de São Paulo, do Instituto de Física de São Carlos.

Cada equipe formada recebeu um equipamento e medicação nacionais necessária para o tratamento das lesões, acompanhados de treinamento específico da equipe, com parte teórica e prática. Assim, foram treinados 72 centros em todo o território nacional e 12 centros internacionais.

2 Protocolo clínico do Projeto TFD Brasil

Os pacientes elegíveis para o projeto Terapia Fotodinâmica Brasil foram homens e mulheres acima de 18 anos com lesões específicas de câncer de pele não melanoma, do tipo Carcinoma Basocelular superficial

(CBCs) com, no máximo, 2 cm de extensão ou nodular (CBCn) de até 2 mm de infiltração. Foram excluídos pacientes com fotossensibilidade e gestantes. [1, 2]

2.1 Curetagem e aplicação do creme

Selecionada a lesão, é preciso fazer uma curetagem tradicional para remover camadas de tecido e melhorar a penetração do creme. Nos casos de CBCn, é recomendada uma curetagem mais profunda para reduzir a lesão e garantir a destruição completa do tecido, uma vez que aumenta a penetração do fotossensibilizador e da luz.

A curetagem vem se mostrando fundamental no procedimento pré-tratamento, aumentando efetivamente a produção da Protoporfirina IX (PpIX), que pode indicar diretamente maior eficiência da TFD. [3]

Após a curetagem, o creme contendo 20% de M-ALA deve ser aplicado sobre a lesão, cobrindo toda a região, com uma camada de aproximadamente 1 mm de espessura e margem de 5 mm. A oclusão deve ser feita com plástico filme, garantindo que o creme fique sobre a lesão e um pedaço de papel alumínio com tamanho maior que a lesão deve ser colocado sobre o plástico, para evitar o consumo do fotossensibilizador pela luz ambiente. Um curativo sobre o papel alumínio pode ajudar a garantir a integridade da oclusão.

É preciso esperar um tempo de 3 horas para que ocorra o acúmulo da PpIX na região. Após esse tempo, a lesão deve ser limpa com soro fisiológico e a fluorescência deve ser observada.

2.2 Observação da fluorescência

O uso do evidenciador por fluorescência, antes da terapia, permite ao médico se certificar de que houve formação de PpIX na região de interesse do tratamento. Quando não se visualiza a fluorescência característica do fotossensibilizador, pode ser um indicativo de que houve um problema durante as 3 horas de espera, que pode resultar em uma resposta

incompleta ao tratamento.

Da mesma maneira, verificar a fluorescência logo após a TFD e confirmar o consumo da PpIX torna possível avaliar se ocorreu algum problema durante a iluminação, como o deslocamento da ponteira durante o tratamento. [4]

Isso é possível porque a PpIX apresenta uma fluorescência vermelha característica quando iluminada com a luz azul, enquanto a pele saudável apresenta uma fluorescência verde com a mesma excitação com a luz azul, proporcionando um contraste entre o tecido que acumulou PpIX e o que não apresentou esse acúmulo. [3]

O evidenciador por fluorescência presente no equipamento LINCE entregue aos parceiros clínicos desse Projeto ajuda a melhorar diretamente a resposta das lesões à TFD. Assim, o médico e os profissionais da saúde têm em mãos uma ferramenta auxiliar para o diagnóstico e o monitoramento de lesões antes, durante e após a TFD.

2.3 Iluminação e segunda sessão

A ponteira de iluminação do equipamento LINCE possui um conjunto de LEDs e iluminação homogênea emitindo em comprimento de onda em 630 ± 10 nm. O protocolo clínico utilizado no Projeto TFD Brasil propôs uma entrega de 150 J/cm^2 e irradiância de 125 mW/cm^2 , aplicada durante 20 minutos. Uma grande vantagem da TFD é que múltiplas lesões podem ser tratadas ao mesmo tempo, desde que haja equipamento para que a iluminação ocorra simultaneamente.

Apesar de haver outros protocolos disponíveis, o uso desses parâmetros de iluminação foram propostos baseado no melhor balanço de dose de luz entregue, tempo de iluminação praticável à realidade clínica e dor apresentada pelo paciente.

Durante a iluminação, os parceiros clínicos de todos os centros questionaram os pacientes quanto à dor em uma escala que variou de 0 a 10 (sendo 0 a ausência de dor e 10 a dor máxima). Esses dados permitiram

uma avaliação completa da sensação dolorosa durante o procedimento, mostrando um procedimento suportável em relação a isso na grande maioria das vezes.

A segunda sessão do tratamento foi feita após sete dias, seguindo os mesmos passos descritos para a primeira sessão. Um esquema resumindo o protocolo de tratamento está mostrado na Figura 1.

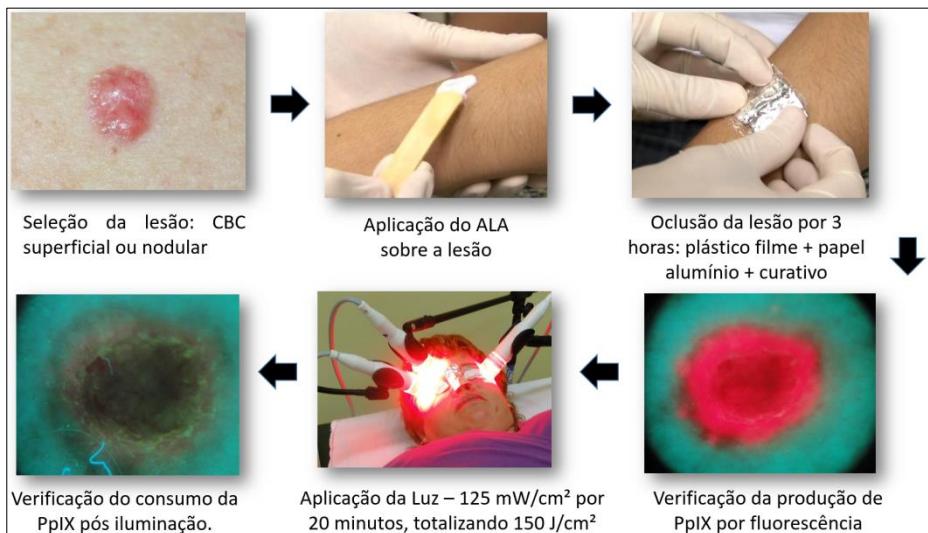


Figura 1. Protocolo resumido do Programa TFD Brasil, sempre realizando a curetagem prévia, repetindo os mesmos passos após uma semana para a segunda sessão.

3 Taxas de resposta completa obtidas

Os resultados obtidos foram coletados de todos os centros, totalizando mais de 1600 lesões. Considerando somente as lesões com biópsia feita antes e após o tratamento, foram tratadas 1047 lesões, sem considerar o nosso centro de tratamento padrão, localizado no Hospital Amaral Carvalho, na cidade de Jaú/SP. As lesões de Jaú não entraram na análise para a análise da experiência do centro em comparação com a taxa de resposta completa.

No início do projeto, equipes sem experiência mostravam um

desempenho pior quanto a taxa de resposta completa dos pacientes. Entretanto, ao final do projeto, essas taxas foram similares, o que propõe que o crescente desenvolvimento da experiência na aplicação da técnica e na indicação das lesões é o determinante para maior índice de tratamentos com resposta completa das lesões de CBC.

Assim, 72 centros de tratamento em terapia fotodinâmica foram formados no Brasil, distribuídos nas cinco regiões. Hoje, com experiência, essas equipes podem viabilizar a aplicação da técnica de forma a atender as necessidades de um país de dimensões continentais.

Dentre as lesões tratadas, sendo 80% delas foram do tipo CBC (843 lesões). A taxa de resposta completa atingiu 78% após 30 dias do tratamento, sendo que assim foi considerada quando houve ausência da lesão pré existente no exame clínico e histopatológico. 20% mostrou resposta parcial, com diminuição no tamanho, mas sem eliminação total da lesão e 2% dos tratamentos foi interrompido, assim considerada quando o paciente não retornou para avaliação.

Considerando-se 584 lesões tratadas pelo centro mais experiente, o Hospital Amaral Carvalho, a taxa de resposta completa foi de 86%, com análise clínica e biópsia após 30 dias da segunda sessão, mostrando, mais uma vez, a importância de termos profissionais bem treinados para uma indicação mais assertiva da TFD.

Comparando a resposta de CBC nodular e superficial, a taxa de resposta completa foi maior para as lesões superficiais. Isto se mostra tanto para os centros com experiência prévia (superficial: 86%; nodular: 72%) quanto os inicialmente inexperientes (superficial: 77%; nodular: 65%). As taxas de resposta completa estão mostrados na Figura 2.

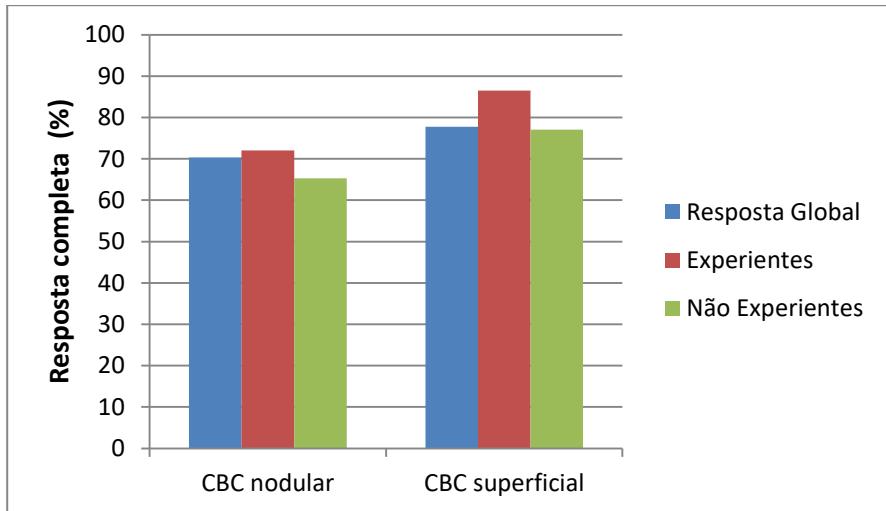


Figura 2. Taxas de resposta completa comparando CBC nodular e superficial, com centros declarados experientes e não experientes. Adaptado de Buzzá [1]

4 Outros resultados importantes

Durante o período de formação dos centros, foi possível constatar que menos da metade dos médicos relataram experiência prévia com a técnica. Assim, fica claro que o Programa TFD Brasil ajudou não só na formação dos profissionais como ajudou a disseminar a terapia fotodinâmica para câncer de pele não melanoma, o que pode resultar num grande impacto para o Brasil, dado as vantagens no que diz respeito aos resultados clínicos, estéticos, anátomo-funcionais e financeiros de sua aplicação.

Em relação ao tecido pós-tratamento, a TFD apresenta uma recuperação com a preservação de estruturas anátomo-funcionais muito superiores à cirurgia. [5] Tecidos como pálpebras, nariz e orelhas (78% destas lesões são de cabeça e pescoço) são muitas vezes preservados pós TFD e poupadados de cicatrizes, aumentando a aderência de pacientes ao tratamento.

Se a análise for feita do ponto de vista de número de pacientes com acesso a tratamento, a vantagem da TFD de forma ambulatorial precisa ser discutida. O SUS raramente tem condições de oferecer a cirurgia

prontamente, o que resulta em filas de espera que chega a meses para os pacientes terem suas lesões removidas. Por conta destas esperas prolongadas, as lesões tendem a apresentar pioras no quadro clínico, o que provoca complicações para a saúde e bem-estar do paciente e aumento nos custos, já elevados, de procedimentos como a cirurgia. Considerando o tipo de lesão, mais de 100 mil casos são esperados, por ano, no Brasil [6], o que torna praticamente impossível que qualquer sistema de saúde lide com esta demanda de forma eficiente apenas utilizando cirurgia, seja por falta de recursos humanos, seja por falta de orçamento.

Este tipo de demanda cria a necessidade real e inegável do uso de novas abordagens terapêuticas que reduzam os custos, tempo de espera, necessidade de infraestrutura e de especialização necessários para o tratamento destas lesões.

É importante dizer que os médicos responsáveis pelas equipes, muitas vezes, encaminharam à TFD lesões de pele não melanoma de tipos diferentes do indicado no protocolo. Isso aconteceu tanto porque foram movidos pela ausência de biópsia inicial, quanto pela intenção de verificar os efeitos do tratamento em casos para os quais julgassem cirurgia inviável (seja por falta de estrutura, fila ou condição do paciente).

Uma avaliação destes tratamentos mostrou que, mesmo para as lesões não indicadas, foi obtida uma taxa de resposta completa de 70%. Isso mostra que a TFD pode ser uma boa técnica para pequenas lesões de pele do tipo não melanoma, mesmo quando essas lesões não são do tipo carcinoma basocelular.

Por fim, o projeto criou condições para o surgimento de uma empresa farmacêutica, a PDT Pharma, se tornando o primeiro fabricante de fotossensibilizador nacional. A existência de medicação nacional reduziu o custo cerca de 10 vezes, viabilizando tanto o projeto quanto a sua efetivação na realidade clínica. Além disso, apesar da existência de diferentes fontes de luz, oferecer equipamentos a base de LED para o tratamento de câncer de pele dentro da realidade econômica brasileira foi

o objetivo da parceria com a empresa MMOptics. [7] Esse projeto, portanto, tornou possível o desenvolvimento de um dispositivo, com inovação tecnológica nacional, sem similar no mundo e a um preço acessível frente aos outros dispositivos.

5 Considerações finais

Assim, além dos resultados de resposta completa e tratamento de mais de 1600 lesões seguindo o protocolo proposto, aqui descrito, é importante destacar os diversos aspectos envolvidos com um Programa Nacional de Terapia Fotodinâmica. As vantagens estéticas dos resultados clínicos, as contribuições em termos financeiros e de acessibilidade da técnica e a possibilidade de levar tratamento a um número cada vez maior de pessoas, faz da TFD dermatológica uma opção ainda mais real, agora, com a finalização do programa. Participaram do projeto pesquisadores, médicos, enfermeiros, diretores de hospitais e corpo clínico entusiasmados, sabendo da oportunidade de contribuir para o avanço do tratamento do câncer de pele não melanoma no Brasil. A motivação destes profissionais se alinhou com a visão inicial do grupo que liderou o projeto na Universidade de São Paulo: tornar a TFD – uma modalidade eficiente, de baixo custo, com apelo científico e tecnológico de interesse nacional – disponível para a população.

Referências bibliográficas

- [1] Buzzá HH, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, *et al.* Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care. *Cancer Control*; 26. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1177/1073274819856885.
- [2] Ramirez DP, Kurachi C, Inada NM, *et al.* Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 22–26.
- [3] Andrade CT, Vollet-Filho JD, Salvio AG, *et al.* Identification of skin lesions

- through aminolaevulinic acid-mediated photodynamic detection. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 409–415.
- [4] Pratavieira S, Andrade CT, Salvio AG, et al. Optical Imaging as Auxiliary Tool in Skin Cancer Diagnosis. In: *Skin Cancers - Risk Factors, Prevention and Therapy*. InTech, 2011, pp. 159–172.
- [5] Christensen E, Mørk C, Skogvoll E. High and sustained efficacy after two sessions of topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for basal cell carcinoma: A prospective, clinical and histological 10-year follow-up study. *Br J Dermatol* 2012; 166: 1342–1348.
- [6] INCA. *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2017.
- [7] Blanco KC, Moriyama LT, Inada NM, et al. Fluorescence guided PDT for optimization of the outcome of skin cancer treatment. *Front Phys*; 3. Epub ahead of print 30 April 2015. DOI: 10.3389/fphy.2015.00030.

A terapia fotodinâmica e sua disponibilidade no Sistema Único de Saúde

Hilde H. Buzzá, Michelle B. Requena, Mirian D. Stringasci, José Dirceu Vollet-Filho, Kate C. Blanco, Lilian T. Moriyama, Cristina Kurachi e Vanderlei S. Bagnato

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

A incidência de câncer de pele aumentando com o passar dos anos e é, hoje, de grande importância no contexto de saúde, com uma enorme necessidade de recursos públicos e privados destinados ao diagnóstico e tratamento dessa doença. Assim, a terapia fotodinâmica (TFD) para pequenas lesões de pele pode ser uma das melhores soluções para oferecer tratamento a toda a população brasileira. É tratamento de fácil treinamento dos profissionais, sua realização é feita sem ambiente cirúrgico, minimizando os efeitos pós-tratamento e o custo da implantação do procedimento em larga escala é extremamente adequado para o serviço público de saúde nacional. A TFD é uma possibilidade atual de ampliação do tratamento de lesões, ainda na triagem, consulta de pacientes e campanhas de prevenção, visando, assim, o atendimento do maior número de brasileiros. Ela já vem sendo utilizada de forma ampla pela rede privada e, usando tecnologia brasileira, já vem mostrando custo-efetividade favorável para implantação no sistema público.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605410

1 Introdução

Os dados do IGBE mostram que, ao longo dos anos, tem ocorrido um progressivo aumento da expectativa de vida do brasileiro e, com ele, uma explosão de casos de câncer de pele. [1] Segundo dados do INCA, em 2008, a expectativa de vida subiu para 71 anos, e a incidência de câncer de pele não melanoma (CPNM) dobrou com relação a década anterior. Em 2014, enquanto a expectativa de vida subiu em média para 78 anos, a incidência de CPNM subiu para quase 200 mil casos anuais. Nesse mesmo período, enquanto a população cresceu aproximadamente 12%, a incidência dessa malignidade aumentou cerca de 250%. [2]

O problema torna-se ainda mais sério se considerarmos as chamadas regiões de cancerização, caracterizadas por lesões pré-malignas, como as queratoses actínicas, que atingem regiões extensas e, sem tratamento, podem evoluir para lesões mais graves. [3] Apesar desta situação explosiva, ainda não existem investimentos suficientes para lidar com o problema. Por não ser um tumor de rápida progressão e nem de alto risco de metástase, as técnicas de tratamento não tem evoluído ao ritmo que precisa, e nem tem levado em conta a realidade econômica daqueles que a doença afeta.

O câncer de pele, no Brasil, pode ser visto como sendo um problema de vários aspectos, cujo impacto na sociedade considera as taxas de mortalidade, morbidade e custos do tratamento. Apesar de o CPNM ser uma doença relativamente fácil de ser tratada, no início, ela pode evoluir para casos de severa complicações e com custos elevados para o Estado. É, de um primeiro ponto de vista, um problema de saúde pública, sendo o tipo de câncer que mais acomete cidadãos brasileiros. Por conta disso, é preciso levar em consideração o impacto no indivíduo em termos de anos potenciais de vida perdidos, a extensão de incapacidade, dor e desconforto, custos do tratamento, e o impacto na autoestima e na família desses milhares de indivíduos. [4, 5]

Por outro lado, pode ser visto como um problema social, já que, nos

ambulatórios de dermatologia dos hospitais, de um modo geral, nota-se uma situação de superlotação, com demora no atendimento. Essa espera no oferecimento de tratamentos acaba agravando os casos e afetando diretamente todos aqueles que dependem exclusivamente do sistema público de saúde. É comum pacientes aguardarem até meses para consulta e, após diagnóstico, ainda mais tempo para pequenos atos cirúrgicos, que demandam infraestruturas específicas e especialistas. Em muitos casos, há desistência pelo tratamento e agravamento da doença, aumentando custos e complicações que poderiam ser evitados. Assim, o problema social acaba se tornando mais grave por conta dessa saturação do sistema, e o número de casos de câncer de pele aumentando diariamente e carregando ainda mais as filas.

A extensão territorial do país e sua distribuição populacional não permitem o atendimento adequado em todos os locais, o que torna o CPNM um problema logístico. A maioria das pequenas cidades não possui estrutura adequada para realização de cirurgias, mesmo que pequenas e encaminha o paciente para centros de referência mais próximos. As prefeituras, muitas vezes, disponibilizam ônibus para transporte, que não são suficientes e os pacientes precisam também se deslocar em condução própria ou conduzida por familiares. O transporte de pacientes significa, de fato, um elevado custo para prefeituras e pacientes. Portanto, a redução do número de pacientes precisando dessa estrutura de transporte significa melhor atendimento para os pacientes, que, de fato, necessitam de tratamentos complexos. Além disso, quando esse paciente é tratado em outra cidade, ainda é preciso considerar o dia de trabalho perdido que, em segunda análise, acarreta problemas para o empregador e para as pessoas dependentes do serviço de cada um desses pacientes.

Por fim, o tratamento do CPNM é um problema econômico. Diagnosticar e tratar quase um milhão de novos casos a cada 4 anos com cirurgia tem um custo elevado, com demanda de infraestrutura, recursos humanos, medicações e insumos. Investimentos públicos são necessários e,

muitas vezes, não conseguem ser viabilizados em tempo hábil. Os ambulatórios de atendimento pelo SUS, com algumas exceções, não conseguem lidar com o elevado número de pacientes que procuram atendimento. E quando conseguem, mesmo em grandes centros, os pacientes demoram na média de 3 meses para o tratamento ser iniciado. Os profissionais são obrigados a estabelecer prioridades de ação, deixando pequenas lesões para um tratamento posterior, tornando a lesão (depois de meses) de maior complexidade e necessitando despender ainda mais recursos para esse tratamento.

Oferecer tratamentos com maior custo-efetividade no sistema público de saúde, como o SUS, pode ser uma via de solução para um problema que se apresenta de tantas formas.

2 A distribuição dos médicos no território brasileiro e a disponibilidade de tratamento

Segundo levantamento feito pelo Conselho Federal de Medicina (CFM), em 2020, sobre a distribuição de médicos no território brasileiro, há 2,4 médicos por mil habitantes. Embora a proporção no Brasil não seja muito diferente de outros países como os Estados Unidos (2,6), Canadá (2,7) e Reino Unido (2,8), a distribuição dos médicos não é homogênea e isso precisa ser levado em conta num país continental como o Brasil. [6] De acordo com o próprio CFM, essa distorção na distribuição dos médicos ainda é um desafio.

Assim, quando a análise da média de médicos por mil habitantes acontece para cada região do país é possível ver a heterogeneidade dessa distribuição (Figura 1a). Em algumas áreas do país, simplesmente, não há médicos, o que torna a falta de profissionais um grande problema (Figura 1b). Além da análise por região, é preciso destacar que 55% dos médicos brasileiros são encontrados nas capitais dos estados e não distribuídos pelas cidades, dificultando o acesso aos tratamentos e diagnósticos das populações mais distantes.

Se focarmos em especialistas, o problema fica ainda mais grave. Entre os mais de 500 mil médicos cadastrados no Brasil, há 9.685 dermatologistas. Para a população brasileira, com mais de 210 milhões de habitantes, isso leva a 4,6 dermatologistas por 100.000 habitantes. Entretanto, como mostra a Figura 1d, a distribuição dos dermatologistas está concentrada em algumas regiões e um grande número de cidades não tem nenhum especialista para detectar e tratar lesões de câncer de pele. Se considerarmos outras especialidades que também podem tratar do CPNM, a situação fica ainda mais grave, com a média para cada 100 mil habitantes caindo para cerca de 3,3 para cirurgia plástica e 0,7 para cirurgia oncológica. [6] Apesar da distribuição da densidade demográfica também ser heterogênea, no Brasil (Figura 1c), fica claro o contraste da ausência de médico especialista em algumas regiões.

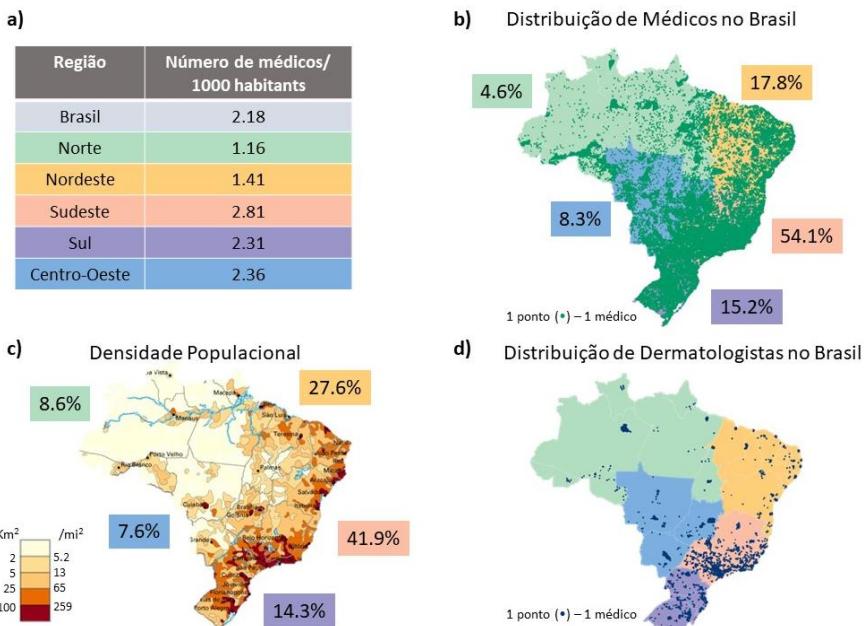


Figura 1. a) Médicos para cada mil habitantes por região, no Brasil. b) Distribuição de médicos pelo Brasil com as porcentagens por região. c) Densidade populacional as porcentagens por região. d) Distribuição dos dermatologistas. Adaptada de BUZZA [7, 8]

A falta de especialistas para diagnosticar lesões de CPNM significa que o número estimado de casos no Brasil é certamente impreciso. Isso também significa que um paciente com uma lesão suspeita pode ter que esperar muito tempo para obter o diagnóstico e tratamento correto.

Obviamente, se há a possibilidade de tratamento mais distribuído territorialmente para os casos simples, os centros de especialidade ficariam responsáveis para os casos mais complexos e, com isso, a situação, pelo menos com relação ao CPNM, poderia ser simplificada. De acordo com Relatório epidemiológico do Hospital Amaral Carvalho entre os anos de 2005 e 2012, publicado em 2015, houve o tratamento de 8829 lesões de câncer de pele não melanoma, das quais 75,4% das lesões se encontravam nos estágios iniciais da lesão (estadiamento clínico 0 e I). [9] Assim, a grande maioria dessas lesões poderia ter sido identificada por especialistas, mas não precisariam ser submetidas necessariamente a cirurgia ou procedimentos ainda mais caros, como quimioterapia e radioterapia. A TFD para o CPNM, se bem indicada e realizada com critérios adequados, pode atingir 95% de eliminação tumoral. [10] O tratamento é realizado no próprio ambulatório, tornando possível ser aplicada no próprio local de consultas, sem grandes investimentos adicionais e sem necessidade do paciente ir para centros de referência.

3 Custos do tratamento de câncer de pele não melanoma

Até pouco tempo atrás, o Brasil não tinha o poder de produção tecnológica dos fotossensibilizadores e de equipamento para a realização da TFD. Isso implicava a necessidade de importação dos fotossensibilizadores e de alguns equipamentos de iluminação, tornando a TFD um procedimento de alto custo e restrito às clínicas particulares. Desde o ano 2011, entretanto, indústrias nacionais passaram a produzir o insumo de ALA e m-ALA para tratamentos clínicos e equipamentos de luz para tratamento de câncer de pele, o que permitiu obtê-los em custos acessíveis e pensar em uma terapia disponível a toda população.

Assim, é possível disponibilizar tratamento eficiente das lesões com mínimo consumo, mínima infraestrutura e, principalmente, grande eficiência na liberação das filas de atendimento.

Esses valores, atualmente, são mais elevados com o tratamento dessas mesmas doenças envolvendo o procedimento cirúrgico, tido como padrão ouro no tratamento de CPNM. A cirurgia em situações iniciais da doença tem um custo estimado em R\$867,87 e R\$878,59, para os estágios 0 e 1, respectivamente, quando levamos em conta os valores do SUS. Esses valores foram mostrados em um estudo feito, em 2011, que calculou o custo por lesão no Estado de São Paulo do câncer de pele do tipo não-melanoma no SUS e por convênio médico, como mostra a Tabela 1. [11]

Tabela 1. Custo para cirurgia por lesão de CPNM no Estado de São Paulo, de acordo com um estudo de 2011. Adaptado de Souza [11].

Classificação	Custo por lesão (R\$)	
	SUS	Convênio
Estágio 0	867,87	559,69
Estágio I	878,59	581,29
Estágio II	968,94	724,03
Estágio III	1270,37	1204,96
Estágio IV	1872,13	2134,39

A comparação dos valores da cirurgia com a TFD é difícil porque, apesar de sua eficácia comprovada para câncer de pele não-melanoma, doença de Bowen e queratoses actínicas, poucos estudos analisam os custos propriamente dito da Terapia Fotodinâmica em todo mundo. [12–14]

Num estudo na Espanha, o custo e a efetividade dos diferentes tratamentos de CPNM foram comparados. Foram tratadas 34 lesões com cirurgia e 24 com TFD, com um acompanhamento de dois anos. Essas lesões eram restritas à CBC superficial e doença de Bowen não infiltrativos. [15]

O protocolo padrão de microcirurgias usada que foi descrito por esse

estudo é similar ao usado no Brasil, utilizando anestesia local, bem como uma equipe cirúrgica, composta de um médico e dois enfermeiros, com um tempo médio de 30 minutos de procedimento. Cirurgias maiores e com maior comprometimento do paciente necessita, além da cirurgia local, medicamentos sedativos e a necessidade de uma equipe médica maior, composta por dois médicos cirurgiões, um anestesista e dois enfermeiros, levando em média 45 minutos.

O protocolo utilizado por eles da Terapia Fotodinâmica é semelhante ao utilizado pelo projeto multicêntrico coordenado pela USP de São Carlos, com duas sessões separadas em uma semana e tempo de incubação do creme de 3 horas. Essas semelhanças permitem uma comparação direta com os custos que seriam obtidos no Brasil tanto para o protocolo de TFD quanto para o protocolo de cirurgia.

Considerando os custos diretos, foram considerados os salários da equipe, equipamentos e medicamentos e, para custos indiretos, foram considerados 35% do valor total, um dado fornecido pelo próprio hospital, levando em conta desperdícios e sobrecarga.

Deve-se levar em conta, para os custos de cada técnica, o tratamento de pequenas lesões, alvo principal da aplicação da TFD. Para ambas as técnicas é preciso considerar as consultas iniciais com o médico (de diagnóstico da lesão) e finais (de acompanhamento pós-terapia). Para a cirurgia, são, ao menos, 4 diferentes momentos: o pré-operatório, a cirurgia em si, a sala de recuperação e o pós operatório. Em contrapartida, para a TFD, existem os custos com material para preparação da lesão, o creme com o FS ou o pró-fármaco (no caso desse estudo foi usado o m-ALA) e a equipe de enfermagem. Usando esse protocolo de 2 sessões, foi obtida uma eficácia de tratamento de 90% para TFD e 97% para cirurgia. Se houvesse recidiva da lesão, o paciente era encaminhado para a cirurgia.

Assim, considerando as taxas de recidiva, o custo total para a lesão tratada inicialmente com TFD foi de 299,1 euros enquanto o custo da cirurgia foi de 569,2 euros. [15]

Essa diferença de valor, mostrando a vantagem econômica da TFD, pode ser atribuída a vários fatores, como a mão de obra qualificada necessária no tempo integral da cirurgia. Além disso, a realização de uma cirurgia, por menor que seja, exige uma estrutura específica para a descontaminação e esterilização de todos os materiais utilizados. Muitas vezes, um ambulatório não tem essas condições e esse material precisa de uma infraestrutura de almoxarifado para o controle e recolhimento rigorosos de distribuição para os centros cirúrgicos.

A TFD é um procedimento ambulatorial e, portanto, o tratamento de pequenas lesões de pele está relacionado com poucos custos indiretos. É necessário apenas o equipamento de tratamento, a medicação, insumos simples e uma cadeira para o paciente se sentar.

Esse estudo conduzido na Espanha mostra, de maneira clara, que quando um hospital apresenta ambas as técnicas disponíveis, a TFD é mais vantajosa, possuindo um valor menor que a cirurgia. Essa comparação, mostrando uma boa relação de custo e efetividade, dá uma boa base de comparação para as vantagens se a TFD se tornar uma opção implementada no SUS.

4 Como implementar novas tecnologia – a Conitec

A Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec) foi criada em 2011 e é o órgão responsável por ajudar o Ministério da Saúde do Brasil para a incorporação, exclusão ou alteração de tecnologias em saúde pelo Sistema Único de Saúde. É ela também que analisa a constituição ou alteração de protocolos clínicos propostos. Para isso, é necessária a investigação das consequências clínicas, econômicas e sociais da utilização dessas novas tecnologias. Medicamentos, produtos e procedimentos, tais como vacinas, equipamentos e protocolos assistenciais são exemplos dessas tecnologias.

[16]

Portanto, a incorporação da TFD no SUS precisa ser analisada por

essa Comissão, em um documento que contenha não só dados da doença e da tecnologia proposta, como é preciso uma revisão sistemática das evidências científicas acerca do tema. É também importante a análise do impacto orçamentário no SUS, bem como sua avaliação econômica considerando custo e efetividade da TFD para as lesões de CPNM.

Evidências científicas não faltam para mostrar que a TFD tem uma boa taxa de tratamento completo para lesões de CPNM. Estudos utilizando a medicação e equipamento brasileiros vem sendo conduzidos por pesquisadores do Grupo de Óptica, da USP de São Carlos, sob coordenação do prof. Vanderlei Bagnato. Em conjunto com o Hospital Amaral Carvalho de Jaú foi desenvolvido o protocolo de 2 sessões separadas em 1 semana e o protocolo de 2 sessões em único dia. A partir dos protocolos estabelecidos, um projeto intitulado “Projeto TFD Brasil” formou, com apoio do BNDES e da Finep, mais de 70 centros em todo o país para que fossem tratados pacientes com tecnologia brasileira.

Hoje, com taxa de tratamento completo de quase 90% e mais de 2 mil lesões tratadas com m-ALA e equipamento brasileiros, o documento para a Conitec está sendo elaborado para submissão.

Na segunda etapa da avaliação por essa Comissão, uma consulta pública é aberta para escutar de profissionais e pacientes a experiência com a técnica e é sempre importante estar atento às novas tecnologias que estão sendo implementadas no nosso Sistema Único de Saúde.

5 As vantagens da terapia fotodinâmica no SUS

São muitas as vantagens da TFD comparada com a cirurgia. Primeiramente, o fácil treinamento dos profissionais permite que sua implementação aconteça rapidamente. Sua realização em um ambiente não cirúrgico vai de encontro à realidade de um país que possui cidades sem centros de referência no âmbito da saúde, mas que possuem populações que merecem tratamentos constante. Assim, a implantação do procedimento em larga escala é extremamente adequada para o serviço

público de saúde brasileiro.

O custo do equipamento é compatível com a realidade nacional e o medicamento, também de produção nacional, permite tratamento eficiente das lesões com mínimo consumo e a preços acessíveis que tendem a ficar cada vez menores. Não são necessários curativos extensos e nem a administração de antibióticos, uma vez que os riscos de infecção são desprezíveis. O tratamento, realizado em uma única visita e sem necessidade de permanência prolongada no hospital, torna a TFD acessível do ponto de vista econômico e logístico. Um médico e um grupo de enfermeiros podem tratar cerca de 10 pacientes com 1 equipamento em uma tarde, liberando custos de recursos humanos e aumentando o rendimento do atendimento.

Campanhas de prevenção têm sido bastante eficientes com a função de levar os pacientes com lesões precoces para o médico. Assim, no estadiamento da doença com grande possibilidade de cura, é preciso disponibilizar tratamento imediato para esses pacientes. Apenas novas tecnologias tem a chance de aumentar o número de pessoas tratadas. Mas, para isso, essas tecnologias devem ser de fácil aplicação, de fácil treinamento para o profissional, não demandar grandes investimentos em infraestrutura e, principalmente, deve estar dentro da realidade econômica do país e do governo. A terapia fotodinâmica se enquadra em todos esses requisitos e pode ajudar no tratamento do câncer de pele não melanoma para toda a população brasileira.

Referências bibliográficas

- [1] IBGE IB de G e E. População. *Projeção da População do Brasil e das Unidades da Federação* 2017; <https://www.ibge.gov.br/apps/populacao/projecao/>.
- [2] INCA. *Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2017.
- [3] Lehmann P. Methyl aminolaevulinate – photodynamic therapy : a review of clinical trials in the treatment of actinic keratoses and nonmelanoma

- skin cancer. 2007; 793–801.
- [4] Verkouteren JAC, Ramdas KHR, Wakkee M, et al. Epidemiology of basal cell carcinoma : scholarly review. *Br J Dermatol* 2017; 177: 359–372.
- [5] Trakatelli M, Morton C, Nagore E, et al. Update of the European guidelines for basal cell carcinoma management Developed by the Guideline Subcommittee of the European Dermatology Forum. *Eur J dermatology* 2015; 1–18.
- [6] Scheffer M. *Demografia Médica no Brasil 2020*. São Paulo, SP, 2020.
- [7] Scheffer M, Biancarelli A, Cassenote A. *Demografia Medica no Brasil*. Departamen. São Paulo: Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da USP; Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo; Conselho Federal de Medicina, 2015. Epub ahead of print 2015. DOI: 978-85-89656-22-1 1.
- [8] Buzzá HH, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, et al. Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care. *Cancer Control*; 26. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1177/1073274819856885.
- [9] Veneziano DB, Veneziano CL de A. *Relatório Epidemiológico do Registro Hospitalar de Câncer do Hospital Amaral Carvalho de Jaú-SP: 2005-2012*. Bauru-SP: Joarte Gráfica e Editora, 2015.
- [10] Mosterd K, Thissen MRTM, Nelemans P, et al. Fractionated 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: Results of a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 2008; 159: 864–870.
- [11] de Souza RJSAP, Mattedi AP, Corrêa MP, et al. Estimativa do custo do tratamento do câncer de pele tipo não-melanoma no estado de são paulo - Brasil. *An Bras Dermatol* 2011; 86: 657–662.
- [12] Chen J, Ruczinski I, Jorgensen TJ, et al. Nonmelanoma Skin Cancer and Risk for Subsequent Malignancy. *J Nat Cancer Inst* 2008; 100: 1215–1222.
- [13] INCA. *Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2009.
- [14] Lucas R, McMichael T, Smith W, et al. Solar Ultraviolet Radiation: global burden of disease from solar ultraviolet radiation. In: *Environmental Burden of Disease Series*. 2006.

- [15] Aguilar M, Troya M, Martin L, et al. A cost analysis of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate and imiquimod compared with conventional surgery for the treatment of superficial basal cell carcinoma and Bowen ' s disease of the lower extremities. *JEADV* 2010; 24: 1431–1436.
- [16] Entenda a Conitec. <http://antigo-conitec.saude.gov.br/entenda-a-conitec-2> (2022, accessed 9 November 2021)

Casos de TFD aplicados na Santa Casa de Misericórdia de São Carlos-SP

Alessandra Keiko Lima Fujita¹, Daniel Sundfeld Spiga Real², Ana Carolina Bettó Castro³, Helena Varago Assis³

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

² Instituto Sundfeld de Cirurgia Plástica- ISCP, São Carlos, SP, Brasil.

³ Centro Universitário de Adamantina (UNIFAI), Adamantina, SP, Brasil.

Permeando os séculos, muitas moléstias representaram grandes desafios à medicina, causando grandes perdas e sequelas à humanidade. Como exemplos de tais doenças, podem-se citar as cicatrizes fibroproliferativas, em especial a quelóide, a hidradenite supurativa, e as neoplasias cutâneas não melanomas em paciente imunossuprimidos, que se tornam um desafio pelo grande número de lesões sincrônica e suas recorrências. Neste capítulo abordaremos alguns casos tratados no ambulatório de terapia fotodinâmica da Santa Casa de Misericórdia de São Carlos que demonstram novos caminhos para possíveis terapêuticas para estas moléstias.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605411

1 Introdução

O sistema imunológico pode ser dividido em inato e adquirido, sendo o primeiro responsável por reconhecer e combater desafios patológicos da nossa espécie, por exemplo, isquemia, necrose, entre outros processos. A vertente adquirida possui capacidade de reconhecer aspectos específicos de substâncias estranhas, por exemplo, peptídeos. Assim, embora os dois sistemas sejam diferentes, ambos se complementam. Dessa forma, O MHC é um grupo de genes polimórficos conservados no cromossomo seis humano, sendo primordial na apresentação antígeno dentro da resposta adquirida, assim, todas as células T ficam restritas a um MHC para que haja resposta. [1–4]

Nos casos dos transplantados, as células T são capazes de reconhecer os complexos de MHC, os quais ligados ao peptídeo do doador, haja vista a existência de número suficiente de agentes conservados que são compartilhados entre o doador e as moléculas de MHC próprio. Entretanto, como o MHC do doador não foi visto durante o processo de educação tímica, desencadeia a ativação do MHC doador por uma célula T “alorreativa” leva à ativação, podendo causar a rejeição. Diante disso, podemos lançar mão do uso de imunossupressores. Nos primeiros dias e meses após o transplante normalmente se usa imunossupressores indutor, os quais proporcionam uma redução agressiva da resposta da célula T, porém devem ser utilizados apenas no período inicial. Após esse período é utilizado o imunossupressor de manutenção. Entretanto, ocasiona uma imunossupressão global, consequentemente expondo o indivíduo a complicações infecciosas, além de um risco aumentado de malignidade, principalmente câncer de pele de células escamosas. [4]

As cicatrizes proliferativas caracterizadas por deposição excessiva de colágeno correspondem às hipertróficas e quelóides. Estas são aquelas com abundantes feixes de colágeno tipo I e tipo III, que se distribuem de forma desorganizada formando estruturas acelulares semelhantes a nódulos e tumores. Tais lesões crescem além de suas margens originais e que,

raramente, regridem com o tempo. As estratégias de prevenção são o alívio da tensão, hidratação e pressão local, porém, o tratamento quando lesão já estabelecida pode ser feito com silicones associados à terapia de pressão, injeções intralesionais de corticoide, excisão cirúrgica, braquiterapia, crioterapia ou imunomoduladores tópicos. Entretanto, ainda não existe terapia isolada, associada ao melhor tratamento dessa lesão, que está relacionada à alta taxa de recorrência. [5, 6]

Em relação à hidradenite supurativa, tradicionalmente considerada como o resultado da oclusão glandular por restos queratóticos, com consequente proliferação bacteriana, supuração e disseminação para tecidos subcutâneos adjacentes, resultando em tecidos fibróticos e espessados. Seu quadro clínico é clássico com uma lesão nodular inflamatória e dolorosa, que podem evoluir para resolução ou rompimento com drenagem. Os objetivos gerais do tratamento são a interrupção da progressão da doença, remoção da infecção crônica e frear a formação de cicatrizes. Com isso, para casos agudos, a drenagem é o tratamento mais importante, podendo ser associado a antibióticos tópicos ou orais para prevenção de recorrências. Para casos cronificados, os trajetos podem ser excisados e deixados para cicatrizar por segunda intenção [7–12].

2 TFD em pacientes imunossuprimidos – HIV/AIDS e transplantados

2.1 Aplicação e resultado

Paciente, masculino, 81 anos, imunossuprimido/HIV positivo com Alzheimer e múltiplas lesões no toráx e membro inferior esquerdo (MIE), medindo aproximadamente 3 cm. Devido ao tamanho da lesão e condições clínicas foi encaminhado para a aplicação da TFD como um tratamento neoadjuvante. As biópsias das lesões diagnosticaram como CBC.

A Figura 1 representa as imagens das lesões antes da aplicação da TFD.



Figura 1. Lesões cutâneas, CBC, sendo, a) região esternal superior e inferior, b) região peitoral esquerdo e c) perna esquerda.

O protocolo realizado nas lesões foi o “*single visit*”, desenvolvido por pesquisadores do CEPOF (Centro de Pesquisa Óptica e Fotônica), que consiste em duas aplicações da TFD em um só dia. Dessa forma, aplicamos o creme (base A/O) com uma mistura de proporções iguais de ALA (ácido 5-aminolevúlico) e M-ALA (metil aminolevulinato), concentração de 20% (MIX-20%). Após 3 horas do creme aplicado e incubado, retiramos o excesso de creme e realizamos a irradiação nos parâmetros de dose 150 J/cm² (intensidade de 125 mW/cm², tempo 20 minutos) e o equipamento utilizado foi o LINCE (MMOptics -Brasil). Ao finalizar a irradiação aplicamos novamente o creme nas lesões e deixamos incubados por 1 hora e meia, e repetimos os mesmos parâmetros da irradiação anterior.

A Figura 2 mostra o resultado da aplicação da terapia após 1 e 2 meses. Os resultados das lesões do tórax não apresentaram resolução completa após 2 meses, com isso foi repetido mais uma sessão aplicando o protocolo *single visit*. Enquanto, que a lesão da perna esquerda apresentou resolução, mostrando uma ótima resposta.

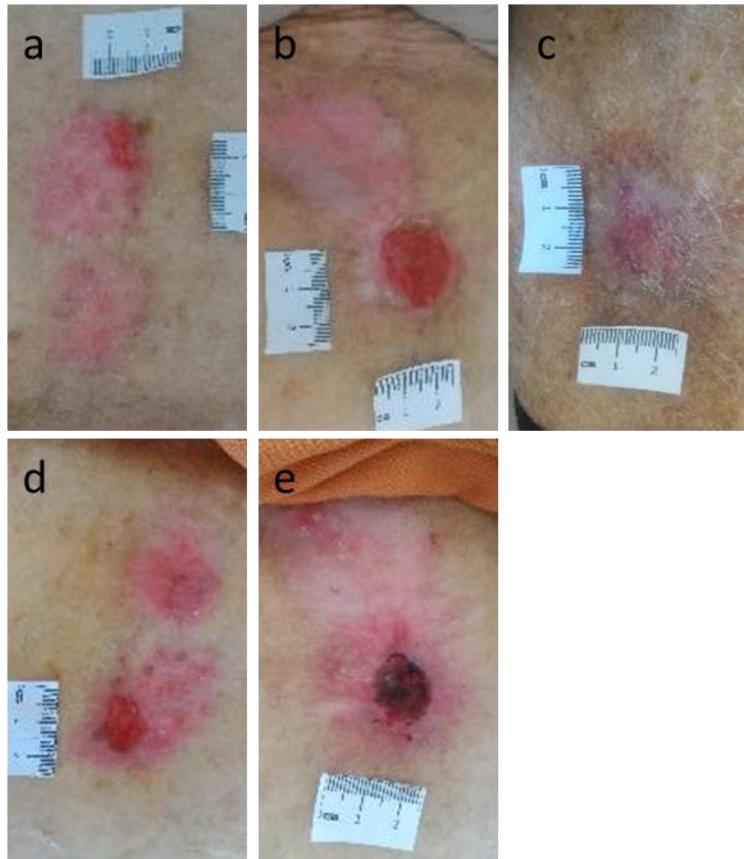


Figura 2. Lesões cutâneas, CBC, após 1 e 2 meses da aplicação da TFD, sendo, a) resultado de 1 mês na região esternal superior e inferior, b) resultado de 1 mês na região peitoral esquerdo, c) resultado de 1 mês na perna esquerda, d) resultado de 2 meses na região esternal superior e inferior, e) resultado de 2 meses na região peitoral esquerdo.

A Figura 3 mostra o resultado da TFD nas lesões do tórax após 4 meses da segunda aplicação do protocolo *single visit*.



Figura 3. Lesões cutâneas, CBC, resultado após 4 meses da segunda sessão da aplicação da TFD, sendo, a) região esternal superior e inferior e b) região peitoral esquerdo.

Ao longo de quase dois anos atendendo este paciente, diversas lesões apareceram na face, cabeça, orelha, braço entre outras, e tratamos com TFD, pois ele não havia condições clínicas para realizar cirurgias. E sempre observamos as lesões do toráx para quando recidivasse, não retornasse ao tamanho como da primeira vez. E a lesão da perna esquerda teve recidiva após um ano da única aplicação da TFD.

2.2 Conclusão

O caso apresentado permite aventar a hipótese de que a TFD representa uma opção viável e com bons resultados estéticos e concológicos no tratamento de multiplas lesões de CBC, mesmo nos casos de lesões extensas, acarretando menores traumas cirúrgicos e menores sequelas cicatriciais aos pacientes, servindo o caso apresentado como um exemplo para o fomento de estudos com metodologia adequada para ratificá-lo da possibilidade aqui descrita.

3 TFD para cicatriz queloidiana

3.1 Aplicação e resultado

Paciente, masculino, 28 anos, portador de queloide em região do

TFD Brasil – Resultados de centros ativos

tórax, foi realizado TFD para a redução da atividade celular. A priori, aplicamos o creme MIX-2% (concentração 2%) e deixamos incubado por 3 horas. Após o tempo de incubação, retiramos o excesso de creme e realizamos a coleta de imagem com o EVINCE (MMOptics -Brasil), e observamos que não havia muita fluorescência (ponto vermelhos), sinalizando que nessa concentração não houve absorção do FS na lesão no período de incubação. Mas, mesmo assim realizamos a irradiação nos parâmetros de dose 50 J/cm² (intensidade de 50 mW/cm², tempo aproximadamente de 17 minutos) para que fosse iluminado o mínimo da fluorescência observada, e o equipamento utilizado foi o LINCE (MMOptics -Brasil).

Logo na semana seguinte realizamos a TFD, agora aplicando o creme MIX-20%. E ao observar o acúmulo do FS na lesão com o equipamento EVINCE, percebemos que havia mais fluorescência do que o método anterior, porém mais ao redor da lesão. Aplicamos a irradiação nos mesmos parâmetros, mas não foi observado melhora na lesão.

A Figura 4 mostra o início da lesão antes do tratamento, e as imagens de fluorescência após 3 horas da aplicação do creme MIX-2% e MIX-20%, respectivamente.

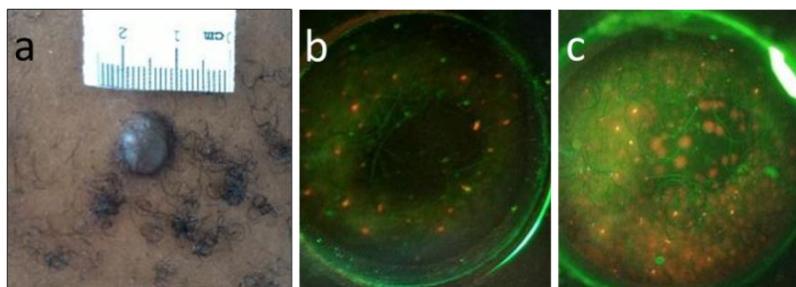


Figura 4. a) Cicatriz queloidiana na região do tórax, b) imagem de fluorescência após 3 horas da aplicação do creme MIX-2% e c) imagem de fluorescência após 3 horas da aplicação do creme MIX-20%.

Com a tentativa de melhorar a permeação do FS na cicatriz queloidiana, realizamos microfuros com agulha de insulina, e aplicamos o

creme MIX-20%, deixando 3 horas de incubação. Coletamos a imagem de fluorescência para ter certeza que os microfuros havia contribuído para a melhor absorção do creme, e observamos que no local da região havia acumulado o FS, e até mesmo de forma homogênea. Após a aplicação da irradiação, observamos a imagem de fluorescência para averiguar se o FS havia degradado com a irradiação, e coletamos imagens da lesão após uma e duas semanas da TFD. Na primeira semana, aparentemente, havíamos observado a queloide mais flácida e amolecida ao toque, mas, na segunda semana a aparência da mesma havia voltado ao estado anterior.

A Figura 5 mostra a imagem de fluorescência da queloide com os microfuros e com 3 horas da aplicação do creme MIX-20%, a imagem de fluorescência após a irradiação, a queloide com uma e duas semanas após TFD.

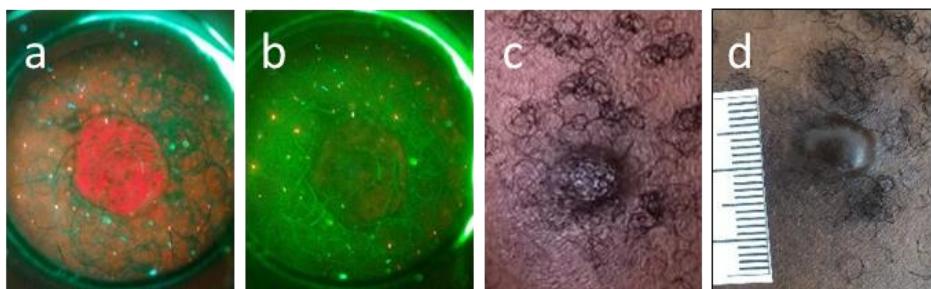


Figura 5. a) Imagem de fluorescência da queloide com microfuros após 3 horas de incubação, b) imagem de fluorescência após a irradiação, c) queloide após uma semana da TFD e d) queloide após duas semanas da TFD.

A partir do resultado de permeação do FS com a técnica de microfuros, decidimos aplicar esse protocolo por três semanas consecutivas, uma sessão por semana. Ao longo das sessões observamos a cicatriz queloidiana mais maleável e menor, porém não houve solução completa da lesão. Contudo, realizamos mais uma tentativa aplicando o FS de forma injetável.

Foi misturado o ALA e M-ALA em pó na mesma proporção, e adicionado soro estéril para que obtivéssemos uma concentração de 20% do

FS. Os parâmetros de irradiação foram os mesmos aplicados nas técnicas tópicas, porém, o tempo de incubação foi de 1 hora e meia. Na Figura 6 mostra a lesão antes da aplicação do FS injetável, a imagem de fluorescência após o tempo de incubação e irradiação.

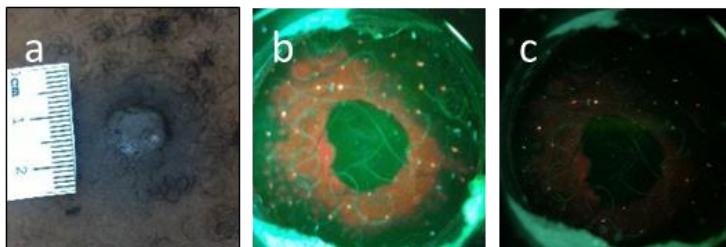


Figura 6. a) Cicatriz queloidiana antes da aplicação do FS injetável, b) imagem de fluorescência após 1 hora e meia da aplicação do FS, c) imagem de fluorescência após a irradiação.

O FS foi injetado dentro da cicatriz queloidiana, mas na coleta da fluorescência observamos que ele se espalhou ao redor da lesão. Apesar disso, conseguimos um estado de necrose na lesão pós TFD, indicando que houve acúmulo do FS nas camadas mais profundas da queloide. Como o sistema de detecção do FS é na região do espectro de 405 nm, no qual seu alcance é na camada superficial da pele, por esse motivo damos a não visualização da fluorescência do FS na queloide.

Foram realizado duas fotobiomodulações (1 vez/semana) com dose de 15 J/cm² (intensidade de 50 mW/cm², tempo 5 min.). Na Figura 7 mostra a coleta das imagens após a primeira sessão de TFD com FS injetável.

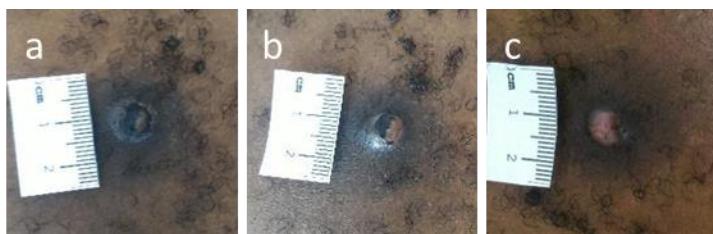


Figura 7. Após primeira sessão de TFD com FS injetável. a) uma semana, b) duas semanas, e c) quatro semanas.

Com quatro semanas, o aspecto da cicatriz era menor, mas não tinha total resolução, então aplicamos a segunda sessão de TFD injetável e quatro fotobiomodulação semanais. E por dois meses o aspecto da cicatriz queloidiana parecia ter tido solução, na Figura 8 mostra a necrose após uma semana da segunda aplicação da terapia, e o retorno da cicatriz queloidiana após dois meses.

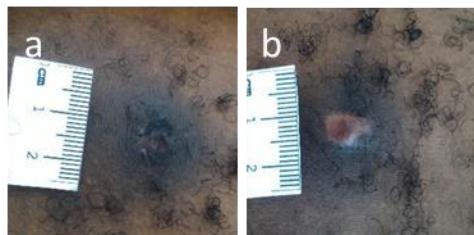


Figura 8. Após segunda sessão de TFD com FS injetável. a) uma semana, b) dois meses.

Após quatro meses da última sessão, a cicatriz queloidiana havia voltado praticamente ao seu estado inicial, então, realizamos a terceira sessão de TFD injetável nessa lesão e as quatro fotobiomodulações semanais. Somente após essa sessão obtivemos sucesso na solução da queleide desse paciente, na Figura 9 mostra o estado da lesão após 4 meses da TFD injetável, e o resultado de uma semana e 5 semanas após a terceira aplicação.

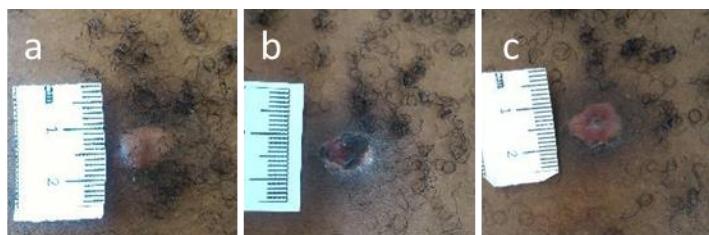


Figura 9. a) Aspecto da queleide após quatro meses da 2^a sessão de TFD injetável, b) uma semana após a 3^o sessão de TFD injetável e c) cinco semanas após 3^o sessão de TFD injetável.

3.2 Conclusão

O caso apresentado delineia a evolução de um quelóide com a utilização de vários protocolos de TFD. Conseguimos apreender que a metodologia que melhor apresentara resposta fora à utilização do MAL injetável e com mínimo de três aplicações seguidas por fotomodulação. Não há como afirmar com base em somente um caso se tal protocolo será realmente adequado para todos os tipos e tamanhos de quelóide, mas ele ilustra uma nova possibilidade de tratamento para essa moléstia que causa grandes prejuízos estéticos e emocionais aos pacientes, representando uma opção menos invasiva e com menor transtorno de realização aos pacientes em comparação com o protocolo atual vigente de corticoide + cirurgia + beta-terapia.

4 TFD para hidradenite supurativa

4.1 Aplicação e resultado

Paciente, masculino, 18 anos, com hidradenite supurativa há um ano em região coccígea, com relato de períodos de melhora e piora com o uso de antibiótico. Devido ao quadro, foi optado por realizar a terapia fotodinâmica, o protocolo aplicado foi o mesmo *single visit* citado acima para CBC usando o creme MIX-20%.

No inicio do tratamento, era possível observar uma lesão com aspecto inflamatório ativo, que regrediu significativamente após um mês da aplicação da primeira sessão de TFD tópica. Após a terceira sessão, já era possível observar regressão do processo inflamatório local e a evolução da cicatrização, como é possível observar na Figura 10.

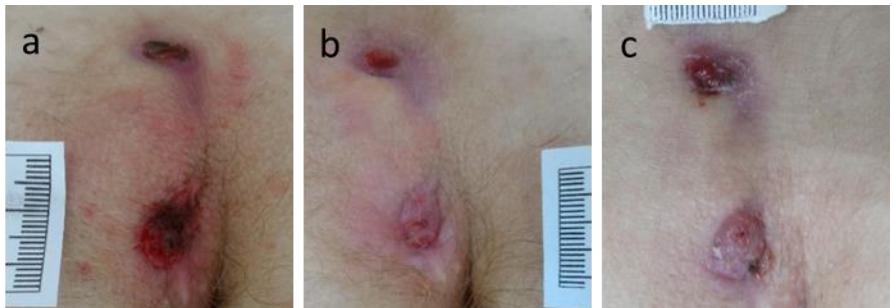


Figura 10. Hidradenite supurativa, a) inicial, b) após 1 mês da primeira sessão de TFD tópica, e c) após 1 mês da terceira sessão de TFD tópica.

Após 4 meses da ultima sessão, o paciente retornou com o aspecto mostrado na Figura 11, então foi optado pela aplicação da TFD injetável com a aplicação do FS como no caso das cicatrizes queloidianas mencionadas no tópico anterior. Os parâmetros de irradiação foram 150 J/cm^2 (intensidade 125 mW/cm^2 , tempo 20 minutos), e o tempo de incubação de 3 horas.

O resultado após a aplicação da TFD injetável não foi possível de acompanhar, uma vez que o paciente não retornou, e em 2021 optou pela cirurgia. Agora, em fevereiro de 2022, o mesmo retorna com recidiva da lesão.



Figura 11. Resultado do tratamento com TFD tópica na hidradenite supurativa, região do cóccix após quatro meses da última sessão.

4.2 Conclusão

Diante do exposto, foi possível observar uma evolução favorável com relação à TFD tópica em hidradenite supurativa com apenas algumas sessões, sem efeitos colaterais relatados pelo paciente. Entretanto, por se tratar de uma doença folicular inflamatória crônica e recorrente, o paciente foi abordado com outra modalidade de TFD, a injetável, uma vez que não houve regressão completa da lesão. Porém, não foi possível analisar o real benefício da terapia tópica em comparação com a injetável, por perda de acompanhamento do paciente. Por outro lado, o mesmo optou pela cirurgia, que segundo a literatura, esta indicada apenas em falha terapêutica com as outras modalidades, estando relacionado a recorrências frequentes. Concordando com os autores, o paciente em questão apresentou recidiva da lesão após um ano de tratamento cirúrgico.

Contudo, apesar de estar relacionada com um resultado positivo expressivo no aspecto da lesão, a continuidade do tratamento e acompanhamento devem fazer parte dos pilares do tratamento, uma vez que a recidiva pode estar relacionada com o abandono do tratamento, sendo um desafio. Da mesma forma, a cirurgia não se mostrou eficaz para resolução da hidradenite supurativa, como já relatado na literatura. Assim, o caso descrito retrata que a TFD poderia representar uma terapêutica promissora no controle e/ou remissão das exacerbações da hidradenite, talvez sendo aplicada em intervalos regulares para controle bacteriano local e grau de inflamação, representando uma terapia de manutenção, sendo necessário estudo com metodologia adequada para ratificar tais hipóteses.

Referências bibliográficas

- [1] Borges-Costa J, Vasconcelos JP, Travassos AR, *et al.* Cancro cutâneo em doentes com transplante renal: Incidência e associações com fatores clínicos e sociodemográficos. *Acta Med Port* 2013; 26: 123–126.
- [2] Gonçalves CI, Fernandes KDJ, Sobral FDOS, *et al.* Câncer de pele não melanoma e sua relação com imunossupressores em pacientes

- transplantados renais. *Brazilian J Surg Clin Res* 2019; 25: 86–89.
- [3] Porro AM, Yoshioka MCN. Manifestações dermatológicas da infecção pelo HIV. *An Bras Dermatol* 2000; 75: 665–691.
- [4] Adams AB, Ford M, Larsen CPL. Imunobiologia e imunossupressão do transplante. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, et al. (eds) *Sabiston tratado de cirurgia - A base biológica da prática cirúrgica moderna*. São Paulo: GEN Guanabara Koogan, 2019, pp. 929–986.
- [5] Ud-Din S, Bayat A. New Insights on Keloids, Hypertrophic Scars, and Striae. *Dermatol Clin* 2014; 32: 193–209.
- [6] Leong MDM, Philips GL. Cicatrização de feridas. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, et al. (eds) *Sabiston tratado de cirurgia - A base biológica da prática cirúrgica moderna*. São Paulo, 2019, pp. 262–265.
- [7] Juarranz Á, Jaén P, Sanz-Rodríguez F, et al. Photodynamic therapy of cancer. Basic principles and applications. *Clin Transl Oncol* 2008; 10: 148–154.
- [8] Patterson C. Successful treatment of cutaneous sarcoid by photodynamic therapy with minimal discomfort using a fractionated dosing regime. *Photodermat Photoimmunol Photomed* 2009; 25: 276–277.
- [9] Oliveira MP DE, Gazzalle A, Narvaes G. Hidradenitis suppurativa (acne inversa): review of the literature and case report on the surgical treatment of a presternal lesion. *Rev Bras Cir Plástica – Brazilian J Plast Sugery*; 30. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.5935/2177-1235.2015RBCP0184.
- [10] Alikhan A, Sayed C, Alavi A, et al. North American clinical management guidelines for hidradenitis suppurativa: A publication from the United States and Canadian Hidradenitis Suppurativa Foundations. *J Am Acad Dermatol* 2019; 81: 76–90.
- [11] Alves CAR. *Hidradenite Supurativa - O Desafio do Tratamento*. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, <http://hdl.handle.net/10316/81970> (2017).
- [12] Merchea A, Larson DW. Ânus. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, et al. (eds) *Sabiston tratado de cirurgia - A base biológica da prática cirúrgica moderna*. São Paulo: GEN Guanabara Koogan, 2019, pp. 2172–2173.

Terapia fotodinâmica no Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA) - Rio de Janeiro

Dolival Lobão Veras Filho e Luiza Erthal de Britto Pereira Kassuga Roisman

Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro, RJ,
Brasil.

A terapia fotodinâmica (TFD) é um método terapêutico aprovado para o tratamento de queratoses actínicas, carcinoma escamoso *in situ* e carcinoma basocelular superficial. A TFD consiste em uma reação fotoquímica entre o fotossensibilizante, a luz e o oxigênio. Embora seja um procedimento doloroso na maioria das vezes, geralmente apresenta alta eficácia e resultado cosmético muito satisfatório. Aqui apresentamos a experiência com TFD acumulada em quase dez anos da Sessão de Dermatologia do Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA).

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605413

1 Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) foi introduzida na Sessão de Dermatologia do Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva (INCA) em 2012, e, desde então, centenas de pacientes vêm sendo tratados [1,2]. Estas espécies reativas de oxigênio podem danificar diretamente as células e/ou a microvasculatura, e induzir respostas inflamatórias e imunológicas [3].

Embora a TFD possa ser empregada no tratamento de doenças neoplásicas, doenças inflamatórias/imunológicas e doenças infecciosas [4], no INCA é utilizada somente no tratamento do câncer de pele. As principais indicações da Sessão de Dermatologia são as lesões precursoras, como a queratose actínica, e os cânceres de pele não melanoma de baixo risco, como o carcinoma basocelular superficial e o carcinoma escamoso in situ (doença de Bowen). Em casos selecionados, a TFD também é empregada no tratamento do campo de cancerização e do carcinoma basocelular nodular.

2 Protocolo de TFD

Como citado acima, as principais indicações da TFD são o tratamento da queratose actínica, do carcinoma basocelular superficial e da doença de Bowen. Os casos encaminhados para o ambulatório são submetidos à documentação fotográfica (clínica e dermatoscopia) e biópsia da lesão para diagnóstico histopatológico. Todos os pacientes são submetidos a duas sessões de TFD separadas por sete dias de intervalo. Desta forma, observarmos melhores resultados e menores índices de recidiva, mesmo quando o diagnóstico for de queratose actínica. Didaticamente, o procedimento pode ser dividido em três etapas: preparo da lesão, técnica de aplicação do MAL e exposição à luz vermelha.

3 Preparo da lesão

As lesões previamente biopsiadadas e com diagnóstico confirmado de

queratose actínica, carcinoma basocelular superficial ou doença de Bowen inicialmente são submetidas à limpeza com gaze e álcool 70% líquido. Posteriormente, é realizada a curetagem superficial para retirada das crostas. A curetagem promove o afinamento da camada córnea, facilitando a penetração do MAL, mas deve ser feita de forma cuidadosa para evitar sangramento. Nesta situação, deve-se comprimir com gaze seca até sua interrupção.

4 Técnica de aplicação do MAL

A etapa seguinte consiste na aplicação do MAL com auxílio de uma espátula de madeira (Figura 1a). É feita uma camada de 1 a 2 mm de espessura sobre a lesão, com margem de 5 mm. A região é coberta com plástico filme PVC (policloreto de vinil) para oclusão (Figura 1b), e é colocada uma camada de papel alumínio (Figura 1c) para proteção da luz por três horas.

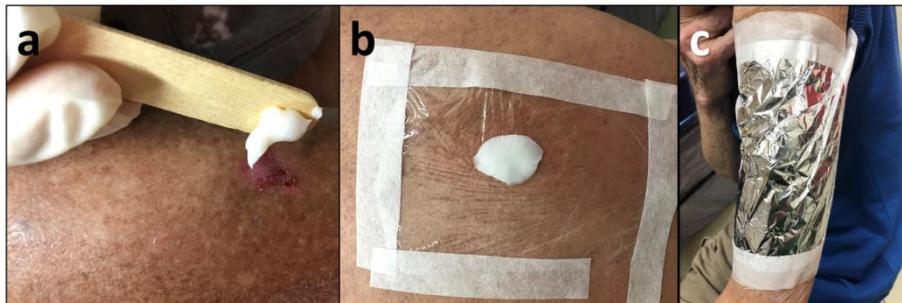


Figura 1. a) Aplicação do MAL com auxílio de uma espátula de madeira, b) após a aplicação de uma camada de 1 a 2 mm de espessura, a região é coberta com plástico de PVC para oclusão e maior penetração do MAL, c) por último, é colocada uma folha de papel alumínio para proteção da luz.

5 Exposição à luz vermelha

Ao final do período de oclusão de três horas, o papel alumínio e o curativo de plástico são descartados, e o excesso de creme é retirado com gaze embebida em soro fisiológico 0,9%. A fluorescência é testada com lâmpada de Wood (Figura 2). A fonte de luz é então posicionada sobre a

lesão a cerca de 8 cm e de forma que o feixe de luz incida perpendicularmente. Ao final da sessão, é colocado um curativo sobre a lesão tratada e o paciente é orientado a retirar o mesmo 24 horas após o procedimento.

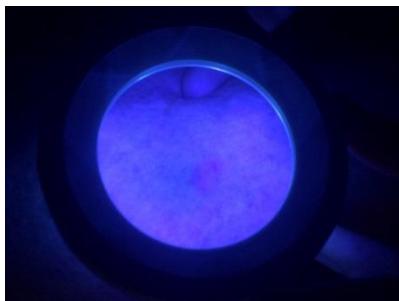


Figura 2. O plástico de PVC e o papel laminado são retirados três horas depois e a fluorescência é testada com a lâmpada de Wood. A lesão apresenta uma fluorescência vermelho vivo.

6 Manejo da dor

Os pacientes que serão submetidos à TFD devem estar cientes que o procedimento pode ser doloroso, principalmente durante a exposição à luz vermelha, em especial quando o tratamento é realizado na face ou tórax anterior. As queixas mais comuns são sensação de queimação e de agulhadas no local, que podem permanecer por 6 a 12 horas após o procedimento.

Para maior conforto do paciente, pode-se administrar um analgésico ou anti-inflamatório 30 minutos antes da exposição à luz vermelha e, se as queixas persistirem, nas primeiras 24 horas após o procedimento. Nos casos em que a dor durante a iluminação é mais intensa, alternativas para evitar a interrupção da exposição à luz são aspergir soro fisiológico 0,9% resfriado ou afastar a fonte de luz da pele.

Alguns pacientes também relatam ardência durante a aplicação do MAL, em especial quando a lesão é mais friável.

7 Indicações especiais

7.1 Carcinoma basocelular nodular

Em casos especiais, como pacientes com risco cirúrgico proibitivo ou lesões localizadas sobre área com varicosidade, a TFD pode ser uma alternativa.

Por se tratar de lesões mais espessas, é realizada uma curetagem mais profunda após antisepsia e anestesia local com infiltração de lidocaína 2% sem vasoconstritor para redução do volume tumoral e afinamento da pele. O limite da curetagem é o desaparecimento de estruturas dermatoscópicas que falam a favor de carcinoma basocelular nodular, como ninhos ovoides e vasos arboriformes focados. O sangramento deve ser contido com compressão com gaze estéril antes da aplicação do MAL

7.2 Lesões maiores de 2 cm

Excepcionalmente, lesões superficiais maiores que 2 cm podem ser tratadas com TFD (Figuras 3 e 4). Nestes casos, é importante que essas lesões sejam submetidas a biopsias em mais de um ponto, de preferência guiadas pela dermatoscopia, para se certificar da superficialidade das mesmas. Pode ser necessário dividir estas lesões em áreas menores por dia de tratamento para minimizar o desconforto do paciente durante a exposição à luz vermelha.



Figura 3. a) Placa eritematosa e descamativa cujo diagnóstico foi carcinoma basocelular superficial após realização de biópsias em alguns pontos da lesão; b) a lesão foi dividida em seis áreas e cada uma delas foi submetida a duas sessões de TFD. Resultado após 30 dias da última sessão da sexta área. Paciente segue em acompanhamento.

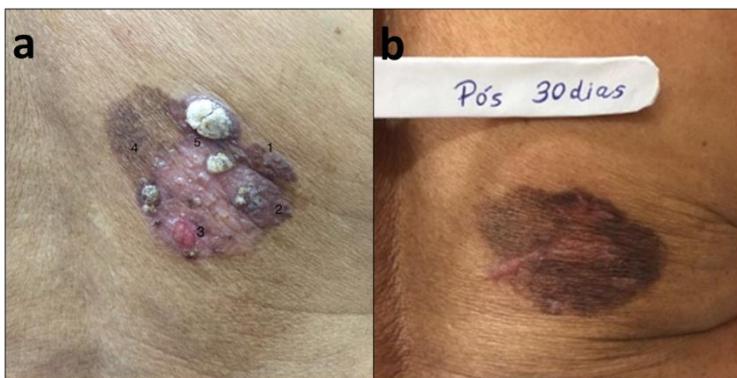


Figura 4. a) Esta placa eritematosa com crostas também foi biopsiada diversas vezes e o diagnóstico histopatológico foi carcinoma escamoso in situ (Doença de Bowen). A lesão já havia sido tratada com imiquimod e ingenol mebutato, ambos evoluindo com recidiva; b) resultado após 30 dias da segunda sessão de TFD. Paciente segue em acompanhamento.

7.3 Campo de cancerização

O campo de cancerização (Figura 5) também pode ser tratado com TFD, preferencialmente quando localizado no couro cabeludo, face e antebraços. Nestes casos, o preparo da pele deve começar 30 dias antes com o uso de cremes contendo agentes queratolíticos, como ácido retinoico, ureia e ácido salicílico para redução das escamas e crostas.

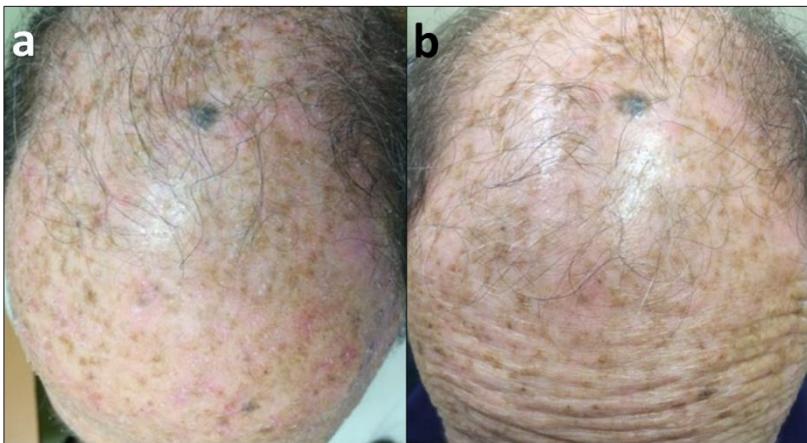


Figura 5. Tratamento de campo de cancerização com TFD. a) Área antes do tratamento com máculas eritematosas com achados clínicos e dermatoscópicos sugestivos de ceratose actínica; b) Resultado após uma sessão de TFD.

A área a ser tratada também é submetida à curetagem e o MAL é aplicado em toda a sua extensão em uma camada mais fina, devendo ser mais espessa sobre as lesões visíveis. É realizada apenas uma sessão, porém as regiões maiores, como face e antebraços, podem ser divididas em dois ou mais dias diferentes.

8 Orientações antes e depois da TFD

Os pacientes devem ser orientados que a TFD é um procedimento potencialmente doloroso, do tempo de espera de três horas para oclusão do MAL, dos possíveis efeitos adversos (eritema, edema, crostas, pústulas, discromias e dermatite de contato), além de que seu resultado pode ser diferente da cura completa.

Após cada sessão de TFD, o curativo sobre a lesão tratada deve ser mantido por 24 horas para proteção luminosa, uma vez que pode haver protoporfirina IX residual. As revisões para avaliação da resposta ao tratamento são realizadas após um mês e três meses, e posteriormente o paciente é reencaminhado para o ambulatório clínico dermatológico para

seguir com o acompanhamento.

9 Conclusão

A TFD utilizando o MAL é uma opção terapêutica eficaz na Dermatologia. Para obtenção dos melhores resultados, é importante seguir corretamente suas indicações, bem como as etapas para a realização do método. Desta forma, obtemos um índice de resposta mais elevado, além do excelente resultado estético.

Referências bibliográficas

- [1] Torezan L, Niwa ABM, Neto CF. Terapia fotodinâmica em dermatologia: Princípios básicos e aplicações. Anais Brasileiros de Dermatologia 2009; 84: 445–459.
- [2] Morton CA, Szeimies RM, Basset-Seguin N, *et al.* European Dermatology Forum guidelines on topical photodynamic therapy 2019 Part 1: treatment delivery and established indications – actinic keratoses, Bowen's disease and basal cell carcinomas. J Eur Acad Dermatology Venereol. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1111/jdv.16017.
- [3] van Straten D, Mashayekhi V, de Brujin HS, *et al.* Oncologic photodynamic therapy: Basic principles, current clinical status and future directions. Cancers. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.3390/cancers9020019.
- [4] Issa MCA, Manela-Azulay M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. An Bras Dermatol. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1590/s0365-05962010000400011.

Avaliação da resposta terapêutica em longo prazo de pacientes portadores de carcinoma basocelular submetidos à terapia fotodinâmica

Maria de Fátima Brito Medeiros¹, Cláudia Elise Ferraz¹, Maria Viviane Lócio Bispo², Luís Guilherme Lessa de Andrade¹

¹ Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

² Hospital Sírio Libanês, São Paulo, SP, Brasil.

O câncer de pele não melanoma representa a malignidade mais comum na população de fototipos mais baixos, sendo o carcinoma basocelular (CBC) o tipo mais prevalente e com incidência crescente no mundo. A terapia fotodinâmica (TFD) é uma opção de tratamento eficaz para alguns subtipos de CBC. Ela baseia-se na aplicação de um agente fotossensibilizante na lesão neoplásica associada a uma fonte de luz. Objetivo: Avaliar a taxa de remissão completa e de recidiva após 18 meses do tratamento de lesões de CBC com TFD em um Hospital Universitário da Cidade de Recife-Pernambuco. Descrever o perfil epidemiológico dos pacientes com remissão completa e recidiva de CBC após TFD. Métodos: Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, tipo série de casos, de análise de resposta terapêutica após 18 meses de TFD-MAL. Resultados: Foram selecionados 11 pacientes, 9 mulheres e 2 homens, predominantemente fototipos II e III, com média de idade de 50 anos. A taxa de remissão completa após 18 meses foi de 70,7% e de recidiva, 17,1%. Conclusão: A TFD é um tratamento eficaz e seguro para alguns tipos de CBCs com bons índices de remissão completa em longo prazo. As lesões de CBC superficial apresentaram a melhor taxa de remissão completa. Mais estudos são necessários para definir fatores associados à resposta terapêutica e à recidiva em prazo ainda maior.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605414

1 Introdução

O câncer de pele não melanoma (CPNM) configura a neoplasia maligna mais frequente na população brasileira (30%) [1] e mundial de fototipos mais baixos [2], com incidência ascendente entre 3 e 10% anualmente [3]. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o CPNM apresentou uma incidência de 175.760 no Brasil em 20161. O CPNM representa ainda 95% do total de casos de câncer de pele [4].

Dentre os CPNM, o carcinoma basocelular (CBC) representa o principal tipo devido à alta prevalência, cerca de 80%, e à incidência crescente no mundo [2]. O CBC é uma neoplasia localmente agressiva [5], contudo raramente apresenta metástase (0,0028% a 0,55%) [6]. Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de CBC são: indivíduos com fototipo baixo, exposição crônica à radiação ultravioleta, trauma prévio com formação de cicatriz, exposição ao arsênico, imunossupressão, receptor de transplante de órgão sólido, desordens predisponentes a tumores cutâneos, como Síndrome do nevo basocelular nevoide (Síndrome de Gorlin/Gorlin Goltz) e xeroderma pigmentoso [7].

Na literatura, não existe consenso quanto à classificação clínica dos tipos de carcinoma basocelular. Os principais subtipos clínicos são: nodular, superficial, esclerodermiforme ou infiltrativo [8]. Ocasionalmente, quantidade variável de melanina pode estar presente no tumor, sendo denominado CBC pigmentado [8]. O CBC nodular representa a variante mais comum, responsável por 50 a 79% dos CBCs; seguido pelo CBC superficial, em torno de 15% [9].

Em relação à topografia, é mais frequente em áreas de fotoexposição (na cabeça e na região cervical), enquanto o subtipo CBC superficial tenha maior predileção pelo tronco [2]. A média de idade de aparecimento do CBC é de 60 anos, apesar de haver uma incidência crescente em pessoas com idade inferior a 40 anos [2].

A excisão cirúrgica simples constitui, tradicionalmente, a base do tratamento de pacientes portadores de CBC. Na atualidade, outras

modalidades terapêuticas eficazes encontram-se disponíveis na Dermatologia, como: terapia fotodinâmica, criocirurgia, curetagem, eletrodissecção, cirurgia micrográfica de Mohs, radioterapia, laser ablativo, 5-fluorouracil e imiquimod [10]. A escolha do tratamento de CBC deve ser individualizada, baseada no tipo, tamanho e localização do tumor, além da idade e comorbidades do paciente [11]. A terapia fotodinâmica (TFD) torna-se uma alternativa interessante para o tratamento do CBC devido ao alto índice de cura e aos excelentes resultados estéticos [12–15].

A TFD tem origem no início do século XX, em Munique, com a constatação da fotossensibilidade do corante de acridina em um protozoário aumentando a toxicidade ao ser vivo [16]. Em 1978, a TFD foi utilizada como opção terapêutica em algumas neoplasias malignas, a partir de estudos de Dougherty e cols. [17] Nesse período, o agente fotossensibilizante usado era sistêmico, com muitos efeitos colaterais, não sendo elemento da rotina dermatológica [17]. Somente no final da década de 1990, com o surgimento de drogas tópicas chamadas de segunda geração, a TFD foi incorporada à dermatologia [18].

A TFD necessita de três componentes básicos: agente fotossensibilizante, fonte de luz com comprimento de onda apropriado e oxigênio [19]. Após curetagem da lesão alvo, aplica-se o agente fotossensibilizante sob oclusão por algumas horas, o qual é absorvido para o interior da célula [19]. O agente fotossensibilizante é convertido pelo tecido neoplásico em porfirina fotoativa, a protoporfirina IX(PpIX)[19, 20]. A porfirina fotoativa, ao receber a fonte luminosa com comprimento de onda no espectro de absorção do fotossensibilizante utilizado, atinge o nível máximo de energia e transfere às moléculas de oxigênio, gerando espécies reativas de oxigênio, tais quais: ânion superóxido, radical hidroxila e oxigênio singlet [20, 21]. O oxigênio singlet é extremamente agressivo e considerado o principal responsável pela destruição tumoral [21]. O mecanismo exato a nível celular ainda não foi completamente elucidado, porém acredita-se que a fototoxicidade mitocondrial seja a

causa primordial de morte celular induzida pela TFD, de acordo com estudos de microscopia de fluorescência [22].

Os dois agentes fotossensibilizantes tópicos utilizados na dermatologia são o ácido 5-aminolevulínico (ALA) e seu metil éster, o aminolevulinato de metila (MAL), que apesar de possuírem mecanismos de ação semelhantes, têm notáveis diferenças [12]. Dentre as duas substâncias, o MAL é a mais usada, principalmente, pelas seguintes vantagens: é um agente lipofílico, que apresenta maior penetração na pele que o ALA [23, 24]; tem maior tolerabilidade, com relato de menor intensidade de dor durante o procedimento, em comparação com o ALA, provavelmente pela maior seletividade que o MAL apresenta pelo tecido neoplásico [25]. Vale ressaltar que a dor representa o principal efeito colateral da TFD de acordo com a literatura [12].

Com relação à fonte de luz usada na TFD, a preferência em grande número de estudos é pela luz com emissão de diodo (LED), especificamente na faixa vermelha, dada a alta eficácia, conveniência e custo, em comparação com o laser de corante pulsado ou *pulsed dye laser* (PDL) [12]. Segundo Alexiades-Armenakas, a fonte de luz ideal deve contemplar cinco características: ter boa absorção pelo fotossensibilizante, alcançar a profundidade desejada no tecido, ter adequada fluência e duração, ter rápida administração e ter o mínimo de efeitos colaterais [26].

A terapia fotodinâmica possui várias indicações na dermatologia. Para o tratamento de condições não neoplásicas, citam-se: acne vulgar, verrugas virais, morfeia, psoríase, micose fungoide, sarcoma de kaposi e fotorejuvenescimento [15]. Já nas lesões pré-neoplásicas ou neoplásicas, a TFD configura uma alternativa nas seguintes situações: queratose actínica, doença de Bowen, campo de cancerização, CBC superficial e nodular (com espessura inferior a 2 mm), carcinoma espinocelular (CEC) [12, 13]. Deve-se ressaltar ainda a importância de tal modalidade terapêutica em pacientes com condições predisponentes a tumores cutâneos, como xeroderma pigmentoso e Síndrome de Gorlin [12, 14].

A literatura considera a TFD uma terapêutica eficaz, com alta taxa de remissão a curto e longo prazo para o CBC superficial, com ótimos resultados estéticos [12–14]. No que concerne ao CBC nodular, os estudos apresentam diferentes respostas clínicas, na dependência da espessura e do tempo de seguimento, com maior taxa de recorrência; sugerindo, portanto, agir com cautela [12–14]. A TFD é conceituada também como uma boa alternativa para pacientes com contraindicação à cirurgia, em tumores cutâneos múltiplos, extensos e de difícil localização [12, 14].

Trata-se de uma terapêutica relativamente recente, que se torna alvo de muitos estudos, na tentativa de maiores evidências clínicas e histopatológicas após seguimentos superiores há seis meses. Há necessidade, portanto, de mais trabalhos para avaliar a taxa de resposta, em longo prazo, de lesões de CBC submetidas à TFD, devido à escassez de dados em Serviços Universitários do Nordeste do Brasil.

2 Objetivos

O objetivo primário foi avaliar as taxas de remissão completa e de recidiva após período mínimo de 18 meses do tratamento de lesões de carcinoma basocelular com terapia fotodinâmica em um Hospital Universitário da cidade de Recife- Pernambuco. O secundário foi descrever perfil epidemiológico dos pacientes submetidos ao tratamento de lesões de CBC com TFD, acompanhados por período superior a 18 meses.

3 Material e métodos

Trata-se de um estudo descritivo, retrospectivo, tipo série de casos, de análise da resposta terapêutica após 18 meses da realização da TFD com o agente fotossensibilizante MAL. Esta análise foi feita através do cálculo da taxa de remissão e de recidiva. Avaliou-se a recidiva, considerando os aspectos clínicos e dermatoscópico típicos de CBC. Em caso de dúvida, quanto à falha terapêutica ou à presença de recidiva, realizou-se exame histopatológico da lesão, ao término de tratamento ou durante o

seguimento. O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - UFPE (CAAE: 44390515.7.0000.5208). O estudo foi realizado no Serviço de Dermatologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. Os dados foram coletados de forma retrospectiva, através da utilização de fichas de atendimento e de fotos dos ambulatórios de oncologia cutânea e de TFD. Os pacientes foram submetidos à TFD no período entre 12 de novembro de 2010 e 09 de abril de 2015. A coleta dos dados foi realizada entre 16 de maio de 2016 a 21 de novembro de 2016. Os critérios de inclusão foram: presença de lesão cutânea de CBC; realização de, pelo menos, 2 sessões de TFD com intervalo entre 1 e 6 semanas; avaliação da resposta terapêutica após um período mínimo de 18 meses da realização da última sessão de TFD. Não houve critérios de exclusão.

4 Resultados

Foram selecionados 11 pacientes, sendo 9 mulheres e 2 homens. A idade variou entre 13 e 72 anos, com média de idade de 50 anos. Os fototipos predominantes foram II e III, englobando mais de 90% da amostra. Dos 11 pacientes, um apresentava xeroderma pigmentoso e outro, Síndrome de Gorlin Goltz. (tabela 1)

Tabela 1. Perfil epidemiológico da amostra

	Intervalo	Média	
Idade (anos)	13 a 72	50	
		N	%
Sexo	Masculino	2	18
	Feminino	9	82
Fototipo	II	7	63,64
	III	3	27,27
	IV	1	9,09
Condição	Síndrome de Gorlin	1	9,09
	Xeroderma pigmentoso	1	9,09

O estudo foi feito baseado no número de lesões de CBC tratadas com TFD, o que totalizou 41, sendo 38 do sexo feminino e 3, do masculino.

TFD Brasil – Resultados de centros ativos

Houve uma média de 3,7 lesões por paciente. Quanto ao tipo de CBC, as lesões apresentaram a seguinte conformação: 23 eram CBC superficial; 6 CBCs nodulares; 11 CBCs pigmentados e 1 CBC infiltrativo. Em relação ao tipo de CBC e ao sexo, as lesões distribuíram-se em percentagens semelhantes, sendo o CBC superficial o predominante, seguido pelo CBC pigmentado. (tabela 2)

Tabela 2. Distribuição das lesões quanto ao sexo e tipos de CBC.

Sexo	Tipos de CBC				Qtd de lesões	
	Nodular	Pigmentado	Superficial	Nodular infiltrativo ulcerado	Total	(%)
Masculino	6	10	21	1	38	93
Feminino	-	1	2	-	3	7
Total	6	11	23	1	41	100

Mais da metade dos tumores localizavam-se em face (34,1%) e tronco (39%); o restante, em membros superiores e região cervical. Considerando os tipos de CBC e sua topografia: o CBC superficial foi o mais frequente em todos os locais do corpo referenciados; o maior número de lesões de CBC superficial e de pigmentado ocorreram no tronco; de CBC nodular, na face; a única lesão infiltrativa localizou-se na face. (tabela 3)

Tabela 3. Distribuição das lesões quanto à topografia e tipos de CBC.

Topografia	Tipos de CBC				Qtd de lesões (%)
	Nodular (%)	Pigmentado (%)	Superficial (%)	Nodular infiltrativo ulcerado (%)	
Cervical	0	4,88	4,88	0	9,76
Face	12,20	7,32	12,20	2,44	34,15
MMSS	2,44	0	14,63	0	17,07
Tronco	0	14,63	24,39	0	39,02
Total	14,63	26,83	56,10	2,44	100

A taxa de remissão completa (RC) após 18 meses foi de 70,7% e, recidiva (REC) de 17,1% (Figura 1).

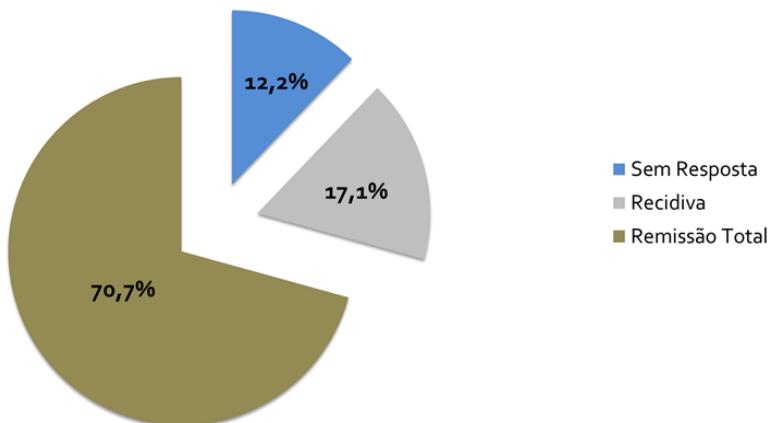


Figura 1. Avaliação da resposta clínica 18 meses após a TFD.

Das lesões que apresentaram remissão completa (n=29), mais da metade eram CBC superficial (58,6%), seguido pelo CBC pigmentado (27,6%) e, por último, CBC nodular (13,8%). A recorrência (n=7) também se mostrou superior nas lesões de CBC superficial (57,1%), apresentando resultados inferiores para o subtipo pigmentado (28,6%) e nodular (14,3%). (tabela 4)

Tabela 4. Distribuição dos tipos de CBC nas lesões com remissão total e recidiva.

	Nodular	Pigmentado	Superficial	Total
Remissão total (%)	13,79	27,59	58,62	100
Recidiva (%)	14,29	28,57	57,14	100

Quanto à localização das lesões e à resposta terapêutica: na face (n: 14) houve taxa de remissão de 57,14% e, recidiva de 14,29%; na região cervical (n: 4), RC de 75% e REC de 25%; no tronco (n: 16), RC de 81,25% e REC de 12,5%; por fim, nos MMSS (n: 7), RC de 71,43% e REC de 28,57%. (tabela 5)

Tabela 5. Avaliação da resposta terapêutica quanto à topografia.

	Cervical	Face	MMSS	Tronco
Falha (%)	0	28,57	0	6,25
Remissão total (%)	75	57,14	71,43	81,25
Recidiva (%)	25	14,29	28,57	12,50
Total (%)	100	100	100	100
Qtd de lesões (N)	4	14	7	16

Considerando a resposta terapêutica de cada tipo de CBC isoladamente, houve remissão total em: 73,9% dos CBCs superficiais, 72,7% dos CBCs pigmentados, 66,7% dos CBCs nodulares. Já a recidiva ocorreu em: 17,4% dos CBCs superficiais, 18,2% dos CBCs pigmentados, 16,7% dos CBCs nodulares. A única lesão de CBC infiltrativo apresentou falha terapêutica. (tabela 6)

Tabela 6. Avaliação da resposta terapêutica em cada tipo de CBC isoladamente.

	Nodular	Pigmentado	Superficial	Nodular infiltrativo ulcerado
Falha (%)	16,67	9,09	8,7	100
Remissão total (%)	66,67	72,73	73,91	0
Recidiva (%)	16,67	18,18	17,39	0
Total (%)	100	100	100	100

A resposta terapêutica à TFD foi observada em longo prazo, com seguimento variável em cada paciente, obedecendo a um intervalo mínimo de 18 meses entre a realização da última sessão de TFD e a avaliação do resultado. Houve uma variação temporal entre 19 e 67 meses, com média de 38,3 meses de acompanhamento.

Não foi considerado o tamanho das lesões, visto que a maior parte não foi relatada. Apenas 26,8% das lesões foram biopsiadas após o término de tratamento ou durante o seguimento, apenas quando havia dúvida quanto à persistência ou recidiva da lesão. Entre os efeitos colaterais relatados, a dor foi o mais importante, tendo sido, inclusive, limitante em uma das pacientes. Alguns pacientes que apresentaram recidivas ou falha

terapêutica de alguma lesão utilizaram outras terapias; sejam elas combinadas com o uso de isotretinoína ou, não combinadas, com realização de exérese cirúrgica, eletrocirurgia, imiquimode ou novo ciclo de TFD.

A Figura 2, de ‘a’ a ‘c’ (lesão A) e ‘d’ a ‘f’ (lesão B), mostram o acompanhamento de 2 lesões de CBC superficial em momentos diferentes: avaliação inicial (imagens ‘a’ e ‘d’), após 3 meses com remissão completa (imagens ‘b’ e ‘e’) e após 18 meses, havendo manutenção da resposta (imagem ‘c’) e recidiva com aparecimento de uma pápula perlácea (imagem ‘f’).

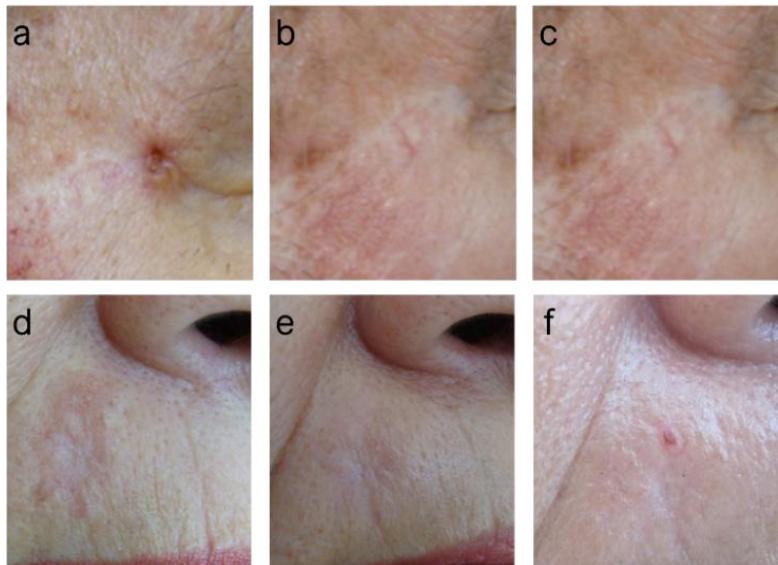


Figura 2. (a) Lesão inicial de CBC superficial (lesão A) antes do tratamento, (b) 3 e (c) 18 meses após a TFD, (d) lesão inicial de CBC superficial (lesão B) antes do tratamento, (e) 3 e (f) 18 meses após a TFD.

5 Discussão

O carcinoma basocelular constitui a neoplasia cutânea mais comum, o que o torna alvo de várias terapêuticas. A terapia fotodinâmica surge como uma das principais opções, sendo uma alternativa à cirurgia convencional [12–14]. A maioria dos estudos parece mostrar taxa de recorrência

superior com a TFD, em comparação à cirurgia [27–29].

Zou *et al.* avaliaram, através de uma metanálise, a resposta da TFD com a excisão cirúrgica para o tratamento de CBC e concluiu que há eficácia comparável entre os tratamentos, porém com maior recorrência na TFD, enquanto seu resultado cosmético seja superior [27]. A prática da TFD para tratamento de CBC mostra-se maior no subtipo superficial, dada à eficácia, chegando a apresentar resultados comparáveis à cirurgia convencional.

Szeimies *et al.*, em um estudo multicêntrico, randomizado, reportaram eficácia semelhante (92,2% - TFD x 99,2% - cirurgia) com o uso de TFD-MAL e excisão cirúrgica no manejo de CBC superficial num seguimento de 3 meses [28]. Apesar disso, verificou-se uma recidiva maior no uso de TFD, com efeito cosmético melhor [28].

Em relação ao CBC nodular, Rhodes *et al.* encontraram uma taxa de recorrência de 14% com TFD e 4% com cirurgia convencional num seguimento de 60 meses. Conquanto a recidiva tenha sido maior na TFD, ela mostrou resultado estético superior [29]. Outro estudo, randomizado e controlado, com 173 CBCs nodulares, encontrou eficácia superior, com menor recidiva no tratamento cirúrgico em comparação a 1 ciclo de TFD-ALA (REC 2,3% - cirurgia x 30,3% - TFD) em acompanhamento de 36 meses [30]. Um estudo comparando 2 sessões de TFD-ALA com a cirurgia no tratamento de CBCs nodulares e superficiais constatou resposta clínica (95,8% - TFD x 95,6% - cirurgia) e recidiva (4,16% - TFD x 4,34% - cirurgia) semelhantes [31].

Vários estudos foram publicados avaliando a taxa de resposta da TFD no tratamento de CBC, com seguimentos variáveis. Soler *et al.* publicaram um estudo que evidenciou uma remissão completa de 89% em 350 lesões de CBC superficial e nodular submetidas à TFD-MAL em seguimento de 36 meses [32]. Eles ainda encontraram resultados cosméticos dados como bom/ excelente em 98% dos casos que obtiveram remissão completa [32]. Em um ensaio randomizado, multicêntrico e duplo

cego na Austrália com 131 pacientes portadores de CBC, sendo 66 submetidos ao tratamento com TFD-MAL e 65 com TFD-placebo, mostrou uma taxa de remissão completa, confirmada histologicamente, de 75% e 27%, respectivamente [33]. Houve concordância dos resultados na literatura com o presente estudo que mostrou remissão completa em 70,7% dos casos.

Li *et al.* conduziram um estudo com 95 lesões de CBC superficial tratadas com TFD e avaliaram a resposta correlacionando com a espessura. As lesões com espessura inferior a 1,3 mm tiveram remissão completa; entre 1,3-1,8 mm, remissão parcial; e acima de 1,8 mm, falha terapêutica. A taxa de resposta global foi de 75,8% num acompanhamento de 24 meses [34]. Foi encontrado um valor semelhante (RC: 73,9%) nas lesões de CBC superficial tratadas com TFD neste estudo.

Fantini *et al* reportaram uma taxa de remissão completa global de 62%, variando de 82% para CBC superficial e 33% para CBC nodular. Eles mostraram ainda que a localização em membros e a forma ulcerada de CBCs superficiais, submetidos à TFD, influenciam de forma negativa a eficácia terapêutica [35].

O presente estudo também evidenciou maior taxa de recidiva em lesões de CBC localizadas em MMSS, seguidas pela região cervical; em relação aos subtipos, apresentaram resultados semelhantes, quanto à remissão completa e recidiva, tendo sido o CBC pigmentado, o de maior recidiva. Curiosamente, dentre os resultados encontrados neste trabalho, o CBC nodular apresentou boa taxa de cura e valor de recidiva semelhante ao CBC superficial, divergente de grande parte da literatura.

Um estudo de Horn *et al.* avaliou a resposta terapêutica à TFD de 123 lesões de CBC superficial e nodular consideradas difíceis de tratar em 24 meses de acompanhamento, encontrando índices de RC de 92% para tipo superficial e 87% para o nodular [36]. Existe uma interessante publicação de Eibenschutz *et al*, mostrando bons resultados no tratamento de CBCs de grande extensão (40 a 49 mm) com a TFD-MAL, evidenciando

taxa de RC de 66% após 36 meses [37].

A terapia fotodinâmica tem seu papel também como tratamento adjuvante, sendo importante na redução da dimensão de tumores grandes, infiltrativos, esclerodermiformes, localizados em áreas nobres, para posterior realização de cirurgia [38]. Há a possibilidade de associação ainda com outras terapêuticas, como aplicação de imiquimode, 5-fluorouracil, na tentativa de aumentar a eficácia [14, 38].

Com relação ao tratamento de CBC pigmentado com a TFD, quase não há relatos na literatura. Há um estudo que considera a TFD-MAL como opção de tratamento adjuvante, apenas depois de retirada adequada da lesão [39]. Inusitadamente, demonstrou-se eficácia com a TFD nas lesões de CBC pigmentado na presente casuística.

Quanto aos agentes fotossensibilizantes, a maior parte dos estudos prefere utilizar o MAL-TFD, visto que ele parece ser menos doloroso que o ALA-TFD [23–25, 40]. A justificativa seria a baixa seletividade do ALA, o que favorece o acúmulo mais extenso da protoporfirina IX, mesmo em células normais. Pacientes de fototipos I e II tendem a apresentar mais dor. Devido à dificuldade de penetração da luz em pacientes com fototipos mais altos, pela maior concentração de melanina, há menor dano tecidual nestes. A segunda sessão tende a ser mais dolorosa que a primeira, de acordo com dados na literatura [40]. Neste trabalho, a dor foi limitante para uma lesão na face, durante realização da segunda sessão, em uma paciente de fototipo II.

Algumas desordens predispõem a formação de neoplasias cutâneas, como é na Síndrome de Gorlin Goltz e xeroderma pigmentoso. No caso da Síndrome de Gorlin, não há um protocolo específico de tratamento, porém, como há geralmente múltiplos CBCs nesses pacientes, o principal objetivo torna-se tratar áreas do corpo em um mesmo tempo, ao invés de uma lesão única. Com essa finalidade, há algumas opções: TFD, 5- fluorouracil, imiquimode, crioterapia. Um relato de caso recente sugeriu inclusive quimioprevenção com TFD em um paciente com tal síndrome [41]. A atual

casuística possui um paciente com Síndrome de Gorlin Goltz e um com xeroderma pigmentoso.

Em relação às limitações do estudo, cita-se, primeiramente, o intervalo entre as duas sessões de TFD entre uma e seis semanas, quando a maior parte dos países europeus recomenda intervalo de uma semana [42]. Isso não foi possível, pela irregularidade das consultas, devido à dificuldade dos pacientes em deslocamento até o serviço, já que muitos residem em cidades distantes e dependem da disponibilidade de transporte pela prefeitura.

Outra limitação refere-se à avaliação histológica da resposta terapêutica. Alguns trabalham realizam exame anatomo-patológico em todas as lesões tratadas com TFD após término de tratamento para confirmação de cura clínica, recidiva ou persistência [43]. No atual estudo, apenas 26,8% das lesões foram biopsiadas, só sendo realizada, quando houve dúvida quanto à persistência ou recidiva da lesão.

6 Conclusão

A terapia fotodinâmica representa uma terapêutica importante em alguns tipos de CBCs, com excelentes resultados estéticos. Ela também é considerada uma ótima alternativa em pacientes com contraindicação à cirurgia, com várias comorbidades, em tumores cutâneos múltiplos, como terapia adjuvante e em neoplasias de baixo risco.

No presente estudo, os pacientes com CBC tratados com TFD obtiveram taxas de remissão completa de 70,7% após 18 meses. As lesões situadas no tronco possuíram a melhor taxa de cura e, dentre os subtipos de CBC, o superficial apresentou a melhor taxa de cura, enquanto os valores tenham sido próximos nos CBCs superficial, pigmentado e nodular.

A recidiva foi mais observada em lesões localizadas nos MMSS e em região cervical. Quanto aos tipos de CBC, os índices de recorrência são semelhantes nos CBCs pigmentado, nodular e superficial. O CBC

infiltrativo apresentou 100% de falha terapêutica, concordante com os dados da literatura.

Mais trabalhos são necessários para definir fatores associados à resposta terapêutica e a recidiva em prazo ainda maior, além de estudos no CBC tipo pigmentado.

Referências bibliográficas

- [1] Instituto Nacional de Câncer [Internet]. Rio de Janeiro; 1996-2017. Acessado em 13 de fevereiro de 2017. Disponível em: www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/pele_nao_melanoma
- [2] Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 2012; 166: 1069–1080.
- [3] Roewert-Huber J, Lange-Asschenfeldt B, Stockfleth E, et al. Epidemiology and aetiology of basal cell carcinoma. *British Journal of Dermatology*. Epub ahead of print 2007. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2007.08273.x.
- [4] A. C. Camargo Cancer Center [Internet]. São Paulo. Acessado em 16 de Fevereiro de 2017. Disponível em: <http://www.accamargo.org.br/tudo-sobre-o-cancer/pele-nao-melanoma/44/>
- [5] Hauschild A, Breuninger H, Kaufmann R, et al. Brief S2k guidelines - Basal cell carcinoma of the skin. *JDDG J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft*. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1111/ddg.12015_3.
- [6] McCusker M, Basset-Seguin N, Dummer R, et al. Metastatic basal cell carcinoma: Prognosis dependent on anatomic site and spread of disease. *European Journal of Cancer*. Epub ahead of print 2014. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.12.013.
- [7] Gallagher RP, Hill GB, Bajdik CD, et al. Sunlight Exposure, Pigmentary Factors, and Risk of Nonmelanocytic Skin Cancer: I. Basal Cell Carcinoma. *Arch Dermatol*. Epub ahead of print 1995. DOI: 10.1001/archderm.1995.01690140041006.
- [8] Marzuka AG, Book SE. Basal cell carcinoma: Pathogenesis, epidemiology, clinical features, diagnosis, histopathology, and management. *Yale Journal of Biology and Medicine*.
- [9] Scrivener Y, Grosshans E, Cribier B. Variations of basal cell carcinomas

- according to gender, age, location and histopathological subtype. *Br J Dermatol* 2002; 147: 41–47.
- [10] Neville JA, Welch E, Leffell DJ. Management of nonmelanoma skin cancer in 2007. *Nature Clinical Practice Oncology*. Epub ahead of print 2007. DOI: 10.1038/ncponc0883.
 - [11] Miller SJ, Alam M, Andersen J, *et al.* Basal cell and squamous cell skin cancers. *JNCCN Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. Epub ahead of print 2010. DOI: 10.6004/jnccn.2010.0062.
 - [12] Cohen DK, Lee PK. Photodynamic therapy for non-melanoma skin cancers. *Cancers*. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.3390/cancers8100090.
 - [13] Griffin LL, Lear JT. Photodynamic therapy and non-melanoma skin cancer. *Cancers*. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.3390/cancers8100098.
 - [14] Savoia P, Deboli T, Previgliano A, *et al.* Usefulness of photodynamic therapy as a possible therapeutic alternative in the treatment of basal cell carcinoma. *International Journal of Molecular Sciences*. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.3390/ijms161023300.
 - [15] Torezan L, Niwa ABM, Neto CF. Photodynamic therapy in dermatology: Basic principles and clinical use. *An Bras Dermatol*. Epub ahead of print 2009. DOI: 10.1590/S0365-05962009000500002.
 - [16] Daniell MD, Hill JS. A history of photodynamic therapy. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*. Epub ahead of print 1991. DOI: 10.1111/j.1445-2197.1991.tb00230.x.
 - [17] Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, *et al.* Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors Photoradiation Therapy for the Treatment of Malignant Tumors1. 1978; 38: 2628–2635.
 - [18] Taub AF. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. *Journal of drugs in dermatology : JDD*.
 - [19] Henderson BW, Dougherty TJ. How Does Photodynamic Therapy Work? *Photochem Photobiol* 1992; 55: 145–157.
 - [20] Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin. IX: Basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B Biol* 1990; 6: 143–148.
 - [21] Matei C, Tampa M, Poteca T, *et al.* Photodynamic therapy in the treatment of basal cell carcinoma. *Journal of medicine and life*. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1007/978-3-030-26887-9_11.

- [22] Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Sala R. Photodynamic therapy: Update 2006 Part 1: Photochemistry and photobiology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. Epub ahead of print 2007. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2006.01902.x.
- [23] Gaullier JM, Berg K, Peng Q, et al. Use of 5-aminolevulinic acid esters to improve photodynamic therapy on cells in culture. *Cancer Res.*
- [24] Kasche A, Luderschmidt S, Ring J, et al. Photodynamic therapy induces less pain in patients treated with methyl aminolevulinate compared to aminolevulinic acid. *J Drugs Dermatol.*
- [25] Gaál M, Otrosinka S, Baltás E, et al. Photodynamic therapy of non-melanoma skin cancer with methyl aminolevulinate is associated with less pain than with aminolevulinic acid. *Acta Dermato-Venereologica*. Epub ahead of print 2012. DOI: 10.2340/00015555-1223.
- [26] Alexiades-Armenakas M. Aminolevulinic Acid Photodynamic Therapy for Actinic Keratoses/Actinic Cheilitis/Acne: Vascular Lasers. *Dermatologic Clinics*. Epub ahead of print 2007. DOI: 10.1016/j.det.2006.09.003.
- [27] Zou Y, Zhao Y, Yu J, et al. Photodynamic therapy versus surgical excision to basal cell carcinoma: meta-analysis. *J Cosmet Dermatol.* Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1111/jocd.12236.
- [28] Szeimies RM, Ibbotson S, Murrell DFD, et al. A clinical study comparing methyl aminolevulinate photodynamic therapy and surgery in small superficial basal cell carcinoma (8-20 mm), with a 12-month follow-up. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2008; 22: 1302–1311.
- [29] Rhodes LE, de Rie M, Enström Y, et al. Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial. *Arch Dermatol* 2004; 140: 17–23.
- [30] Mosterd K, Thissen MRTM, Nelemans P, et al. Fractionated 5-aminolevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: Results of a randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 2008; 159: 864–870.
- [31] Cosgarea R, Susan M, Crisan M, et al. Photodynamic therapy using topical 5-aminolevulinic acid vs. surgery for basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2012.04619.x.
- [32] Soler AM, Warloe T, Berner A, et al. A follow-up study of recurrence and cosmesis in completely responding superficial and nodular basal cell

- carcinomas treated with methyl 5-aminolaevulinate-based photodynamic therapy alone and with prior curettage. *Br J Dermatol* 2001; 145: 467–471.
- [33] Foley P, Freeman M, Menter A, et al. Photodynamic therapy with methyl aminolevulinate for primary nodular basal cell carcinoma: results of two randomized studies. *Int J Dermatol* 2009; 48: 1236–1245.
- [34] Li Q, Gao T, Long HA, et al. Clearance of a Thick Invasive Squamous Cell Carcinoma After Multiple Treatments with Topical Photodynamic Therapy. *Photomed Laser Surg* 2010; 28: 703–706.
- [35] Fantini F, Greco A, Del Giovane C, et al. Photodynamic therapy for basal cell carcinoma: Clinical and pathological determinants of response. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. Epub ahead of print 2011. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2010.03877.x.
- [36] Horn M, Wolf P, Wulf HC, et al. Topical methyl aminolaevulinate photodynamic therapy in patients with basal cell carcinoma prone to complications and poor cosmetic outcome with conventional treatment. *British Journal of Dermatology* 2003; 149: 1242–1249.
- [37] Eibenschutz L, Marenda S, Buccini PL, et al. Giant and large basal cell carcinoma treated with topical photodynamic therapy. *Eur J Dermatology*. Epub ahead of print 2008. DOI: 10.1684/ejd.2008.0516.
- [38] Torres T, Fernandes I, Costa V, et al. Photodynamic therapy as adjunctive therapy for morpheaform basal cell carcinoma. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, Adriat* 2011; 20: 23–5.
- [39] Kaviani A, Ataie-Fashtami L, Fateh M, et al. Photodynamic therapy of head and neck basal cell carcinoma according to different clinicopathologic features. *Lasers Surg Med*. Epub ahead of print 2005. DOI: 10.1002/lsm.20186.
- [40] Chaves YN, Torezan LA, Niwa ABM, et al. Pain in photodynamic therapy: mechanism of action and management strategies. *An Bras Dermatol*. Epub ahead of print 2012. DOI: 10.1590/s0365-05962012000400001.
- [41] Wolfe CM, Green WH, Cognetta AB, et al. A possible chemopreventive role for photodynamic therapy in Gorlin syndrome: A report of basal cell carcinoma reduction and review of literature. *Australas J Dermatol*. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1111/j.1440-0960.2012.00922.x.
- [42] Zalaudek I, Kreusch J, Giacomel J, et al. How to diagnose nonpigmented skin tumors: A review of vascular structures seen with dermoscopy. *J Am Acad Dermatol* 2010; 63: 361–374.

- [43] Fiechter S, Skaria A, Nievergelt H, *et al.* Facial basal cell carcinomas recurring after photodynamic therapy: A retrospective analysis of histological subtypes. *Dermatology*.

Análise comparativa entre terapia fotodinâmica plataforma LINCE versus criocirurgia no tratamento do carcinoma basocelular de baixo risco – estudo prospectivo randomizado

Ana Beatriz Barbosa Torino e Aparecida Machado de Moraes

Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Campinas, SP, Brasil.

Dentre os cânceres da pele não melanoma, 80% dos casos correspondem ao carcinoma basocelular (CBC) e seu tratamento padrão é a cirurgia. Porém, considerando-se resultados cosméticos, tipos histológicos e número de lesões, outros tratamentos podem ser realizados como a criocirurgia e terapia fotodinâmica. Foi realizado estudo de análise comparativa entre a terapia fotodinâmica e a criocirurgia no tratamento do CBC, conduzido no Hospital de Clínicas da Unicamp. Foram incluídos pacientes com lesões de CBC superficial e nodular de até 2 cm de diâmetro e dois mm de infiltração, em grupos aleatorizados. Utilizou-se a plataforma LINCE e cloridrato de aminolevulinato de metila (MAL) 20mg/g e, em paralelo, na criocirurgia, dois ciclos de congelamento com nitrogênio líquido de 45 segundos. O acompanhamento após tratamento foi realizado por seis meses. Foram tratados 100 CBCs, sendo 50 de cada grupo. Não houve diferença significativa entre o número de recidiva entre os dois grupos ($p= 0.0727$). No entanto em relação ao tipo histológico dos tumores houve diferença significativa ($p=0.0229$). Lesões nodulares apresentaram chance 9,9 vezes maior de recidiva quando comparadas às lesões de CBC superficial. A TFD com aparelho LINCE mostrou-se, portanto, como terapêutica com bons resultados e resposta promissora quando avaliada seis meses após o tratamento e se equipara à efetividade da criocirurgia. A maior efetividade obteve-se no tratamento de CBC superficial, com riscos maiores de recidiva ao subtípico nodular.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605415

1 Introdução

A incidência de câncer de pele não melanoma e melanoma está em crescimento durante as últimas décadas [1]. A Organização Mundial da Saúde estima que, no ano de 2030, exista cerca de 27 milhões de novos casos de câncer de pele, 17 milhões de mortes pela doença e 75 milhões de pessoas vivendo com a enfermidade [1]. Os países com maior incidência serão os que estão em desenvolvimento [1, 2].

CPNM é o câncer mais prevalente no Brasil, e corresponde a 27% de todos os tumores malignos do país. Dentro os cânceres de pele não melanoma, 70% a 80% correspondem ao carcinoma basocelular (CBC) [1]. Os principais fatores de risco para CBC são: exposição solar crônica, radiação solar, pele clara, imunossupressão, exposição ao arsênio, doenças hereditárias (como xeroderma pigmentoso e síndrome de Gorlin-Goltz) e idade avançada [1–3].

1.1 *Carcinoma basocelular*

O CBC representa o câncer mais comum na população caucasiana [1, 2]. A Organização Mundial da Saúde classifica o CBC em superficial, nodular, micronodular, infiltrativo e esclerodermiforme. Os subtipos infiltrativo, esclerodermiforme e micronodular apresentam crescimento mais agressivo, enquanto as formas superficial e nodular geralmente apresentam curso menos agressivo e respondem melhor ao tratamento [3].

Guidelines atuais para tratamento do CBC recomendam diferentes condutas dependendo do seu subtipo histológico. Dessa forma, classificar os subtipos de CBC é crucial para escolha entre o tratamento cirúrgico e não cirúrgico [4–8].

A Rede Nacional de Câncer dos Estados Unidos (*National Comprehensive Cancer Network*, NCCN) estratifica o CBC em subtipos alto e baixo risco baseados na localização do tumor (alto risco quando localizado na região auricular, nasal, palpebral e labial, zona “H” da face), tamanho, bordas, recorrência, imunossupressão, radiação prévia, subtipo

histológico e evidência de invasão perineural [7].

O tratamento padrão ouro para CBC é a excisão cirúrgica, com taxas de cura de 96-99%, no entanto com o aumento dos custos em saúde e dificuldade de acesso à cirurgia dermatológica, opções não cirúrgicas devem ser consideradas. Uma ampla gama de modalidades terapêuticas está disponível para o CBC de baixo risco: terapia fotodinâmica (TFD), medicações tópicas e criocirurgia [3, 8].

1.2 Terapia fotodinâmica

Até o momento, a TFD-MAL foi aprovada para o tratamento do CBC na Europa, Austrália, Brasil, Nova Zelândia, Chile e África do Sul [9]. Há vários protocolos de TFD e seus resultados variam dependendo do tipo de CBC, curetagem prévia e número de sessões. O subtipo histopatológico influencia o resultado da TFD sendo que o CBC pigmentado e o esclerodermiforme são mais resistentes ao tratamento [3].

1.3 Criocirurgia

O congelamento da pele foi, inicialmente, usado após obter-se a liquefação do ar e o desenvolvimento do frasco para estoque do oxigênio, nitrogênio e hidrogênio, por Dewae, no início do século passado [14]. O gás mais utilizado para tratamento de lesões malignas é o nitrogênio líquido [10].

O mecanismo da morte celular iniciado pela crio-ablação representa uma cascata que inclui a morte e dano celular causado pela formação dos cristais de gelo, interrupção da microcirculação seguida pelo descongelamento, e indução da apoptose e necrose. A técnica de criocirurgia consiste em ciclo de congelamento rápido, descongelamento lento e completo, e então exposição ao segundo ciclo de congelamento. As técnicas variam bastante de acordo com o tipo de lesão a ser tratada sendo que lesões malignas são tratadas com dois ciclos de congelamento e temperatura alvo no tecido de -50 °C [10, 11].

1.4 Comparação entre técnicas no tratamento do CBC

Até o momento não há estudo brasileiro comparativo o tratamento com TFD plataforma LINCE versus CR no tratamento do CBC de baixo risco. O câncer de pele no Brasil é um problema de saúde pública, econômico e social, portanto novas terapêuticas devem ser desenvolvidas como alternativas aos inúmeros pacientes com câncer de pele.

2 Objetivos e desenho do estudo

Objetivo geral deste estudo foi comparar a eficácia da crioterapia em relação à terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico, utilizando a Plataforma LINCE no tratamento do CBC de baixo risco, de até 2 cm de diâmetro. A pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética do Hospital de Clínicas Unicamp, número do parecer: 95488618.8.0000.5404, sendo que todos os participantes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os pacientes foram incorporados aos grupos segundo ordem de chegada ao serviço de dermatologia do Hospital de Clínicas Unicamp. Critérios de inclusão: pacientes de ambos os sexos; maiores de 18 anos; com lesões malignas do tipo CBC clinicamente com subtipo superficial ou nodular com diâmetro máximo de 2 cm; pacientes com múltiplas lesões também foram incluídos. Critérios de exclusão: pacientes com alergia a qualquer um dos excipientes presente na fórmula do creme aminolevulinato de metila; pacientes com carcinoma basocelular infiltrativo subtipo histológico micro-infiltrativo, esclerodermiforme, assim como carcinoma espinocelular ou epidermóide, e melanoma; pacientes com porfiria; menores de 18 anos; mulheres grávidas e lactantes; doenças fotossensíveis, por exemplo, lúpus.

O equipamento usado foi o LINCE® (MMOptics, Brasil) e o fármaco utilizado foi MAL creme, na concentração de 20% (200 mg/g) produzido pela PDT- Pharma, Cravinhos, SP, Brasil. As lesões foram randomizadas entre os dois grupos terapêuticos. O paciente com mais de um tumor a ser tratado pode ser incluído nos dois grupos de tratamento, contanto que os

tratamentos tenham sido realizados em membros ou áreas diferentes ou em sessões separadas.

A biopsia prévia, indicando o diagnóstico, foi realizada no ponto ativo da lesão. Pacientes com múltiplas lesões de carcinoma basocelular, pode-se dispensar a biópsia da lesão escolhida para o protocolo. A biópsia após tratamento foi realizada nos casos apenas de dermatoscopia inconclusiva, presença de recidiva clínica ou pacientes com lesões únicas tratadas.

O grupo TFD foi submetido a 2 sessões de tratamento segundo o protocolo TFD-BRASIL, intervalo de 7 dias. Os pacientes submetidos à criocirurgia obedeceram aos dois ciclos de congelamento de 45 segundos, com margem de 5 mm [7, 9]. Os retornos eram em 90 dias e 180 dias, com avaliação clínica e dermatoscopia. Caso houvesse a presença de lesão residual ou recidiva (LR), foi realizado biópsia e caso confirmado presença do tumor, enviado para exérese cirúrgica.

3 Resultados

Foram tratados 17 pacientes com 100 lesões de CBC: no grupo TFD foram tratados 50 tumores dentre eles 6 CBCs superficial e nodular, 19 CBCs superficiais, 15 CBCs nodulares, 4 CBCs esclerosantes, 3 CBCs nodulares e pigmentados, 1 CBC nodular cístico, 2 CBCs nodulares e esclerosantes. Dentre eles recidivaram 1 CBC superficial, 3 nodulares, 1 nodular e pigmentado, 1 nodular cístico e 1 nodular esclerosante. No grupo de criocirurgia foram tratados 50 tumores dentre eles 2 CBCs superficial e nodular, 37 CBCs superficiais, 8 CBCs nodulares, 2 CBCs superficiais micronodular pigmentado e 1 CBC nodular esclerosante. Dentre eles 1 CBC nodular apresentou recidiva. O subtipo nodular teve maior recidiva nos dois grupos tratados. Na Figura 1 é possível observar lesão do tipo CBC nodular na região retroauricular antes e após produção da PpIX.

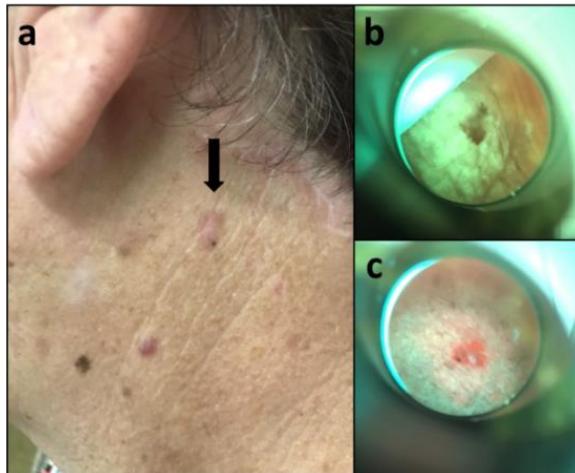


Figura 1. a) CBC nodular antes do tratamento; imagem de campo amplo de fluorescência da lesão b) antes e c) após 3 horas de incubação do creme.

Os pacientes foram avaliados após três e seis meses da realização da TFD (Figura 2).

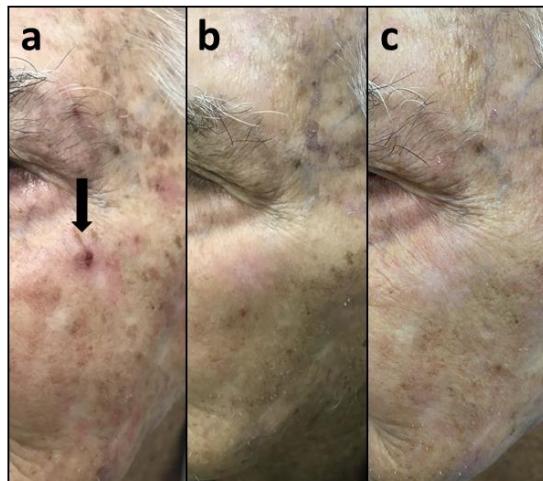


Figura 2. a) CBC nodular esclerosante antes do tratamento, b) após 3 meses da TFD e c) após 6 meses da TFD.

Na Figura 3, podemos observar resposta três e seis meses após a TFD.

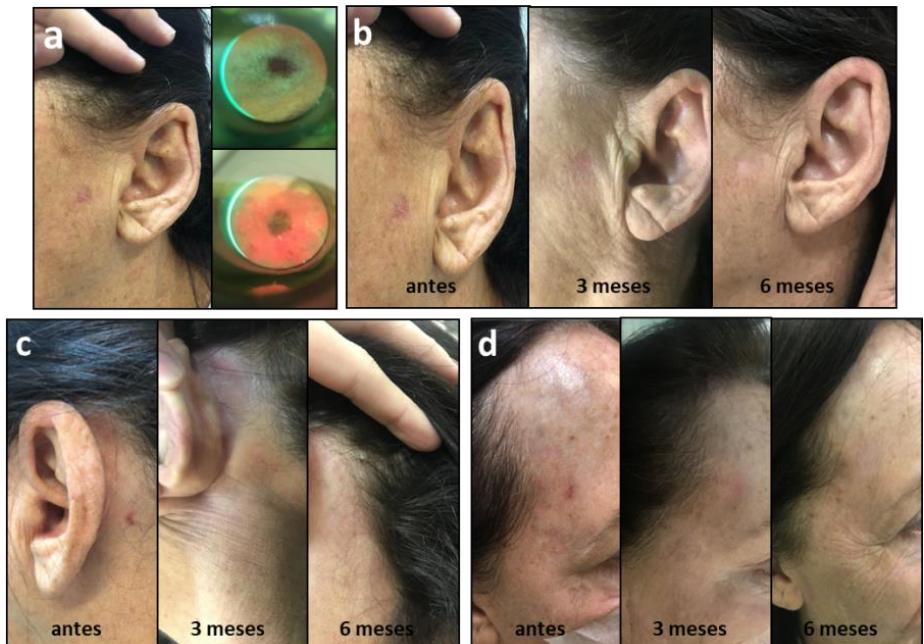


Figura 3. a) CBC nodular antes do tratamento com suas respectivas imagens de campo amplo de fluorescência (sendo a superior a imagem antes do tratamento e a inferior coletada após 3 horas de oclusão do creme para produção de PpIX); b,c,d) pacientes com lesões de CBC nodular antes do tratamento, 3 e 6 meses após a TFD.

A Figura 4 ilustra o resultado de seis meses de uma paciente tratada com criocirurgia.

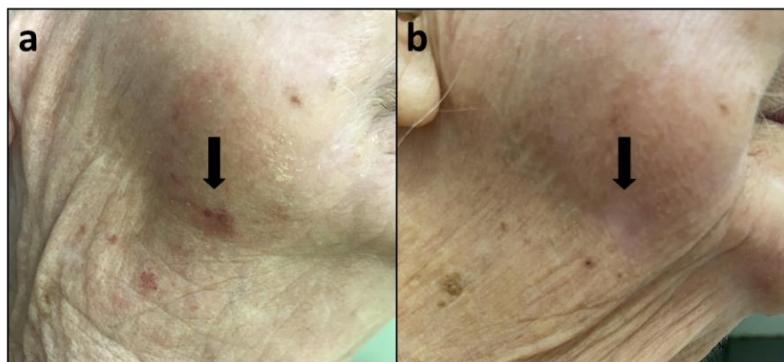


Figura 4. Tratamento com criocirurgia. A. CBC superficial antes da criocirurgia. B. CBC superficial 6 meses após a criocirurgia.

Um exemplo de lesão tratada com criocirurgia pode ser observado na Figura 5. Neste paciente, múltiplas lesões do tipo CBC superficial foram tratadas com criocirurgia.



Figura 5. Pacientes tratados com criocirurgia. a) imagens da lesão antes do tratamento (esquerda), no ciclo de congelamento (meio) e após descongelamento (direita); b) visão de múltiplas lesões tratadas no mesmo paciente com criocirurgia.

As próximas imagens correspondem aos casos de recidiva do tumor (Figuras 6 a 9) de pacientes tratados com TFD.



Figura 6. a) CBC nodular antes da TFD, b) CBC nodular recidivado após 6 meses da TFD, c) Cicatriz após cirurgia convencional.

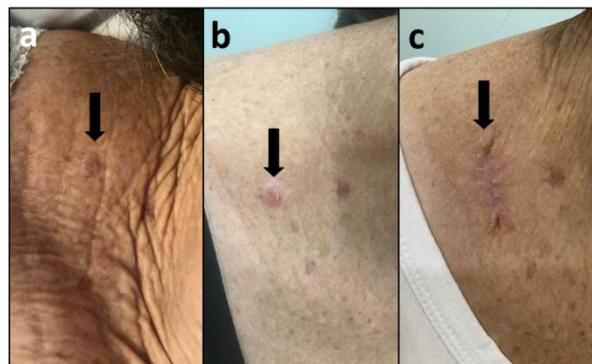


Figura 7. a) CBC nodular cístico antes da TFD, b) CBC nodular recidivado após 6 meses da TFD, c) cicatriz após cirurgia convencional.

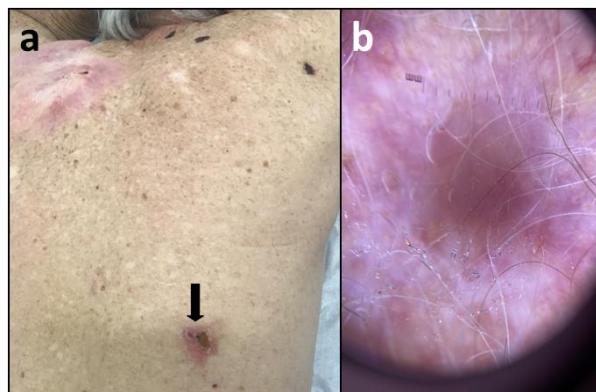


Figura 8. a) CBC nodular com recidiva após 3 meses de TFD, b) dermatoscopia da recidiva do tumor.

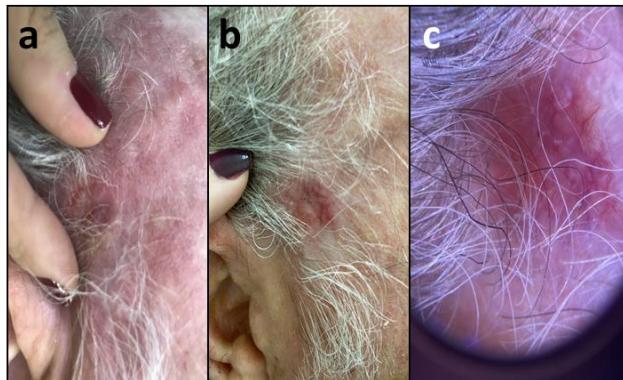


Figura 9. a) CBC nodular pré-auricular direita, b) 3 meses após TFD com recidiva do tumor e c) dermatoscopia do tumor recidivado.

Na Figura 10 é possível observar um caso de recidiva após tratamento com criocirurgia.

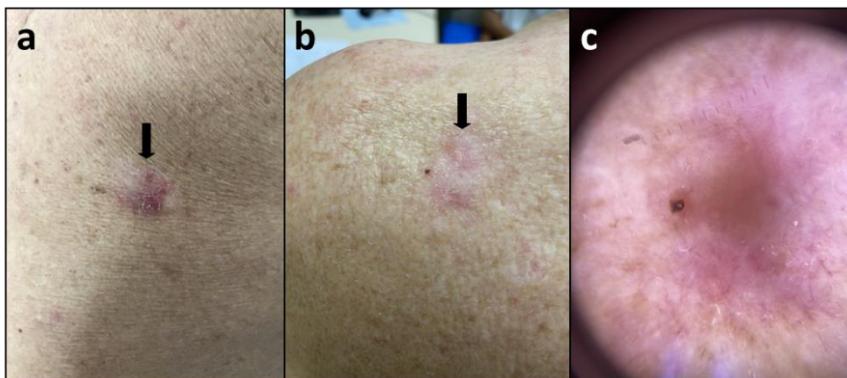


Figura 10. a) CBC nodular antes do tratamento com criocirurgia, b) CBC recidivado após 6 meses de criocirurgia, c) dermatoscopia CBC nodular recidiva.

4 Discussão e conclusão

Os resultados obtidos no estudo mostram eficácia similar em 6 meses para a TFD e a criocirurgia no tratamento do CBC superficial de baixo risco.

Apesar de não haver diferença significativa entre os grupos tratados TFD *versus* criocirurgia, houve relevância para o tipo de lesão ($p=0.0229$

EEG). Lesões nodulares apresentaram chance 9,9 vezes maior de recidiva quando comparadas às lesões superficiais. A dificuldade de penetração dos fotossensibilizadores, em média até 1-2 mm, reduz a eficácia da TFD em tumores espessos, por isso a curetagem ou *debulking* é sempre indicada antes do tratamento. Além disso, neste estudo houve diferença entre a porcentagem de subtipos nodulares em cada grupo tratado. [9] A maior frequência de lesões de CBC nodulares no grupo de TFD pode justificar a maior ocorrência de casos de recidiva.

Apesar do maior risco de recidiva para os tumores nodulares, os quadros recidivados não apresentaram alteração histológica após o tratamento da TF. Alguns estudos apontam que os quadros recidivantes retornam com subtipos histológicos mais agressivos: 62,5% dos CBCs primários superficiais ou nodulares mostraram recidiva com quadro histológico mais agressivo [12]. Embora essa mudança possa refletir o curso natural de progressão do tumor, os dados do estudo sugeriram que o CBC pós TFD apresentava um risco desconhecido de transformação. Neste estudo, os subtipos nodulares se mantiveram com as mesmas características histológicas após recidiva e um dos casos de CBC nodular, o tipo histológico em seis meses foi como CBC superficial [12–15].

Um dos casos tratados com TFD na região temporal direita foi considerado não respondedor, pois em três meses de avaliação havia permanência do tumor. Os demais foram recidivados após seis meses, com clareamento total na dermatoscopia no início do seguimento e então ocorreu o reaparecimento do tumor.

Além disso, a dor têm sido um dos maiores limitantes da técnica TFD. Pela análise estatística deste estudo não houve diferença estatística entre a dor e o tipo de tratamento realizado, mesmo quando múltiplas lesões são tratadas de forma concomitante ou seriadas. Apenas um paciente solicitou interrupção da irradiação por queixa de dor intensa.

Em relação à preferência de tratamento, 8 pacientes deram preferência a criocirurgia e a maioria deles apontou a rapidez do

tratamento como responsável por esta escolha. Dois pacientes ainda preferiram o método cirúrgico pela segurança do tratamento e o restante [6] apontou sua preferência pela TFD quando comparados a criocirurgia e a cirurgia convencional.

A TFD é considerada uma técnica que, além de eficiente para CBC não infiltrativo apresenta resultado estético superior a outros tratamentos. Neste estudo, aplicando TFD observamos resultados estéticos excelentes comparáveis aos observados em outros estudos desenvolvidos pelo grupo TFD Brasil [13].

Uma das limitações do nosso estudo é a falta de confirmação histológica após tratamento dos casos de CBC. Decidiu-se por evitar novas biópsias após o tratamento considerando que cada paciente apresentava múltiplas lesões tratadas e muitas colheitas seriam realizadas novamente.

No entanto, um estudo prospectivo de 3.500 CBCs suporta a veracidade do nosso estudo, demonstrando que a dermatoscopia tem alta sensibilidade (93.8%) e especificidade (91.8%) na detecção do tipo de CBC, como reportado nos *guidelines* para CBCs cutâneos publicados [3].

Por fim, concluímos que a TFD protocolo TFD Brasil apresenta-se como tratamento promissor e seguro no tratamento do CBC de baixo risco. Apontamos a necessidade de mais estudos desta categoria com *follow-up* mais longo e maior número de lesões tratadas.

Referências bibliográficas

- [1] Organização Mundial da Saúde (OMS), <https://www.who.int/eportuguese/countries/bra/pt/>.
- [2] Instituto Nacional do Câncer (INCA), <https://www.inca.gov.br/> (accessed 20 May 2018).
- [3] Paoli J, Dahlén Gyllencreutz J, Fougelberg J, et al. Nonsurgical Options for the Treatment of Basal Cell Carcinoma. *Dermatol Pract Concept* 2019; 75–81.
- [4] Lewin JM, Carucci JA. Advances in the management of basal cell carcinoma. *F1000Prime Rep*; 7. Epub ahead of print 12 May 2015. DOI:

10.12703/P7-53.

- [5] Pasquali P, Segurado-Miravalles G, Castillo M, *et al.* Use of Cytology in the Diagnosis of Basal Cell Carcinoma Subtypes. *J Clin Med* 2020; 9: 612.
- [6] Yélamos O, Braun RP, Liopyris K, *et al.* Dermoscopy and dermatopathology correlates of cutaneous neoplasms. *J Am Acad Dermatol* 2019; 80: 341–363.
- [7] Mendez BM, Thornton JF. Current Basal and Squamous Cell Skin Cancer Management. *Plast Reconstr Surg* 2018; 142: 373e-387e.
- [8] Ferraresi C, Parizotto NA, Pires de Sousa MV, *et al.* Light-emitting diode therapy in exercise-trained mice increases muscle performance, cytochrome c oxidase activity, ATP and cell proliferation. *J Biophotonics* 2015; 8: 740–754.
- [9] Bagnato VS. *Terapia Fotodinâmica Dermatológica: Programa TFD Brasil.* São Carlos: Compacta grafica e editora, 2015.
- [10] Moraes AM de, Velho PENF, Magalhães RF. Criocirurgia com nitrogênio líquido e as dermatoses infecciosas. *An Bras Dermatol* 2008; 83: 285–298.
- [11] Moraes AM de, Leite SHR, Cintra ML, *et al.* Doença de Bowen na região perianal tratada com criocirurgia com nitrogênio líquido. *An Bras Dermatol* 2002; 77: 571–576.
- [12] Basset-Seguin N, Ibbotson SH, Emtestam L, *et al.* Topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy versus cryotherapy for superficial basal cell carcinoma: A 5 year randomized trial. *Eur J Dermatology*. Epub ahead of print 2008. DOI: 10.1684/ejd.2008.0472.
- [13] Foley P, Freeman M, Menter A, *et al.* Photodynamic therapy with methyl aminolevulinate for primary nodular basal cell carcinoma: results of two randomized studies. *Int J Dermatol* 2009; 48: 1236–1245.
- [14] Tope, W. D., Menter, A., El-Azhary, R. A., Lowe, N. J., Jarratt, M., & Pariser DM. Comparison of topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy versus placebo photodynamic therapy in nodular BCC. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18(Suppl 2): 413–4.
- [15] Rhodes LE, de Rie M, Enström Y, *et al.* Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial. *Arch Dermatol* 2004; 140: 17–23.

Tratamento do câncer de pele por TFD guiada por fluorescência de campo amplo em idosos na região nordeste do RGS – série de casos

Roberto Bigarella e Lucas Goldmann Bigarella

Faculdade de Medicina da Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, RS, Brasil.

O objetivo deste capítulo é relatar nossa experiência com a terapia fotodinâmica (TFD) com aminolevulinato de metila (M-ALA) 20% guiada por fluorescência de campo amplo no tratamento do câncer de pele não melanoma. Em 2012 a Universidade de Caxias do Sul (UCS) iniciou uma parceria com o Instituto de Física da Universidade de São Paulo (USP) participando do projeto Terapia Fotodinâmica Brasil. Desde então viemos desenvolvendo nossa capacidade no tratamento do câncer de pele graças ao apoio inestimável do IFSC sob a forma de treinamentos, supervisão, equipamentos e insumos. Em 2018 foi criado o Ambulatório de Terapia Fotodinâmica dentro do Ambulatório Central da UCS de onde coletamos a maior parte dos casos apresentados neste capítulo.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605416

1 Introdução

A região nordeste do Rio Grande do Sul (RS) recebe naturalmente altos índices de radiação solar por sua latitude e posição solar. Além disso, a espessura da camada de ozônio vem diminuindo em todo o sul do Brasil. No estado do RS, a Unidade Dobson (UD) que mede a espessura da camada de ozônio está em 270 UD, quando o ideal seria 400 UD.

Em 1995 foi criado pela Organização Mundial da Saúde o Índice UV. Esse índice é um valor inteiro a partir de 0 que indica o grau de exposição à radiação. Valores de 0-2 são considerados baixos, 3-5 moderados, 6-7 altos, 8-10 muito altos e a partir de 11 valores extremos.

No RS os índices de radiação UV-B frequentemente têm ultrapassado os 11 pontos, aumentando ainda mais nos meses de novembro a março (Figura 1).

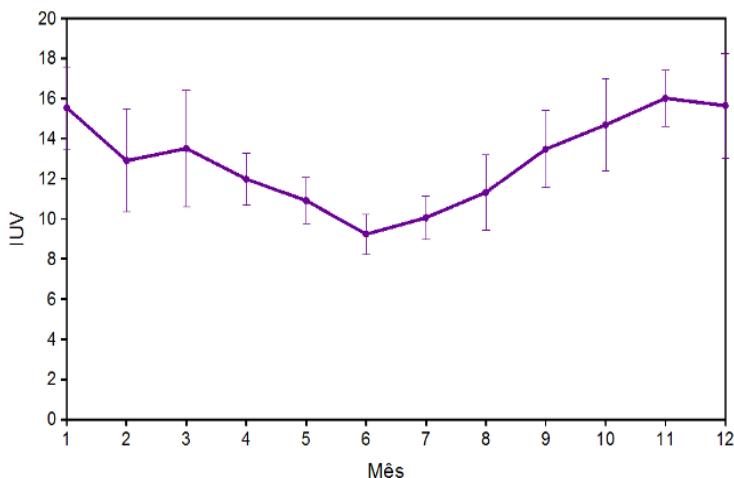


Figura 1. Índice de radiação UV-B no estado do Rio Grande do Sul por meses do ano (Fonte: Applied Geophysics Interdisciplinary Group of the Faculty of Physics at PUC-RS)

Os raios UV-B, estão diretamente relacionados ao surgimento do câncer de pele e têm aumentado a incidência sobre a terra devido a diminuição da camada de ozônio. Já os raios UV-A, que independem da

camada de ozônio, causam câncer de pele em quem se expõe a eles em horários de alta incidência, continuamente e ao longo da vida.

Pessoas com determinadas características físicas, em especial pele e olhos claros, apresentam maior risco de desenvolver câncer de pele, devido a menor quantidade de melanina na pele. Em 1975 Fitzpatrick [1] criou uma classificação baseada na cor dos olhos, cabelos, pele e reação a exposição solar que varia de I (mais sensível) a VI (menos sensível).

A população da região nordeste do RS é predominantemente constituída por descendentes de imigrantes italianos e alemães com fototipo baixo (I-III na escala de Fitzpatrick), muitos sendo moradores da zona rural.

Esta combinação de pessoas de pele clara, atividade rural que exige longos períodos de exposição solar e a alta incidência de radiação UV no Rio Grande do Sul, faz com que a incidência de câncer de pele nesta região seja uma das mais altas do Brasil e a mortalidade por melanoma seja o dobro da média nacional (7/100 mil habitantes).

Além dos fatores ambientais, culturais e genéticos, o que mais tem influenciado o aumento de casos de câncer de pele é o envelhecimento populacional. O país passa por uma rápida transição demográfica onde o crescimento do número de idosos supera todas as outras faixas etárias. Esta transição demográfica levou também a uma transição epidemiológica onde as doenças associadas ao envelhecimento superam em importância as doenças infectocontagiosas. O carcinoma basocelular é basicamente uma doença associada à idade já que são necessários muitos anos de exposição solar para que a lesão se manifeste. Enquanto a população brasileira cresceu apenas 10 % entre o ano 2000 e 2016, a incidência de câncer de pele aumentou em 250% neste mesmo período. [2]

2 Seleção da série de casos

Foram incluídos nessa série de casos pacientes com lesões malignas do tipo carcinoma basocelular com subtipo histológico superficial e nodular

(comprovado por análise histopatológica) com diâmetro máximo de 2 (dois) centímetros.

Nossa amostra foi constituída por 34 homens e 19 mulheres com idade entre 60 e 92 anos, idade média de 82 anos, moradores da macroregião da serra gaúcha, com fototipo I (8 casos), fototipo II (29 casos) e fototipo III (16 casos).

2.1 Técnica

Após assepsia com clorexedina e curetagem da lesão é aplicada uma camada de aproximadamente 1 mm do creme de M-ALA 20 % em toda sua extensão. Após, a região deve ser imediatamente ocluída com um curativo de 3 camadas (a primeira de filme de PVC, a segunda de papel alumínio e a terceira de gaze).

Após três horas o curativo e o excesso de creme sobre a lesão são removidos e coletadas imagens de fluorescência da PpIX (protoporfirina IX) com o sistema de detecção da fluorescência do aparelho LINCE® (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil).

A seguir, é realizado o tratamento com iluminação à base de LED com comprimento de onda em 630 - 640 nm. A intensidade de iluminação é de 125 mW/cm² para totalizar a dose de energia fornecida ao tecido de 150 J/cm² (tempo total de 20 minutos).

Ao final da aplicação, a lesão é novamente fotografada através da fluorescência de campo amplo, devendo apresentar uma imagem escura onde havia a cor vermelha comprovando que houve completo consumo da PpIX. [3] Caso não haja completa degradação da PpIX são aplicados mais 5 minutos de TFD e colhidas novas imagens. Persistindo ainda vestígios de PpIX mais 5 minutos serão aplicados com novas imagens sendo coletadas no final.

Após o tratamento, os pacientes são orientados para a higienização da área e, se necessário medicados para sintomatologia dolorosa, a critério do médico responsável. Após sete dias, os pacientes são reavaliados e recebem

um segundo tratamento, seguindo o mesmo protocolo da primeira aplicação. Em 30 dias foi realizada nova biópsia e reavaliação clínica em 3, 6 e 12 meses.

2.2 Impressões e resultados

Foram tratadas com esta técnica 82 lesões de um total de 53 pacientes. Houve cura clínica e histopatológica de 79 lesões (96,34%) em 30 dias e apenas uma recidiva em 6 meses. Resultados semelhantes e não inferiores ao da excisão cirúrgica que é o padrão ouro atual. [4]

Em geral o tratamento foi bem tolerado, sendo a dor a queixa principal dos pacientes durante o procedimento. Apesar do desconforto, a aplicação de compressas frias e de analgésicos comuns como paracetamol ou dipirona foi suficiente para que nenhum paciente abandonasse o tratamento.

Levando em conta que a maioria das lesões se localizava na face, especialmente nariz e orelhas, a satisfação com os resultados estéticos do tratamento foi muito boa, não havendo queixas em relação a cicatrizes ou discromias (Figuras 2, 3, e 4).



Figura 2. a) Lesão de CBC nodular antes do tratamento, b) 30 dias após tratamento.

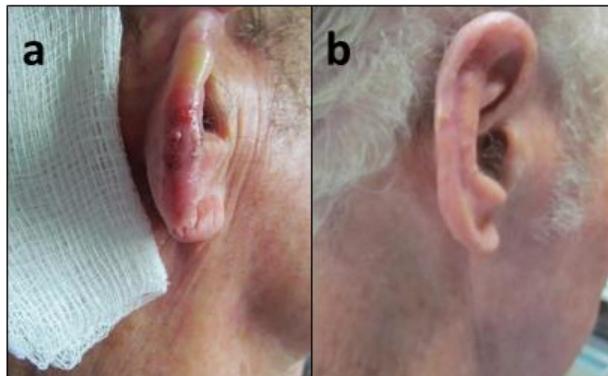


Figura 3. a) Lesão de CBC nódulo-ulcerativo antes do tratamento, b) 30 dias após tratamento.

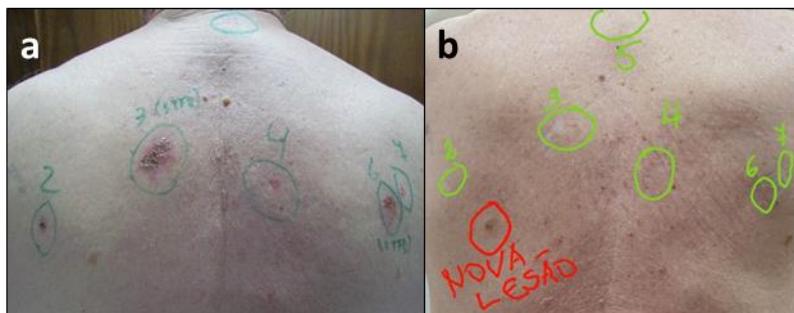


Figura 4. Múltiplos CBCs em região dorsal a) antes do tratamento; b) após 36 meses, sem recidiva de nenhuma das lesões tratadas.

2.3 Fluorescência de campo amplo

O aminolevulinato de metila (MAL) atua como um fotossensibilizante, precursor da protoporfirina IX (PpIX), que é absorvido preferencialmente pelas células tumorais produzindo cor vermelha quando submetido à luz azul (405 nm) do evidenciador contrastando com a coloração esverdeada dos tecidos normais. Este contraste permite identificar com maior precisão os limites da lesão e fornece informações sobre a quantidade de PpIX produzida.[5]

Ao reavaliar a fluorescência após a TFD podemos observar o grau de consumo da PpIX. Se a lesão emitir pouca ou nenhuma fluorescência vermelha podemos concluir que a fotoreação foi eficiente com adequada

geração de oxigênio singuleto e consumo do fotossensibilizador.

Por outro lado, se ainda observarmos coloração vermelha alta após a TFD, é provável que a fotoreação tenha sido insuficiente. Ao utilizarmos esse monitoramento podemos otimizar o tratamento aumentando as taxas de cura e reduzindo as recidivas (Figuras 5 e 6).

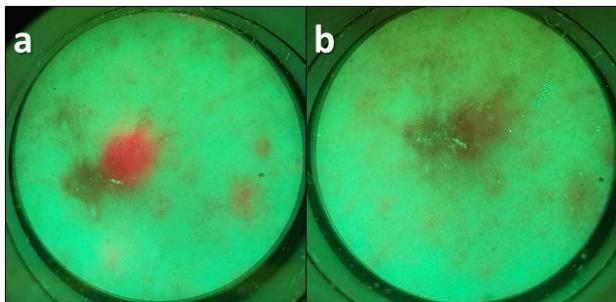


Figura 5. Imagem de fluorescência de campo amplo da lesão a) antes e b) após a TFD.

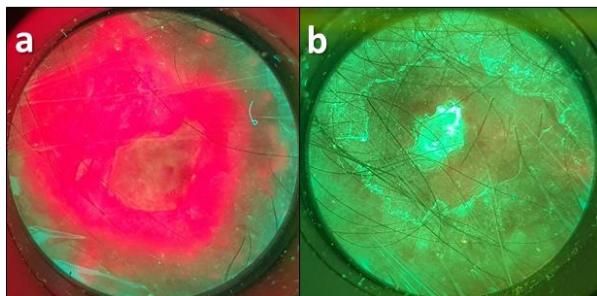


Figura 6. Imagem de fluorescência de campo amplo da lesão a) antes e b) após a TFD.

3 Conclusão

Devido ao N relativamente pequeno não podemos afirmar que a elevada taxa de cura se deveu a técnica utilizada, mas é nossa hipótese de que tenha havido uma contribuição positiva da irradiação até a completa degradação da protoporfirina IX nestes resultados.

Referências bibliográficas

- [1] Quevedo WC, Fitzpatrick TB, Pathak MA, *et al.* Role of light in human skin color variation. *Am J Phys Anthropol* 1975; 43: 393–408.
- [2] Estimativa: Incidência de Câncer no Brasil, <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016> (2016).
- [3] Bagnato, V. S., Kurachi, C., Inada, N.M., Ramirez, D.P. VF. Terapia fotodinâmica no tratamento do carcinoma basocelular. *Rev Espaço Saúde* 2012; 1: 10–11.
- [4] Zou Y, Zhao Y, Yu J, *et al.* Photodynamic therapy versus surgical excision to basal cell carcinoma: meta-analysis. *J Cosmet Dermatol*. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1111/jocd.12236.
- [5] Blanco KC, Moriyama LT, Inada NM, *et al.* Fluorescence guided PDT for optimization of the outcome of skin cancer treatment. *Front Phys*; 3. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.3389/fphy.2015.00030.

Tratamento das ceratoses actínicas em MMSS e face com terapia fotodinâmica (TFD) em Sinop (MT)

Maria Cecília Teixeira de Carvalho Bruno¹, Carlos Alberto Bruno Mendes de Oliveira², João Vitor Jesus Chincoviaki¹, Mirian Parolo Ribeiro¹

¹Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Sinop, MT, Brasil.

²Clínica de Dermatologia Avançada, Sinop, MT, Brasil

As ceratoses actínicas são lesões dermatológicas intraepiteliais displásicas dos queratinócitos, encontradas predominantemente na pele cronicamente fotoexposta, em indivíduos com Fototipo I e II de Fitzpatrick. Apresentam potencial de transformação maligna para o carcinoma espinocelular. Numerosos tratamentos estão disponíveis atualmente, entre eles a terapia fotodinâmica (TFD). Neste trabalho, apresentamos um protocolo de tratamento, utilizando a TFD antes de qualquer outra modalidade terapêutica, e os respectivos resultados obtidos. Há evidência de suas vantagens sobre as técnicas e métodos convencionais.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605417

1 Introdução

As ceratoses actínicas foram descritas em 1826, pelo dermatologista francês Dubreuilh.[1] São lesões dermatológicas intraepiteliais displásicas dos queratinócitos, com potencial de transformação maligna para o carcinoma espinocelular (CEC) (Figura 1). [1-4] Apresentam-se como pápulas ou placas hiperqueratósicas, escamosas, algumas verrucosas, de coloração igual à da pele ou com base eritematosa. Localizam-se preferencialmente na pele fotoexposta da face e pescoço, onde são mais planas. Nos membros superiores, apresentam-se mais espessas. [1, 3, 4] Apesar de a radiação ultravioleta ser o principal fator envolvido na patogênese, fatores individuais também interferem na predisposição ao surgimento das lesões. [1, 4]



Figura 1. Lesões características de ceratose actínica

2 Clínica e diagnóstico

O diagnóstico das ceratoses actínicas é clínico na grande maioria das vezes, mas o exame histopatológico faz-se imprescindível quando há lesões maiores que 1 cm de diâmetro e quando essas apresentam sangramento, infiltração, crescimento rápido e prurido. [1, 2, 4, 5] Além desses critérios, a ausência de resposta aos tratamentos habituais e a presença de alguma característica não usual também podem estar associadas à progressão de ceratoses actínicas para CEC. [1]

2.1 Campo cancerizável

O campo cancerizável ou campo de cancerização pode ser definido, em termos moleculares, como a presença de células que sofreram mutação e que podem progredir para células cancerígenas. Clinicamente, a caracterização é feita por áreas com múltiplas lesões mal delimitadas e em diferentes estágios clínicos.[3] Trata-se, portanto, de uma região contendo anormalidades pré-neoplásicas subclínicas e multifocais que, futuramente, poderão ser a sede de novos tumores primários e recorrência local.[5, 6]

2.2 Histopatologia

São encontrados queratinócitos atípicos e pleomórficos na epiderme. Há presença de acantose, acantólise e leve infiltrado inflamatório de linfócitos e histiócitos. [1, 4] A junção dermoepidérmica mostra irregularidade, devido à protusão de células da camada basal até a derme papilar superior. A elastose solar é frequente. Citologicamente, as ceratoses actínicas e carcinomas espinocelulares são indistinguíveis. [1, 2, 4]

2.3 Dermatoscopia

A dermatoscopia pode ser útil para avaliar a progressão espectral de ceratoses actínicas até a formação de CEC invasivo. Inicialmente, a ceratose actínica mostra uma pseudorrede vermelha “padrão morango” (Figura 2). [1, 2, 7, 8]

A primeira etapa do progresso em direção ao CEC é caracterizada por desenvolvimento progressivo do padrão de explosão estelar vermelha, formação de escamas opacas branco-amareladas e neovascularização (vasos pontilhados agrupados); as escamas vão tornando-se mais espessas e coalescentes, predominando na posição central da lesão. Posteriormente, ocorre desenvolvimento progressivo de vasos alongados, queratinização e ulceração. [7]



Figura 2. Padrão dermatoscópico da ceratose actínica, mostrando uma pseudorrede vermelha “padrão morango”. [8]

3 Tratamento

O objetivo do tratamento da ceratose actínica é prevenção, evitando-se o risco de progressão para o carcinoma espinocelular. [1, 4, 9] As modalidades terapêuticas para o manejo de ceratoses actínicas incluem métodos ablativos, cirúrgicos e medicamentosos, que devem ser individualizados conforme a necessidade do paciente. [1, 4, 6]

3.1 Terapia fotodinâmica (TFD)

A terapia fotodinâmica (TFD) baseia-se em uma fotoreação oxigênio-dependente que ocorre quando um corante fotossensibilizante, aplicado sobre a pele, recebe a luz emitida por uma fonte de diodo (LED). O ácido 5 delta aminolevulínico (ALA) ou sua forma metilada (MAL), nessa reação, é convertido por enzimas do metabolismo do heme, encontradas nas células tumorais e displásicas em protoporfirinas fotossensibilizantes, principalmente a protoporfirina IX, que leva o tecido celular a apoptose e necrose, com posterior recuperação. [1, 3, 4, 6, 9] A TFD apresenta vantagens sobre as técnicas e os métodos convencionais de tratamento da ceratose actínica, pois possibilita tratar tanto as lesões já estabelecidas quanto as subclínicas. [1, 3, 6, 9]

3.2 Tratamento de ceratoses actínicas em face e em MMSS, realizado na Dermatologia Avançada (MT)

A procura para o tratamento e prevenção das lesões de ceratoses actínicas é extremamente frequente em nossa clínica, tanto por pessoas do sexo masculino como feminino, com maior incidência na faixa etária de 40 a 60 anos. Vários fatores contribuem para essa procura.

Dentre eles podemos citar:

(i) As características da população de Sinop e região, colonizada na década de 70 por trabalhadores rurais, em sua maioria descendentes de imigrantes europeus alemães e italianos (populações cuja composição étnica apresenta predominantemente indivíduos de fototipos baixos - Fototipos I e II de Fitzpatrick - mais suscetíveis aos efeitos carcinogênicos da radiação UV, apresentando maior risco para ceratoses actínicas). [1, 10–12]

(ii) As características geográficas da região de Sinop, que se encontra na latitude 11,865° S, faixa com as maiores intensidades de insolação e de radiação ultravioleta (R-UV).[11]

A procura incessante por um tratamento preventivo, para controle de recidivas das lesões que foram submetidas aos mais diversos tratamentos sem resultados satisfatórios.

Alguns estudos mostram que o uso de fotossensibilizante, utilizando a luz do dia em substituição à luz artificial, apresenta resultados satisfatórios. No entanto, não foi possível a implementação dessa nova modalidade em nosso serviço, pois, devido às características da população atendida — agricultores, moradores de outras cidades — ficou inviável controlar os cuidados necessários com a prevenção pós-tratamento. Por essa razão, estabelecemos um protocolo de tratamento, utilizando a TFD em todas as lesões de ceratoses actínicas comprovadas por biópsia.

O protocolo adotado apresenta a seguinte sequência:

1. Anamnese detalhada do paciente e identificação de campo cancerizável e ceratoses actínicas;

2. Orientação ao paciente de como será realizado o procedimento e suas etapas;
3. Curetagem sistemática de todas as lesões encontradas no exame da pele;
4. Aplicação do ALA, que permanecerá na pele por aproximadamente 3 horas, mantendo as áreas ocluídas antes da próxima etapa;
5. Aplicação de luz com o aparelho LINCE, localizado em cada lesão por 15 minutos (Figura 3).



Figura 3. Aplicação da luz com o aparelho LINCE.

Após a aplicação, os pacientes são orientados para evitar complicações pós-TFD. É indicado o uso de fotoprotetores, antioxidantes orais, como luteína e *Polypodium leucotomos*, e de roupas com fotoproteção, além de orientação quanto a evitar exposição ao sol.

Em casos de reações adversas, como intenso eritema e sensibilidade local, indicamos o uso do acetato de 1% em creme duas vezes ao dia.

Os pacientes devem retornar em 30 dias para avaliação dos resultados e verificação da necessidade de uma nova aplicação. Geralmente, são necessárias de 2 a 3 sessões de TFD no mesmo local para alcançarmos um resultado considerado satisfatório, com diminuição efetiva das lesões, assim como descrito por Bagnato.[3]

O aparelho utilizado é o LINCE, um equipamento médico que utiliza a luz emitida por LEDs para auxiliar na terapia fotodinâmica, aplicada à

ceratose actínica não espessa e não pigmentada. Apresenta duas peças de mão: evidenciador e tratamento. A primeira executa a função de auxiliar a visualização da lesão, quando iluminada por uma luz violeta do LED (com e sem o uso do fotossensibilizador) (Figura 4a). A segunda peça de mão executa o tratamento das áreas identificadas com lesão por meio da técnica TFD (terapia fotodinâmica), sendo um fotossensibilizador à base de ALA aplicado no local da lesão, e essa lesão ativada pela luz LED, no intervalo espectral do vermelho. A operação do equipamento é gerenciada por meio de um menu, pelo qual se pode selecionar a peça de mão, o modo de operação e os parâmetros. O menu é acionado pelas teclas do painel do gabinete e visualizados no display de LCD.

Os resultados podem ser evidenciados pela primeira ferramenta imediatamente após o procedimento (Figura 4b).

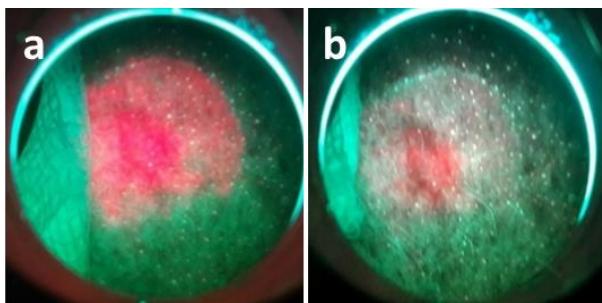


Figura 4. a) Lesão iluminada por luz violeta do evidenciador, b) Lesão evidenciada por luz violeta, após procedimento de exposição ao LED.

4 Casos clínicos

A maioria dos pacientes atendidos com ceratose actínicas apresenta predominância de idade entre 40 a 60 anos tanto no sexo masculino como feminino, havendo predominância do sexo masculino, embora tenhamos cada vez mais pacientes jovem. De maneira aleatória, selecionamos alguns casos e apresentamos os resultados obtidos.

4.1 Caso clínico 1

Paciente com 69 anos, com lesões de ceratose actínica há mais de seis anos (Figura 5).



Figura 5. a) Paciente com múltiplas lesões em face, antes da realização da TFD, b) 60 dias após realização do procedimento, com redução das áreas ceratóticas e melhora de aspecto global.

4.2 Caso clínico 2

Paciente com 58 anos, com ceratoses actínicas em dorso nasal e região malar a oito anos (Figura 6).



Figura 6. a) Lesões proeminentes em dorso de nariz e infraorbitárias em ambas hemifaces, antes da realização de TFD, b) lesões após 60 dias de tratamento, com significativa melhora do quadro inicial.

4.3 Caso clínico 3

Paciente com 71 anos, com ceratoses actínicas há oito anos (Figura 7). Realizou tratamentos anteriores com resultados insatisfatórios.

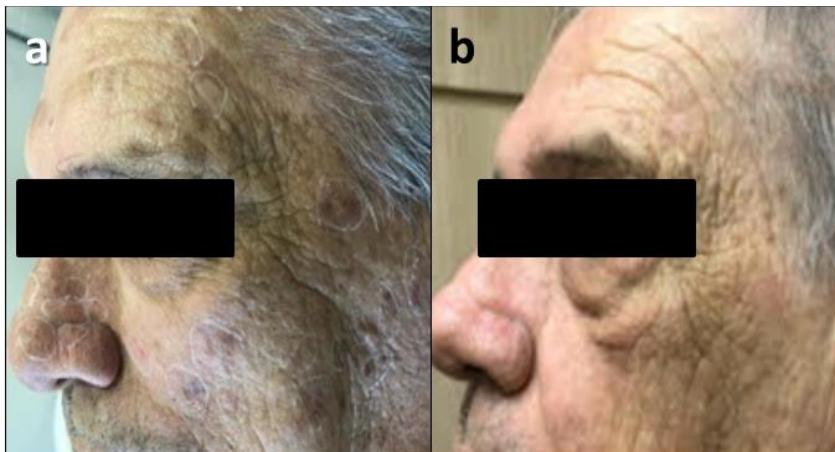


Figura 7. Paciente com lesões ceratóticas demarcadas em face, pré-tratamento, b) 90 dias após tratamento, com melhora evidente em lesões de face.

5 Conclusão

Tentamos anteriormente usar outras modalidades terapêuticas, também seguras e efetivas. Foram utilizados, dentre outros, a criocirurgia com nitrogênio líquido, laser de CO₂, *peelings*, cauterizações químicas, 5 fluoracil (duas aplicações por dia por 3 semanas, em média por 5 a 6 semanas).

Pudemos observar que a maioria dos pacientes abandonava o tratamento antes do prazo indicado em literatura médica, por intolerância aos efeitos colaterais (bolhas, dor local, intenso eritema, dentre outros).

Quando iniciamos o protocolo com a TFD, nossas expectativas foram atendidas e também as de nossos pacientes. Apesar de alguns casos, cuja cura não foi atingida, a melhora clínica constatada foi considerável, possibilitando as melhores condições gerais para os pacientes. Pudemos observar também que os tratamentos subsequentes realizados com

tecnologias e procedimentos adequados a cada caso (laserterapia, *peelings* químicos, cauterizações, dentre outros) apresentaram resultados altamente satisfatórios em comparação com os anteriores usados isoladamente.

O uso do LINCE, por sua associação de fonte de luz e de um sistema de evidenciação por fluorescência de campo amplo, em uma mesma plataforma, mostrou-se superior a outras plataformas, pois nos confere a possibilidade de monitoramento em um único equipamento. [3]

Nosso único fator limitante, no momento, é o tempo de permanência de cada paciente em nosso serviço, principalmente quando as lesões são numerosas, mas apesar disso não observamos desistência do tratamento.

Acreditamos que a TFD seja uma terapia de inestimável valor, mas permanecemos sempre atentos, pois ela demanda, em muitos casos, uma visão criteriosa bem maior que as outras terapias convencionais.

Referências bibliográficas

- [1] Reinehr CPH, Bakos RM. Actinic keratoses: review of clinical, dermoscopic, and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol* 2019; 94: 637–657.
- [2] Fernandez Figueras MTT. From actinic keratosis to squamous cell carcinoma: pathophysiology revisited. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2017; 31: 5–7.
- [3] Bagnato VS. *Terapia Fotodinâmica Dermatológica: Programa TFD Brasil*. São Carlos: Compacta grafica e editora, 2015.
- [4] Hashim PW, Chen T, Rigel D, et al. Actinic Keratosis: Current Therapies and Insights Into New Treatments. *J Drugs Dermatol* 2019; 18: s161-166.
- [5] Ulrich M, Maltusch A, Röwert-Huber J, et al. Actinic keratoses: non-invasive diagnosis for field cancerisation. *Br J Dermatol* 2007; 156: 13–17.
- [6] Torezan LAR, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol* 2013; 88: 775–786.
- [7] Zalaudek I, Giacomel J, Schmid K, et al. Dermatoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: A progression model. *J Am Acad Dermatol* 2012; 66: 589–597.

- [8] ¿Cómo se diagnostican los cánceres de queratinocitos? Dermatoscopia del cáncer de piel de queratinócitos. *HOOGSTRA Centros Médicos*, <https://doctorhoogstra.com/pt/wiki/cancer-de-queratinocitos/> (2021).
- [9] Bonilha VSJ. *Tratamento de queratose actínica disseminada através da terapia fotodinâmica*. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2011.
- [10] Almeida LS. Significados locais da colonização interna no norte mato-grossense. *Rev Bras Estud Urbanos e Reg*; 23. Epub ahead of print 11 March 2021. DOI: 10.22296/2317-1529.rbeur.202101.
- [11] Souza EA de. Reflexões acerca da história de Sinop/MT: imigração e fronteira agrícola. *História e Divers* 2018; 9: 96–109.
- [12] Oliveira MMF de. Radiação ultravioleta/ índice ultravioleta e câncer de pele no Brasil: condições ambientais e vulnerabilidades sociais. *Rev Bras Climatol*; 13. Epub ahead of print 8 June 2014. DOI: 10.5380/abclima.v13i0.36764.

Terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência no tratamento da queilite actínica

Mônica Simões Israel¹, Bruno Teixeira Gonçalves Rodrigues¹, Giuliana Lima Pinheiro², Júlia Braga da Silva¹, Nathália de Almeida Freire¹ e Wagner Pinto das Chagas¹

¹ Departamento de Diagnóstico e Terapêutica, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

² Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

A queilite actínica (QA) consiste em uma desordem oral potencialmente maligna resultante da exposição crônica aos raios ultravioletas, estando localizada principalmente no vermelhão do lábio inferior. A progressão dessa doença pode levar ao desenvolvimento do carcinoma de células escamosas do lábio; portanto, o ideal é que seu tratamento seja eficiente e gere o mínimo de desconforto possível para o paciente. Existem tratamentos cirúrgicos e não cirúrgicos para a queilite actínica, sendo que a terapia fotodinâmica (TFD) é uma opção não invasiva, amplamente utilizada para tratar áreas cutâneas, que pode contribuir para a regressão dessa doença. Neste capítulo, trazemos uma revisão da literatura recente, os principais resultados da nossa pesquisa na Universidade do Estado do Rio de Janeiro – utilizando a TFD no tratamento de pacientes portadores de QA – assim como o protocolo que foi utilizado.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605418

1 Introdução

A queilite actínica (QA) consiste em uma desordem oral potencialmente maligna, localizada na região do vermelhão de lábio, sendo sua localização preferencial o lábio inferior, devido à sua maior exposição à luz solar [1]. Clinicamente, a QA acomete preferencialmente indivíduos do sexo masculino, leucodermas, acima de 45 anos, principalmente aqueles que trabalham em atividades ao ar livre, como marinheiros e trabalhadores rurais [2, 3]. Inicialmente, muitas vezes, consiste na atrofia do vermelhão do lábio, podendo apresentar áreas brancas; sua progressão resulta na ocorrência de superfícies escamosas no vermelhão. A QA pode aparecer como lesões localizadas ou difusas. Essas lesões - geralmente assintomáticas - são leucoplásicas, eritroplásicas ou leucoeritroplásicas (Figura 1). [2, 3]



Figura 1. Aspecto clínico da queilite actínica. Observa-se a presença de áreas leucoplásicas e apagamento do vermelhão de lábio.

Com a evolução da doença, ulcerações crônicas ocorrem em um ou mais locais e podem durar meses, sugerindo fortemente uma progressão para carcinoma de células escamosas (CCE). Estudos anteriores sugerem que 95% dos CCE do vermelhão evoluíram a partir de uma queilite actínica [3].

O principal fator etiológico da QA consiste na exposição crônica e excessiva ao espectro ultravioleta da luz solar, em especial os raios

ultravioletas tipo B (UVB), por possuir maior poder de penetração em relação aos raios ultravioleta tipo A (UVA). Por esse motivo, ocupações realizadas ao ar livre, com maior exposição ao sol, estão comumente associadas a essa lesão. [1–5]

Ao exame histopatológico, observa-se a atrofia do epitélio escamoso estratificado, com notável produção de queratina. O tecido conjuntivo adjacente mostra degeneração de fibras de colágeno, denominada elastose solar. Diferentes graus de displasia epitelial podem estar presentes e as chances de evolução para um CCE são diretamente proporcionais à sua gravidade. O diagnóstico precoce e o tratamento eficaz da queilite actínica são essenciais para prevenir sua progressão maligna em CCE.

O grau de displasia na QA é fator determinante para a escolha de seu plano de tratamento. Dessa forma, em casos que a lesão apresenta displasia severa, pode ser realizado um procedimento cirúrgico de vermelhectomia, que consiste na excisão total ou parcial do vermelhão do lábio. Maiores taxas de cura são obtidas com modalidades terapêuticas mais agressivas, apesar de seus efeitos adversos. Além disso, outras opções de tratamento incluem CO₂ ou ablação a laser de érbio: YAG, eletrocirurgia, 5-fluorouracil tópico, terapia tricloroacética e TFD.

A TFD associada ao laser de baixa potência é uma modalidade terapêutica não invasiva que tem a capacidade de tratar áreas extensas e lesadas - de uma só vez - e apresenta bons resultados cosméticos. É frequentemente considerada no tratamento da queratose actínica - como opção conservadora - e seu uso tem aumentado no tratamento da doença de Bowen e carcinoma basocelular. Dessa forma, o presente capítulo relata, brevemente, nossa experiência com o uso da terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência no tratamento de pacientes portadores de queilite actínica da Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

2 Opções de tratamento da queilite actínica

As alternativas terapêuticas para a QA consistem em tratamentos cirúrgicos e não cirúrgicos. Não existe um consenso sobre o melhor tratamento, entretanto, é necessário levar em consideração o prognóstico do paciente.

As opções cirúrgicas, como a ablação a laser e a vermelhectomy, estão associadas a resultados mais favoráveis e com menores chances de recorrência, no entanto podem causar efeitos adversos de curto e longo prazo [6, 7]. A vermelhectomy é o procedimento considerado padrão-ouro para o tratamento da queilite actínica com displasia severa, que consiste na retirada total ou parcial do lábio, permitindo que o espécime seja examinado no laboratório de anatomia patológica. Entretanto, esta técnica requer habilidades cirúrgicas, e está relacionada a um aumento da morbidade e a um resultado estético desfavorável para o paciente [7, 8].

Os tratamentos tópicos, como os quimioesfoliantes (5-fluorouracil tópico, a terapia tricloroacética, diclofenaco), imunomoduladores (imiquimode) e a TFD, têm eficácia reduzida quando comparados aos tratamentos cirúrgicos, e podem causar reações adversas como eritema, irritação, queimação e edema. No entanto, estas terapias podem controlar a região que apresenta células displásicas e, associadas a outras abordagens terapêuticas, podem ter sua eficácia clínica aumentada [9].

A TFD tem a vantagem de tratar lesões de forma seletiva quando comparada a outras modalidades, uma vez que o fotossensibilizador se acumula preferencialmente nas células displásicas, tratando lesões difusas de uma forma pouco invasiva e com excelentes resultados cosméticos [10–12]. Alguns estudos recentes [7, 8] têm sugerido a TFD com a luz do dia como uma opção mais natural que a TFD com a luz artificial para ativar o fotossensibilizador, sendo menos onerosa e, talvez, apresentando resultados semelhantes à TFD convencional e, teoricamente, pode ser realizada em casa pelo próprio paciente. No entanto, estudos adicionais devem ser realizados para comprovar sua eficácia e a segurança da

aplicação domiciliar.

3 Perfil Epidemiológico dos pacientes portadores de QA tratados com a TFD na Faculdade de Odontologia da Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Os pacientes com suspeita de QA, foram avaliados clinicamente e submetidos ao exame de biópsia e histopatológico para confirmação do diagnóstico e, então, encaminhados para tratamento. De todos os pacientes avaliados em um período de 3 anos, 70% eram do sexo masculino, com uma média de idade de 57.6 anos, todos leucodermas. Mais de 50% dos pacientes relataram exposição crônica à luz solar por motivos trabalhistas e/ou lazer. Outro achado interessante, foi o fato de que menos de 50% dos pacientes relataram o uso de protetor solar labial, previamente ao diagnóstico. Os achados clínicos iniciais incluíram a presença de ressecamento e dor no vermelhão de lábio inferior em 70% dos casos. Histopatologicamente, 70% apresentaram displasia leve, 20% moderada e apenas 10% severa.

4 Protocolo

Todos os pacientes foram submetidos à TFD associada ao laser de baixa potência, com o seguinte protocolo, em duas sessões:

- a) Fotografia padronizada da área lesionada.
- b) Fotodiagnóstico

Para a identificação do tecido lesionado pode ser utilizado o fotodiagnóstico com luz azul, que consiste em um método diagnóstico óptico não invasivo para a diferenciação entre o tecido sadio e o tecido lesionado em tempo real (Figura 2).

- c) Remoção de detritos

Para a melhor penetração do medicamento, a remoção de detritos no lábio é necessária, com o uso de gaze embebida em soro.

- d) Aplicação do creme

TFD Brasil – Resultados de centros ativos

Aplicação de uma camada de cerca de 1,0 mm do creme cloridrato de aminolevulinato de metila (MAL) (TFD-Pharma, Brasil) em toda a semimucosa labial.

e) Oclusão

A superfície com o fármaco deve ser ocluída com uma camada de papel filme, papel laminado e curativo oclusivo com gaze.

f) Remoção do curativo e fotodiagnóstico

Após o período de 3 horas, o curativo é removido para a realização de um novo fotodiagnóstico, de modo a verificar a produção de protoporfirina IX – que apresenta coloração avermelhada ao evidenciador.

g) Aplicação do laser

Realização do tratamento com iluminação a base de LED com comprimento de onda entre 630-640 nm. A intensidade de iluminação é manualmente escolhida no aparelho em 125 mW/cm², irradiada por 18 minutos.

h) Fotodiagnóstico final e fotografia padronizada

O fotodiagnóstico final deve ser utilizado para verificar o consumo de protoporfirina IX no tecido, junto a uma fotografia padronizada.

i) A segunda sessão é realizada após sete dias, seguindo os passos anteriores.

j) Acompanhamento após 30 dias para a coleta de dados e novas fotografias. Após seis meses, retorno para nova biópsia utilizando-se o teste de azul de toluidina para eleger o local.

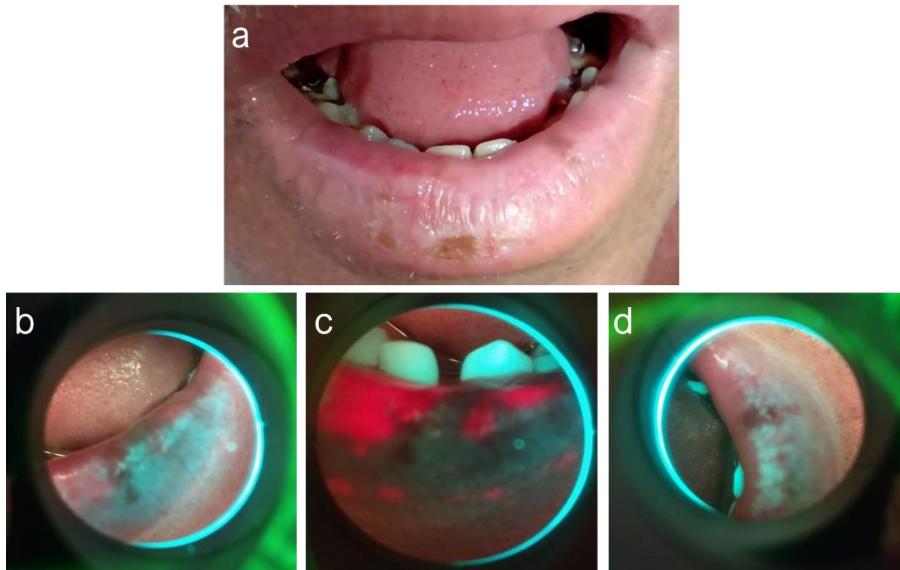


Figura 2. Sequência de fotodiagnóstico com luz azul. a) Aspectos clínicos da queilite actínica antes da terapia fotodinâmica. b) Fotodiagnóstico com luz azul antes da aplicação do fotossensibilizador. c) Fotodiagnóstico com luz azul após o período de três horas do fotossensibilizante cloridrato de aminolevulínato de metila (MAL). d) Fotodiagnóstico com luz azul imediatamente após a realização da terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência. De Rodrigues BTG *et al.*: Avaliação clínica e histopatológica da eficácia do tratamento utilizando terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência em pacientes portadores de queilite actínica - Um acompanhamento de 6 meses, volume 77, 2020, Revista Brasileira de Odontologia.

Todos os pacientes irradiados obtiveram seus dados coletados por uma escala visual de dor durante a terapia, resultando em uma pontuação média de 4,5 - considerando os valores de ambas as sessões - e níveis mais elevados de dor foram relatados nos primeiros cinco minutos de terapia e depois diminuíram progressivamente até o décimo oitavo minuto. Além disso, 60% sentiram dor após o procedimento, com pontuação média de 7,1 e a administração de analgésico oral (dipirona sódica 500mg, a cada 6 horas) foi necessária para o alívio dos sintomas.

5 Resultados

A resposta à TFD foi avaliada, primeiro em relação aos sintomas

clínicos, como dor e ressecamento. Do total avaliado, 50% apresentaram melhora dos sintomas clínicos e 30% permaneceram assintomáticos, totalizando 80% dos pacientes com resultado assintomático após seis meses. Além disso, em dois casos (20%), a persistência e / ou piora dos sintomas como dor e ressecamento do vermelhão labial foram relatados (Figura 3).

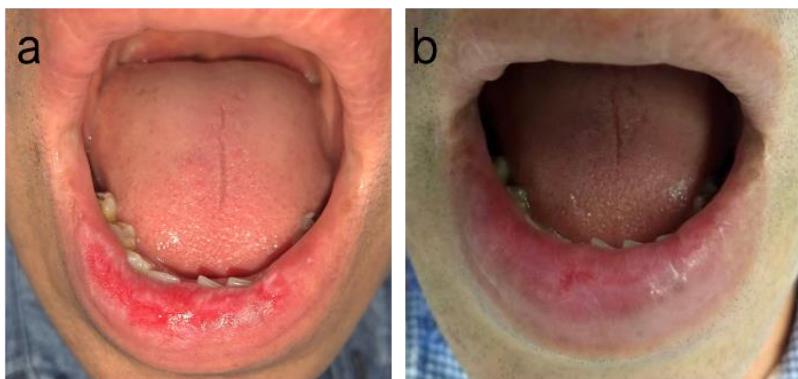


Figura 3. a) Aspecto clínico da queilite actínica antes e b) uma semana após o tratamento com terapia fotodinâmica associado ao laser de baixa potência. De Rodrigues BTG *et al.*: Avaliação clínica e histopatológica da eficácia do tratamento utilizando terapia fotodinâmica associada ao laser de baixa potência em pacientes portadores de queilite actínica - Um acompanhamento de 6 meses, volume 77, 2020, Revista Brasileira de Odontologia.

Apesar da eficácia da TFD no alívio dos sintomas, algumas diferenças de pigmentação podem aparecer na região tratada e ainda foram observadas após o período final de tratamento: em 40% dos casos foi possível observar a presença de cicatrizes hipocrônicas; 20% apresentaram cicatrizes hipertróficas no local tratado e 10%, cicatriz atrófica. Ulceração da mucosa superficial pode ser observada em 10% dos pacientes e em apenas 20% algum nível de lesão residual era visível.

Além da avaliação clínica, foi realizado exame histopatológico. Após acompanhamento de seis meses, 30% dos pacientes apresentaram redução do grau de displasia - 2 pacientes evoluíram de displasia leve para ausência após a TFD; 60% dos pacientes não alteraram o grau de displasia

- permanecendo com displasia leve; Apenas 10% apresentaram exacerbação dos níveis de displasia, evoluindo de moderado para intenso.

Nos pacientes em que o grau de displasia não se alterou ou que obtiveram remissão da displasia, mantiveram o acompanhamento com exames periódicos utilizando o teste do azul de toluidina a cada seis meses; os pacientes que apresentaram displasia grave ao final do tratamento foram encaminhados para cirurgia de vermelhectomia e estão em acompanhamento clínico.

6 Conclusão

De acordo com os resultados do presente estudo, pode-se concluir que a TFD associada à laserterapia de baixa potência parece ser uma opção a ser considerada no tratamento da Queilite Actínica, uma vez que é um método não invasivo com respostas cosméticas favoráveis para o paciente. No entanto, os pacientes devem ser acompanhados clinicamente com regularidade e, eventualmente, histopatologicamente.

Referências bibliográficas

- [1] Rodrigues BTG, España MB de O, Freire N de A, *et al.* Perfil clínico e epidemiológico dos pacientes portadores de queilite actínica na disciplina de estomatologia da FO / UERJ. *Ciência Atual* 2020; 15: 182–191.
- [2] Israel MS, Pinheiro GL, Freire N de A, *et al.* Vermilionectomy for a Progressively Actinic Cheilitis: Case Report. *OALib* 2016; 03: 1–7.
- [3] Chaves YN, Torezan LA, Lourenço SV, *et al.* Evaluation of the efficacy of photodynamic therapy for the treatment of actinic cheilitis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2017; 33: 14–21.
- [4] Rodrigues BTG, España MB de O, Das Chagas WP, *et al.* Clinical and Histopathological Evaluation of Photodynamic Therapy Associated with The Low-Level Laser Therapy on Patients with Actinic Cheilitis - A Six-Month Follow-Up Trial. *Rev Bras Odontol* 2020; 77: 1.
- [5] Radakovic S, Tanew A. 5-aminolaevulinic acid patch-photodynamic therapy in the treatment of actinic cheilitis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2017; 33: 306–310.

- [6] Trager MH, Farmer K, Ulrich C, *et al.* Actinic cheilitis: a systematic review of treatment options. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2021; 35: 815–823.
- [7] Andreadis D, Pavlou A-M, Vakirlis E, *et al.* Daylight photodynamic therapy for the management of actinic cheilitis. *Arch Dermatol Res* 2020; 312: 731–737.
- [8] Levi A, Hodak E, Enk CD, *et al.* Daylight photodynamic therapy for the treatment of actinic cheilitis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2019; 35: 11–16.
- [9] Varela-Centelles P, Seoane-Romero J, García-Pola MJ, *et al.* Therapeutic approaches for actinic cheilitis: therapeutic efficacy and malignant transformation after treatment. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2020; 49: 1343–1350.
- [10] Ozog DM, Rkein AM, Fabi SG, *et al.* Photodynamic Therapy: A Clinical Consensus Guide. *Dermatologic Surg* 2016; 42: 804–827.
- [11] Tampa M, Sarbu M-I, Matei C, *et al.* Photodynamic therapy: A hot topic in dermatо-oncology (Review). *Oncol Lett*. Epub ahead of print 16 January 2019. DOI: 10.3892/ol.2019.9939.
- [12] Fitzmaurice S, Eisen DB. Daylight Photodynamic Therapy. *Dermatologic Surg* 2016; 42: 286–295.

Sistemas de irradiação de áreas extensas para o tratamento de campo de cancerização com terapia fotodinâmica

Ana Gabriela Salvio¹, Mirian Denise Stringasci² e Michelle Barreto Requena²,
Elisângela Ramos Oliveira¹, Vanderlei Salvador Bagnato²

¹ Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

² Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

As queratoses actínicas (QAs) são lesões pré-malignas muito comuns na população brasileira, principalmente em pacientes idosos que tiveram longos períodos de exposição solar ao longo da vida. Este tipo de lesão pode ocorrer de forma disseminada nas regiões do corpo que são mais expostas ao sol, como face, couro cabeludo e membros superiores. O tratamento dessas lesões é uma forma de prevenir a evolução para o câncer de pele carcinoma espinocelular, um câncer mais agressivo e que pode apresentar metástases. Neste contexto, a terapia fotodinâmica vem sendo amplamente aplicada como tratamento alternativo, apresentando resultado estético satisfatório. Contudo, protocolos para aumentar a eficiência da TFD, assim como, diminuir a dor sentida durante a irradiação são alvos frequentes de estudo para ampliar a aceitação do paciente pelo tratamento e comunidade médica. Neste capítulo serão descritas opções de equipamento que permitem a irradiação de áreas mais extensas e de protocolos que foram avaliados no tratamento de campo de cancerização. Os estudos clínicos e resultados explorados neste capítulo foram realizados no Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605420

1 Introdução

A exposição à radiação ultravioleta (UV) da luz solar é o principal fator de risco conhecido para o desenvolvimento de câncer de pele não melanoma e de lesões pré-malignas. [1]

As queratoses actínicas (QAs) são lesões pré-malignas que acometem mais frequentemente áreas do corpo mais expostas ao sol, elas são frequentes em 60% dos pacientes com idade acima de 40 anos. [2] As QAs podem ser caracterizadas histologicamente pelo grau de queratinócitos atípicos, sendo classificadas por classes: grau I, as lesões consideradas leves; grau II, as lesões moderadas e grau III, as que possuem queratinócitos severamente atípicos. [3] Algumas vezes estas lesões podem evoluir para lesões primárias de carcinoma espinocelular (CEC), um tipo de câncer de pele que tem caráter invasivo e apresenta potencial para metastatizar. O CEC pode ser responsável por até 34% das mortes por câncer de pele em todo o mundo em indivíduos de 65 a 84 anos. [4] Estudos mostram que aproximadamente 60% dos CECs surgem a partir de QAs e que a taxa de progressão das QAs para CEC variam de 0.025% a 16% por ano. [5]

Atualmente em dermatologia tem-se utilizado o conceito de tratamento do cancerização de campo (CC). Este é descrito como uma região da pele severamente agredida pela exposição solar, apresentando múltiplas lesões de AK em risco de progressão para CEC. [6] Pacientes que apresentam mais de 5 lesões de QAs são considerados mais propensos a desenvolver CEC. [7]

A terapia fotodinâmica (TFD) tópica é uma opção importante para o tratamento de CC por ser minimamente invasiva e altamente seletiva. [8] Porém, uma das limitações dessa aplicação é ter equipamentos com áreas extensas de irradiação para tratamento adequado e prático dessas regiões.

Para suprir esta demanda, o Grupo de Óptica do Instituto de Física de São Carlos tem desenvolvido equipamentos com áreas maiores de irradiação para o tratamento de CC. Diversos estudos foram e vem sendo

conduzidos no Hospital Amaral Carvalho (HAC) de Jaú-SP para desenvolvimento de protocolos, assim como a avaliação da eficácia e nível de dor experimentado pelos pacientes no tratamento CC com TFD.

2 Equipamentos de área extensa de irradiação

Foram desenvolvidos três equipamentos para irradiação de áreas extensas. Um protótipo chamado “Kerato PDT” para o tratamento de lesões localizadas nos membros superiores; uma ponteira de irradiação de área maior para ser acoplada ao equipamento comercial LINCE (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil) para o tratamento de lesões no tronco, face e couro cabeludo; além de um protótipo de área grande que é ergonômico, também indicado para o tratamento de tronco, face e couro cabeludo (mais detalhes deste equipamento específico estão no próximo capítulo).

2.1 Kerato PDT

O primeiro protótipo idealizado pelo grupo para tratamento do campo de cancerização foi o Kerato PDT. Ele foi desenvolvido no Laboratório de Apoio Técnico (LAT) do Instituto de Física de São Carlos (Patente PI: 1000413 1000413-0). O sistema é constituído basicamente por placas de LED (diodo emissor de luz) emitindo no comprimento de onda de 630 nm (região do vermelho) com irradiância de 150 mW/cm². A disposição anatômica de suas placas de LED permite irradiação uniforme dos membros superiores simultaneamente, além de possuir a opção de selecionar mão, antebraço e braço de cada membro que será tratado. [9] A Figura 1 mostra um paciente durante irradiação utilizando o protótipo Kerato PDT.

O protocolo desenvolvido para o tratamento de CC dos membros superiores consiste na irradiação por 40 minutos, resultando em uma fluência de 36 J/cm². [10].



Figura 1. a) Imagem do dispositivo Kerato PDT explorando sua forma anatômica para acoplamento nos membros superiores, b) imagem evidenciando a disposição das placas de LED e c) paciente durante iluminação.

2.2 Ponteira de irradiação de área grande acoplada ao LINCE

Essa opção de ponteira de tratamento que faz parte de uma das versões do LINCE possibilita o tratamento de lesões extensas ou disseminadas. Esta ponteira é composta por 60 LEDs, dispostos em um retângulo de 8,0 x 7,6 cm, totalizando uma área de 60,8 cm² de irradiação (cerca de sete vezes a área de tratamento da ponteira padrão do equipamento LINCE), que irradia aproximadamente uma área de 8,5 cm². Desses 60 LEDs, 30 emitem em 630 nm (região do vermelho), sendo indicado para o tratamento de lesões mais infiltradas; e os demais 30 LEDs emitem em 450 nm (região do azul), sendo indicado para lesões mais superficiais. As disposições dos LEDs de cada comprimento de onda são justapostas de modo a garantir homogeneidade e irradiância equivalente para ambos os comprimentos de onda. Neste dispositivo, a irradiância pode variar entre 10 e 30 mW/cm² para cada comprimento de onda. [11]

Este dispositivo tem sido indicado para tratamento de CC em tronco, face e couro cabeludo. A Figura 2 demonstra o dispositivo sendo usado no tratamento de um paciente acometido por CC na região frontal.

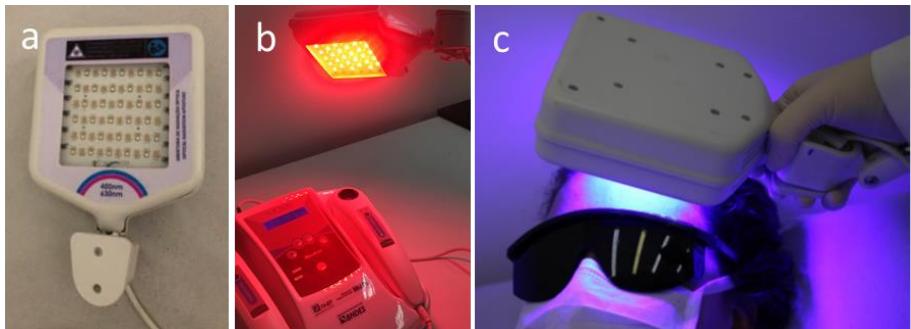


Figura 2. a) Imagem da ponteira de irradiação de área grande que pode ser acoplada ao LINCE, b) imagem evidenciando a iluminação com LED vermelho e c) paciente durante iluminação com luz azul.

3 Estudos clínicos com TFD no tratamento de CC

Alguns estudos utilizando os equipamentos para irradiação de áreas maiores foram utilizados em estudos clínicos ao longo dos últimos anos no Departamento de pele e partes moles do Hospital Amaral Carvalho.

Foi realizado um estudo que consistiu na avaliação da eficácia do tratamento e da dor reportada pelos pacientes durante a irradiação utilizando diferentes precursores de protoporfirina IX (PpIX) no tratamento de QAs. [12] Neste estudo foram tratados 40 pacientes com QAs localizadas nos membros superiores utilizando o protótipo Ketato PDT. Dois protocolos foram explorados no estudo, sendo 20 pacientes tratados com TFD utilizando o creme contendo 20% de ácido aminolevúlico (ALA, PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil) e 20 pacientes com o creme contendo 20% de hidrocloridrato de aminolevulinato de metila (M-ALA, PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil). Antes da aplicação do creme, foi feita uma curetagem leve nas lesões. Para ambos os protocolos o tempo de inclusão foi de 3 horas e a irradiação foi feita por 40 minutos, totalizando uma fluência de 36 J/cm^2 . Foi utilizada uma escala visual numérica (EVN) para questionar o paciente sobre o nível de dor a cada 5 minutos da irradiação. Antes do tratamento, as lesões foram quantificadas e fotografadas. Estas medidas foram repetidas 30 dias após a TFD. [12, 13]

Considerando a eficácia do tratamento, não houve diferença estatística significativa entre os protocolos, ambos apresentaram uma taxa de 72% de cura. O fato de ambos os precursores utilizados serem igualmente eficazes corrobora outros estudos da literatura. Para a dor durante a irradiação, também não foi observada diferença estatística entre os protocolos. Portanto, de acordo com este estudo ambos os medicamentos podem ser indicados para o tratamento de QAs disseminadas em membros superiores, não havendo diferença entre dor ou *clearance* de lesões. [12, 13] Um estudo com maior número de pacientes também foi realizado no Departamento de Pele do Hospital Amaral Carvalho utilizando-se o M-ALA, sendo publicado em 2016. Foram incluídos 120 pacientes no estudo somando um total de 8.559 lesões tratadas. Após 30 dias da TFD, restaram 2.787 QAs, o que representa cerca de 70% de regressão das lesões. Os pesquisadores envolvidos no estudo concluíram que o uso do protótipo Kerato PDT apresenta principal vantagem permitir tratar ao mesmo tempo ambos os membros superiores acometidos por múltiplas lesões em ambiente ambulatorial com excelente resultado estético (Figura 3). Além disso, a combinação do equipamento e medicação nacionais faz com este tipo de tratamento preventivo às lesões de câncer de pele seja uma opção econômica. [10]

Um novo estudo também foi conduzido para avaliar a possibilidade de diminuir o tempo de incubação do protocolo usualmente utilizado (3 horas), garantindo a eficácia do tratamento e melhorando a dor durante a irradiação. Um total de 30 pacientes foi tratado utilizando o creme contendo 20% de ALA (PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil). Após uma leve curetagem, o creme foi aplicado em ambos os antebraços e mãos. Foram avaliados 10 pacientes em cada um dos 3 protocolos: G1 (grupo controle com 3 horas de incubação); G2 (grupo com 1,5 horas de incubação); e, G3 (grupo com 1,5 h de incubação e com pausas de 2 minutos a cada 10 minutos da irradiação). [14]

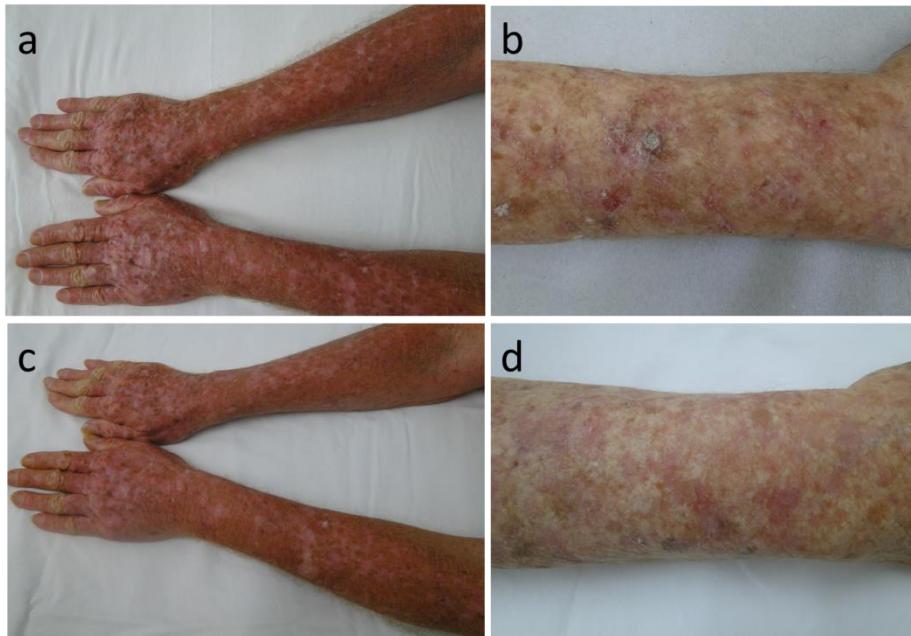


Figura 3. Exemplos de pacientes tratados utilizando-se o dispositivo Kerato-PDT, fotos do (a, b) pré tratamento e (c, d) 30 dias após TFD.

Para irradiação também foi utilizado o equipamento Kerato PDT com os parâmetros já avaliados nos estudos prévios, 36 J/cm² de fluência e 40 minutos de irradiação. O nível de dor foi avaliado durante a irradiação por EVN e foi classificado como leve (0-3), moderado (4-6) e intenso (7-10). A contagem das lesões foi feita antes e 30 dias após o tratamento. Para o G1, observou-se 56% de redução no número de lesões; para G2 a redução foi de 55%; enquanto que para G3 foi observada redução de 66%, mas sem significância estatística entre os grupos. Contudo, houve diferença estatística entre a comparação da dor entre os grupos, sendo que G3 apresentou os melhores resultados. Considerando estes resultados, recomenda-se a realização das pausas para diminuir a dor durante a irradiação assim como a diminuição do tempo de incubação para 1,5 horas, oferecendo desta forma um tratamento mais rápido e mais confortável para o paciente. [14]

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

Foi realizado também um estudo clínico randomizado com o intuito de avaliar a eficácia e dor no tratamento de QAs localizadas na face e no couro cabeludo com TFD. Foram avaliados 2 protocolos em que os pacientes receberam aleatoriamente em cada área direita e esquerda a TFD com Metil-ALA e luz vermelha, sendo o protocolo 1 (sistema de irradiação rente a pele) e protocolo 2 (sistema de irradiação a 3 cm da pele). Foi esperado um intervalo de 15 dias entre a aplicação dos protocolos. Neste estudo foi utilizada a ponteira de irradiação de área grande do LINCE para realizar os tratamentos. [15]

Um total de 41 pacientes foram tratados, sendo 47 áreas randomizadas para o protocolo 1 e, 50 áreas para o protocolo 2. Quanto à frequência de dor de intensidade moderada e forte, não foi observada diferença estatística. Ambos os protocolos apresentaram redução de mais de 60% das QAs. A maioria das áreas tratadas foi considerada como de boa a ótima qualidade estética no aspecto da pele após o tratamento. Considerando a preferência do paciente pelos protocolos, o protocolo 2 que faz a irradiação com o equipamento afastado da pele teve maior aceitação. Os pesquisadores envolvidos concluíram que a intensidade de dor foi semelhante entre os protocolos, sendo eles considerados igualmente eficazes quanto à redução da quantidade de lesões e ambos proporcionaram melhora na qualidade das áreas tratadas (Figura 4). [15]

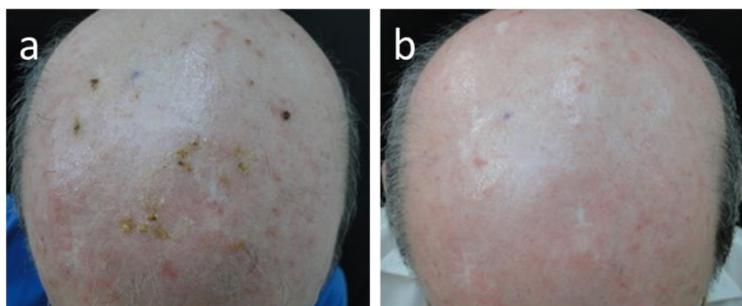


Figura 4. Exemplos de pacientes tratados utilizando-se a ponteira de irradiação de área grande acoplada ao LINCE, fotos do (a) pré-tratamento (b) e 30 dias após TFD.

4 Conclusão

O tratamento preventivo de lesões de QAs é de extrema importância para minimizar as chances de evolução para lesões malignas e necessidade de remoção cirúrgica de lesões de maior grau. No caso da aplicação de TFD em CC, o uso de equipamentos que permitam irradiação simultânea de grandes áreas acometidas de múltiplas lesões facilita a realização do tratamento. Neste capítulo foram descritos equipamentos e protocolos testados para tratamentos de CC eficazes e menos dolorosos aos pacientes.

Referências bibliográficas

- [1] Dornelas MT, Rodrigues MF, Machado DC, *et al.* Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose no carcinoma espinocelular de pele e ceratose actínica. *An Bras Dermatol* 2009; 84: 469–475.
- [2] Tierney EP, Eide MJ, Jacobsen G, *et al.* Photodynamic therapy for actinic keratoses: survey of patient perceptions of treatment satisfaction and outcomes. *J Cosmet Laser Ther* 2008; 10: 81–6.
- [3] Nashan D, Meiss F, Müller M. Therapeutic strategies for actinic keratoses – a systematic review. *Eur J Dermatology* 2013; 23: 14–32.
- [4] Schmitt JV, Miot HA. Actinic keratosis: a clinical and epidemiological revision . *Anais Brasileiros De Dermatologia* 2012; 87: 425–434.
- [5] Fenske NA, Spencer J, Adam F. Actinic keratoses: past, present and future. *J Drugs Dermatol* 2010; 9: s45–s49.
- [6] Trakatelli M, Morton C, Nagore E, *et al.* Update of the European guidelines for basal cell carcinoma management Developed by the Guideline Subcommittee of the European Dermatology Forum. *Eur J dermatology* 2015; 1–18.
- [7] Dodds A, Chia A, Shumack S. Actinic Keratosis: Rationale and Management. *Dermatology and Therapy*. Epub ahead of print 2014. DOI: 10.1007/s13555-014-0049-y.
- [8] Szeimies RM, Ibbotson S, Murrell DFD, *et al.* A clinical study comparing methyl aminolevulinate photodynamic therapy and surgery in small superficial basal cell carcinoma (8-20 mm), with a 12-month follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 1302–1311.

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

- [9] Salvio, AG, Bonilha V, de Lima A, *et al.* Terapia fotodinâmica (PDT) no tratamento de queratose actínica disseminada em antebraço: estudo piloto. *J Bras Laser* 2010; 2: 55–59.
- [10] Salvio AG, Oliveira ER de, Ramirez DP, *et al.* Clinical Protocol Standardized in a Public Health System Using a Prototype for Actinic Keratosis and Field Cancerization Treatment. *J Tumor* 2016; 4: 407–410.
- [11] Grecco C, Buzzá HH, Stringasci MD, *et al.* Single LED-based device to perform widefield fluorescence imaging and photodynamic therapy. In: *SPIE Proceedings*, pp. 953121:1–10.
- [12] Oliveira ER. *Queratoses actínicas disseminadas de membros superiores: comparação da terapia fotodinâmica com ácido aminolevulínico 15% e metil aminolevulínico 15 % através do protótipo kerato PDT.* 2014.
- [13] Oliveira ER, Inada NM, Blanco KC, *et al.* Field cancerization treatment using topical photodynamic therapy: A comparison between two aminolevulinate derivatives. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* Epub ahead of print 2020. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2019.101603.
- [14] Salvio AG, Stringasci MD, Requena MB, *et al.* Field cancerization treatment: Adjustments to an ALA red light photodynamic therapy protocol to improve pain tolerance. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2021; 35: 102415.
- [15] Oliveira ER,. *Avaliação da eficácia e dor durante a terapia fotodinâmica de queratoses actínicas da face e couro cabeludo comparando duas diferentes técnicas de irradiação: ensaio clínico randomizado.* Universidade Estadual Paulista (UNESP), <http://hdl.handle.net/11449/204823> (2020).

Dispositivo de irradiação de área grande ergonômico para aplicação de terapia fotodinâmica

Alessandra Keiko Lima Fujita e Vanderlei Salvador Bagnato

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

O dispositivo de área grande ergonômico tem uma fonte de luz LED e, inicialmente, teve como objetivo tratar lesões de pele que são de grande extensão e/ou disseminadas como a queratose actínia (QA), com a aplicação da terapia fotodinâmica (TFD). Entretanto, com a grande expansão das terapias baseadas na aplicação de laser de baixa potência e o grande uso de fontes de luz de LEDs (Light-emitting diodes) para essas terapias, o dispositivo de área grande pode atender diversas áreas da saúde, beleza e bem estar; e otimizar suas aplicações. Contudo, áreas profissionais da saúde como medicina, enfermagem, fisioterapia, estética, e educação física poderão se beneficiar desse dispositivo. Durante seu desenvolvimento o dispositivo seguiu com diversas modificações para melhorias nas aplicações clínicas, tornando-o mais versátil para os tratamentos. Nos testes clínicos foi observado que era necessário um plano emissor flexível adequado à anatomia do corpo. Assim, os protótipos foram testados em diversas aplicações clínicas dermatológicas e estéticas, e com os feedbacks dos profissionais clínicos o dispositivo anatômico final tornou-se ideal para aplicações das terapias fotônicas.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605421

1 Introdução

O equipamento de área grande ergonômico é um dispositivo protótipo que tem objetivo de contribuir para o desenvolvimento de um sistema para realizar a terapia fotodinâmica (TFD) em lesões de grande extensão, onde se há a necessidade da aplicação da terapia em áreas do corpo que alcance uma extensão e curvatura, como cabeça, face, pescoço, braços, antebraços, costas e pernas. E assim, contribuindo na otimização de aplicações clínicas dessas lesões.

O sistema de iluminação para o uso clínico sofreu diversas modificações ao longo dos testes clínicos. No primeiro protótipo foi proposta uma solução de corpo rígido não adaptável à anatomia do corpo [1]. Apesar de eficiente, o protótipo se mostrou de difícil aplicação nas diversas regiões do corpo, como cabeça; face; dorso; braço; antebraço; e mão. Casos clínicos foram realizados e o protótipo evoluiu para um segundo tipo flexível composto de módulos rígidos. Nesse segundo protótipo, já ergonômico, o sucesso foi maior, porém, o corpo clínico associado ao projeto decidiu por um dispositivo com maior flexibilidade. Finalmente foi feito o protótipo flexível com placas acopladas em um tubo flexível, atingindo a eficiência ergonômica no tratamento, e flexibilidade de uso por parte dos profissionais da saúde [2]. Com o protótipo final, além das aplicações nas regiões de cancerização, também teve testes clínicos para outras aplicações dermatológicas e estéticas. Para aplicação em diversas terapias o protótipo final foi adicionado mais componentes de LEDs, compondo uma área maior de iluminação.

2 Dispositivo de área grande ergonômico

O dispositivo protótipo foi desenvolvido pelo LAT (Laboratório de Apoio Técnico - IFSC/USP, São Carlos, SP) e se deu em quatro fases de evolução para convergir o dispositivo em um sistema eficiente visando à aplicação clínica. A priori o plano emissor de luz tinha 192 cm^2 de área, e o agora o protótipo final tem 396 cm^2 (Figura 1).

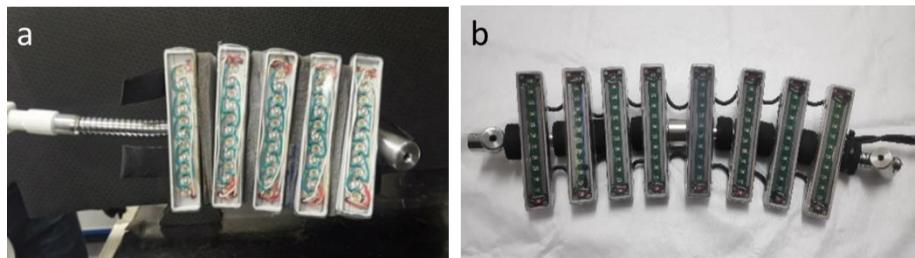


Figura 1. Plano emissor de área grande ergonômico a) primeira versão com área de irradiação de 192 cm^2 , b) versão final com 8 placas de distribuição dos LEDs, com área de irradiação de 396 cm^2 .

Cada placa do plano emissor é composta com 12 LEDs, sendo intercalados entre os comprimentos de onda em $630 \pm 10 \text{ nm}$, na faixa do espectro vermelho, e em $450 \pm 10 \text{ nm}$, na faixa do espectro azul. Sendo assim, a primeira versão era composta por 60 LEDs, e a versão final com 96 LEDs.

O formato do plano emissor com placas ligadas por um tubo flexível nos permitiu torná-lo ergonômico em aplicações que necessitam irradiar em partes do corpo com curvatura (Figura 2), e intercalar LEDs de comprimentos de ondas diferentes sobre as placas nos permitiu garantir a homogeneidade da iluminação com uma irradiância de 60 mW/cm^2 entregue em ambos os comprimentos de onda [3, 4].

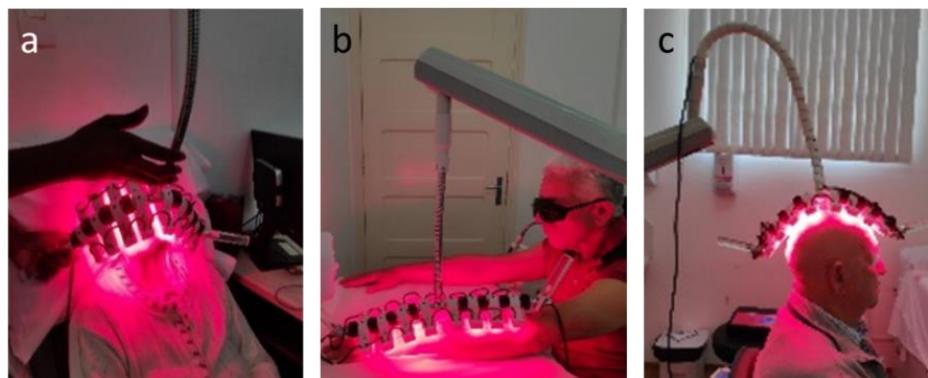


Figura 2. Ilustração da aplicação da TFD em QAs, iluminando com a versão final do dispositivo de área grande ergonômico, sendo a) face, b) antebraço e dorso da mão e c) couro cabeludo.

A escolha de iluminação no comprimento de onda na região do azul e vermelho foi pela versatilidade da aplicação para as áreas oncológicas e não-oncológicas, além do fotossensibilizador comumente utilizado tem grande capacidade de absorver energia nestas regiões do espectro [5–8].

3 Aplicações

Os tratamentos realizados com o dispositivo foram a aplicação da TFD para QAs e psoríase; terapia cosmética fotoativada para disfunções estéticas faciais (acne) e capilares (alopecias); e fototerapia para diminuir gordura na região da barriga e flanco. Para realizar os tratamentos com o dispositivo contamos com a colaboração de profissionais da área médica, fisioterapia, enfermagem, estética e terapeuta capilar. Tais tratamentos aconteceram no ambulatório de pele e partes moles (Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP); ambulatório de Terapia Fotodinâmica (Santa Casa de Misericórdia de São Carlos, São Carlos, SP); e espaços particulares de beleza, saúde e terapias integrativas, cada um na sua especialidade. Nas sessões abaixo serão mostrados os resultados dessas aplicações antes e depois da terapia usando o dispositivo de área grande ergonômico.

3.1 Queratose actínica

Para o tratamento da QA foi usado a mistura do pó de ácido 5-aminolevulínico (ALA) e seu derivado metil aminolevulinato (M-ALA) da PDT Pharma (Cravinhos, SP) foi misturado na mesma proporção ao creme base água em óleo (A/O), com concentração de 20% [9, 10]. Essa mistura nós chamamos de ALA-Mix. O creme foi aplicado e ocluído por 1h30, e irradiado com uma dose de 50 J/cm², na região do espectro vermelho. A Figura 3 mostra lesões de QAs disseminadas na hemiface direita e o resultado após 1 mês da aplicação da TFD.

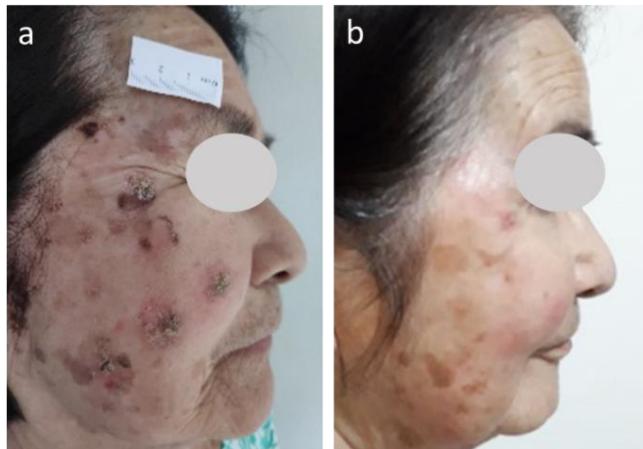


Figura 3. Tratamento com TFD para queratose actínica disseminadas na região da hemiface direita, sendo a) antes da aplicação da TFD, e b) após um mês da aplicação da TFD.

3.2 Psoríase

Para o tratamento da psoríase foi o ALA-Mix com concentração de 2%. O creme foi aplicado e ocluído por 3 horas, e irradiado com uma dose de 50 J/cm^2 , na região do espectro vermelho. A Figura 4 mostra a lesão de psoríase no cotovelo esquerdo e o resultado após 5 sessões quinzenais da aplicação da TFD.

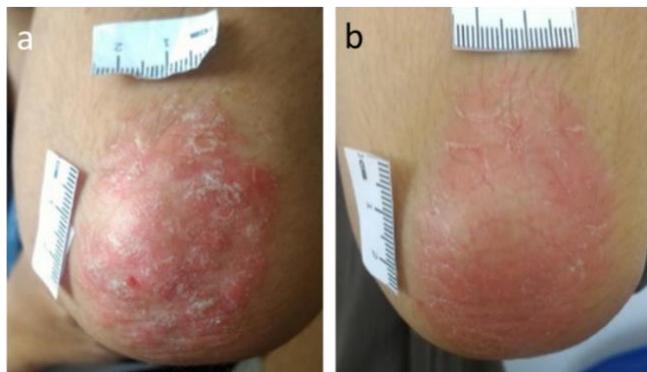


Figura 4. Tratamento com TFD para psoríase na região do cotovelo esquerdo, sendo a) antes da TFD; b) após cinco sessões quinzenais de TFD.

3.3 Acne

Para o tratamento da acne foi usado o ALA com concentração de 2%, e creme base óleo em água (O/A). O creme foi aplicado e ocluído por 3h, e irradiado com uma dose de 25 J/cm^2 , na região do espectro vermelho [11]. A Figura 5 mostra lesões de acne na hemiface esquerda e o resultado após 1 mês da aplicação da TFD com ALA-2%.

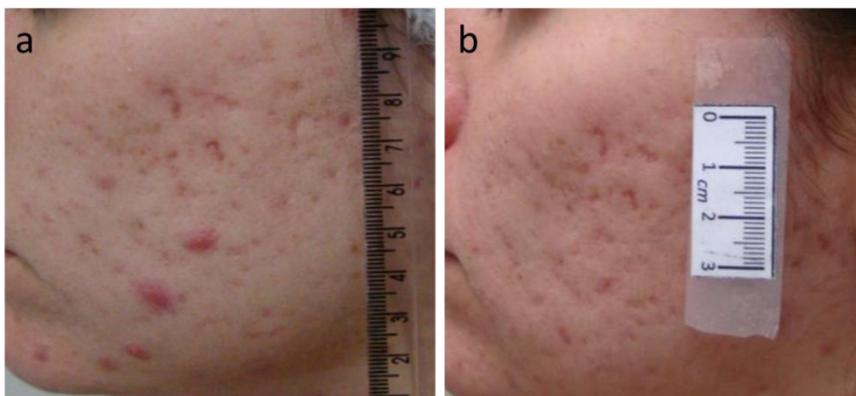


Figura 5. Tratamento com TFD para acne na região da hemiface esquerda, sendo a) Antes da TFD; b) Após 30 dias da TFD.

3.4 Alopecia androgenética

Para o tratamento da alopecia androgenética (AAG) foi realizado a aplicação da fototerapia 1 vez por semana. O protocolo usado no tratamento foi a aplicação da dose de 5 J/cm^2 na região do espectro azul, e dose de 15 J/cm^2 na região do espectro vermelho [12]. A Figura 6 mostra a situação da AAG avançada e o resultado após 10 sessões de fototerapia. Observa-se um aumento na densidade e alinhamento dos fios, na região que é caracterizada da AAG feminina.



Figura 6. Tratamento para alopecia com a aplicação da fototerapia, sendo a) antes do tratamento; b) após 10 sessões semanais da terapia.

3.5 Tratamento para gordura localizada

Para o tratamento de redução da gordura localizada na região do abdômen e glúteos foi realizado um estudo piloto com dezesseis voluntárias na faixa etária de 20 a 45 anos (não estar na menopausa) e IMC: 25,1 a 29,9 (sobrepeso). As voluntárias foram separadas em 2 grupos; grupo 1 somente massagem modeladora, e grupo 2 foi aplicação da fototerapia com uma dose de 10 J/cm^2 na região do espectro vermelho e massagem modeladora. Foram coletadas medidas de termografia, bioimpedância, análise de enzimas hepáticas e perimetria antes da primeira sessão e após a oitava sessão, totalizando 8 sessões 2 vezes por semana. Com esse estudo foi possível observar que o grupo 2 que recebeu a aplicação da fototerapia obteve melhora significativa na circulação sanguínea, diminuição das medidas, nas enzimas hepáticas, diminuição da gordura visceral e IMC. A Figura 7 ilustra a aplicação da fototerapia com o dispositivo de área grande ergonômico nas áreas do abdômen e glúteos.

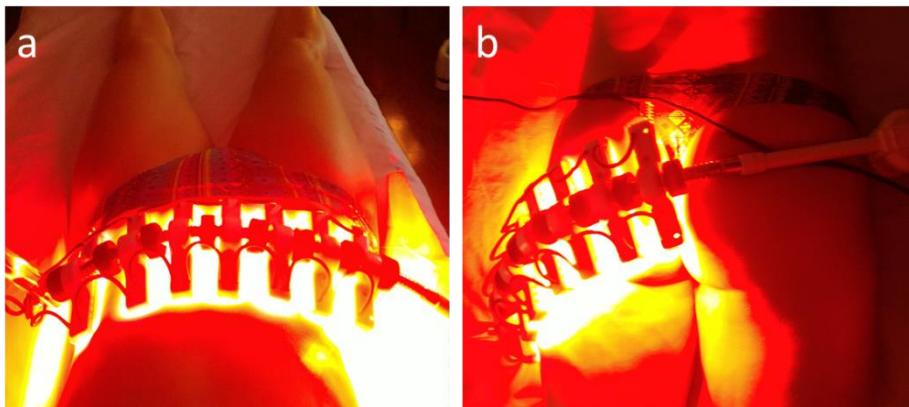


Figura 7. Ilustração da aplicação da fototerapia com o dispositivo área grande ergonômico para o tratamento de redução da gordura localizada na região do (a) abdômen e (b) glúteos.

4 Conclusão

A colaboração desses profissionais foi de extrema importância para o desenvolvimento do dispositivo, assim, recebemos *feedbacks* que proporcionaram a evolução do dispositivo tornando-o ideal para atender os profissionais da área da saúde que queiram fazer o uso dos benefícios das terapias fotônicas em seus pacientes e/ou clientes. Dessa forma, os resultados nos diversos tratamentos foram satisfatórios e representaram um grande progresso clínico para os tratamentos de lesões de pele, como também o uso do dispositivo em diversas áreas da saúde, beleza e bem estar, proporciona um maior sucesso na área.

Referências bibliográficas

- [1] Grecco C, Buzzá HH, Stringasci MD, et al. Single LED-based device to perform widefield fluorescence imaging and photodynamic therapy. In: *SPIE Proceedings*, pp. 953121:1–10.
- [2] Fujita AKL, Chianfrome DJ, Moreira VS, et al. Anatomically Adjustable Device for Large-Area Photodynamic Therapy. In: *Photodynamic Therapy - From Basic Science to Clinical Research*. IntechOpen, 2021, p. 14.
- [3] Moseley H. Light distribution and calibration of commercial PDT LED arrays. *Photochem Photobiol Sci* 2005; 4: 911.

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

- [4] Mordon S, Cochrane C, Tylcz JB, *et al.* Light emitting fabric technologies for photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2015; 12: 1–8.
- [5] Kennedy JC, Pottier RH. New trends in photobiology. *J Photochem Photobiol B Biol* 1992; 14: 275–292.
- [6] Kim M, Jung H, Park H. Topical PDT in the Treatment of Benign Skin Diseases: Principles and New Applications. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 23259–23278.
- [7] Van Tran V, Chae M, Moon J-Y, *et al.* Light emitting diodes technology-based photobiomodulation therapy (PBMT) for dermatology and aesthetics: Recent applications, challenges, and perspectives. *Opt Laser Technol* 2021; 135: 106698.
- [8] Menezes PFC, Requena MB, Lizarelli, Rosane F Z, *et al.* Blue LED irradiation to hydration of skin. In: Kurachi C, Svanberg K, Tromberg BJ, *et al.* (eds), p. 95311W.
- [9] Fujita AKL. *Avaliação do efeito fotodinâmico a partir da associação dos precursores da PpIX (ALA e MAL) em epitélio suíno*. Universidade de São Paulo, 2016. Epub ahead of print November 2016. DOI: 10.11606/T.18.2016.tde-03102016-160420.
- [10] Fujita AKL, Rodrigues PGS, Requena MB, *et al.* Fluorescence evaluations for porphyrin formation during topical PDT using ALA and methyl-ALA mixtures in pig skin models. *Photodiagnosis Photodyn Ther*; 15. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/j.pdpdt.2016.05.008.
- [11] Costa MCD, Fujita AKL, *et al.* Photodynamic Therapy with 5-Aminolevulinic Acid (ALA) in the Treatment of Acne : A Case Study. 1.
- [12] Menezes PFC, Junior NM, *et al.* Photobiomodulation and Photodynamic Cosmetic Therapy on Hair Growth : Case Report Clinical Dermatology : Research and Therapy. 2018; 1: 1–7.

Dispositivo para monitoramento da terapia fotodinâmica por imagens de infravermelho

Marlon R. Garcia e Sebastião Pratavieira.

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP,
Brasil

O monitoramento da terapia fotodinâmica (TFD) pode aumentar as taxas de cura dessa modalidade terapêutica, prever o resultado do tratamento, e permitir uma análise quantitativa da entrega de dano fotodinâmico, para cada lesão. Neste capítulo se descreve o porquê se monitorar, e apresenta o sistema de monitoramento em tempo-real desenvolvido no Laboratório de Biofotônica do IFSC-USP.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605422

1 Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) possui altas taxas de cura, e resultados cosméticos excelentes, porém ainda não teve uma adoção médica grande. Em parte, a falta de adoção se dá pela TFD ser relativamente recente. Entretanto, um importante fator para a falta de adoção dessa modalidade para o tratamento de lesões de pele é a grande variabilidade dos resultados terapêuticos, e a imprevisibilidade de cura de cada lesão [1].

A grande variabilidade dos resultados terapêuticos provém da alta variabilidade dos parâmetros físicos e fisiológicos de cada lesão. Parâmetros, como o coeficiente de espalhamento e o coeficiente de absorção, expressam muita influência em como a luz se propaga no interior da lesão. Já a taxa de formação de protoporfirina-IX, ou a taxa de oxigenação do tecido tratado, também influenciam na dose fotodinâmica total ocasionada no tecido. Fatores como esses influenciam na taxa de cura dessa modalidade terapêutica, de modo que a alta taxa de variabilidade desses parâmetros resulta em uma grande variação no resultado final do tratamento em diferentes pacientes.

A imprevisibilidade de cura provém principalmente da falta de adoção de medidas de monitoramento da terapia em ambiente clínico (durante a aplicação clínica, ou em tempo real). De fato, se não houver um monitoramento clínico da aplicação do protocolo, sempre haverá imprevisibilidade na resposta ao tratamento. A adoção de técnicas de monitoramento, mesmo que simples, em ambiente clínico, nos dá graus de liberdade para, além de prever os resultados da terapia, propor novas melhorias ao protocolo atual, e entender melhor a interação protocolo-paciente [2-4]. Em última instância, um protocolo customizado, em que seus parâmetros variam de modo a atender as necessidades específicas de cada lesão, poderia aumentar as taxas de cura, e proporcionar uma entrega mais eficiente de dano fotodinâmico à lesão [1, 2]. Portanto, o monitoramento clínico da lesão durante a TFD pode diminuir a imprevisibilidade, personalizar o tratamento por lesão, e finalmente,

aumentar a aceitação dessa modalidade para o tratamento de câncer de pele.

2 Dosimetria clínica e fluorescência

No caso da dosimetria clínica, a técnica a ser empregada deve ser simples o bastante, para permitir sua aplicação clínica e posterior comercialização, porém robusta o bastante para medir a eficácia terapêutica e a interação entre paciente e protocolo de aplicação. Um possível candidato é o monitoramento da fluorescência da protoporfirina-IX. Essa medida permite a estimativa do dano fotodinâmico entregue à lesão, que permite prever o resultado ao tratamento, mas também mede a interação entre protocolo de tratamento e lesão, permitindo a personalização do protocolo [2-4].

A queda da intensidade de fluorescência durante o tratamento e a sua velocidade de decaimento estão relacionados com a eficácia da TFD [1, 4, 5]. Porém, a forma com que o decaimento se dá também está relacionada com a interação entre o protocolo de tratamento e a lesão tratada. Se há baixa reposição de oxigênio, por exemplo, o decaimento será lento, indicando que uma alta irradiação luminosa não se faz necessária. Se há baixa formação de PpIX, por exemplo, a fluorescência será baixa, indicando que outras formas de aplicação do fármaco podem ser necessárias.

3 Excitação: vermelho ou violeta?

O protótipo desenvolvido, descrito neste capítulo, monitora a fluorescência da PpIX na região da lesão, durante a terapia, sob excitação de luz vermelha. Neste tópico vamos abordar o porquê esse comprimento de onda foi escolhido.

Para o monitoramento da molécula de PpIX, diferentes comprimentos de onda podem ser escolhidos para a excitação, levando em conta a curva de absorbância espectral dessa molécula. De longe, o comprimento de onda

ideal para o seu monitoramento, em termos de intensidade do sinal medido, e em termos de facilidade na medição, é o violeta (em torno de 405 nm). Entretanto, nesse comprimento de onda há uma forte absorção e espalhamento de luz na pele, o que indica que a luz irá penetrar superficialmente, e a medida somente alcançará regiões superficiais de tumores e tecidos.

Já para a excitação no vermelho (633 nm), a dificuldade de detecção é muito maior, pois a absorção da PpIX é muito menor (cerca de 30 vezes menor, comparada ao violeta), e a proximidade entre o comprimento de onda da excitação e da emissão fluorescente é menor. Ademais, a fluorescência emitida, para a excitação no vermelho, se dá no infravermelho próximo (aproximadamente 700 nm), que tem detecção limitada em câmeras convencionais. Porém, a excitação no vermelho possibilita a detecção de volumes maiores de tecidos e tumores (alta penetração em tecidos), além de possibilitar o monitoramento em tempo-real, ou seja, concomitante ao tratamento. Neste caso, a própria iluminação de tratamento da lesão (em 633 nm) pode ser utilizada para excitar a fluorescência a ser monitorada (em torno de 700 nm).

4 Protótipo para monitoramento em tempo real

Foi desenvolvido um protótipo para a aplicação e monitoramento clínico da TFD de câncer de pele em tempo-real. O grande avanço nesse protótipo é a capacidade de se monitorar a fluorescência no infravermelho próximo (700 nm), simultaneamente a iluminação de tratamento (633 nm). Isso só foi possível utilizando-se a mesma fonte de luz tanto para o tratamento, quanto para a excitação da fluorescência monitorada. O sistema já foi utilizado para monitorar o tratamento em lesões de carcinoma espinocelular (CEC) em camundongos, e o próximo passo é a utilização do sistema para o tratamento e monitoramento em seres humanos. Na Figura 1, a seguir, se observa o sistema montado.



Figura 1. Protótipo para o tratamento e monitoramento da TFD de câncer de pele em tempo-real pela fluorescência da PpIX no infravermelho próximo. Adaptado de GARCIA [6].

Durante o tratamento, o sistema monitora em tempo-real a fluorescência da PpIX na lesão via imagens de fluorescência, como se mostra na Figura 2, onde o sistema monitorou o tratamento de lesões CEC em camundongos balb/c tipo nude. Na Figura 3 se apresenta o decaimento da fluorescência medida pelo protótipo, considerando a região da lesão, juntamente com a curva de ajuste exponencial e sua equação. A taxa de decaimento e a intensidade de fluorescência, assim como outras características da curva, podem prever o dano entregue, e indicar qual a interação entre a lesão sendo tratada e o protocolo de tratamento. Com isso é possível se propor um protocolo individualizado, e indicar quais medidas podem ser empregadas para o aumento da eficácia, e consequentemente para a maior adoção dessa modalidade terapêutica.

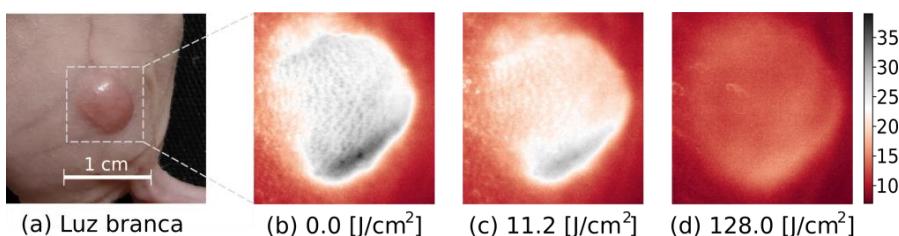


Figura 2. Imagens de a) luz branca e de fluorescência obtidas pelo sistema, durante o tratamento de CEC em camundongo, para b) 0, c) 11,2 J/cm^2 , e d) 128 J/cm^2 de dose de luz entregue. Adaptado de GARCIA [6].

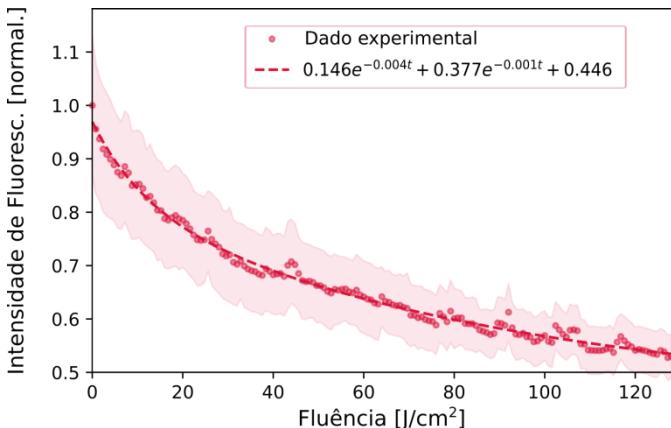


Figura 3. Decaimento da fluorescência, durante o tratamento de um camundongo, obtida com o protótipo desenvolvido. Adaptado de GARCIA [6].

Referências bibliográficas

- [1] Pogue BW, Elliott JT, Kanick SC, *et al.* Revisiting photodynamic therapy dosimetry: Reductionist & surrogate approaches to facilitate clinical success. *Phys Med Biol* 2016; 61: R57–R89.
- [2] Garcia MR, Requena MB, Pratavieira S, *et al.* Development of a system to treat and online monitor photodynamic therapy of skin cancer using PpIX near-infrared fluorescence. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 30: 101680.
- [3] Akopov AL, Rusanov AA, Papayan GV, *et al.* Endobronchial photodynamic therapy under fluorescence control: Photodynamic theranostics. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2017; 19: 73–77.
- [4] Kanick SC, Davis SC, Zhao Y, *et al.* Pre-treatment protoporphyrin IX concentration in actinic keratosis lesions may be a predictive biomarker of response to aminolevulinic-acid based photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2015; 12: 561–566.
- [5] Sheng C, Jack Hoopes P, Hasan T, *et al.* Photobleaching-based Dosimetry Predicts Deposited Dose in ALA-PpIX PDT of Rodent Esophagus. *Photochem Photobiol* 2007; 83: 738–748.
- [6] Garcia MR. Desenvolvimento de um sistema para aplicação e monitoramento online da terapia fotodinâmica de câncer de pele do tipo não melanoma via imagens de fluorescência da protoporfirina-IX no infravermelho próximo. Universidade de São Paulo. Epub ahead of print 17 February 2020. DOI: 10.11606/T.18.2020.tde-13022020-121829.

Dispositivo de irradiação portátil para realização de parte da terapia fotodinâmica fora do ambiente hospitalar

Ana Gabriela Salvio¹, Michelle Barreto Requena², Mirian Denise Stringasci² e Vanderlei Salvador Bagnato²

¹ Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

² Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma opção de tratamento tópico utilizado para alguns tipos de câncer de pele não melanoma e também para lesões pré-malignas. Existem protocolos bem estabelecidos que recomendam duas sessões do tratamento com intervalo de uma semana, utilizando 3 horas de incubação do creme precursor antes da irradiação em cada sessão, com eficácia variável. Recentes estudos publicados determinaram um novo protocolo em que as duas sessões são realizadas em um único dia. Esta otimização do tratamento favorece principalmente os pacientes de idades mais avançadas que usualmente se deslocam de longas distâncias até o hospital, sem perder a eficácia do tratamento. No entanto, para a realização das duas sessões de TFD, o paciente permanece um longo período no hospital, cerca 7 horas. Novos projetos tem por objetivo avaliar o uso de um protótipo de irradiação portátil para que a segunda sessão seja realizada em casa, fora do hospital. Com esse equipamento desenvolvido pelo Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da Universidade de São Paulo (USP) o paciente poderá ser dispensado após a primeira irradiação, diminuindo o tempo total necessário de permanência no hospital. Este equipamento apresenta menor irradiância e, portanto, será necessário maior tempo de irradiação. A menor irradiância provavelmente fará com que o tratamento seja menos doloroso, proporcionando maior conforto ao paciente que terá menor permanência no hospital.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605423

1 Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma alternativa terapêutica para o tratamento de lesões malignas e pré-malignas. O ácido aminolevulínico (ALA) e o aminolevulinato de metila (MAL), são precursores da protoporfirina IX (PpIX), um fotossensibilizador (FS) endógeno presente em pequenas quantidades nas células. Após este precursor penetrar na célula, ele interage na biossíntese do grupo heme e estimula maior formação de PpIX que se acumula preferencialmente em tecidos alterados. As razões deste acúmulo diferenciado que ainda não são completamente compreendidas, mas podem estar associadas às alterações na membrana das células anormais ou imaturidade das fibras de colágeno constituintes da lesão são as causas mais prováveis. [1, 2]

A fim de garantir que o acúmulo de PpIX na lesão seja suficiente e o tratamento seja eficiente, é necessário um período de incubação do precursor de aproximadamente 180 minutos. [3–5] De acordo com as diretrizes publicadas no Fórum Europeu de Dermatologia, a TFD tópica é indicada para o tratamento do carcinoma basocelular (CBC) em vários países europeus. O protocolo aprovado baseia-se em 3 horas de incubação de creme usando um curativo oclusivo, seguido de irradiação por luz vermelha (630 nm, 75 J/cm²). Para completar o tratamento é necessária uma nova sessão, a ser realizada uma semana após, seguindo os mesmos parâmetros da primeira. [6, 7]. A taxa de resposta completa deste protocolo padrão para lesões de CBC superficial é de cerca de 90%, caindo para 60 a 70% nos subtipos nodulares, possivelmente devido à penetração menos eficaz do creme em toda a lesão. [3, 8]

Visando melhorar o protocolo vigente e considerando a elevada incidência deste tipo de lesão e consequentemente a alta demanda de pacientes precisando de tratamento; as dificuldades que enfrentam ao percorrer longas distâncias para chegar até o atendimento especializado além da maior parte dos pacientes possuem idade mais avançada e comorbidades; foi realizado um estudo com protocolo de TFD a ser

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

realizada em uma única visita ao hospital – daí o nome “*PDT Single Visit*”. Este protocolo previamente descrito consiste na realização de duas sessões de TFD no mesmo dia e alcançou 95,4% de resposta completa na eliminação das lesões após 30 dias do tratamento, considerando 3 horas de incubação do creme na primeira sessão e 1,5 horas na segunda. [9]. O acompanhamento clínico destes pacientes demonstrou que após 60 meses, a probabilidade cumulativa livre de recorrência foi de 69,0% para o protocolo padrão e 80,6% para o protocolo *single visit*. [10]

Mesmo com uma taxa de sucesso alta, a aplicação do protocolo *Single Visit* ainda poderia ser melhorada, visto que o paciente deve permanecer no hospital por um longo período de tratamento, num total de 6 a 7 horas. Esse tempo de permanência em ambiente hospitalar, mesmo que de maneira ambulatorial, pode ser prejudicial ao paciente.

Com o intuito de que o paciente possa ser dispensado do ambiente hospitalar e realizar parte do tratamento em casa foi desenvolvido um protótipo portátil de irradiação. Assim, com a utilização deste dispositivo, a segunda sessão de TFD poderá ser realizada fora do hospital, favorecendo inclusive a dinâmica ambulatorial, permitindo que mais lesões possam ser tratadas no mesmo dia. Além disso, o novo protocolo de tratamento tende a ser mais confortável e menos doloroso aos pacientes, aumentando sua aceitação. Estudos têm sido desenvolvidos para definir novos protocolos utilizando o protótipo de irradiação, assim como avaliar a eficiência do tratamento e o nível de dor sentida pelos pacientes durante a irradiação.

2 Um novo protótipo para o “PDT home”

O protótipo portátil foi desenvolvido pelo IFSC-USP para que a irradiação das lesões pudesse ser realizada fora do ambiente hospitalar. Este equipamento é composto por LEDs centrados no comprimento de onda 630 ± 10 nm e deve ficar ligado por 2 horas para a entrega de 312 J/cm^2 de fluência.

O protocolo que vem sendo aplicado no Ambulatório de Pele e Partes Moles do Hospital Amaral Carvalho (HAC) baseia-se em duas irradiações em um mesmo dia, sendo a primeira após 3 horas de incubação do creme e a segunda após mais 1,5 horas de incubação. O equipamento comercial utilizado é o LINCE (MMOptics, São Carlos, SP, Brasil) também composto por LEDs em 630 ± 10 nm, cuja irradiância é de 125 mW/cm^2 e a fluência depositada é de 150 J/cm^2 em 20 minutos de irradiação. [3]

Na Figura 1a é possível observar a irradiância de cada equipamento durante os períodos de tratamento.

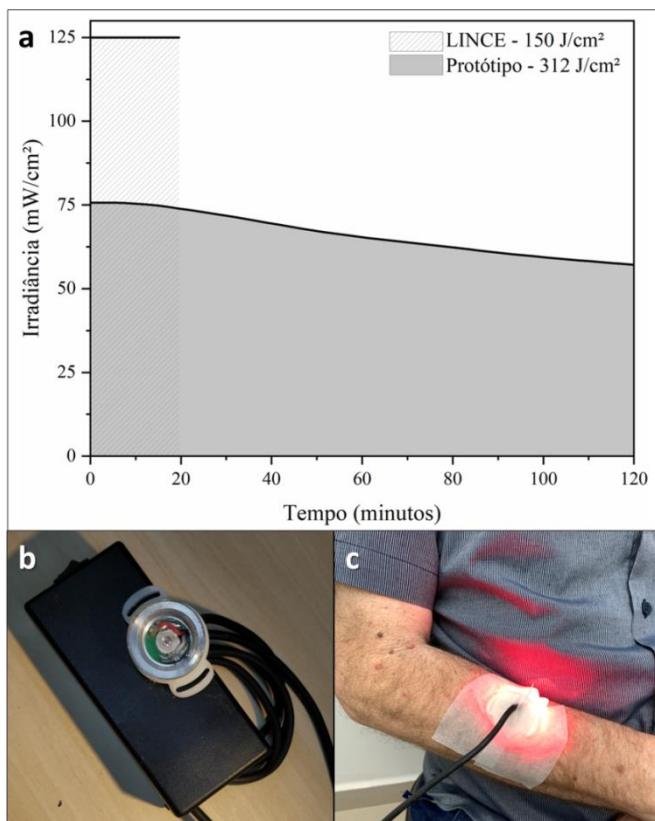


Figura 1. a) Perfil das irradiâncias emitidas pelo protótipo e sistema comercial LINCE de irradiação durante os períodos de tratamento; b) modelo protótipo portátil de irradiação desenvolvido e c) lesão sendo tratada pelo protótipo portátil de irradiação.

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

O equipamento comercial LINCE é alimentado na energia elétrica, tendo sua irradiação constante. O protótipo portátil desenvolvido utiliza pilha para alimentação, por isso, sua irradiação inicial é consideravelmente menor que o equipamento comercial e decai ao longo do período de irradiação, sendo necessário um período mais longo de tratamento. Alguns estudos têm mostrado a mesma eficiência de tratamento ao entregar a mesma dose de energia ao tecido por um tempo maior (consequentemente menor irradiação). Com isso, haveria o benefício da diminuição da dor referida pelo paciente. A irradiação por período prolongado também tem como fator positivo proporcionar maior tempo para produção de novas moléculas de PpIX e para oxigenação do tecido, dois elementos essenciais para que ocorra a ação fotodinâmica. [11–13]

Existem outros protocolos que almejam a diminuição da permanência do paciente no hospital, como o *daylight PDT*, que propõem que o paciente fique exposto à irradiação solar para realização do tratamento. [14, 15] Entretanto, esse protocolo tem como principal desvantagem a falta de padronização da fluência de luz recebida pela lesão, que depende das variações climáticas e regionais.

Protocolos em que as lesões sejam tratadas de maneira confiável e segura e que, ao mesmo tempo, permitam menor permanência do paciente no hospital tiveram sua importância ainda mais reforçada em períodos de pandemia. Estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de novos protocolos de tratamento utilizando irradiação com protótipo portátil fora do hospital, protocolos denominados “*PDT home*”.

2.1 Estudo piloto

Foi realizado um estudo piloto no HAC para desenvolvimento de um novo protocolo utilizando o protótipo portátil desenvolvido. Foram tratadas 15 lesões do tipo CBC, sendo 8 nodulares e 7 superficiais. As lesões foram curetadas e incubadas com creme de hidrocloridrato de aminolevulinato

metila a 20% (PDT Pharma, Cravinhos, SP, Brasil) por 3 horas. A primeira irradiação, realizada no ambulatório, utilizou o equipamento comercial LINCE depositando 150 J/cm² de fluênciia. Imediatamente após a primeira irradiação, uma camada fina de creme foi reaplicada e o novo protótipo portátil de irradiação foi fixado sobre a lesão com micropore. O paciente foi liberado e orientado a ligar o equipamento após 1,5 horas e desligá-la após 2 horas de irradiação. [16]

Após 30 dias do tratamento, avaliações clínicas e histológicas demonstraram um índice de cura de 87%. O nível de dor reportado pelos pacientes foi significativamente menor durante a segunda irradiação utilizando o protótipo portátil (atingindo uma média máxima de 1) se comparada à primeira irradiação com o equipamento comercial LINCE (atingindo um valor médio de 4). Os pacientes relataram durante as irradiações o nível de dor sentida, sendo 0 nenhuma dor sentida e 10 o máximo de dor já experimentada pelo paciente. [16]

Protocolos de tratamento eficazes e com menor permanência ambulatorial são essenciais, devido à alta incidência dessas lesões em idosos, que geralmente apresentam outras comorbidades, além de um cenário pandêmico que viemos enfrentando. Além disso, o uso do protótipo portátil de irradiação com menor irradiância possibilitou um tratamento menos doloroso e mais confortável aos pacientes.

2.2 Estudo randomizado controlado

Está sendo realizado um estudo randomizado controlado com aprovação pelo Comitê de Ética (CEP/CONEP) em pesquisas clínicas do HAC sob o número 32048720.8.0000.5434. Neste estudo serão tratadas 240 lesões de CBC nodulares de 240 superficiais. Cada tipo de lesão será randomizado em dois tipos de tratamento A e B. Nos GRUPOS A, a segunda irradiação utilizará protocolo convencional com o equipamento comercial LINCE por 20 minutos para entrega de 150 J/cm²; enquanto nos GRUPOS B, a segunda irradiação utilizará o protótipo portátil ligado por 2

Evolução dos equipamentos para tratamento e diagnóstico

horas para a entrega de 312 J/cm², como mostra a Figura 2.

Neste estudo estão sendo avaliados a eficiência do tratamento e o nível de dor reportada pelos pacientes em ambos os protocolos. O protótipo tende a aumentar o conforto e a aceitação do paciente, uma vez que o paciente poderá ser dispensado logo após a primeira irradiação, beneficiando principalmente os pacientes que precisam viajar longas distâncias para o tratamento das lesões.

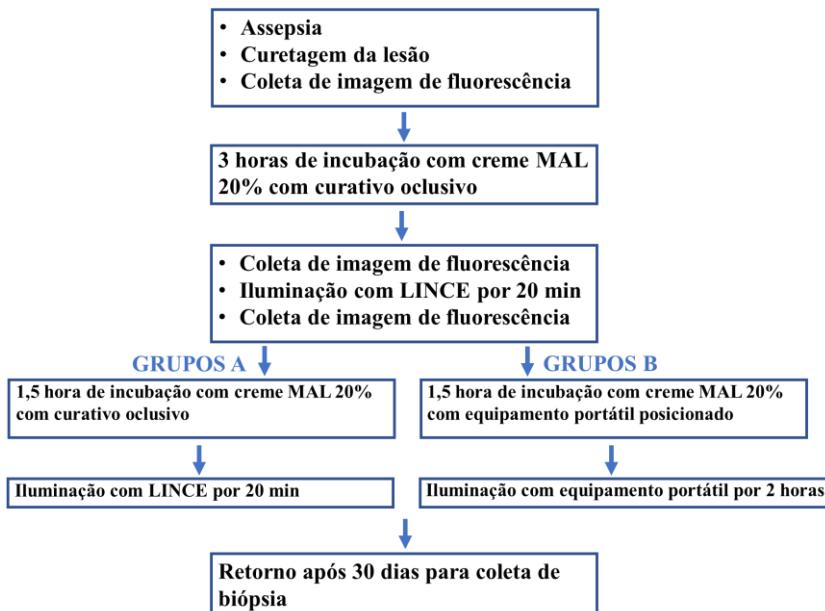


Figura 2. Sequência de procedimentos aplicados nos protocolos clínicos de TFD propostos no estudo.

3 Conclusão

Diante da maior incidência das lesões do tipo CBC em idosos, que geralmente apresentam outras comorbidades, e de um cenário pandêmico, existe a necessidade de protocolos de tratamentos que exijam menor tempo de permanência do paciente no ambulatório. O protótipo portátil de irradiação desenvolvido pelo IFSC vem sendo aplicado no HAC para estabelecimento de um protocolo eficaz em estudos clínicos. Lesões

tratadas com o protótipo em um estudo piloto demonstraram 87% de resposta completa em 30 dias após o tratamento. O nível de dor reportada pelos pacientes usando o protótipo portátil foi significativamente menor que a irradiação usando o LINCE, sendo 1 e 4 as médias de dor respectivas. Um estudo randomizado controlado com tratamento de 480 lesões vem sendo realizado no HAC para comprovação dos resultados promissores observados no estudo piloto.

Referências bibliográficas

- [1] Torezan L, Niwa ABM, Neto CF. Terapia fotodinâmica em dermatologia: Princípios básicos e aplicações. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 2009; 84: 445–459.
- [2] MacCormack MA. Photodynamic Therapy. *Advances in Dermatology* 2006; 22: 219–258.
- [3] Ramirez DP, Kurachi C, Inada NM, *et al.* Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 22–26.
- [4] Blanco KC, Moriyama LT, Inada NM, *et al.* Fluorescence guided PDT for optimization of the outcome of skin cancer treatment. *Front Phys*; 3. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.3389/fphy.2015.00030.
- [5] Sotiriou E, Apalla Z, Ioannides D. Complete resolution of a squamous cell carcinoma of the skin using intralesional 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy intralesional PDT for SCC. *Photodermatol, photoimmunol & photomed* 2010; 26: 269–71.
- [6] Morton CAA, Szeimies R-MM, Sidoroff A, *et al.* European guidelines for topical photodynamic therapy part 1: treatment delivery and current indications - actinic keratoses, Bowen's disease, basal cell carcinoma. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2013; 27: 536–544.
- [7] Trakatelli M, Morton C, Nagore E, *et al.* Update of the European guidelines for basal cell carcinoma management Developed by the Guideline Subcommittee of the European Dermatology Forum. *Eur J dermatology* 2015; 1–18.
- [8] Surrenti T, De Angelis L, Di Cesare A, *et al.* Efficacy of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in the treatment of superficial and nodular basal cell carcinoma: an open-label trial. *Eur J Dermatol* 2007; 17:

412–415.

- [9] Ramirez DP, Moriyama LT, de Oliveira ER, *et al.* Single visit PDT for basal cell carcinoma – a new therapeutic protocol. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019; 26: 375–382.
- [10] Salvio AG, Veneziano DB, Moriyama LT, *et al.* A new photodynamic therapy protocol for nodular basal cell carcinoma treatment: Effectiveness and long-term follow-up. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2022; 37: 1–7.
- [11] Anand S, Yasinchak A, Govande M, *et al.* Painless versus conventional photodynamic therapy for treatment of actinic keratosis: comparison of cell death and immune response in a murine model. In: Kessel DH, Hasan T (eds) *Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy XXVIII*. SPIE, 2019, p. 19.
- [12] Anand S, Govande M, Yasinchak A, *et al.* Metronomic PDT induces innate and adaptive immune responses in murine models of skin cancer and pre-cancer. In: Kessel DH, Hasan T (eds) *Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy XXIX*. SPIE, 2020, p. 17.
- [13] Kaw U, Ilyas M, Bullock T, *et al.* A regimen to minimize pain during blue light photodynamic therapy of actinic keratoses: Bilaterally controlled, randomized trial of simultaneous versus conventional illumination. *J Am Acad Dermatol* 2020; 82: 862–868.
- [14] Philipp-Dormston WG, Karrer S, Petering H, *et al.* Daylight PDT with MAL - current data and practical recommendations of an expert panel. *JDDG J der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft* 2015; 13: 1240–1249.
- [15] Szeimies R-M. Pain perception during photodynamic therapy: why is daylight PDT with methyl aminolevulinate almost pain-free? A review on the underlying mechanisms, clinical reflections and resulting opportunities. *G Ital di Dermatologia e Venereol*; 153. Epub ahead of print December 2018. DOI: 10.23736/S0392-0488.18.06011-X.
- [16] Salvio AG, Requena MB, Stringa MD, *et al.* Photodynamic therapy performed at home: the use of a portable device to decrease the patient's stay at hospital without compromising the efficacy of basal cell carcinoma treatment. 30th European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), <https://s3.eu-central-1.amazonaws.com/cst.eadv/eadv2021/abstracts/24560.html.pdf> (2021).

Desenvolvimento do protocolo “Single visit” e resultados

Ana Gabriela Salvio

Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

Neste capítulo é descrita uma evolução da técnica de terapia fotodinâmica, passando-se a realizar o tratamento completo em um único dia. Tal fato permite ao paciente mais agilidade no tratamento do câncer de pele, sem necessidade de retornar ao hospital para uma segunda sessão após uma semana, e ao sistema, economia reduzindo custos de transporte.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605424

1 Terapia fotodinâmica convencional

A terapia fotodinâmica (TFD) tópica ganhou notoriedade no início dos anos 90 através do uso do ácido aminolevulínico (ALA) como pró-droga fotossensibilizante e consolidou seu papel a partir de 2001 com a introdução do uso do ácido metil aminolevulínico (M-ALA) [1,2]. Desde então a TFD tem demonstrado consideráveis benefícios tanto no tratamento de lesões pré-malignas quanto lesões malignas em fases iniciais [3].

De acordo com as diretrizes da *Sociedad Internacional de Terapia Fotodinâmica*, a TFD é indicada no carcinoma basocelular em situações muito específicas: 1) quando o CBC é classificado como do subtipo superficial e 2) quando o CBC é classificado como sendo do subtipo nodular, porém medindo menos de 2 mm de espessura avaliada e inferida clinicamente [4]. O protocolo de aplicação mais utilizado e recomendado pelos diversos *guidelines* consiste em duas sessões de TFD com intervalo de uma semana entre elas [5,6]. As respostas clínicas são muito variáveis, mostrando respostas completas para o CBC nodular variando de 87 a 91% na literatura [7-9]. Dados do grupo de pesquisa dos autores demonstraram respostas clínicas completas de 77% e 88% usando M-ALA TFD com dose total de 100 e 150 J/cm² respectivamente através do protocolo padrão (dois tratamentos com intervalo de 1 semana) [10].

2 Terapia fotodinâmica fracionada

A terapia fotodinâmica fracionada (TFDf) é uma modificação da técnica clássica onde é aplicada a dose total de luz, num mesmo dia, dividido em duas ou mais etapas separadas por um período de escuro. Tal intervalo permitiria a reoxigenarão dos tecidos irradiados no período de escuro, interrompendo a reação fotoquímica e aumentando os níveis de oxigênio tecidual, havendo a otimização da reação no segundo período, contribuindo para uma melhor taxa de cura. Além disso, o fracionamento da dose levaria a um dano subletal às células malignas, deixando-as mais

vulneráveis para a segunda iluminação [11].

Os primeiros estudos nessa linha foram realizados em modelo animal. Van de Veen *et al.*, em 1999 observaram um aumento na sensibilidade da técnica, quando fracionada a dose total comparada como uma única dose [12]. Posteriormente, foi realizada a aplicação do protocolo em pacientes com CBC superficial. Star *et al.*, (2006), usou TFD fracionada com uma dose total de 90 J/cm², esta dose entregue em duas etapas de 45 J/cm² cada. O tempo de escuro utilizado para essa pesquisa foi de 2 e 4 horas. Um seguimento das lesões tratadas por 56 meses evidenciou resposta completa de 84%, e uma avaliação do resultado estético como excelente em 88% das lesões tratadas [13].

Em 2006, de Haas e col. tentaram otimizar as taxas de cura, dividindo uma dose total de 100 J/cm² duas iluminações de 20 J/cm² e 80 J/cm² em cada etapa (com uma fluência de 50 mW/cm²), com um período de escuro de 2 horas. Um viés deste estudo é a diversidade de tipos de lesões tratadas, observando-se resposta completa total de 95% após 24 meses de seguimento, mas ao se especificar o tipo de lesão os resultados foram diversos, atingindo-se 98% para queratoses actínicas, 84% para CBC superficial, e 80% para CBC nodular, falhando em seu objetivo [14].

Ao longo do tempo, estudos de TFD fracionada melhor desenhados foram realizados. Como por exemplo, o estudo clínico randomizado realizado por Mosterd e col. (2008), comparando cirurgia versus TFD fracionada (duas iluminações de 75J/cm² com intervalo de 15 minutos, totalizando uma dose de 150 J/cm² numa fluência de 100 mW/cm²) para CBCs nodulares. Neste estudo, embora evidente superioridade da cirurgia, o seguimento de 24 e 36 meses mostraram boas taxas de cura da TFD (respectivamente 78.5% e 69.3%) para o CBC nodular[15].

O acompanhamento por longo período também resultou em solidez para a terapia fracionada. Outra experiência clínica foi publicada por Sotiriou et.al (2009), onde foi usada a TFDf para tratamento de CBC extenso com mais de 40 cm². A TFDf foi realizada com uma dose total de

100 J/cm² subdividido em duas etapas de 20 J/cm² e 80 J/cm² cada. O acompanhamento com estudo histopatológico, por um ano, mostrou resposta completa [16]. Com isso, alguns outros estudos, vêm sendo desenvolvidos consolidando a técnica [17, 18]. Além de melhorar a eficiência desta modalidade, a TFDf apresenta um excelente resultado estético e sem aumento da dor comparada com a TFD convencional [19].

3 O processo de desenvolvimento de novo protocolo de TFD fracionada

Baseada na ideia do fracionamento da dose foi proposta a realização das duas sessões convencionais em um mesmo dia, fazendo com que o paciente recebesse a dose de tratamento total em um único dia. Para isso, inicialmente tentou-se reproduzir o tipo de protocolo já relatado por outros grupos, mas em estudo piloto não se chegou aos bons resultados relatados na literatura levando-se a supor que a quantidade de protoporfirina IX gerada, embora visível, não seria suficiente para promover uma adequada reação fotodinâmica (Figura 1).

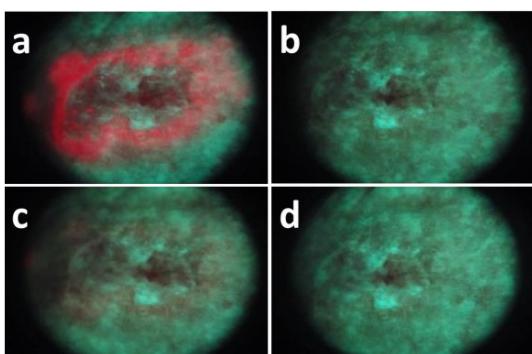


Figura 1. Imagens de uma lesão de CBC evidenciando a presença de protoporfirina IX em quatro diferentes momentos da iluminação fracionada: a) após três horas de oclusão com creme de aminolevulínico de metila; b) imediatamente após a iluminação, observando-se o consumo da PpIX; c) após 1 hora da iluminação, evidenciando-se nova formação de PpIX; d) imediatamente após a segunda iluminação.

Portanto, a fim de planejar um protocolo ideal de TFD fracionada, foi realizado por Ramirez e col. um estudo com 258 lesões de CBC, divididos em 5 grupos, sendo um grupo controle (TFD convencional, realizada com duas sessões com intervalo de 1 semana) e 4 outros grupos submetidos a diferentes protocolos de iluminação. Nestes 4 grupos do estudo houve variação na fluência utilizada na segunda sessão, no tempo entre as duas sessões e na reaplicação ou não da pro-droga (aminolevulinato de metila) conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos diferentes protocolos de terapia fotodinâmica, e suas respectivas taxas de cura após 30 dias do tratamento.

Grupo	TFD convencional	G1	G2	G3	G4
Realização da segunda sessão no mesmo dia	não	sim	sim	sim	sim
Fluência da primeira sessão (J/cm ²)	150	150	150	150	150
Reaplicação da pro-droga	sim	não	sim	sim	sim
Tempo entre a primeira e segunda sessão	1 semana	30 min	60 min	90 min	90 min
Fluência da segunda sessão (J/cm ²)	150	100	100	100	150
Taxa de cura	81,6%	65,8%	67,6%	82%	95,4%

Os dados apresentados na tabela 1 revelam que não só o tempo de intervalo entre as sessões, mas a dose de luz bem como a reaplicação da pro-droga são peças chave no sucesso da TFD fracionada [20]. A taxa de cura foi avaliada clínica e histologicamente 30 dias após a TFD, mostrando 95% de cura para o protocolo com reaplicação da pro-droga imediatamente após a primeira sessão e iluminação 90 minutos após com a mesma dose da primeira iluminação (Tabela1). Portanto, descreve-se a seguir o protocolo de TFDf proposto pelo grupo e denominado PDT-Single Visit.

3.1 Protocolo de aplicação PDT Single Visit

Primeiramente é feita a antisepsia da área com clorexidina. Logo

Novos protocolos clínicos

após a lesão é curetada com lâmina ou cureta até o nível da pele, sendo retirado todo tecido acima da superfície da pele, nivelando o tecido neoplásico com a pele adjacente. O material curetado é normalmente encaminhado para avaliação histológica (caso o diagnóstico tenha sido feito através da dermatoscopia) ou desprezado quando houve o diagnóstico histológico prévio realizado por biópsia. Em seguida é aplicada uma camada de cerca de 2 mm de creme de aminolevulinato de metila a 16%, com margem de 5 mm na pele sã. Oclui-se a área com filme plástico e papel alumínio, fixando com micropore por 3 horas. Decorrido o tempo de oclusão a lesão é iluminada por 20 min com irradiância de 125 mW/cm² totalizando uma fluência de 150J/cm². Imediatamente após, uma nova camada de creme com a pro-droga é aplicada e a área ocluída por 90 minutos. Decorrido o segundo tempo de oclusão a lesão é iluminada com os mesmos parâmetros da primeira sessão (125 mW/cm² por 20 minutos totalizando 150J/cm²). Ao término da segunda iluminação o paciente deixa o hospital, sendo liberado para retornar para sua casa, e orientado a higienizar o local aguardando a cicatrização.

4 Consolidação da técnica Single Visit

Após o estabelecimento do protocolo de TFDf, foi realizado um estudo comparativo entre o protocolo Single Visit e protocolo padrão (intervalo de 1 semana entre as 2 sessões) em lesões de CBC nodular.

Neste estudo, onde participaram 240 pacientes com carcinoma basocelular nodular, foi observada uma taxa de cura na avaliação histológica após 30 dias de 93.3% para o grupo submetido ao tratamento Single Visit e 85% para o grupo submetido ao tratamento padrão (2 sessões com intervalo de 7 dias entre elas) [21].

5 Dor durante o novo protocolo

Pode-se esperar que ao realizar duas sessões em um mesmo dia o paciente sentiria maior desconforto, visto que a TFD é um tratamento

sabidamente referido como doloroso [22]. Mas, em estudo comparativo entre o protocolo Single Visit e o protocolo padrão observou-se escores de dor significativamente menores na segunda sessão para o protocolo Single Visit, conforme evidenciado nas Tabelas 2 e 3 [21].

Tabela 2. Mediana (1º Quartil - 3º Quartil) do escore de dor relatada a cada 3 minutos nos 120 pacientes do grupo Single Visit e nos 120 pacientes do grupo protocolo padrão, na primeira sessão.

Tempo de irradiação (minutos) – 1ª sessão								
	0	3	6	9	12	15	18	20
Single Visit	3 (2-5)	3 (2-5)	3 (2-5)	4 (2-5)	4 (2-5)	4 (2-6)	4 (2.25)	4 (2.25)
Protocolo padrão	3 (1-5)	3 (2-5)	4 (2-5)	4 (2-5)	3 (2-5)	3 (2-5)	3 (2-5)	3 (2-5)
p-valor *	0.0478	0.094	0.658	0.053	0.191	0.138	0.122	0.064

* Teste de Mann-Whitney com diferenças significativas para p< 0,05

Tabela 3. Mediana (1º Quartil - 3º Quartil) do escore de dor relatada a cada 3 minutos nos 120 pacientes do grupo Single Visit e nos 120 pacientes do grupo protocolo padrão, na segunda sessão.

Tempo de irradiação (minutos) – 2ª sessão								
	0	3	6	9	12	15	18	20
Single Visit	3 (2-4)	3 (2-4)	3 (2-25)	3 (2-4)	3 (2-25)	3 (2-5)	3 (2-25)	3 (2-5)
Protocolo padrão	4 (2.75-6)	5 (3-7)	5 (3-25)	4 (3-7)	4 (3-6)	4 (3-6)	4 (2-6)	3 (2-6)
p-valor *	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.004	0.026	0.085

* Teste de Mann-Whitney com diferenças significativas para p< 0,05

Uma possível explicação para a menor dor na segunda sessão poderia ser a saturação dos receptores de dor bem como a redução da transmissão dos impulsos de dor devido ao edema local. Outra hipótese seria um menor tempo de incubação do novo protocolo gerando menor quantidade de protoporfirina

IX e, portanto, menor dor.

6 Experiência em Centro Especializado

No período de Janeiro de 2016 a Dezembro de 2019 um total de 480 lesões de CBC superficial e nodular foi submetido ao protocolo de TFD acima mencionado sendo 165 lesões de CBC superficial e 315 lesões de CBC nodular no Departamento de Pele do Hospital Amaral Carvalho. Isso representa mais de 100 tratamentos de TFD no CBC superficial e nodular ao ano. O elevado número de lesões tratadas com TFD anualmente reflete o perfil do serviço onde o estudo foi realizado. Trata-se de um hospital especializado em oncologia, atendendo mais de 75 mil pacientes por ano [23].

6.1 Confirmação diagnóstica do CBC

O diagnóstico do CBC foi feito através da análise clínica e dermatoscópica da lesão, garantindo maior acurácia diagnóstica. Além disso, o diagnóstico clínico é confirmado através da análise histológica do produto da curetagem. Desta forma, todas as 480 lesões foram submetidas à análise histológica, confirmando tratar-se de CBC. Um exemplo do produto da curetagem pode ser observado na Figura 2.

Após 30 dias, todas as lesões foram clinicamente avaliadas (exame clínico e dermatoscópico) e submetidas a uma biópsia com punch de 2 mm a fim de averiguar a resposta pós TFD (Figura 3). A região central da lesão foi padronizada como o local preferencial para biópsia, podendo ser direcionada para outro local de suspeita caso necessário após a avaliação clínica e dermatoscópica. O sucesso terapêutico foi considerado através da ausência histológica de CBC residual na biópsia de 30 dias após TFD.

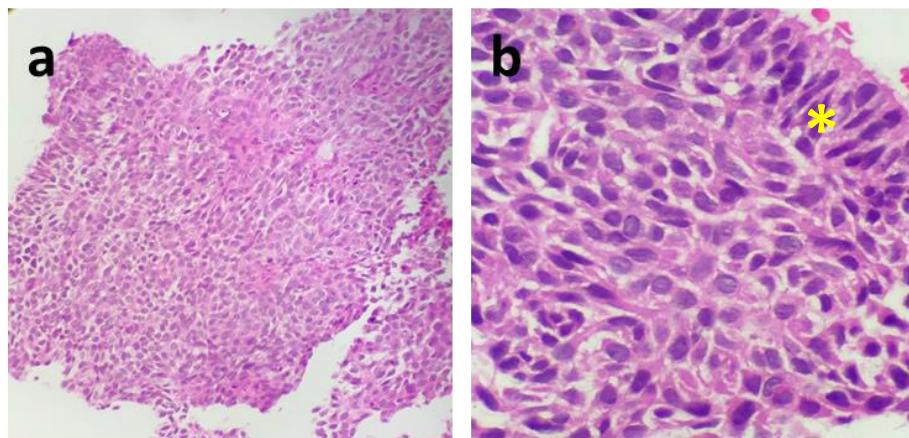


Figura 2. Imagem microscópica da curetagem de um CBC à coloração de hematoxilina-eosina; a) menor aumento mostrando agregados nodulares de células basalóides atípicas e b) células basofílicas mostrando o típico arranjo em paliçada na periferia do corte (*) em maior aumento.

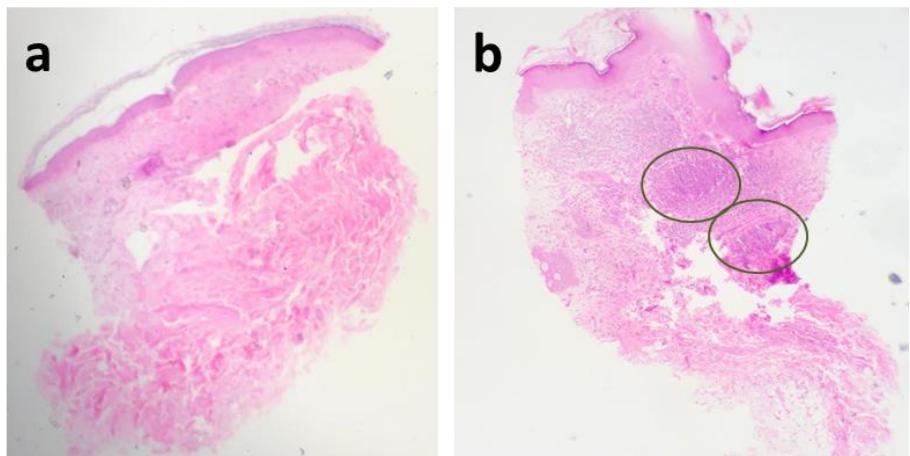


Figura 3. Corte histológico da biópsia por punch à coloração hematoxilina-eosina em pequeno aumento de duas situações pós-tratamento: a) ausência de neoplasia residual, havendo apenas área com aspecto de cicatriz recente e tecido regenerado – paciente classificado como resposta completa; b) áreas demarcadas com círculo evidenciam a presença de CBC residual pós-PDT - paciente classificado como falha de tratamento.

6.2 Taxa de cura

Nas lesões de CBC superficial obteve-se 98% (n=161) de resposta

Novos protocolos clínicos

completa, apresentando apenas 2% ($n=4$) de lesões residuais. Nos CBCs nodulares obteve-se 92,4% ($n=291$) de cura após TFD, havendo apenas 7,6% ($n=24$) de CBC residual (Figuras 4 e 5).

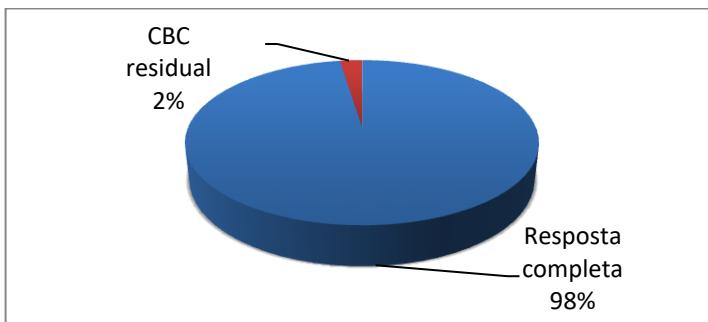


Figura 4. Resultado da biópsia após 30 dias da TFD em 165 lesões de CBC superficial. Pacientes classificados como CBC residual ou sucesso terapêutico (Resposta Completa).

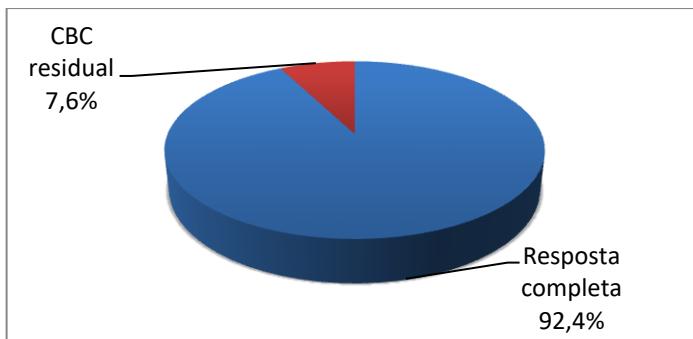


Figura 5. Resultado da biópsia após 30 dias da TFD em 315 lesões de CBC nodular. Pacientes classificados como CBC residual ou sucesso terapêutico (Resposta Completa).

6.3 Dados clínicos

Os 165 CBCs superficiais estavam distribuídos entre 100 pacientes, sendo 52% do sexo masculino e 48% do feminino. A média de idade ao diagnóstico para o CBC superficial foi de 61 anos e para o CBC nodular 63 anos, faixa etária onde comorbidades são frequentes, muitas vezes dificultando o tratamento convencional. A distribuição foi homogênea

entre os sexos, com uma incidência levemente maior no sexo masculino (52%) tanto para os CBCs nodulares quanto superficiais. Tal observação condiz com os dados da literatura mundial onde uma maior incidência do CBC é observada na população masculina e idosa [24].

As 315 lesões de CBC nodular estavam distribuídas entre 153 pacientes, sendo 52% no sexo feminino e 48% no sexo masculino. O número de lesões por paciente variou de 1 a 15, com média de 2 lesões por paciente. A idade média para os pacientes com CBC superficial foi de 61 anos e nos indivíduos com CBC nodular, 63 anos de idade.

Quanto à localização, a maioria dos CBCs nodulares estava localizada na região da cabeça e pescoço (60%) seguida pelo tronco (26%), membros superiores (13%) e membros inferiores (1%). Os CBCs superficiais estiveram em sua maioria localizada no tronco (54%), seguido de membros superiores (23%), cabeça e pescoço (19%) e membros inferiores (4%), conforme observado nas Figuras 6 e 7.

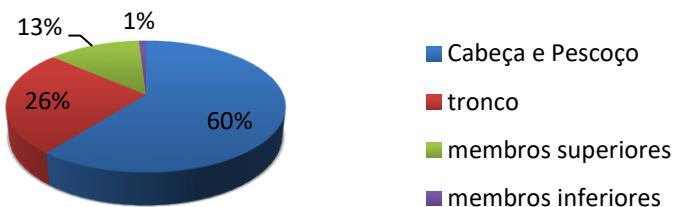


Figura 6. Distribuição dos 315 CBCs nodulares de acordo com a localização corporal

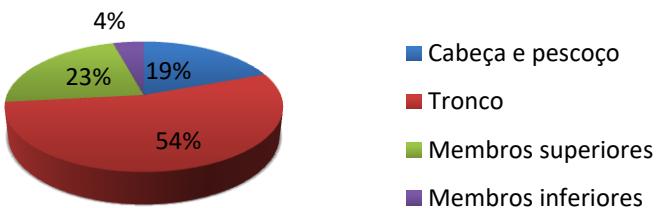


Figura 7. Distribuição dos 165 CBCs superficiais de acordo com a localização corporal

6.4 Tamanho das lesões

Um importante fato a se considerar no tratamento das lesões com TFD é o tamanho das lesões. Nessa casuística, no CBC superficial, a média de diâmetro anual variou de 8,6 a 12,1mm, com média geral de 10,3mm. Para os CBCs nodulares, o diâmetro médio variou de 6,01 a 7,62mm com média de 6,7mm. É importante considerar que o diâmetro clínico do CBC nodular é fato relevante para o sucesso da TFD.

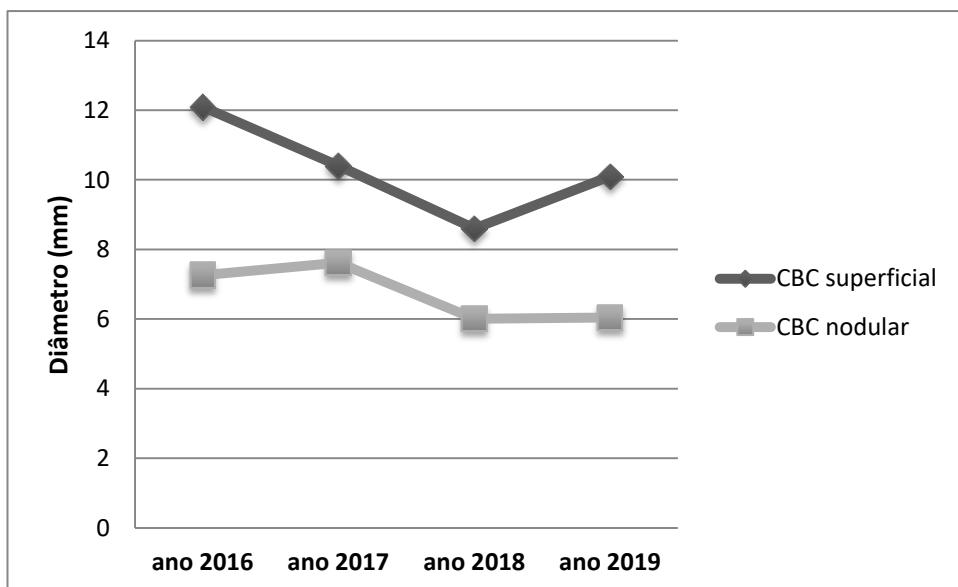


Figura 8. Representação da média de diâmetro anual (em milímetros) das lesões de CBC superficial e CBC nodular para os anos de 2016 a 2019.

6.5 Monitoramento da protoporfirina IX

Todas as lesões no protocolo Single Visit mostraram a produção de PpIX após decorrido os períodos de incubação e apresentaram consumo dela após as iluminações. Após a oclusão de 3 horas, imediatamente antes da primeira irradiação, observou-se maior acúmulo de PpIX do que após a oclusão de 90 minutos (para a segunda irradiação), conforme representado na Figura 9. O consumo da PpIX foi quase total após ambas as irradiações, evidenciando a eficácia ação fotodinâmica.

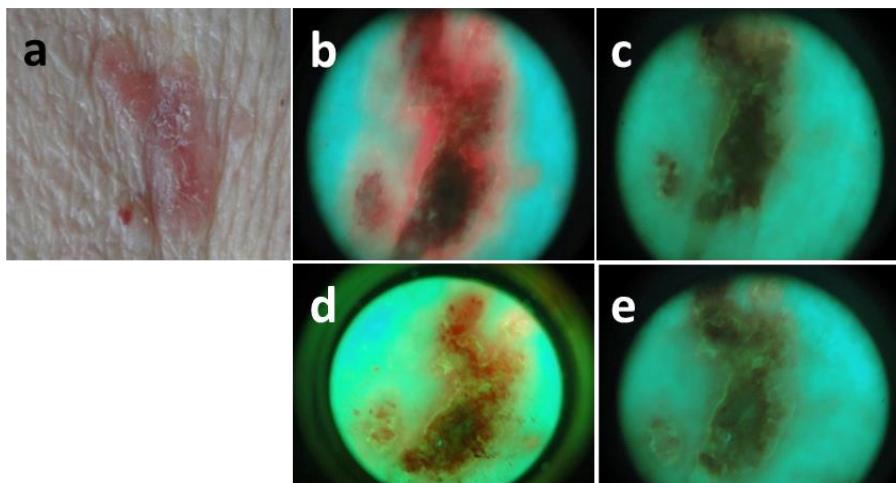


Figura 9. Imagem clínica e imagens de fluorescência através do módulo evidenciador do equipamento LINCE® da produção e consumo de PpIX; a) imagem clínica da lesão de CBC nodular localizada na região lombar da paciente M.L.T.; b) fluorescência antes da primeira sessão; c) fluorescência imediatamente após a primeira sessão; d) fluorescência antes da segunda sessão; e) fluorescência imediatamente após segunda sessão.

6.6 Resultados clínicos

Exemplos do resultado clínico das lesões após 30 dias da TFD podem ser observados nas figuras 10 e 11.

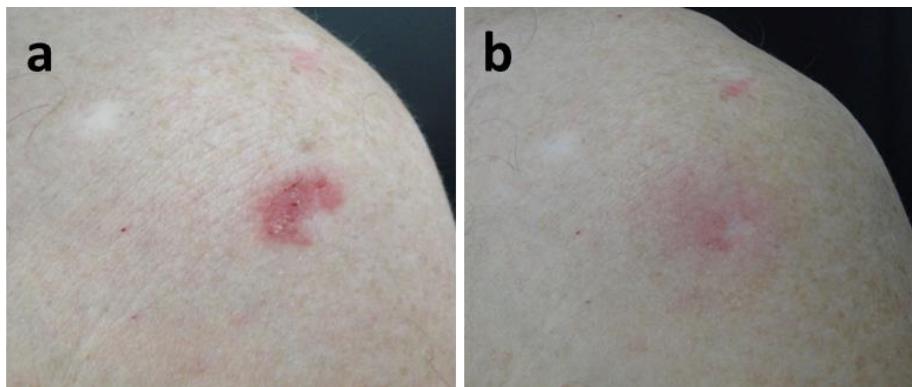


Figura 10. Paciente do sexo masculino, apresentando lesão de CBC superficial na região deltoidea esquerda; a) lesão pré TFD e b) aspecto da região 30 dias após o tratamento, mostrando cura completa.

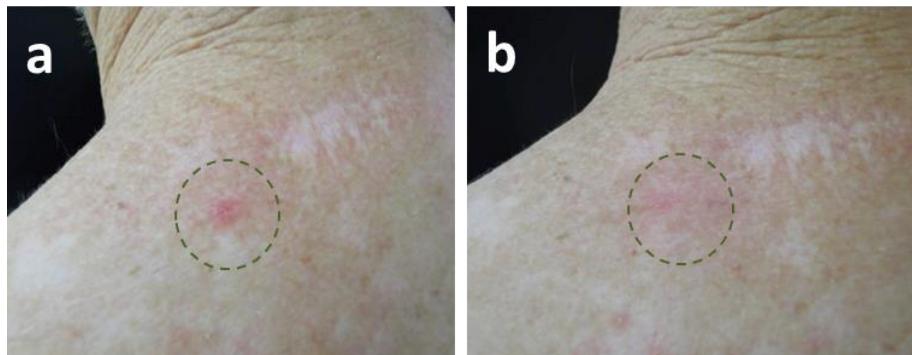


Figura 11. Paciente do sexo masculino, apresentando lesão de CBC nodular – demarcada com círculo - na região do trapézio esquerdo; a) lesão pré TFD; b) aspecto da região 30 dias após o tratamento, mostrando cura completa.

Em ambos os casos exemplificados observa-se apenas um eritema local resultante do processo inflamatório gerado pela TDF, em ambos os casos sem nenhum sinal de doença residual. Nota-se a lesão de CBC nodular em representada na Figura 11 em meio a várias cicatrizes de procedimentos cirúrgicos prévios, ressaltando o excelente aspecto cosmético da TFD.

6.7 Seguimento

Todas as lesões que apresentaram CBC residual na biópsia realizada 30 dias pós-tratamento ou clinicamente evidente após a TFD foram submetidos à exérese cirúrgica. As lesões remanescentes foram seguidas através de exame clínico e dermatoscópico a cada 6 meses até Janeiro de 2020 para pesquisa de recidiva pós TFD. A sobrevida livre de doença pode ser observada na Tabela 4 e Figura 12.

Observa-se para o CBC superficial uma sobrevida livre de doença de 93,1% nos dois primeiros anos de seguimento, e 89,9% para os próximos dois anos. Para o CBC nodular a sobrevida livre de doença observada foi de 95%, 92,6%, 90,7% e 90,7% aos 12, 24, 36 e 48 meses de seguimento. Nota-se que em longo prazo, nesta casuística, não se observa grandes variações entre os dois tipos de CBC, observando-se cerca de 90% de

sobrevida livre de doença após 2 anos (Tabela 4).

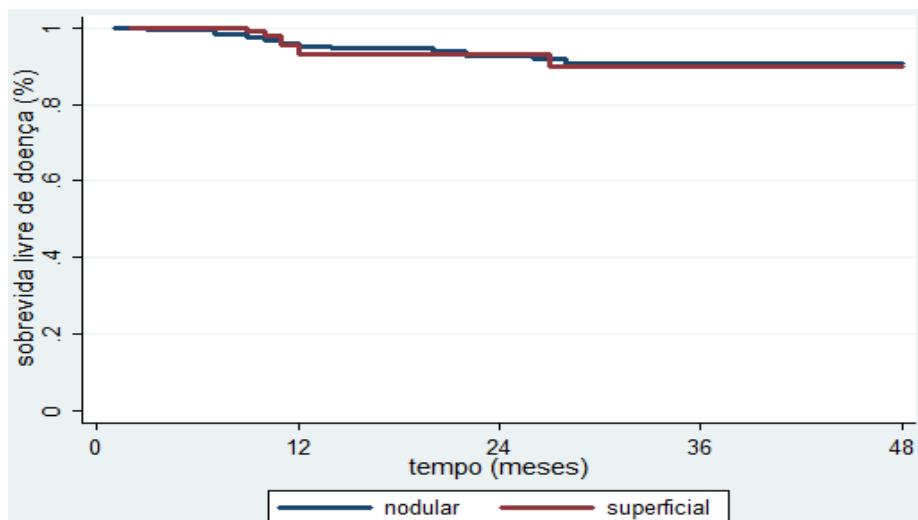


Figura 12. Curva de Kaplan-Meier para as lesões de CBC superficial e CBC nodular.

Tabela 4. Sobrevida livre de doença para as lesões de CBC superficial e CBC nodular de 12 a 48 meses de seguimento. Intervalo de confiança (IC) de 95%.

Tempo (meses)	Sobrevida livre de doença (IC 95%) de CBC	
	superficial	Nodular
12	93,1% (85,3 - 96,8)	95,0% (91,2 - 97,2)
24	93,1% (85,3 - 96,8)	92,6% (87,8 – 95,5)
36	89,9% (78,3 - 95,5)	90,7% (85,2 - 94,3)
48	89,9% (78,3 – 95,5)	90,7% (85,2 - 94,3)

Exemplos clínicos podem ser observados nas Figuras 13 e 14. A principal vantagem conseguida através desta modificação da técnica é a facilidade oferecida para o paciente em relação ao transporte e a comodidade de ter a lesão tratada de maneira ambulatorial no mesmo dia em que recebe o diagnóstico. Geralmente, os pacientes com câncer de pele apresentam idade elevada, momento da vida em que também surgem

comorbidades. Além disso, muitos são procedentes de municípios vizinhos necessitando muitas vezes percorrer grandes distâncias até o um hospital especializado.

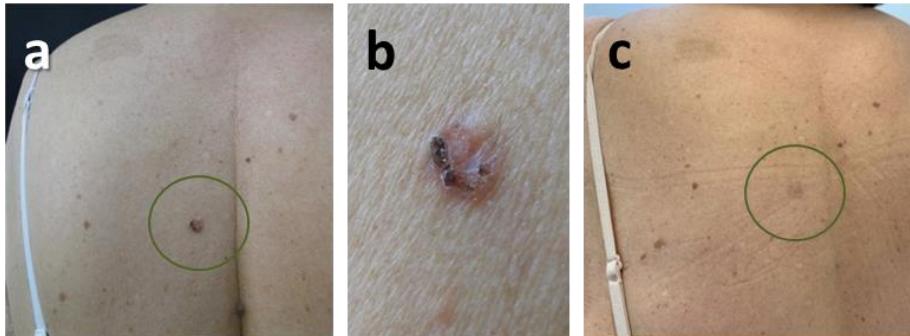


Figura 13. Paciente MLMD, 68 anos, apresentando CBC nodular de 8mm na região escapular E; a) pré-tratamento em 06/11/17, área demarcada com um círculo; b) imagem aproximada; c) leve cicatriz eritematosa, sem recidiva em 20/01/20, área demarcada com um círculo.

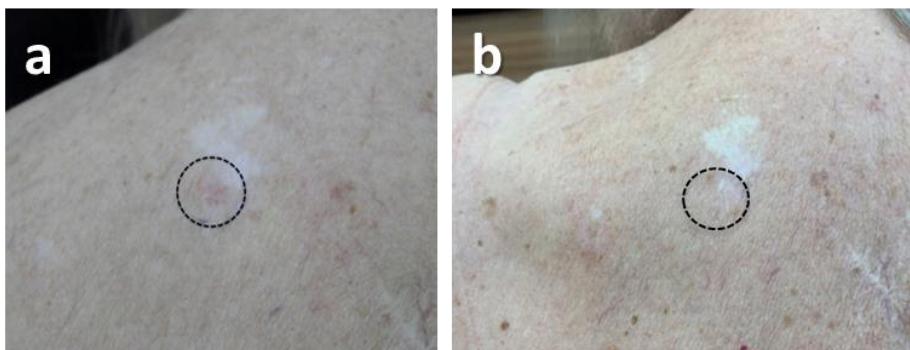


Figura 14. Paciente ONG, sexo feminino, 72 anos, apresentando CBC superficial medindo 6 mm na região do trapézio esquerdo em 04/05/18, área demarcada com um círculo; a) pré-tratamento – lesão evidenciada por círculo pontilhado; b) discreta área hipocrônica, sem recidiva em 15/12/19.

7 Conclusão

Portanto, a otimização da técnica de TFD descrita provou ser eficaz tanto a curto quanto em longo prazo, proporcionando maior agilidade ao tratamento do CBC superficial e do CBC nodular pequeno.

Referências bibliográficas

- [1] Lang K, Schulte KW, Ruzicka T, *et al.* Aminolevulinic acid (Levulan) in photodynamic therapy of actinic keratoses. *Skin therapy letter* 2001; 6: 1–2, 5.
- [2] Christensen E, Warloe T, Kroon S, *et al.* Guidelines for practical use of MAL-PDT in non-melanoma skin cancer. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV* 2010; 24: 505–12.
- [3] Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, *et al.* Photodynamic Therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889–905.
- [4] Braathen LR, Szeimies R-M, Basset-Seguin N, *et al.* Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: an international consensus. International Society for Photodynamic Therapy in Dermatology, 2005. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2007; 56: 125–143.
- [5] Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy: Update. *British Journal of Dermatology* 2008; 159: 1245–1266.
- [6] Wong TH, Morton CA, Collier N, *et al.* British Association of Dermatologists and British Photodermatology Group guidelines for topical photodynamic therapy 2018. *British Journal of Dermatology*. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1111/bjd.17309.
- [7] Rhodes LE, de Rie M, Enström Y, *et al.* Photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinate vs surgery for nodular basal cell carcinoma: results of a multicenter randomized prospective trial. *Archives of dermatology* 2004; 140: 17–23.
- [8] Horn M, Wolf P, Wulf HC, *et al.* Topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy in patients with basal cell carcinoma prone to complications and poor cosmetic outcome with conventional treatment. *British Journal of Dermatology* 2003; 149: 1242–1249.
- [9] Surrenti T, de Angelis L, di Cesare A, *et al.* Efficacy of photodynamic therapy with methyl aminolevulinate in the treatment of superficial and nodular basal cell carcinoma: an open-label trial. *European journal of dermatology : EJD* 2007; 17: 412–415.
- [10] Salvio AG, Inada NM, Oliveira ER de, *et al.* PDT Brazil - Comparison of response according two clinical trials for basal cell carcinoma treatment with MAL-PDT: the beginning of PDT Brazil project. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2015; 12: 372.

Novos protocolos clínicos

- [11] de Bruijn HS, Casas AG, di Venosa G, *et al.* Light fractionated ALA-PDT enhances therapeutic efficacy *in vitro*; The influence of PpIX concentration and illumination parameters. *Photochemical and Photobiological Sciences*; 12. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1039/c2pp25287b.
- [12] van der Veen N, Hebeda KM, de Bruijn HS, *et al.* Photodynamic effectiveness and vasoconstriction in hairless mouse skin after topical 5-aminolevulinic acid and single- or two-fold illumination. *Photochem Photobiol* 1999; 70: 921–929.
- [13] Star W, van't Veen A, Robinson D, *et al.* Topical 5-Aminolevulinic Acid Mediated Photodynamic Therapy of Superficial Basal Cell Carcinoma Using Two Light Fractions with a Two-hour Interval: Long-term Follow-up. *Acta Dermato-Venereologica* 2006; 86: 412–417.
- [14] de Haas ER, Kruijt B, Sterenborg HJ, *et al.* Fractionated illumination significantly improves the response of superficial basal cell carcinoma to aminolevulinic acid photodynamic therapy. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2679–2686.
- [15] Mosterd K, Thissen MRTM, Nelemans P, *et al.* Fractionated 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: Results of a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology* 2008; 159: 864–870.
- [16] Sotiriou E, Apalla Z, Ioannides D. Fractionated 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in the treatment of a giant recurrent superficial basal cell carcinoma. *Photodermatology, photoimmunology & photomedicine* 2009; 25: 331–2.
- [17] Mosterd K, Thissen MRTM, Nelemans P, *et al.* Fractionated 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy vs. surgical excision in the treatment of nodular basal cell carcinoma: Results of a randomized controlled trial. *British Journal of Dermatology* 2008; 159: 864–870.
- [18] Roozeboom MH, Aardoom MA, Nelemans PJ, *et al.* Fractionated 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy after partial debulking versus surgical excision for nodular basal cell carcinoma: A randomized controlled trial with at least 5-year follow-up. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Epub ahead of print 2013. DOI: 10.1016/j.jaad.2013.02.014.
- [19] de Haas ER, Kruijt B, Sterenborg HJ, *et al.* Fractionated illumination significantly improves the response of superficial basal cell carcinoma to aminolevulinic acid photodynamic therapy. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2679–2686.
- [20] Ramirez DP, Moriyama LT, de Oliveira ER, *et al.* Single visit PDT for

- basal cell carcinoma – A new therapeutic protocol. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2019; 26: 375–382.
- [21] Salvio AG, Veneziano DB, Moriyama LT, et al. A new Photodynamic therapy protocol for nodular basal cell carcinoma treatment: effectiveness and long-term follow-up. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2021; 102668.
- [22] Warren CB, Karai LJ, Vidimos A, et al. Pain associated with aminolevulinic acid-photodynamic therapy of skin disease. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Epub ahead of print 2009. DOI: 10.1016/j.jaad.2009.03.048.
- [23] Veneziano DB, Hospitalar CR, Paula A, et al. *Relatório Epidemiológico- Registro Hospitalar de Câncer- Hospital Amaral Carvalho- Jaú - SP - 2005 A 2012*. JAÚ-SAO PAULO: 2015.
- [24] Verkouteren JAC, Ramdas KHR, Wakkee M, et al. Epidemiology of basal cell carcinoma: scholarly review. *British Journal of Dermatology*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1111/bjd.15321.

Uso de dermógrafo para otimização da entrega do creme

Michelle B. Requena¹, Ana Gabriela Salvio², José Dirceu Vollet-Filho¹ e Vanderlei S. Bagnato¹

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

² Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

O dermógrafo é um equipamento similar a uma máquina de tatuagem, mas com manuseio mais simples e que permite o acoplamento de um menor número de agulhas. Atualmente é bastante utilizado em maquiagens permanentes de aplicações estéticas ou mesmo em marcações cirúrgicas. O uso do dermógrafo relacionado à entrega de fármacos foi explorado em alguns estudos na literatura e, pela primeira vez, para otimização da entrega do creme em terapia fotodinâmica tópica no estudo que será descrito neste capítulo. O protocolo de irradiação utilizado foi o *single visit*. Foram tratadas lesões de carcinoma basocelular nodular comparando a aplicação tópica com a aplicação intradérmica por dermógrafo. Estes pacientes foram acompanhados por até 28 meses.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605425

1 Introdução

A disponibilização de pigmentos ou medicação na pele por dermógrafo se dá por capilaridade após a criação dos furos realizados por agulhas metálicas. O dermógrafo é similar à uma máquina de tatuagem, mas que apresenta um manuseio mais simples e que permite o acoplamento de um menor número de agulhas. [1] Normalmente, a penetração das agulhas pode variar de 0,1 mm a 2 mm, atingindo a derme [2], ou seja, permite uma entrega intradérmica das moléculas de interesse.

As principais aplicações cirúrgicas e estéticas que utilizam dermógrafo para disponibilizar pigmentos referem-se ao preenchimento de espaços no couro cabelo causados por alopecia areata, reconstrução estética de aréolas, mamilos e sobrancelhas, a marcação endoscópica de tumores do cólon, a modificação estética de regiões com queiloide ou vitiligo. [3] O uso de dermógrafo na disponibilização de fármacos foi relatado em estudos clínicos para a remoção de tatuagens, tratamento de verrugas vulgares [3, 4] e infusão de sulfato de bleomicina em lesões queoloideanas [2].

Dada à possibilidade mais eficiente de administração das substâncias na pele, o dermógrafo demonstrava ser uma ferramenta simples e promissora para realizar a entrega intradérmica de precursores de fotossensibilizadores em terapia fotodinâmica (TFD). Portanto, foi um dos alvos de uma tese de doutorado envolvendo estudos pré-clínicos e clínicos [5]. Neste capítulo, serão resumidos a metodologia e resultados obtidos no estudo clínico piloto e estudo clínico randomizado.

2 Estudo clínico piloto

Tanto o estudo clínico piloto quanto o estudo clínico randomizado foram desenvolvidos em parceria com a dermatologista Dra. Ana Gabriela Salvio do Departamento de Pele e partes Moles do Hospital Amaral Carvalho em Jaú, São Paulo.

Um paciente com Síndrome de Gorlin foi selecionado para o estudo

Novos protocolos clínicos

piloto, por ser afetado por múltiplas lesões de CBC [6]. O paciente de 58 anos, do sexo masculino, possuía cinco lesões nodulares de carcinoma basocelular (CBC) na perna direita e uma na perna esquerda. Os resultados deste estudo foram publicados em 2019 junto com resultados coletados em experimentos em animais. [7]

O protocolo envolveu a aplicação do creme utilizando o dermógrafo comercial brasileiro Dermaflox (Flox, São Paulo - SP, Brasil) que contém uma capsula com 9 agulhas (Figura 1) com calibração prévia de 2 mm de saída das agulhas. O procedimento de curetagem foi previamente aplicado e o protocolo de irradiação utilizado foi o do *single visit*. [8] O creme contendo 20% de cloridrato de aminolevulinato de metila de aminolevulinato de metila (M-ALA) foi manipulado na farmácia do hospital a partir do insumo produzido pela empresa PDT Pharma (Cravinhos – SP, Brasil).



Figura 1. Dermógrafo e a cápsula utilizados no estudo clínico piloto e estudo clínico randomizado.

O material coletado na curetagem foi utilizado para avaliação histopatológica assim como a biópsia por punch de 2 mm coletada 30 dias após o procedimento. Após seis meses do tratamento foi feita a avaliação clínica. Os resultados das biópsias demonstraram ausência de lesão após 30 dias da realização do tratamento. Em seis meses, a avaliação clínica

não constatou nenhuma recidiva e este resultado se manteve durante o seguimento de até 28 meses. Os resultados deste estudo piloto encorajaram a realização do estudo clínico randomizado descrito na próxima sessão.

3 Estudo clínico randomizado

3.1 Seleção de pacientes

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos; maiores de 18 anos com lesões malignas do tipo carcinoma basocelular (CBC) subtipo nodular com diâmetro máximo de 2 centímetros (lesões iniciais). Pacientes com lesões múltiplas também foram tratados, desde que cada lesão se enquadrasse nas mesmas características descritas. Foram excluídos do estudo os pacientes com alergia a qualquer um dos componentes do creme; CBC infiltrativo subtipo histológico micro-infiltrativo, esclerodermiforme e plano-cicatricial, terebrante, assim como carcinoma espinocelular ou epidermóide e melanoma; pacientes com porfiria; lesões de CBC tipo nodular maiores de 2 cm de diâmetro; menores de 18 anos; mulheres grávidas e lactantes; mulheres em idade fértil; doenças fotossensíveis, por exemplo, lúpus.

3.2 Anestesia tópica

Como a aplicação por meio de dermógrafo poderia gerar leve desconforto, antes da curetagem, foi utilizado de um anestésico tópico a base de lidocaína - 4% (Dermomax® Laboratório Ache, São Paulo, Brasil). Este anestésico foi escolhido por não ter ação de vasoconstrição para que não interferisse na ação fotodinâmica e de acordo com Contin *et al.*, este composto tem demonstrado eficácia em procedimentos injetáveis como venopunção, injeções intradérmicas, subcutâneas ou intramusculares em adultos e crianças, bem como antes de tratamentos a laser sobre a pele ou microinfusão de medicamentos. [9].

Portanto, após análise clínica da lesão, foi aplicado o anestésico,

Novos protocolos clínicos

aguardou-se 30 minutos para efeito, realizou-se a curetagem seguida da aplicação do creme. Para efeito de padronização, mesmo não no grupo que que não envolveu o uso do dermógrafo, caso da aplicação exclusivamente tópica, também foi utilizado o anestésico.

3.3 Protocolo de irradiação

Como mencionado anteriormente, foi utilizado o protocolo *single visit* de irradiação que consiste na realização de duas irradiações em um mesmo dia, sendo a primeira após 180 minutos de incubação e a segunda após mais 90 minutos de incubação. [8] Foi utilizado o sistema comercial de iluminação LINCE® (MMOptics, São Carlos – SP, Brasil), composto por LEDs centrados no comprimento de onda 630 ± 10 nm, com irradiância de 125 mW/cm^2 e fluência de 150 J/cm^2 , que leva 20 minutos para realização. [10]

3.4 Randomização

A randomização do estudo foi simples. Uma tabela guiava os profissionais do ambulatório a aplicarem a cada lesão uma das três modalidades aleatoriamente: curetagem seguida da aplicação tópica do creme (GRUPO A), curetagem seguida de aplicação do creme por dermógrafo (GRUPO B) e aplicação do creme por dermógrafo sem a curetagem prévia (GRUPO C). No GRUPO C, como não houve o processo de curetagem, a lesão foi perfurada três vezes no início do tratamento e duas vezes após a primeira irradiação.

3.5 Sequência de tratamento

Após avaliação clínica para selecionar a lesão para o estudo, era feita a assepsia da lesão, coleta de imagem clínica, medida do diâmetro médio, seguida da anestesia tópica. Após 30 minutos, realizava-se a curetagem (apenas nos grupos A e B) e o material colhido era submetido à análise histopatológica. Em seguida, aplicava-se o creme conforme a o protocolo do

grupo selecionado de forma aleatória seguindo uma tabela de randomização previamente elaborada. Assim como estudo piloto, após 30 dias do tratamento, uma biópsia com *punch* de 2 mm era feita para avaliar a presença de lesão residual e após seis meses, era feita a avaliação clínica por dermatoscopia para verificar possíveis recidivas.

A proporção de falha do tratamento e a taxa de sobrevida livre de doença foram estimadas usando a análise de sobrevida de Kaplan-Meier [11] e o teste de *log-rank* (Mantel-Cox) foi utilizado para avaliar a significância da divergência entre os protocolos aplicados, sendo consideradas significativas estatisticamente quando o valor de ‘p’ foi menor que 0,05. Esta análise foi realizada no programa Statistical Package for the Social Sciences, versão 17.0 (SPSS Inc., Chicago - IL, EUA).

3.6 Resultados e discussão

Foram tratados 69 pacientes e 106 lesões. Um paciente com 1 lesão não retornou após 30 dias do tratamento e 5 lesões não foram confirmadas como CBC na análise histopatológica e, portanto, estas 6 lesões foram desconsideradas do estudo. Portanto, neste estudo, foram tratadas e consideradas 101 lesões de 65 pacientes. Destes pacientes, 30 eram mulheres e 35 homens com média de 64 anos para ambos os sexos. Das 101 lesões, 50 foram consideradas para a aplicação tópica de creme com curetagem prévia (GRUPO A), 40 para aplicação intradérmica de creme por dermógrafo com curetagem prévia (GRUPO B) e 11 para aplicação intradérmica de creme por dermógrafo sem a curetagem prévia (GRUPO C).

Foi definido como resposta completa (RC) a porcentagem de lesões em relação ao total daquele grupo em que o resultado da biópsia coletada 30 dias após o tratamento não detectava lesão residual. Assim, a resposta parcial (RP) foi considerada para as situações em que o exame histopatológico detectava presença de CBC, ou seja, ainda restava parte

Novos protocolos clínicos

da lesão após a TFD. Os pacientes que tiveram RP foram removidos do estudo e a conduta de tratamento foi prescrita pela dermatologista responsável.

Um total de 16 lesões não foi reavaliado após seis meses de tratamento, pois estes pacientes não retornaram. Portanto as lesões avaliadas neste período restringem apenas aos pacientes que retornaram e desconsiderando os casos de RP. A taxa de recidiva para cada protocolo foi calculada considerando a porcentagem de lesões recidivas em relação ao total de lesões avaliadas após seis meses. Os resultados de cada grupo estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Resultados da avaliação de 30 dias e após seis meses da TFD para os grupos tratados, considerando as lesões de todos os diâmetros.

Total de lesões por grupo	D* médio (cm)	Total de lesões avaliadas	Lesões com RP	Taxa de RC	Total de lesões reavaliadas	nº de recidivas	Taxa de recidiva	
A	50	0,6 ± 0,3	50	3	94%	42	4	9,5%
B	40	0,7 ± 0,3	40	2	95%	28	0	0%
C	11	0,7 ± 0,3	11	8	27,3%	2	2	100%

D* refere-se ao diâmetro estimado das lesões

Fonte: REQUENA. [5]

Na avaliação de 30 dias após a TFD, a taxa de RC do GRUPO A foi de 94%. Este resultado corrobora com os resultados obtidos por Angarita *et al.*, estudo com o mesmo protocolo no qual os autores obtiveram 93,75% de RC após 30 dias. [8] Entretanto, no nosso estudo, este protocolo na avaliação clínica após seis meses do tratamento demonstrou que a taxa de recidiva foi de 9,52%.

Considerando o GRUPO B, a taxa de RC em 30 dias foi de 95% e nenhuma recidiva foi detectada após seis meses da TFD. Este fator é uma grande vantagem do procedimento, uma vez que a lesão que teve boa resposta ao tratamento em 30 dias tem menores chances de retornar.

O GRUPO C foi interrompido devido à taxa RC insatisfatória e alta taxa de recidiva verificada após seis meses do tratamento. Inicialmente, acreditava-se a curetagem poderia ser substituída pela aplicação intradérmica, mas estes resultados mostraram que a associação da curetagem à aplicação do creme é indispensável para ter taxas satisfatórias de TFD no tratamento de CBC nodular. [12–14]

Foi feita a análise pelo método de Kaplan-Meier para avaliar as curvas de sobrevida livre de doenças para cada protocolo aplicado (Figura 4). A data da última informação de cada lesão é considerada como um traço sobreposto na curva de sobrevida. No momento em que há RP ou recidiva, a porcentagem de sobrevida livre de doença diminui e um ‘degrau’ pode se observado na curva.

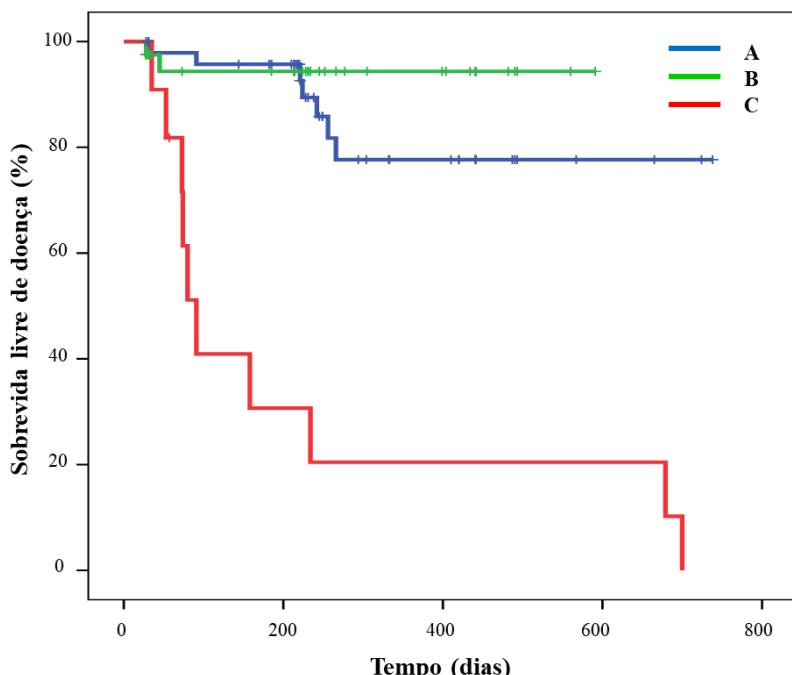


Figura 4. Curvas de porcentagem de sobrevida livre de doença em função tempo de acompanhamento dos pacientes pelo método de Kaplan-Meier. Os traços na vertical sobrepostos nas curvas de sobrevida representam a data da última informação de cada lesão.

Fonte: REQUENA. [5]

Novos protocolos clínicos

Esta análise demonstrou que o GRUPO B (aplicação intradérmica por dermógrafo com curetagem prévia) possui maior eficiência de tratamento em função do tempo, uma vez que a maior parte dos casos tratados permanece livre de doença. A partir do método estatístico de log-rank (Mantel-Cox) foi possível concluir que há alta diferença estatística ($p<0,05$) entre os grupos avaliados. A Tabela 2 contém os dados gerados pela análise de Kaplan-Meier.

Tabela 2. Parâmetros da análise da curva de sobrevida livre de doença em função tempo de acompanhamento dos pacientes pelo método de Kaplan-Meier.

Total de lesões por grupo	Lesões residuais ou recidivas	Média de tempo de sobrevida livre de doença (dias)	Desvio Padrão (dias)	Máximo de tempo de acompanhamento (dias)	Média de sobrevida livre de doença (%)
A 50	7	619	40	738	84
B 40	2	560	22	591	95
C 11	10	222	82	700	32

Fonte: REQUENA. [5]

4 Conclusão

Este estudo foi conduzido após obtenção resultados satisfatórios da eficiência na distribuição e formação da PpIX em experimentos em animais. [5] Além disso, considerando o fato de ser um equipamento de produção nacional, ter baixo custo e simples manuseio, a viabilidade de aplicação clínica tornou-se bastante relevante.

O protocolo que envolveu a aplicação do creme por dermógrafo sem curetagem prévia teve resultado insatisfatório e, por isso, foi interrompido durante o estudo. Embora a aplicação intradérmica facilite a permeação do creme e melhore a formação da PpIX em camadas mais profundas da lesão, ficou evidente que ainda há necessidade da curetagem das lesões para garantir uma maior eficiência da TFD. Nos demais grupos, as taxas de cura foram todas acima de 90%, utilizando ou não o dermógrafo após a curetagem.

Contudo, a partir da análise de Kaplan-Meier, foram observadas diferenças significativas entre a aplicação dos métodos e a aplicação do creme por dermatógrafo de destacou como o protocolo mais eficiente de tratamento em longo prazo, diminuindo os eventos de recidivas nos pacientes e, desta forma, favorecendo sua qualidade de vida e a aplicação da TFD no sistema de saúde. Portanto, pode-se considerar que os resultados obtidos neste estudo se demonstraram promissores para o aperfeiçoamento da TFD no tratamento de lesões epiteliais considerando a aplicação intradérmica do creme por dermatógrafo.

Referências bibliográficas

- [1] Van der Velden EM, Ijsselmuiden OE, Drost BH, *et al.* Dermatography with bleomycin as a new treatment for verrucae vulgaris. *Int J Dermatol* 1997; 36: 145–150.
- [2] Arbach S, Godoy CE de. Microinfusão de medicamentos na pele através de máquina de tatuagem. *Surg Cosmet Dermatol* 2013; 5: 70–74.
- [3] Garg G, Thami GP. Micropigmentation: tattooing for medical purposes. *Dermatol Surg* 2005; 31: 928–931; discussion 931.
- [4] Van der Velden EM, Defrancq J, Ijsselmuiden OE, *et al.* Applications in Surgery. *Int J Cosmet Surg Aesthetic Dermatology* 2001; 3: 151–159.
- [5] Requena MB. *Otimização da entrega de fármacos para tratamento de câncer de pele por terapia fotodinâmica*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2019.
- [6] Basset-Seguin N, Bissonnette R, Girard C, *et al.* Consensus recommendations for the treatment of basal cell carcinomas in Gorlin syndrome with topical methylaminolaevulinate-photodynamic therapy. *J Eur Acad Dermatology Venereol* 2014; 28: 626–632.
- [7] Requena MB, Russignoli PE, Vollet-Filho JD, *et al.* Use of dermograph for improvement of PpIX precursor's delivery in Photodynamic Therapy: experimental and clinical pilot studies. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019; 101599.
- [8] Ramirez DP, Moriyama LT, de Oliveira ER, *et al.* Single visit PDT for basal cell carcinoma – a new therapeutic protocol. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019; 26: 375–382.

Novos protocolos clínicos

- [9] Contin LA. Male androgenetic alopecia treated with microneedling alone or associated with injectable minoxidil by microinfusion of drugs into the skin. *Surg Cosmet Dermatology*; 8. Epub ahead of print 2016. DOI: 10.5935/scd1984-8773.201682782.
- [10] Ramirez DP, Kurachi C, Inada NM, *et al.* Experience and BCC subtypes as determinants of MAL-PDT response: Preliminary results of a national Brazilian project. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 22–26.
- [11] Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457–481.
- [12] Christensen E, Mørk C, Foss OA. Pre-Treatment Deep Curettage Can Significantly Reduce Tumour Thickness in Thick Basal Cell Carcinoma While Maintaining a Favourable Cosmetic Outcome When Used in Combination with Topical Photodynamic Therapy. *J Skin Cancer*. Epub ahead of print 2011. DOI: 10.1155/2011/240340.
- [13] Thissen MRTMRTM, Schroeter CAA, Neumann HAMAM. Photodynamic therapy with delta-aminolaevulinic acid for nodular basal cell carcinomas using a prior debulking technique. *Br J Dermatol* 2000; 142: 338–339.
- [14] Paoli J, Dahlén Gyllencreutz J, Fougelberg J, *et al.* Nonsurgical Options for the Treatment of Basal Cell Carcinoma. *Dermatol Pract Concept* 2019; 75–81.

Utilização da termografia na discriminação e no monitoramento de lesões de pele

Mirian D. Stringasci¹, Ana Gabriela Salvio², Lilian Tan Moryiama¹, David Sbrissa Neto³, Vanderlei Salvador Bagnato¹ e Cristina Kurachi¹

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

² Departamento de Pele e Partes Moles, Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

³ Departamento de ciências e tecnologia, Universidade Federal do Amapá, Macapá, Amapá, Brasil

Devido às alterações metabólicas e de vascularização, os tumores apresentam temperaturas diferentes de um tecido sadio. As câmeras termográficas modernas apresentam boa qualidade de imagem e sensibilidade para diferenciar até 0,025 °C, além de ser uma técnica segura, não invasiva e que não causa dor ou desconforto ao paciente. Em nossos estudos temos mostrado que a termografia é promissora para auxiliar no diagnóstico de lesões de pele. Ela demonstrou grande sensibilidade e especificidade na discriminação de lesões clinicamente semelhantes e, se usada em conjunto com outra técnica, como a dermatoscopia, pode aumentar o poder individual de cada técnica no diagnóstico de lesões. Além disso, sua utilização no monitoramento do tratamento de lesões, por terapia fotodinâmica ou terapia fototérmica, por exemplo, podem garantir segurança e efetividade dos tratamentos.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605427

1 Introdução

Lesões tumorais, geralmente, apresentam diferença de temperatura se comparada ao tecido sadio. Isto ocorre devido à alteração vascular e do metabolismo celular. [1] Estas lesões apresentam grande crescimento celular, que aumenta a demanda de nutrientes no local, estimulando a angiogênese, ou seja, a vascularização da região, resultando na variação da temperatura. [2]

A radiação infravermelha emitida pela sua superfície pode ser detectada utilizando a técnica de termografia. Uma câmera termográfica registra a distribuição de temperatura na superfície de um corpo, detectando uma faixa de comprimentos de onda entre 7 e 14 μm no infravermelho distante. [2]

Na área da saúde, os primeiros usos da termografia ocorreram para o diagnóstico de câncer de mama na década de 1960, porém, o avanço de outras técnicas, como a mamografia e a ultrassonografia, que demonstraram maior sensibilidade e especificidade, levaram ao desuso da termografia a partir do fim da década de 1970. [2] Ao fim dos anos 2000, as câmeras termográficas mais modernas sofreram importantes avanços. Essas câmeras tiveram melhorias tanto na qualidade de imagem quanto na velocidade de sua aquisição, além de melhorias nas lentes que resultaram em alta resolução e [3] os detectores são capazes de diferenciar variações da ordem de 0,025 °C. [2, 4]

Atualmente, aplicações médicas utilizando termografia têm despertado cada vez mais interesse, pois se trata de um técnica não-invasiva, que não causa incômodo ou dor ao paciente e é totalmente inofensiva à saúde (o paciente não recebe dose qualquer de radiação ionizante, ao contrário de outras técnicas). [5, 6]

O uso clínico da termografia tem se expandido e, além da detecção do câncer de mama, o uso para diagnóstico e monitoramento de outras doenças vêm sendo explorados, pois se sabe que a variação da temperatura de uma região pode ser alterada tanto pela presença de tumor, como por

outros fatores devido a mudanças endócrino-metabólicas e presença de inflamação. [2] Desta forma vários outros estudos vêm sendo desenvolvidos, como detecção de doenças vasculares, de distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho (LER/DORT), reumatismo, melanoma, doenças da glândula tireoide, entre outros. [7–11]

Em nosso grupo de pesquisa, vários estudos vêm sendo realizados com o uso da termografia em lesões de pele. Nestes estudos temos explorado a possibilidade de discriminar lesões clinicamente semelhantes, assim como monitorar o crescimento tumoral e o tratamento de lesões utilizando terapia fotodinâmica (TFD) e terapia fototérmica (TFT). [12–16]

2 Discriminação de lesões clinicamente semelhantes

Existem lesões que muitas vezes são clinicamente semelhantes a outras, sejam elas malignas, pré-malignas ou benignas. Ou seja, casos em que uma lesão benigna pode ter o mesmo aspecto visual de uma lesão maligna e vice-versa. O diagnóstico preciso destas lesões é de extrema importância, uma vez que as indicações de tratamentos para cada tipo de lesão podem ser completamente distintas.

Foi realizado um estudo na Fundação Hospital Amaral Carvalho com aprovação do Comitê de Ética (Parecer nº 1.171.682), no qual se buscou diferenciar lesões malignas de lesões benignas clinicamente semelhantes utilizando imagens termográficas. Foram incluídos os seguintes pares de lesões clinicamente semelhantes: carcinoma basocelular (CBC) nodular e nevo intradérmico (100 lesões de cada); carcinoma espinocelular (CEC) e queratose actínica (QA) (35 lesões de cada); melanoma e queratose seborreica pigmentada (QSP) (20 lesões de cada). [13]

A Figura 1 exemplifica uma imagem termográfica de uma lesão do tipo CEC, a região da lesão foi delimitada pelo círculo preto na imagem.

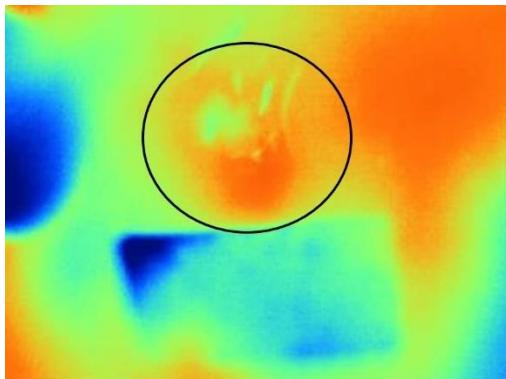


Figura 1. Imagem termográfica de uma lesão do tipo CEC. Área da lesão demarcada pelo círculo preto.

Na figura é possível observar aumento de temperatura ao redor da lesão (em vermelho), este aumento deve-se às características da lesão, como crescimento rápido e alta agressividade, o que também aumenta fatores angiogênicos. [17]

As imagens passaram por uma série de processamentos computacionais utilizando os softwares MatLab® e Weka® para utilização de um classificador binário chamado Máquina Vetorial de Suporte (MVS) para discriminar as lesões. Os valores encontrados de sensibilidade e de especificidade, ou seja, as taxas em que as lesões malignas e não malignas, respectivamente, foram identificadas corretamente estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 3. Valores de sensibilidade e especificidade para cada par de lesões clinicamente semelhante usando termografia

Lesões	Sensibilidade	Especificidade
CBC nodular e nevo intradérmico	0,74	0,64
CEC e QA	0,83	0,86
Melanoma e QSP	0,65	0,70

Se as características das lesões tivessem sido padronizadas (como tamanho, espessura e presença ou ausência de ulceração) estes valores poderiam ter sido maiores, apresentando maior poder de discriminação.

Porém, a baixa incidência de algumas lesões, como o melanoma, não permitiu que, ao longo dos 36 meses em que o estudo foi conduzido, obter número suficiente de dados de lesão. Um estudo mais longo certamente permitirá melhorar a sensibilidade e especificidade do método.

Ainda assim, os resultados sugerem que a termografia, associada a um software de processamento adequado das imagens, pode ser usada como ferramenta clínica auxiliar no diagnóstico de lesões de pele. Além disso, sugere-se que a utilização da termografia de maneira conjunta com outra técnica, como a dermatoscopia, pode melhorar o resultado individual de cada técnica na discriminação destes tipos de lesões.

A TFD tem sido indicada cada vez mais para o tratamento de CBC e de lesões pré-malignas, como as QA. Nos casos de CEC e melanoma, porém, este tratamento ainda é contraindicado devido à agressividade e o potencial de metastatização destas lesões. [18] Garantir que a lesão seja corretamente indicada à TFD é o primeiro passo para o sucesso no tratamento.

3 Monitoramento termográfico de lesões do tipo CBC tratadas com TFD

O monitoramento de 40 lesões do tipo CBC foi realizado durante a TFD usando imagens térmicas. Este estudo foi importante para melhor compreensão da conversão da dose de energia depositada no tecido durante o tratamento. [15] A figura 2 mostra um exemplo da termografia de uma lesão inicial e após uma sessão de tratamento por TFD.

No geral, as lesões demonstraram aumento de temperatura ao redor da lesão após a aplicação da luz. No processamento dessas imagens utilizando uma rotina em MatLab® para cálculo da temperatura média na região da lesão e na região circundante.

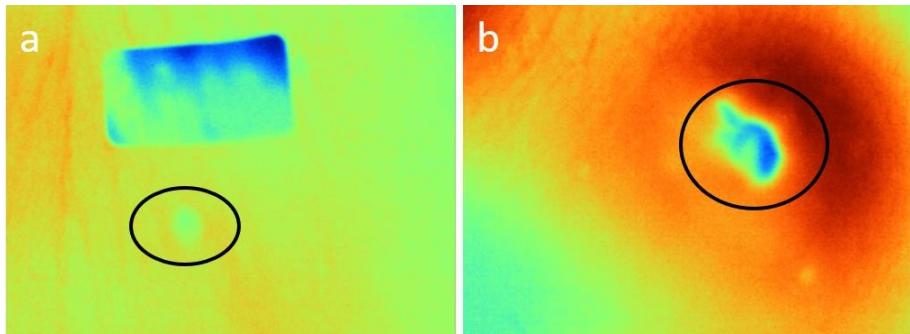


Figura 2. Imagens termográficas de uma lesão do tipo CBC durante uma sessão de TFD (a) inicialmente e (b) ao fim da irradiação.

Com base nos valores de temperaturas média calculados e equações para cálculos das taxas de energias, estimou-se que, apesar das aproximações realizadas:

- a maior parte da energia depositada é convertida em ação fotodinâmica (53,8%);
- a segunda maior parcela foi dissipada pela perfusão do sangue (37,2%);
- menos de 1% da energia total depositada se converteu em aquecimento local do tecido, demonstrando que o protocolo de TFD utilizado não apresentou componente térmica relevante para dano tecidual.

4 Monitoramento termográfico em tumor de modelo animal tratado com TFT

A TFT é uma opção de tratamento de tumores na qual um agente fototérmico se acumula nas células tumorais e, ao irradiar o tecido, a luz é absorvida por esse agente fototérmico e então convertida em calor que pode levar à morte celular por dano térmico. [19] Garantir que o tecido atinja temperaturas suficientes para causar dano é essencial para garantir a efetividade do tratamento.

Um estudo *in vivo* foi realizado com tumor induzido em pele de

camundongos. Como agente fototérmico utilizou-se o óxido de grafeno administrado sistemicamente por via intraperitoneal. O tratamento foi realizado com irradiação em comprimento de onda de 808 nm (infravermelho). Os tratamentos foram monitorados com imagens termográficas que mostraram que os tumores tratados alcançaram temperaturas de até 71,5 °C (aumento aproximado de 40 °C) causando morte tecidual na região do tumor irradiada. [16]

A termografia nesse tipo de tratamento aumenta a garantia de sua eficiência, pois é possível observar se toda área do tumor atingiu temperaturas suficientes para causar dano. Além disso, também é possível assegurar que o tecido sadio circundante não sofra aquecimento significativo para causar dano, tornando o procedimento mais seguro.

Referências bibliográficas

- [1] Gore JP, Xu LX. Thermal Imaging for Biological and Medical Diagnostics. In: Vo-dinh T (ed) *Biomedical Photonics*. 2003, pp. 446–457.
- [2] Kennedy D a, Lee T, Seely D. A comparative review of thermography as a breast cancer screening technique. *Integr Cancer Ther* 2009; 8: 9–16.
- [3] Ring FJ, Jones BF. Historical Development of Thermometry and Thermal Imaging in Medicine. In: *Medical infrared imaging - principles and practices*. 2013, pp. 2.1-2.6.
- [4] Niklaus F, Decharat A, Jansson C, et al. Performance model for uncooled infrared bolometer arrays and performance predictions of bolometers operating at atmospheric pressure. *Infrared Phys Technol* 2008; 51: 168–177.
- [5] Jones BF. A reappraisal of the use of infrared thermal image analysis in medicine. *IEEE Trans Med Imaging* 1998; 17: 1019–1027.
- [6] Kerr J, Zealand N. *Review of the effectiveness of infrared thermal imaging (thermography) for population screening and diagnostic testing of breast cancer*. 2004.
- [7] Brioschi ML, Macedo JF, Macedo RDAC. Termometria cutânea: novos conceitos. *J Vasc Br* 2003; 2: 151–160.

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

- [8] Brioschi ML, Cherem AJ, Ruiz RC, *et al.* O uso da termografia infravermelha na avaliação do retorno ao trabalho em programa rehabilitation program (PRA). *Acta Fisiatr* 2009; 16: 87–92.
- [9] Brioschi ML, Yeng LT, Matilde E, *et al.* Utilização da Imagem Infravermelha em Reumatologia Infrared Imaging Use in Rheumatology. 2007; 42–51.
- [10] Shada AL, Dengel LT, Petroni GR, *et al.* Infrared thermography of cutaneous melanoma metastases. *J Surg Res* 2013; 182: e9–e14.
- [11] Helmy A, Holdmann M, Rizkalla M. Application of thermography for non-invasive diagnosis of thyroid gland disease. *IEEE Trans Biomed Eng* 2008; 55: 1168–1175.
- [12] Stringasci MD, Moriyama LT, Salvio AG, *et al.* Thermographic diagnostics to discriminate skin lesions: a clinical study. In: Kurachi C, Svanberg K, Tromberg BJ, *et al.* (eds). 2015, p. 953135.
- [13] Stringasci MD, Salvio AG, Neto DS, *et al.* Discrimination of benign-versus-malignant skin lesions by thermographic images using support vector machine classifier. *J Appl Phys* 2018; 124: 044701.
- [14] Stringasci MD, Moriyama LT, Grecco C, *et al.* Monitoring of Ehrlich tumor growth using thermal image. In: *Biomedical Optics 2016*. Washington, D.C.: OSA, 2016, p. JM3A.40.
- [15] Stringasci MD, Salvio AG, Moriyama LT, *et al.* Energy analysis of PDT using thermography during the treatment of basal cell carcinoma. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 29: 101586.
- [16] Romero MP, Buzzo HH, Stringasci MD, *et al.* Graphene Oxide Theranostic Effect: Conjugation of Photothermal and Photodynamic Therapies Based on an *in vivo* Demonstration. *Int J Nanomedicine* 2021; Volume 16: 1601–1616.
- [17] Dornelas MT, Rodrigues MF, Machado DC, *et al.* Expressão de marcadores de proliferação celular e apoptose no carcinoma espinocelular de pele e ceratose actínica. *An Bras Dermatol* 2009; 84: 469–475.
- [18] Morton C, Szeimies RM, Sidoroff A, *et al.* European dermatology forum guidelines on topical photodynamic therapy. *Eur J Dermatology*; 25. Epub ahead of print 2015. DOI: 10.1684/ejd.2015.2570.
- [19] Jianbo C, Hengqing A, Xinglu H, *et al.* Monitoring of the tumor response to nano-graphene oxide-mediated photothermal/photodynamic therapy by diffusion-weighted and BOLD MRI. *Nanoscale* 2016; 8: 10152–10159.

Princípios do uso de tempo de vida de fluorescência na caracterização e diagnóstico de lesões

Camila de Paula D'Almeida, Giancarlo de Souza, José Dirceu Vollet-Filho, Cristina Kurachi

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

As técnicas ópticas de diagnóstico baseadas na fluorescência são as mais empregadas, principalmente devido à maior simplicidade da instrumentação, ao menor custo e à portabilidade, quando comparados a outras técnicas. Nas últimas décadas, o desenvolvimento de métodos de diagnóstico por fluorescência vem sendo explorados para o diagnóstico do câncer. Este capítulo descreve de forma sucinta os fundamentos físicos da técnica de tempo de vida de fluorescência, sua detecção, a importância da taxa redox, suas metodologias e aplicações.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605429

1 Introdução

A etapa do diagnóstico clínico é essencial no exercício das diversas especialidades médicas e de grande relevância para o planejamento do tratamento e seguimento do paciente. Especialmente na área da Oncologia, o diagnóstico precoce tem direta correlação com maior taxa de sobrevida e menor morbidade associada ao tratamento do paciente. O diagnóstico do câncer em tecidos moles é inicialmente realizado através da anamnese, com o questionamento sobre o histórico clínico do paciente e da evolução da lesão, seguido pelo exame clínico e, quando da suspeita de malignidade, pela biópsia e análise histopatológica, esta considerada o método padrão-ouro. O exame clínico inclui a visualização sob luz branca (iluminação padrão) para a identificação de alterações na coloração, textura e volume, e a palpação para verificação da consistência e fixação da lesão.

As maiores limitações do diagnóstico clínico advêm da similaridade das características das lesões de câncer em estágios iniciais, com alterações benignas e/ou lesões de componente inflamatório, condições bem mais incidentes, e da subjetividade associada à identificação dos aspectos de malignidade dependente da experiência e formação do profissional de saúde. Adicionalmente, a escolha do sítio da biópsia incisional também é uma etapa crítica do diagnóstico clínico, uma vez que a lesão de carcinoma, principal tipo de câncer dos tecidos moles, pode apresentar diferentes padrões histológicos, inclusive de alterações apenas hiperplásicas ou de displasias entremeando o câncer, havendo assim a chance de um diagnóstico falso caso essas regiões forem coletadas para a análise histológica.

As técnicas ópticas são apontadas como ferramentas auxiliares atrativas para o diagnóstico por serem métodos objetivos não-invasivos e não-destrutivos com especificidade para alterações bioquímicas e/ou estruturais associadas ao câncer, e para obtenção de resposta rápida [1–3]. As técnicas ópticas baseadas na fluorescência são as mais empregadas,

principalmente devido à maior simplicidade da instrumentação, ao menor custo e à portabilidade, quando comparados a métodos baseados na coerência óptica ou espalhamento Raman, por exemplo. Nas últimas décadas, o desenvolvimento e a validação de métodos de diagnóstico por fluorescência vem sendo explorados para o diagnóstico do câncer. [4–14]

Nas próximas seções descreveremos os fundamentos físicos da técnica de tempo de vida de fluorescência e, na sequência, suas aplicações.

2 Princípios do fenômeno de fluorescência

Para descrever adequadamente as características únicas da técnica de tempo de vida de fluorescência, é preciso observar alguns detalhes físicos da geração desse processo.

Quando a luz interage com a matéria, os fótons podem ser espalhados ou absorvidos. No processo de espalhamento, a luz emitida tem comprimento de onda igual (reflexão) ou bastante próximo (Raman) da radiação incidente. Já no processo de absorção de luz, a molécula sofre um aumento de energia que a leva a um estado quântico excitado e, quando isso ocorre, a molécula pode retornar ao estado de menor energia através de processos radiativos ou não radiativos. No último, a energia é dissipada por relaxação vibracional ou transferência energia a outras moléculas presentes no ambiente. Já nos processos radiativos, há a emissão de fótons de energias menores e comprimentos de onda maiores do que a luz incidente, a estes processos radiativos é dado o nome de luminescência. Às moléculas apenas absorvedoras de luz, dá-se o nome de cromóforos, mas se essa molécula converte a energia da luz absorvida em luminescência, ela é denominada um fluoróforo.

Os processos de luminescência podem ainda ser divididos em dois tipos, dos quais dependem do tempo médio entre a absorção e a emissão de fótons: *fluorescência*, que ocorre sem a alteração do estado de *spin* dos elétrons de valência (ocorrendo entre singuleto-singuleto ou triplete-triplete), e que implica em processos de emissão rápidos (“quase instantâneos”, com

duração da ordem de nanossegundos) e *fosforescência*, que ocorre de forma a mudar a configuração de *spin* dos elétrons de valência (ocorrendo entre singuleto-triplet ou triplet-singuleto) e implicando em processos mais lentos (podendo demorar de milissegundos a minutos) [15, 16]. O diagrama de Jablonski simplificado (Figura 1) ilustra, em função dos níveis quânticos, o processo de absorção e conversão de energia sofrido por uma molécula.

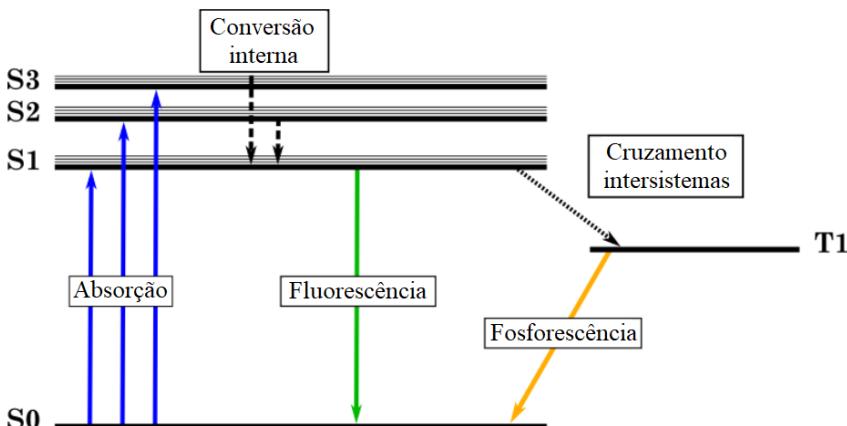


Figura 1. Diagrama de Jablonski simplificado, no qual a distância entre os estados representa a diferença de energia entre os mesmos. Primeiramente, a molécula absorve um fóton e é levada de um estado fundamental singuleto (S_0) a um dos estados excitados da forma singuleto. Há conversão interna até atingir o menor nível de energia do estado excitado singuleto. Na fluorescência, ocorre a emissão de um fóton a partir desse estado de energia. Já na fosforescência, ainda ocorre cruzamento intersistema, levando a molécula a um estado excitado de multiplicidade de spin diferente (no caso, triplet) o que, por fim, leva à emissão de um fóton a partir desse último estado de energia após um tempo mais prolongado que na fluorescência.

O processo de absorção de energia típico ocorre em intervalos de tempo da ordem de 10^{-15} segundos (femtossegundos). Uma vez em estados excitados mais energéticos que o primeiro estado excitado singuleto, ocorrem conversões internas que dissipam energia através de vibrações moleculares, colisões ou transferência de energia com outras moléculas. Este processo demora um intervalo de tempo da ordem de 10^{-12} segundos

(picossegundos).

A conversão de energia do primeiro estado excitado para o estado fundamental através de fluorescência pode ocorrer através da fluorescência ou fosforescência. O *tempo de vida de fluorescência*, isto é, o intervalo de tempo que a molécula permanece no estado excitado antes de emitir um fóton a partir do primeiro estado excitado singuleto (ou triplete) é da ordem de 10^{-9} segundo (nanossegundos), mas é altamente dependente do microambiente da molécula, podendo ser alterado por interações intermoleculares ou com as características do meio no qual a molécula está presente, como pH e temperatura. Já a fosforescência tem tempo de vida da ordem de 10^{-3} segundos (milissegundos), devido às conversões intersistemas e mudanças de *spin* que ocorrem antes da emissão do fóton.

A fluorescência pode ser detectada em termos da sua intensidade, das diferenças de comprimento de onda, da anisotropia (relacionada com a heterogeneidade de características do meio), do tempo e da sua modulação de fase (Figura 2). Através destas informações é possível determinar diferenças entre moléculas.

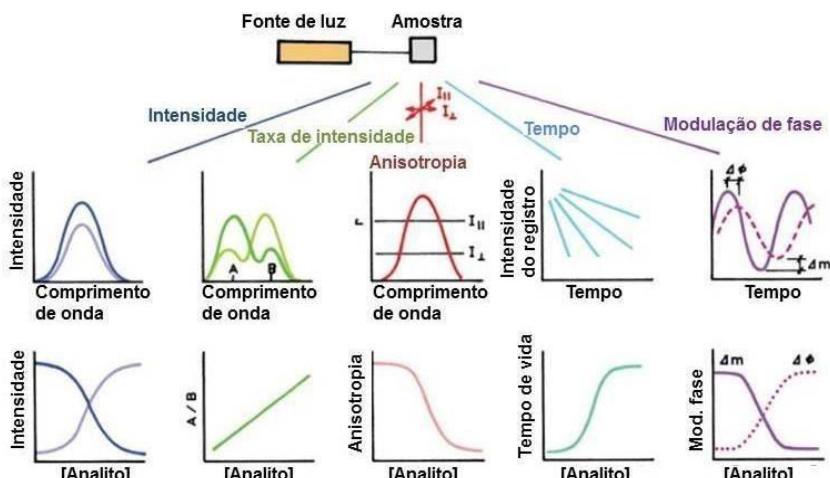


Figura 2. Técnicas de detecção de fluorescência. Da esquerda para a direita: detecção utilizando intensidade, razão entre picos, anisotropia, tempo de vida de fluorescência, e modulação de fase. Os “analitos” representam as moléculas investigadas. Fonte: Adaptado de Lakowicz [15].

A intensidade de fluorescência e a forma de seu espectro é resultado de um conjunto de diversos fatores, tais como: eficiência quântica da reação de fluorescência (\mathcal{E}), concentração do fluoróforo (C), energia do fóton incidente ($h \cdot v$, onde h é a constante de Planck e v é a frequência da onda eletromagnética), eficiência de coleta da fluorescência pelo sistema (E), coeficiente de extinção molar do fluoróforo (ϵ) e intensidade da radiação de excitação (Φ), além das condições do solvente ou material em que o fluoróforo está presente, como pH e temperatura. Desse modo, a intensidade de fluorescência não dependente do tempo (F_{t-i}) é relacionada com os parâmetros através da equação 1:

$$F_{t-i} = \frac{\Phi \cdot E \cdot \epsilon \cdot \mathcal{E} \cdot C}{h \cdot v} \quad (1)$$

Da mesma forma, pode-se mensurar a intensidade de fluorescência dependente do tempo baseada no número de moléculas excitadas ($n(t)$) em função do tempo (t). Essa relação é dada pela equação 2:

$$\frac{dn(t)}{dt} = (\Gamma + k_{nr}) \cdot n(t) \quad (2)$$

sendo Γ a taxa de emissão e k_{nr} é a taxa decaimento não radiativo. Como a emissão do fóton é aleatória, a solução da equação 2 é um decaimento exponencial para a população de moléculas excitadas: $n(t) = A \cdot e^{-t/(\Gamma+k_{nr})}$.

Portanto, as duas formas de realizar a medida de fluorescência (estacionária ou resolvida no tempo) podem ser usadas como ferramenta de análise de amostras e tecidos biológicos. Nos próximos tópicos serão abordadas técnicas e moléculas alvo para o uso da fluorescência como ferramenta de diagnóstico.

3 Fluorescência endógena (fluoróforos e cromóforos)

Nos tecidos biológicos como a pele, a absorção de luz ocorre através de moléculas como melanina, proteínas estruturais, lipídios, hemoglobinas e água. As duas primeiras possuem capacidade de absorção de luz principalmente nos comprimentos de onda da radiação ultravioleta e do espectro visível; a água possui capacidade de absorção da luz principalmente em comprimentos de onda do espectro infravermelho; e as hemoglobinas apresentam absorção da luz de um amplo espectro de comprimentos de onda [17, 18].

Algumas moléculas presentes no tecido biológico possuem, ainda, a capacidade de emitir luz através do processo de fluorescência. Os principais fluoróforos são o triptofano, o dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH), o dinucleótido de flavina e adenina (FAD), a elastina, o colágeno, as porfirinas e a melanina [17].

A Figura 3 mostra o espectro de absorção de algumas moléculas presentes em tecidos biológicos.

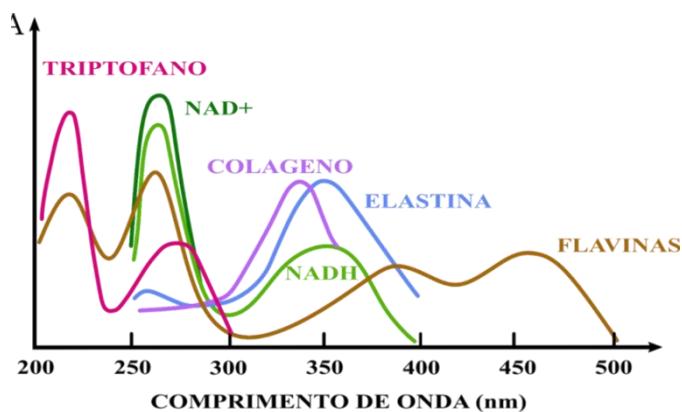


Figura 3. Espectro de absorção de importantes cromóforos presentes em tecidos biológicos. Adaptado de Yang Pu, Robert R. Alfano, 2015 [19].

O triptofano é um aminoácido fluorescente que está presente em todas as formas de vida por se tratar de um bloco de construção essencial para formação de proteínas e, portanto, é o maior responsável pela

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

fluorescência advinda de proteínas. O NADH e o FAD são coenzimas que protagonizam papéis de carreadores de elétrons e estão diretamente envolvidos na cadeia respiratória celular podendo, desse modo, ser utilizados para monitoramento de taxas metabólicas de um tecido. As porfirinas presentes nas estruturas da hemoglobina são responsáveis pelo transporte de gases nos processos respiratórios, sendo assim, podendo ser alvo de estudo para monitoramento da oxigenação em tecidos; por fim, o colágeno e a elastina são proteínas estruturais responsáveis pela elasticidade e estruturação dos tecidos biológicos.

Os espectros de emissão de fluorescência de alguns fluoróforos são mostrados na Figura 4. Os outros pigmentos fluorescentes presentes são a melanina e a lipofuscina. A melanina é produzida pelos melanócitos sendo responsável pela coloração da pele e tem uma função importante de fotoproteção [17, 20].

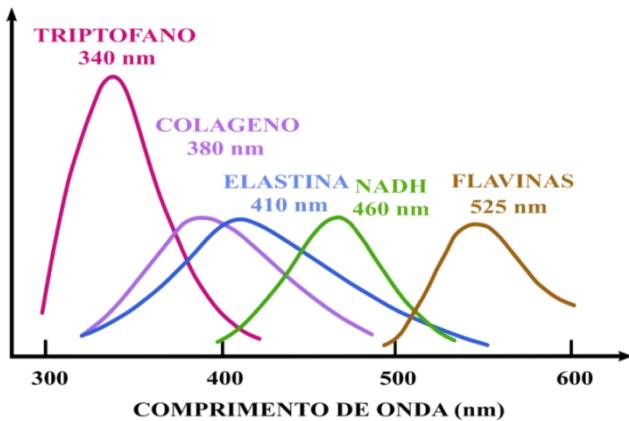


Figura 4. Espectro de emissão de fluorescência de importantes moléculas presentes em tecidos biológicos. Adaptado de Yang Pu, Robert R. Alfano, 2015 [19].

Para o estudo de sistemas vivos, a autofluorescência, ou seja, a fluorescência nativa destas moléculas supracitadas é a melhor forma de adquirir informações de uma amostra, pois através dela é possível realizar medidas de forma não invasiva, em tempo real e sem a interferência da adição de marcadores externos. Em tecidos biológicos, a contribuição de

todos os fluoróforos, assim como as quantidades relativas de cada um e a presença de absorvedores, resultará na fluorescência nativa detectada.

4 Técnicas de detecção de fluorescência

As técnicas de espectroscopia de fluorescência podem se basear em medidas de fluorescência estacionária ou fluorescência resolvida no tempo. As primeiras são mais comuns e demandam equipamentos mais simples, e são feitas expondo a amostra a um comprimento de onda específico (excitação) e coletando a intensidade de luz emitida (emissão). As medidas resolvidas no tempo, por sua vez, requerem uma instrumentação mais complexa, que permite verificar o decaimento da intensidade de fluorescência em um curto intervalo de tempo após a excitação da amostra e, com isso, determinar o tempo de vida de fluorescência [15, 21–23].

As informações obtidas por meio da espectroscopia de fluorescência resolvida no tempo são complementares às que são medidas com fluorescência estacionária e, ao contrário dessa última técnica, o tempo de vida de fluorescência não depende da concentração de fluoróforos por detectar uma informação que é característica das moléculas fluorescentes. Além disso, é menos suscetível a variações causadas pelo espalhamento, não uniformidade da iluminação e comprimento de onda de excitação [24].

Os dois tipos de espectroscopia de fluorescência apresentados (estacionária e resolvida no tempo) podem ser mensurados de forma pontual ou por imagem. No caso das imagens, estas podem ser microscópicas ou de campo amplo.

Imagens de campo amplo de fluorescência apresentam intensidades de emissão dentro de uma faixa espectral e, por isso, não possuem informações espetrais detalhadas (como intensidade em função do comprimento de onda). Mesmo sendo menos quantitativa e de menor correlação bioquímica que a espectroscopia, essa técnica tem um maior potencial de translação clínica pela maior familiaridade da informação diagnóstica para o clínico, além de ter uma instrumentação de menor

custo e maior portabilidade [25, 26].

Uma aplicação clínica das imagens de campo amplo de fluorescência é voltada para análise de queilite actínica, que é uma lesão potencialmente malignizável de lábio, causada por ação cumulativa e prolongada da radiação ultravioleta solar. Usualmente, a queilite actínica acomete toda extensão do lábio, principalmente o inferior, com heterogeneidade de aspectos clínicos e histopatológicos, podendo variar de normal a quadros de displasia leve, moderada e severa, inclusive na mesma lesão.

O manejo da queilite actínica depende do grau de displasia presente. Para a displasia leve, apenas o acompanhamento clínico e histológico da lesão é indicado. Já nos casos de displasia moderada ou severa, o tratamento deve ser realizado para evitar a progressão da lesão para carcinoma. Desta forma, a seleção do sítio de biópsia de um lábio com queilite actínica tem grande influência na prevenção do câncer de lábio e preservação do paciente.

Para casos de queilite actínica, as imagens de fluorescência de campo amplo apresentam claramente um aumento do contraste na visualização das heterogeneidades do lábio com queilite actínica quando comparado às imagens feitas sob iluminação branca. Essa diferença pode ser observada nas Figuras 5a e 5b. Para otimizar a análise, esse padrão pode ser verificado com a classificação dos *pixels* em função da intensidade de fluorescência detectada, podendo ser gerado um algoritmo de discriminação entre tecido normal e lesão [7].

Outro exemplo da aplicação de imagem de fluorescência é na discriminação do melanoma cutâneo. Apesar de não apresentar alta incidência, o melanoma é o tipo de câncer de pele que requer maior atenção devido à pobre resposta aos tratamentos convencionais, especialmente quando diagnosticado em estágios avançados, resultando em baixa taxa de sobrevida. Em estágios iniciais, o melanoma pode ser clinicamente semelhante a uma alteração benigna bastante incidente: a queratose seborreica pigmentada, o que potencializa o atraso do

diagnóstico correto, em especial, em regiões do país em que o acesso a médicos especialistas é limitado.

Nesse contexto, a técnica de fluorescência aplicada a imagens de campo amplo é uma ferramenta que auxilia na classificação das lesões. Nas imagens de fluorescência, é evidente a discriminação do melanoma cutâneo pela ausência de estruturas altamente fluorescentes no interior da lesão, como é possível ver por comparação das Figuras 5c e 5d. Essas estruturas podem ser associadas ao pseudocisto córneo, sendo a grande quantidade de queratina responsável pela alta emissão da fluorescência na região espectral entre 450-550 nm quando excitada entre 400-450 nm [27].

A visualização é em tempo real e pode ser utilizada para observação rápida de grandes áreas do corpo humano. Nesse caso, a triagem dos pacientes pode ser facilmente executada por profissionais da enfermagem ou agentes de saúde e, em casos de identificação do melanoma, o paciente pode ser mais rapidamente encaminhado para o atendimento especializado.

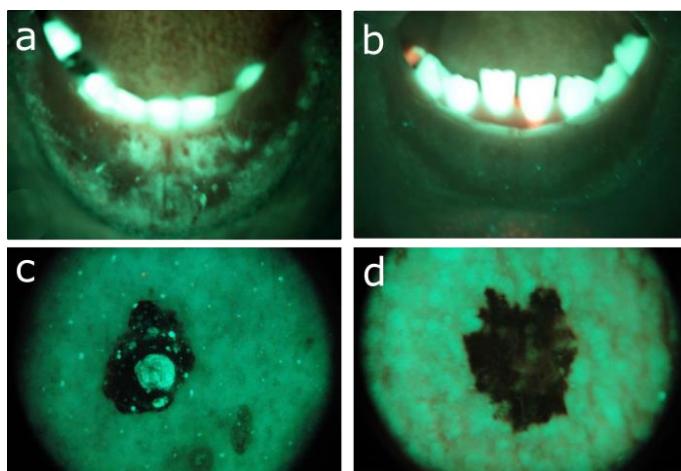


Figura 5. Imagens de fluorescência de campo amplo de a) lábio de paciente com queilite actínica, b) lábio saudável de outro paciente, c) queratose seborreica e d) melanoma.

5 Tempo de vida de fluorescência e a taxa redox óptica

O tempo de vida de fluorescência (τ) é o tempo médio que os elétrons excitados das moléculas fluorescentes demoram para decair para o estado fundamental de energia, emitindo luz. Esse tempo médio representa o tempo em que a maioria dos elétrons sofreu esse decaimento, sendo, portanto um parâmetro estatístico. Também é definido no formalismo matemático como o inverso da soma das constantes de todos os caminhos possíveis para esse decaimento, que envolvem transições radiativas (k_r) e não radiativas (k_{nr}), de acordo com a equação 3. Isso quer dizer que cada transição que ocorra entre dois estados que gera ou não fluorescência afeta o tempo médio de decaimento. Como essas diferentes transições são afetadas por suas interações com outras moléculas circundantes, esse parâmetro é dependente não só da molécula-alvo, mas também da sua conformação e microambiente, já que a presença de outras moléculas próximas pode interferir nas taxas de decaimento, por possibilitar mais caminhos para que ela volte ao estado de menor energia [15].

$$\tau = \frac{1}{\sum(k_r + k_{nr})} \quad (3)$$

No caso de se ter somente um tipo de molécula em uma amostra homogênea, o decaimento da intensidade de fluorescência ao longo do tempo pode ser descrito por uma equação mono-exponencial (ou seja, um decaimento exponencial simples) tendo, portanto, somente um parâmetro de tempo de vida que representa a amostra. No entanto, variações de conformação e microambiente alteram esse decaimento, adicionando mais parâmetros ao ajuste teórico da curva de decaimento, como mostrado na equação 4.

$$I(t) = \sum_i \alpha_i e^{-t/\tau_i} \quad (4)$$

Esta equação simplesmente soma os efeitos e pesos desses fatores, tal que α_i são as amplitudes de cada fator exponencial (os “pesos”) e τ_i são os tempos de vida de cada fluoróforo (ou de um mesmo, em diferentes condições).

Para o caso de haver mais de uma componente exponencial, pode-se calcular um tempo de vida médio (τ_m) para a amostra, de acordo com a Equação 5. O uso dessa média é conveniente principalmente em casos em que há pequenas diferenças de τ para condições semelhantes, e em determinadas condições, o tempo de vida obtido é de fato a média de efeitos dificilmente distinguíveis.

$$\tau_m = \sum_i \alpha_i \tau_i \quad (5)$$

Para detecção de mudanças metabólicas, os principais fluoróforos investigados em tecidos são o NADH e o FAD. Cada um deles possui tempos de vida de fluorescência característicos em suas formas livres ou ligadas. Além disso, esses tempos de vida variam de acordo com as alterações metabólicas do tecido e, por isso, podem contribuir para investigações clínicas não invasivas, como no caso de lesões de pele e mucosas acessíveis pelas sondas de investigação.

Quando medidos separadamente, o NADH e o FAD possuem um decaimento temporal de fluorescência que é bem descrito por uma equação bi-exponencial, ou seja, a função que melhor descreve a curva de decaimento da intensidade de fluorescência possui duas componentes e, portanto, dois tempos de vida. Para o NADH o menor tempo de vida está relacionado ao estado livre da molécula, enquanto o maior está associado ao estado ligado. Já para o FAD, o menor tempo de vida se refere ao estado ligado e o maior ao estado livre. Sendo assim, os coeficientes e tempos de vida associados ao decaimento de fluorescência dessas duas moléculas são parâmetros bastante importantes para monitorar o metabolismo celular, uma vez que assim se pode medir a porcentagem de NADH ligado,

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

associado à fosforilação, e NADH livre, envolvido na glicólise. Usualmente o aumento na quantidade de NADH é observado em tecidos neoplásicos [28, 29].

Apesar de as técnicas de fluorescência resolvidas no tempo serem de grande importância para acessar as taxas metabólicas, as medidas de fluorescência estacionária são mais amplamente usadas para isso. Um método óptico muito utilizado para avaliação metabólica é a avaliação da taxa de oxirredução ou taxa redox óptica. Essa taxa é definida como a razão entre a intensidade de fluorescência do NADH e do FAD. Esse parâmetro fornece uma variação relativa das intensidades de NADH e FAD, e é sensível a mudanças nas taxas metabólicas e suprimento de oxigênio vascular [29–33]. O aumento na atividade celular observado em células está usualmente relacionado a um aumento da taxa redox.

6 Técnicas de tempo de vida de fluorescência

O acesso a informações de microambiente celular permite o entendimento de dinâmicas biológicas e processos bioquímicos em células e tecidos. Com isso, é possível investigar quais processos estão envolvidos em determinadas alterações biológicas, além de avaliar a eficiência de tratamentos aplicados. Além disso, sendo a emissão de fluorescência característica da configuração eletrônica e *spintrônica* das moléculas e de suas conformações, a combinação de suas características servem como uma espécie de “impressão digital”, que permite identificar e monitorar alterações dessas biomoléculas e dos tecidos constituídos por elas. Como as técnicas de fluorescência resolvida no tempo podem ser empregadas de forma não destrutiva e não invasiva, elas têm um grande potencial para serem usadas em aplicações biológicas e médicas.

Além da capacidade da técnica empregada, outro fator relevante que facilita seu uso em ambientes clínicos é a portabilidade do equipamento. Pensando nisso, o Grupo de Óptica do IFSC/USP desenvolveu um sistema portátil de fluorescência que faz medidas espectrais e de tempo de vida,

interrogando as amostras de forma pontual com auxílio de uma ponteira, como mostrado nas Figuras 6a e 6c. O sistema foi montado com dois lasers de excitação, com emissões um em 378 nm e o outro em 445 nm, visando à absorção por relevantes fluoróforos endógenos presentes nos tecidos biológicos, principalmente mucosas e pele.

Esse equipamento foi utilizado para investigar melanoma em modelo animal, analisando preferencialmente o sinal do NADH e FAD, e apresentou um grande potencial de distinção entre melanoma e tecido saudável. Foram observados valores maiores de tempo de vida de fluorescência em melanoma, comparado com o tecido normal, caracterizando a diferença na composição e no microambiente das biomoléculas destes tecidos [22].

Essa mesma avaliação óptica também foi realizada em lesões de queilite actínica, e demonstrou capacidade de discriminação entre displasia leve, moderada/severa e tecido normal em função do tempo de vida de fluorescência das amostras.

Em outro ensaio clínico, foram investigados, com esse mesmo equipamento, diferentes tipos de neoplasias cutâneas (carcinoma basocelular, carcinoma espinocelular e melanoma), lesões potencialmente malignizável (queratose actínica) e alterações benignas com características clínicas similares (queratose seborreica pigmentada, nevus hipocrômico, dentre outras). Foi possível observar que as amplitudes dos fatores das exponenciais resultaram em uma maior separação dos tipos teciduais quando comparados com os próprios valores de tempo de vida de fluorescência.

Também foi desenvolvido um equipamento de imagem multiespectral de tempo de vida de fluorescência (FLIm, do inglês *multiespectral Fluorescence Lifetime Imaging* [34]) para uso clínico. O sistema conta com um campo de visão de 8,65 x 8,65 mm² e leva aproximadamente 2 segundos para fazer uma imagem, o que permite que seja inserido em rotinas clínicas e possibilita análise de áreas inteiras de lesões. A escolha

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

do laser de excitação em 335 nm e das regiões espectrais de detecção foram baseadas na literatura científica disponível na área de diagnóstico de câncer para investigar algumas biomoléculas-alvo, especialmente NADH, FAD, colágeno, elastina e melanina. Imagens deste equipamento são apresentadas nas Figuras 6b e 6d [35].

A partir das medidas obtidas com esse equipamento FLIm, é possível analisar imagens que contém informações de fluorescência em cada ponto, como: intensidade absoluta, intensidade normalizada, tempo de vida médio, tempo de vida longo e o peso da componente do tempo de vida.

Esses biomarcadores ópticos foram usados para diferenciar diferentes tipos de lesões de pele, sendo algumas alterações teciduais que apresentam pares clinicamente semelhantes: nevo intradérmico e carcinoma basocelular; queratose seborreica pigmentada e melanoma; carcinoma espinocelular. Os resultados deste ensaio clínico mostraram efetividade das imagens resultantes desse equipamento associadas a métodos de classificação utilizando aprendizado de máquina no diagnóstico do câncer de pele [34].

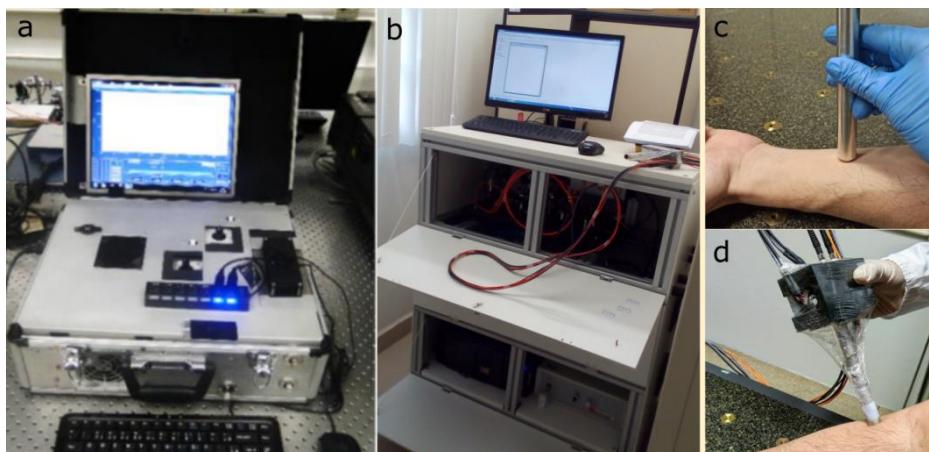


Figura 6 - Fotos de equipamentos portáteis de uso clínico para medidas de tempo de vida de fluorescência (a) pontual e (b) por imagem, com suas respectivas ponteiras, apresentadas em (c) e (d).

7 Perspectivas

O uso das características de emissão de fluorescência tecidual para o diagnóstico e o monitoramento de alterações teciduais é um campo crescente a ser explorado. O desenvolvimento de ferramentas de detecção portáteis e o aprofundamento na compreensão de como diferentes condições clínicas e bioquímicas podem modificar os tempos de vida de fluorescência das biomoléculas presentes no tecido deverão permitir contribuições cada vez mais relevantes para o diagnóstico clínico, possibilitando a criação de instrumentos e bancos de dados que tornem possível distinguir lesões e monitorar alterações de tecidos, com consequências importantes para o auxílio no diagnóstico oncológico e de lesões pré-malignas.

Referências bibliográficas

- [1] Tuan Vo-Dinh. *Biomedical Photonics Handbook, 3 Volume Set.* 2014.
- [2] Wilson BC, Jermyn M, Leblond F. Challenges and opportunities in clinical translation of biomedical optical spectroscopy and imaging. *J Biomed Opt* 2018; 23: 1.
- [3] J. Mobley, T. Vo-Dinh VVT. *Biomedical Photonics Handbook, Second Edition: Fundamentals, Devices, and Techniques.* 2014.
- [4] Pires L, Nogueira MS, Pratavieira S, et al. Time-resolved fluorescence lifetime for cutaneous melanoma detection. *Biomed Opt Express* 2014; 5: 3080–9.
- [5] Campos CP, D’Almeida CP, Nogueira MS, et al. Fluorescence spectroscopy in the visible range for the assessment of UVB radiation effects in hairless mice skin. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2017; 20: 21–27.
- [6] Cosci A, Nogueira MS, Prataviera S, et al. Time-resolved fluorescence spectroscopy for clinical diagnosis of actinic cheilitis: erratum. *Biomed Opt Express* 2018; 9: 648.
- [7] Takahama Junior A, Kurachi C, Cosci A, et al. Usefulness of tissue

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

- autofluorescence imaging in actinic cheilitis diagnosis. *J Biomed Opt* 2013; 18: 076023.
- [8] Saito Nogueira M, Cosci A, Teixeira Rosa RG, *et al.* Portable fluorescence lifetime spectroscopy system for in-situ interrogation of biological tissues. *J Biomed Opt* 2017; 22: 1.
- [9] Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, *et al.* Comparison of multispectral wide-field optical imaging modalities to maximize image contrast for objective discrimination of oral neoplasia. *J Biomed Opt* 2010; 15: 066017.
- [10] Cosci A, Takahama A, Correr WR, *et al.* Automated algorithm for actinic cheilitis diagnosis by wide-field fluorescence imaging. *J Med Imaging* 2016; 3: 044004.
- [11] Roblyer D, Richards-kortum R, Sokolov K, *et al.* NIH Public Access. 2014; 13: 1–19.
- [12] Roblyer D, Kurachi C, Stepanek V, *et al.* Objective detection and delineation of oral neoplasia using autofluorescence imaging. *Cancer Prev Res* 2009; 2: 423–431.
- [13] Nogueira MS. *Fluorescence lifetime spectroscopy for diagnosis of clinically similar skin lesions*. 2016.
- [14] Pratavieira S. *Montagem e caracterização de um microscópio óptico não linear para imagens de tecidos biológicos*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2014.
- [15] Lakowicz JR. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer International Publishing, 2006.
- [16] Valentine RM, Ibbotson SH, Wood K, *et al.* Modelling fluorescence in clinical photodynamic therapy. *Photochem Photobiol Sci* 2013; 12: 203–213.
- [17] Prasad P. *Introduction to Biophotonics*. John Wiley & Sons, Inc., 2003.
- [18] Marcu L, French P ED. *Fluorescence Lifetime Spectroscopy and Imaging Principles and Applications in Biomedical Diagnostics*. Taylor & Francis Inc., 2014.

- [19] Pu Y, Alfano RR. Optical biopsy - a new armamentarium to detect disease using light. *Opt Biopsy XIII Towar Real-Time Spectrosc Imaging Diagnosis* 2015; 9318: 93180U.
- [20] Niemz MH. *Laser-Tissue Interactions*. Springer International Publishing, 2007.
- [21] Campos CP, D'Almeida CP, Nogueira MS, et al. Fluorescence spectroscopy in the visible range for the assessment of UVB radiation effects in hairless mice skin. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2017; 20: 21–27.
- [22] Pires L, Nogueira MS, Pratavieira S, et al. Time-resolved fluorescence lifetime for cutaneous melanoma detection. *Biomed Opt Express* 2014; 5: 3080.
- [23] Morphology TC. Biophotonics, Tryptophan and Disease.
- [24] Suhling K, Hirvonen LM, Levitt JA, et al. Fluorescence lifetime imaging (FLIM): Basic concepts and some recent developments. *Med Photonics* 2015; 27: 3–40.
- [25] Pratavieira S, Andrade, CT, Salvio, AG, et al. Optical Imaging as Auxiliary Tool in Skin Cancer Diagnosis. In: *Skin Cancers - Risk Factors, Prevention and Therapy*. 2011. Epub ahead of print 2011. DOI: 10.5772/25465.
- [26] Kurachi C, Moriyama LT, Cosci A. Laser and antimicrobial photodynamic therapies in cancer patients Optical diagnosis of cancer and potentially malignant lesions.
- [27] Sálvio AG, Inada NM, Bagnato VS, et al. The use of light-emitting diode imaging as exclusion criterion for melanoma diagnosis. *J Am Acad Dermatol* 2019; 80: e49–e50.
- [28] Skala MC, Riching KM, Bird DK, et al. *In vivo* Multiphoton Fluorescence Lifetime Imaging of Proteinbound and Free NADH in Normal and Pre-cancerous Epithelia. *J Biomed Opt* 2007; 12: 1–19.
- [29] Skala MC, Riching KM, Gendron-Fitzpatrick A, et al. *In vivo* multiphoton microscopy of NADH and FAD redox states, fluorescence lifetimes, and cellular morphology in precancerous epithelia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 19494–19499.

Técnicas ópticas para diagnóstico e processamento de dados

- [30] Chance B, Schoener B, Oshino R, *et al.* Oxidation-reduction ratio studies of mitochondria in freeze-trapped samples. NADH and flavoprotein fluorescence signals. *J Biol Chem* 1979; 254: 4764–4771.
- [31] Ramanujam N, Richards-Kortum R, Thomsen S, *et al.* Low Temperature Fluorescence Imaging of Freeze-trapped Human Cervical Tissues. *Opt Express* 2001; 8: 335.
- [32] Drezek R, Brookner C, Pavlova I, *et al.* Autofluorescence Microscopy of Fresh Cervical-Tissue Sections Reveals Alterations in Tissue Biochemistry with Dysplasia¶. *Photochem Photobiol* 2001; 73: 636.
- [33] Gulledge CJ DM. Tumor oxygenation: a matter of supply and demand. *Anticancer Res* 1996; 16: 741–749.
- [34] Romano RA, Teixeira Rosa RG, Salvio AG, *et al.* Multispectral autofluorescence dermoscope for skin lesion assessment. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 30: 101704.
- [35] Rosa RGT. *Assembly, characterization, and validation of a fluorescence lifetime rigid endoscope for clinical imaging of skin lesions*. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2018.

Microagulhas dissolvíveis contendo ALA para otimização da terapia fotodinâmica

Michelle B. Requena, Dianeth Sara L. Bejar, José Dirceu Vollet-Filho, Clara Maria G. de Faria, Marlon R. Garcia, Sebastião Pratavieira e Vanderlei S. Bagnato

¹ Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

O uso de microagulhas vem sendo amplamente explorado para facilitar a permeação de substâncias na pele. Para terapia fotodinâmica (TFD) tópica, estudos com o uso de microagulhamento metálico prévio à aplicação do creme demonstraram melhorar a eficiência em termos de homogeneidade de produção de protoporfirina IX (PpIX). Neste estudo, a aplicação de microagulhas dissolvíveis contendo ácido aminolevulínico (ALA) foi avaliada em modelo tumoral de camundongos, assim como testes prévios de caracterização de resistência mecânica e capacidade de inserção *in vitro*. Os arranjos de microagulhas são produzidos com 20% de Gantrez AN-139 e 5% de ácido aminolevulínico (ALA) em água, compostos por 19x19 microagulhas em formato de pirâmides com 500 µm de comprimento. Nos testes *in vitro*, as microagulhas tiveram bom desempenho mecânico, apresentando deformação desprezível e capacidade de inserção para atravessar a pele. Nos resultados em animais, foi possível observar que a formação superficial de PpIX a partir da aplicação de microagulhas foi similar à aplicação do creme, mas atingiu camadas mais profundas do tumor. Considerando a maior distribuição de fotossensibilizador no tumor em profundidade, este modelo de microagulhas dissolvíveis apresenta potencial para diversas aplicações e, posteriormente, uso em estudos clínicos.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605431

1 Introdução

Microagulhas são dispositivos minimamente invasivos que devido às suas dimensões reduzidas, não atingem terminações nervosas, não causam dor ou sangramento, mas são capazes de penetrar o estrato córneo e permitir a entrega de substâncias através da pele [1]. Há diversos estudos utilizando microagulhas para facilitar a administração intradérmica e transdérmica de medicamentos na pele. Donnelly *et al.*, por exemplo, possui publicações com microagulhas para entrega de antibióticos [2, 3], vacinas [4–6], fármacos para o tratamento de filariose linfática [7, 8], herpes [9], diabetes [10], Alzheimer [11] e reposição de vitaminas [12].

Existem diversos tipos de microagulhas. As microagulhas sólidas, sejam elas confeccionadas com metal ou polímero, costumam ser utilizadas para criação de orifícios para aumentar a permeação de fármacos. Este tipo de microagulhas também pode ser revestido com o fármaco em sua superfície permitindo uma entrega mais rápida. Microagulhas dissolvíveis, por sua vez, são utilizadas para liberação rápida ou controlada de moléculas diretamente incorporadas em sua formulação polimérica. As microagulhas podem ser confeccionadas para serem ocas e permitir a liberação de fármacos líquidos após infusão ou difusão através dos orifícios criados. Por fim, existem microagulhas poliméricas de hidrogel que absorvem fluidos intersticiais do tecido e após o inchamento delas são capazes de induzir a difusão do fármaco presente num reservatório. Larrañeta *et al.* exemplificou e descreveu estes modelos de microagulhas (Figura 1) [13].

O número de trabalhos publicados utilizando microagulhas poliméricas vem crescendo ao longo dos anos [14]. Contudo, este tipo de tecnologia ainda não foi muito explorado no Brasil.

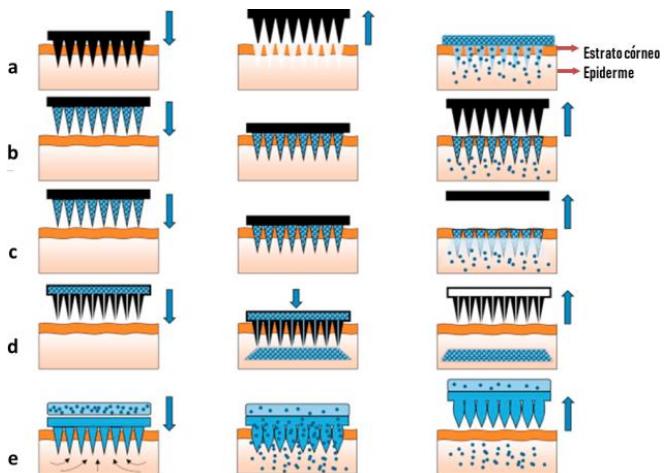


Figura 1. Esquema dos tipos de microagulhas utilizadas para facilitar a entrega de medicamentos na pele; a) microagulhas sólidas, b) microagulhas revestidas, c) microagulhas dissolvíveis, d) microagulhas ocas, e) microagulhas de hidrogel. Fonte: Adaptada de LARRAÑETA [13].

Considerando os avanços em terapia fotodinâmica (TFD) tópica, uma das barreiras é a permeação limitada do creme através do estrato córneo da pele, devido às propriedades hidrofílicas do ALA em pH fisiológico, e a heterogeneidade na formação da protoporfirina IX (PpIX) com influência direta na taxa de sucesso do tratamento, principalmente em lesões espessas.

Técnicas para a entrega intradérmica têm sido estudadas para minimizar a ação de obstáculos à permeação efetiva de drogas na pele; entre elas, técnicas baseadas em equipamentos de microescala têm se mostrado promissoras, que incluem injetores de líquidos, injetores de pó, ablação térmica e microagulhamento [15]. Neste contexto, este estudo propôs avaliar a disponibilização do ácido aminolevulínico (ALA), precursor de PpIX, em maiores profundidades por meio de microagulhas dissolvíveis.

Os resultados descritos neste capítulo são partes da tese de Doutorado de Michelle B. Requena [16]. O objetivo foi desenvolver e avaliar um modelo microagulhas dissolvíveis contendo ALA na formação e

Estudos pré-clínicos

distribuição do fotossensibilizador em camadas mais profundas em um estudo pré-clínico inédito.

2 Fabricação e testes de resistência

Para a fabricação das microagulhas dissolvíveis, é muito importante considerar aspectos relacionados com a formulação, devem ser escolhidos materiais biocompatíveis e biodegradáveis, a fim de não deixar depósitos de polímeros na pele e facilitar a aplicação e descarte [13]. Também é importante considerar a estabilidade do fármaco e capacidade de inserção das microagulhas na pele.

A base polimérica utilizada na formulação foi Gantrez AN-139, que é um copolímero contendo alternadamente éter metilvinílico e anidrido maleico (Ashland, Kidderminster, Reino Unido). Este polímero possui moléculas biodegradáveis, baixa toxicidade, alta biocompatibilidade e propriedades bioadesivas [17, 18]. Neste estudo, foi avaliada uma formulação contendo de 20% de Gantrez AN-139 dissolvido em água, seguindo a preparação descrita na literatura [19, 20].

O ALA foi adquirido da empresa brasileira PDT Pharma LTDA (Cravinhos, SP, Brasil) na forma de pó e incorporado na formulação. Para verificar a quantidade de ALA que poderia ser carregada nas microagulhas, foram realizados testes com diferentes concentrações e secagem à temperatura ambiente. A quantidade com melhor desempenho foi de 5% de ALA.

Para a fabricação dos arranjos de microagulhas (Figura 2), foi utilizado um molde de silicone (LTS, Alemanha) com um arranjo denso de 19x19 em formato de pirâmide, com 500 µm de altura e um espaçamento de 300 µm entre as pontas e 50 µm entre as bases.

O molde com a formulação era posicionado em um galão com pressão de 4 bar por 5 minutos, após despressurização lenta, este processo era repetido. Os moldes com a formulação permaneceram em bancada em temperatura ambiente por 48 horas.

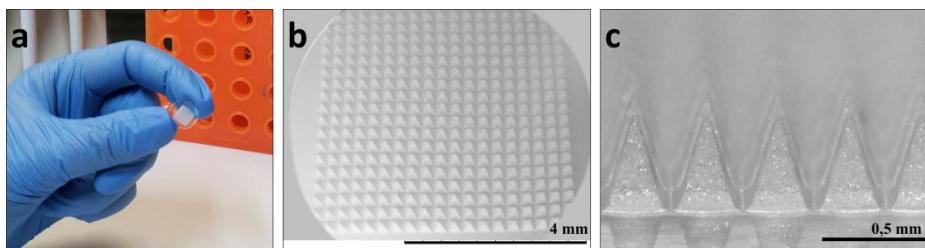


Figura 2. a) Arranjo de microagulha, b) imagem de microscopia eletrônica de varredura do arranjo de microagulhas e c) imagem microscópica das microagulhas.

A resistência mecânica das microagulhas foi avaliada utilizando um equipamento para compressão controlada (Stable Micro Systems®, Surrey, Reino Unido). Cada arranjo de microagulha foi acoplado em uma haste metálica e pressionado por 30 segundos com uma força de 32 N, seguindo protocolo definido por Larrañeta *et al.* [21]. Os arranjos foram pressionados em oito camadas de um filme polimérico comercial (Parafilm M®, Bemis Company, Inc, EUA) seguindo o modelo de membrana *in vitro* aplicado para simular a inserção das microagulhas na pele. [21] Este experimento foi replicado para quatro arranjos de microagulhas.

Para avaliar a deformação após a compressão, cada lado do arranjo de microagulhas teve uma imagem coletada usando microscópio digital (EZ4D, Leica Microsystems, Milton Keynes, Reino Unido) com uso dois filtros polarizadores. Foram feitas medidas da altura antes e depois da compressão de cinco pirâmides aleatórias de cada uma das quatro laterais, para estimar a altura média das microagulhas antes e depois da compressão. Para avaliar a capacidade de inserção das microagulhas, cada camada de parafilme foi separada e observada no microscópio sendo possível quantificar a porcentagem média de furos em cada camada e, assim, associar a capacidade de penetração ao serem inseridas na pele.

3 Modelo animal

O modelo tumoral utilizado foi através da indução xerográfica com células de carcinoma espinocelular (CEC, A-431, ATCC® CRL-1555™) em

Estudos pré-clínicos

camundongos, fêmeas, da linhagem balb c do tipo nude. A inoculação foi feita no flanco do animal (Figura 3), e os experimentos foram conduzidos com tumores de volume médio de $26 \pm 2 \text{ mm}^3$.

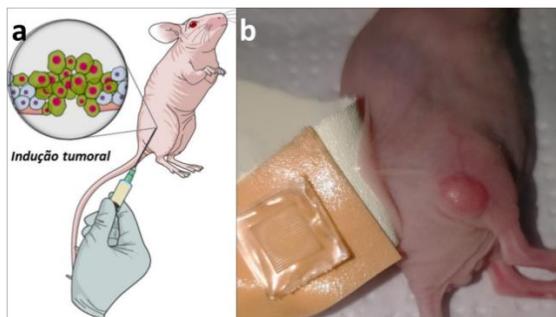


Figura 3. a) Esquema para ilustrar a indução tumoral no modelo animal. b) imagem de um arranjo de microagulha retirado do tumor após período de incubação, demonstrando dissolução na região que estava em contato com a lesão.
Fonte: Adaptada de REQUENA [16].

Após um teste piloto, verificou-se que as microagulhas não tinham dissolução aceitável mesmo após 1 hora em contato com tumor. Foi feito um aquecimento local a 40 °C por 15 minutos com o equipamento comercial (Derma Cool DC®, Dermius, Brasil), obtendo assim, maior dissolução das microagulhas no tempo de incubação. Para uma avaliação controle, foi feita a comparação da aplicação das microagulhas com a aplicação tópica de creme contendo ALA na mesma concentração (5%) e tempo de incubação.

4 Análise da formação e distribuição da PpIX

Para avaliação da PpIX localizada na superfície do tumor após o tempo de incubação, foram realizadas imagens de fluorescência de campo amplo (Figura 5a e b) através do acoplamento de uma câmera fotográfica à ponteira para evidenciação de fluorescência do dispositivo comercial de irradiação (LINCE®, MM Optics, São Carlos, Brasil) à base de LEDs (que emitem na região entre 400 e 450 nm). O processamento destas foi feito a partir de um algoritmo desenvolvido em Python (Python Software

Foundation) considerando a média de intensidade no canal vermelho após decomposição da imagem RGB para associação com a intensidade de fluorescência da PpIX.

Também para avaliação superficial da PpIX, foi feita a coleta de espectros de fluorescência a partir de um sistema montado no Grupo de Óptica do IFSC-USP, que consiste de um espectrofotômetro USB2000 (OceanOptics Inc., EUA) acoplado a um computador e a um laser para excitação de comprimentos de onda em 408 nm. O processamento dos espectros foi feito no programa Origin® (OriginLab Corporation, EUA) associando a intensidade do pico de fluorescência em 630 nm normalizado pela intensidade de fluorescência em 450 nm (Figura 5c).

Para análise da PpIX, principalmente em profundidade, os tumores passaram por um processo de congelamento (a fim de minimizar a degradação do FS) e depois foram cortados em criostato (Leica Biosystems, CM1850, Reino Unido) para avaliação por microscopia confocal de fluorescência (Zeiss - LSM780, Alemanha). Foi utilizado um laser de diodo (405 nm) para excitação e o sinal de fluorescência foi coletado em dois canais, um 430-580 nm devido à fluorescência endógena da pele, e outro 630-670 nm para a fluorescência da PpIX. O processamento destes dados em um algoritmo desenvolvido em Python (Python Software Foundation) associando a informação das imagens de fluorescência do canal vermelho (Figura 6) com a concentração de PpIX em função da profundidade.

5 Resultados e discussão

As microagulhas demonstraram boa resistência mecânica, com diminuição desprezível da altura após a compressão. Considerando a capacidade de inserção, as microagulhas contendo a formulação com ALA tiveram um melhor desempenho comparado à formulação com apenas o polímero. Estes dados concordam com os testes de compressão, sendo um indicativo de que os precursores do ALA, de alguma forma, contribuíram para uma melhor resistência mecânica das microagulhas.

Estudos pré-clínicos

De acordo com um estudo publicado em 2018, foi estimada a espessura média da epiderme por histometria, os resultados variaram de 76,9 a 267,4 μm para mulheres e 112,4 a 244,8 μm para homens. [23] Considerando estes valores, a penetração das microagulhas estimada no teste de permeação seria suficiente para fazer a entrega intradérmica dos precursores em pacientes, uma vez que 80% de microagulhas penetraram até 250 μm de profundidade (Figura 4).

Estes resultados de caracterização demonstram a viabilidade de exploração segura e confiável da entrega de ALA por microagulhas e da avaliação da produção de PpIX após liberação em modelo in vivo tumoral.

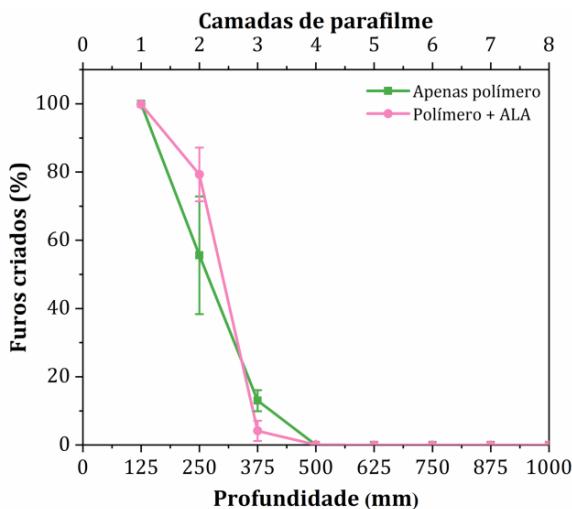


Figura 4. Porcentagem de furos criados em função das camadas de parafilme ou profundidade, considerando a aplicação de microagulhas contendo apenas o polímero e microagulhas com o polímero e ALA.

Fonte: Adaptada REQUENA. [22]

A fluorescência endógena do tumor (Figura 5a) e após 1 hora de incubação (Figura 5b) demonstra a distribuição do FS foi mais localizada quando utilizada a microagulha que com o creme. Isto pode estar relacionado com que a espessura do tumor era maior que o comprimento das microgulhas (a distância entre a superfície perfurada do tumor e a

pele sadia adjacente), portanto, após a aplicação do arranjo, as microgulhas não necessariamente entravam em contato com a pele ao redor do tumor, mas apenas com o tecido da própria lesão.

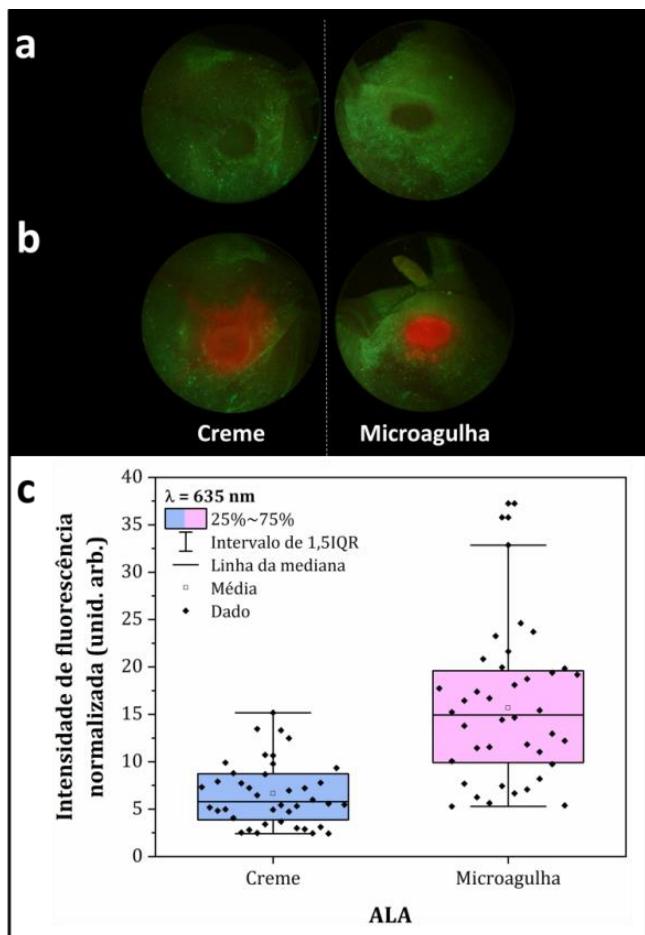


Figura 5. a) Imagem de campo amplo de fluorescência dos tumores antes da sensibilização (fluorescência endógena), b) imagem de campo amplo de fluorescência coletada após 1 hora de incubação do ALA a 5% com aplicação do creme e da microagulha e c) gráfico do tipo boxplot com a intensidade de fluorescência normalizada calculada utilizando os espectros de fluorescência coletados nos tumores 1 hora após a incubação. Cada losango representa o valor da intensidade de fluorescência normalizada de cada espectro coletado em cada animal, sendo 5 espectros por tumor considerando 8 animais.

Fonte: Adaptada REQUENA. [22]

Estudos pré-clínicos

Na Figura 6 estão imagens para ilustrar a fluorescência do canal vermelho considerando o ALA aplicado via tópica por creme (Figura 6a) e via intradérmica por microagulhas dissolvíveis (Figura 6b). As imagens de fluorescência estão sobrepostas pelas imagens da microscopia de transmissão para facilitar a visualização das regiões do tumor.

De acordo com estas imagens, não é possível observar diferenças na intensidade de fluorescência na epiderme. Porém, para a condição em que o ALA foi entregue por microagulhas, é nítida a distribuição da fluorescência em camadas mais profundas, ou seja, o precursor foi entregue em maiores profundidades, e permitiu que a produção e distribuição do FS fossem mais profundas comparadas à aplicação tópica.

Após o processamento das imagens de microscopia confocal de fluorescência, foi possível quantificar a intensidade média de fluorescência no canal vermelho em função da profundidade. A Figura 5c contém os resultados obtidos, considerando de profundidade de até 1 mm.

Até aproximadamente 200 µm, não foi observada diferença significativa na intensidade de fluorescência entre as aplicações (exceto controle). Porém, a partir desta profundidade, no protocolo envolvendo a aplicação por microagulha, a intensidade de fluorescência sempre é maior que a aplicação por creme.

A integral dos valores em função da profundidade da Figura 6c foi calculada, considerando a subtração do valor para a condição controle (sem sensibilização do tumor). Os resultados mostram que, no geral, o acúmulo quando o ALA foi aplicado por microagulha foi aproximadamente 2,2 vezes maior que quando aplicado por creme.

A permeação do fármaco entre as camadas da pele é uma das principais limitações da TFD tópica. Por isso, alternativas que possibilitem uma entrega mais eficiente de fotossensibilizadores ou precursores podem favorecer o tratamento de tumores mais espessos, para os quais o índice de sucesso da TFD é comumente menor que em tumores superficiais. [25]

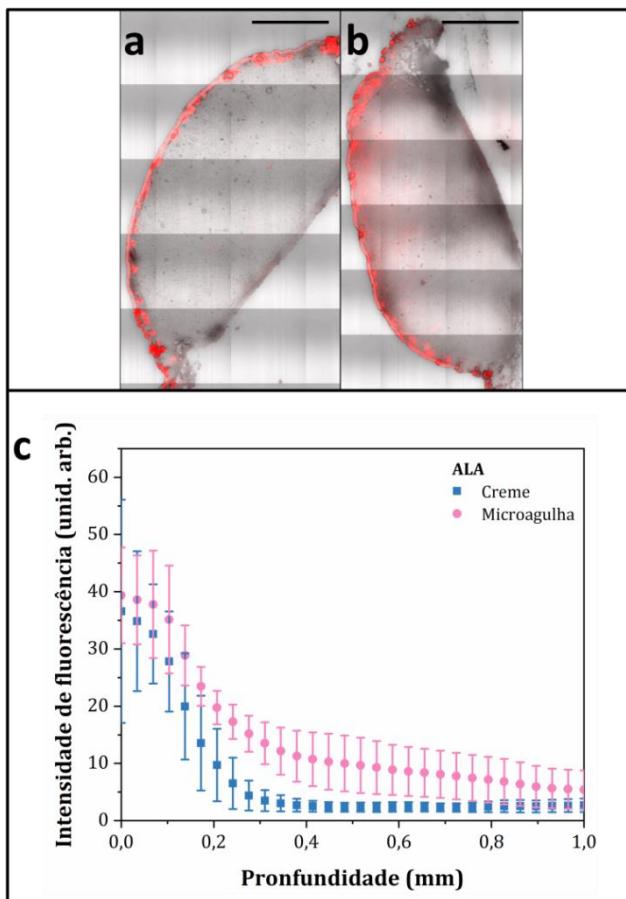


Figura 6. Imagens representativas da microscopia confocal de fluorescência no canal vermelho com sobreposição da imagem de transmissão para as lâminas dos tumores, sendo a) após 1 hora da aplicação de creme, b) após 1 hora da aplicação por microagulhas. A barra no canto superior direito corresponde à escala de 1 mm. c) Intensidade média no canal vermelho das imagens de microscopia confocal de fluorescência em função da distância, para tumores após 1 hora de incubação. Fonte: Adaptada REQUENA. [22]

6 Conclusões

A aplicação de microagulhas dissolvíveis mostraram resultados que superaram a aplicação tópica, mesmo utilizando uma concentração menor que a formulação convencional (20%). Os resultados sugerem que a técnica seja extremamente promissora para estudos de aplicações clínicas, para

Estudos pré-clínicos

confirmar a eficácia para o tratamento de lesões.

O aprofundamento de estudos básicos de eficiência do protocolo para os estudos clínicos são de extrema importância. Estudos de otimização da formulação e tempo de dissolução estão sendo desenvolvidos para viabilizar a aplicação clínica e tornar a técnica ainda mais acessível com mais versatilidade de aplicações.

Referências bibliográficas

- [1] Donnelly RF, Morrow DJ, McCarron PA, *et al.* Microneedle-mediated intradermal delivery of 5-aminolevulinic acid: Potential for enhanced topical photodynamic therapy. *J Control Release* 2008; 129: 154–162.
- [2] González-Vázquez P, Larrañeta E, McCrudden MTCMTCC, *et al.* Hydrogel-forming and dissolving microneedles for enhanced delivery of photosensitizers and precursors. *Photochem Photobiol* 2014; 104: 641–647.
- [3] Rodgers AM, McCrudden MTC, Courtenay AJ, *et al.* Control of Klebsiella pneumoniae Infection in Mice by Using Dissolving Microarray Patches Containing Gentamicin . *Antimicrob Agents Chemother*. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1128/aac.02612-18.
- [4] Quinn HL, Kearney M-C, Courtenay AJ, *et al.* The role of microneedles for drug and vaccine delivery. *Expert Opin Drug Deliv*. Epub ahead of print 2014. DOI: 10.1517/17425247.2014.938635.
- [5] Ali AA, McCrudden CM, McCaffrey J, *et al.* DNA vaccination for cervical cancer; a novel technology platform of RALA mediated gene delivery via polymeric microneedles. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1016/j.nano.2016.11.019.
- [6] Cole G, Ali AA, McCrudden CM, *et al.* DNA vaccination for cervical cancer: Strategic optimisation of RALA mediated gene delivery from a biodegradable microneedle system. *Eur J Pharm Biopharm*. Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1016/j.ejpb.2018.02.029.
- [7] Permana AD, Tekko IA, McCarthy HO, *et al.* New HPLC–MS method for rapid and simultaneous quantification of doxycycline, diethylcarbamazine and albendazole metabolites in rat plasma and organs after concomitant oral administration. *J Pharm Biomed Anal*. Epub ahead of print 2019. DOI: 10.1016/j.jpba.2019.03.047.
- [8] Permana, McCrudden, Donnelly. Enhanced Intradermal Delivery of Nanosuspensions of Antifilariasis Drugs Using Dissolving Microneedles: A

- Proof of Concept Study. *Pharmaceutics* 2019; 11: 346.
- [9] Pamornpathomkul B, Ngawhirunpat T, Tekko IA, et al. Dissolving polymeric microneedle arrays for enhanced site-specific acyclovir delivery. *Eur J Pharm Sci.* Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.05.009.
 - [10] Migdadi EM, Courtenay AJ, Tekko IA, et al. Hydrogel-forming microneedles enhance transdermal delivery of metformin hydrochloride. *J Control Release.* Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.07.009.
 - [11] Kearney MC, Caffarel-Salvador E, Fallows SJ, et al. Microneedle-mediated delivery of donepezil: Potential for improved treatment options in Alzheimer's disease. *Eur J Pharm Biopharm.* Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/j.ejpb.2016.03.026.
 - [12] Ramöller IK, Tekko IA, McCarthy HO, et al. Rapidly dissolving bilayer microneedle arrays – A minimally invasive transdermal drug delivery system for vitamin B12. *Int J Pharm* 2019; 566: 299–306.
 - [13] Larrañeta E, Lutton REM, Woolfson AD, et al. Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development. *Materials Science and Engineering R: Reports.* Epub ahead of print 2016. DOI: 10.1016/j.mser.2016.03.001.
 - [14] Mishra R, Maiti TK, Bhattacharyya TK. Development of SU-8 hollow microneedles on a silicon substrate with microfluidic interconnects for transdermal drug delivery. *J Micromechanics Microengineering.* Epub ahead of print 2018. DOI: 10.1088/1361-6439/aad301.
 - [15] Arora A, Prausnitz MR, Mitragotri S. Micro-scale devices for transdermal drug delivery. *Int J Pharm* 2008; 364: 227–236.
 - [16] Requena MB. *Otimização da entrega de fármacos para tratamento de câncer de pele por terapia fotodinâmica.* Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Epub ahead of print 13 May 2020. DOI: 10.11606/T.76.2020.tde-07052020-165906.
 - [17] Gardner CM, Burke NAD, Chu T, et al. Poly(methyl vinyl ether-alt-maleic acid) polymers for cell encapsulation. *J Biomater Sci Polym Ed.* Epub ahead of print 2011. DOI: 10.1163/092050610X535149.
 - [18] Iglesias T, Dusinska M, El Yamani N, et al. In vitro evaluation of the genotoxicity of poly(anhydride) nanoparticles designed for oral drug delivery. *Int J Pharm.* Epub ahead of print 2017. DOI:

Estudos pré-clínicos

10.1016/j.ijpharm.2017.03.016.

- [19] Raj Singh TR, McCarron PA, Woolfson AD, *et al.* Investigation of swelling and network parameters of poly(ethylene glycol)-crosslinked poly(methyl vinyl ether-co-maleic acid) hydrogels. *Eur Polym J* 2009; 45: 1239–1249.
- [20] Mikolajewska P, Donnelly RF, Garland MJ, *et al.* Microneedle pre-treatment of human skin improves 5-aminolevulinic acid (ALA)- and 5-aminolevulinic acid methyl ester (MAL)-induced PpIX production for topical photodynamic therapy without increase in pain or erythema. *Pharm Res.* Epub ahead of print 2010. DOI: 10.1007/s11095-010-0227-2.
- [21] Larrañeta E, Moore J, Vicente-Pérez EM, *et al.* A proposed model membrane and test method for microneedle insertion studies. *Int J Pharm* 2014; 472: 65–73.
- [22] Requena MB, Permana AD, Vollet-Filho JD, *et al.* Dissolving microneedles containing aminolevulinic acid improves protoporphyrin <scp>IX</scp> distribution. *J Biophotonics* 2021; 14: jbio.202000128.
- [23] Oltulu P, Ince B, Kökbudak N, *et al.* Measurement of epidermis, dermis, and total skin thicknesses from six different body regions with a new ethical histometric technique. *Turk Plast Rekonstruktif ve Estet Cerrahi Derg.* Epub ahead of print 2018. DOI: 10.4103/tjps.tjps_2_17.
- [24] Calabro K, Curtis A, Galarneau J-R, *et al.* Gender variations in the optical properties of skin in murine animal models. *J Biomed Opt.* Epub ahead of print 2011. DOI: 10.1117/1.3525565.
- [25] Buzzá HH, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, *et al.* Overall Results for a National Program of Photodynamic Therapy for Basal Cell Carcinoma: A Multicenter Clinical Study to Bring New Techniques to Social Health Care. *Cancer Control* 2019; 26: 107327481985688.

A terapia sonofotodinâmica na oncologia

Erika T. P. Ayala, Fernanda A. D. de Sousa e Sebastião Pratavieira

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil

Neste capítulo apresentamos os fundamentos de uma técnica terapêutica relativamente nova e promissora para o tratamento do câncer que vem sendo estudada com grande interesse, se trata da terapia sonofotodinâmica (TSFD). A TSFD está baseada na combinação da terapia fotodinâmica (TFD), uma técnica já bem-sucedida e estabelecida no tratamento de câncer, e a terapia sonodinâmica (TSD), uma técnica não invasiva que envolve o uso do ultrassom de baixa intensidade e uma droga sonoativa chamada de sonosensibilizador. Esta terapia combinada visa melhorar a efetividade e a taxa de cura da TFD em casos em que a baixa penetração da luz através do tecido biológico e a presença de melanina nas lesões são uma importante limitação para a TFD. Finalmente, os resultados mais destacados da aplicação da TSFD *in vitro*, *in vivo* e em estudos clínicos em diversos casos de câncer serão resumidos.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605432

1 Introdução

O câncer é uma doença com alta prevalência mundial e já está entre as quatro principais causas de morte prematura (antes dos 70 anos de idade) na maioria dos países. [1] Os tratamentos convencionais são a cirurgia, radioterapia, quimioterapia e imunoterapia. Estes tratamentos têm efeitos benéficos na luta contra o câncer, contudo, eles podem gerar efeitos colaterais e psicológicos em pacientes, além de ter suas próprias limitações terapêuticas. Em caso do tratamento cirúrgico tem se a dificuldade de eliminar completamente as células cancerosas, e não pode curar o tumor metastatizado. Longos períodos de quimioterapia e radioterapia podem fazer com que as células exerçam tolerância ao tratamento, e em caso da imunoterapia, pode se desencadear uma tempestade de citocinas, além do alto custo deste tratamento. [2] Por outro lado, existem casos de tumores refratários que não respondem ao tratamento padrão. Neste sentido, a pesquisa de terapias alternativas se torna extremamente necessária.

Uma terapia alternativa amplamente estudada e que vem conquistando espaço dentre as modalidades de tratamento do câncer a partir do século XX, e nos últimos 25 anos no Brasil, é a terapia fotodinâmica (TFD). [3–5] A TFD apresenta poucos efeitos colaterais e resultados cosméticos excelentes. No entanto, uma limitação desta técnica é a baixa penetração da luz visível no tecido biológico, conseguindo atingir 1 cm de profundidade no corpo de forma não invasiva (i.e., sem o uso de fibras óticas). Este fato é devido à presença da melanina, pigmento que determina a cor de nossa pele, a qual é um agente absorvedor e espalhador da luz. Portanto, a TFD não invasiva é aplicada para o tratamento de lesões cancerosas mais superficiais, principalmente para o câncer de pele não melanoma. [6]

A terapia sonofotodinâmica (TSFD) é uma abordagem relativamente nova e promissora para o tratamento do câncer, baseada na combinação da TFD e a terapia sonodinâmica (TSD). [7,8] A TSD é uma técnica

anticâncer não invasiva, baseada nos efeitos sinérgicos do ultrassom e de uma molécula sonoativa chamada de sonossensibilizador (SS). Ao contrário da luz, o ultrassom é uma onda mecânica com excelente penetração no tecido biológico.[9] Tanto a TFD quanto a TSD isoladas têm sido utilizadas no tratamento do câncer, com sucesso variável.[10] Contudo, diversas pesquisas têm mostrado resultados promissores da combinação de as ambas as técnicas no tratamento de alguns tumores profundos (e.g., câncer de intestino e ovário), pigmentados (e.g., carcinoma basocelular pigmentado e melanoma) e metastáticos.[11–19] É por isso a TSFD vem sendo estudada com grande interesse visando melhorar a efetividade da TFD em casos em que a baixa penetração da luz no meio e o pigmento das lesões são uma limitação.

2 O ultrassom

Na TSFD, juntamente com a luz, o ultrassom desempenha um papel muito importante, por isso é necessário começarmos nos perguntando: o que é o ultrassom? Como é produzido? Em que difere da luz?

O ultrassom (US) é uma onda mecânica, mais especificamente, acústica, com frequência superior a 20 kHz, ou seja, fora da faixa audível ao homem. Este tipo de onda acústica é utilizado na natureza por alguns animais (e.g., morcegos, golfinhos, baleias) capazes de emitir e detectar ondas ultrassônicas (Figura 1).[20]

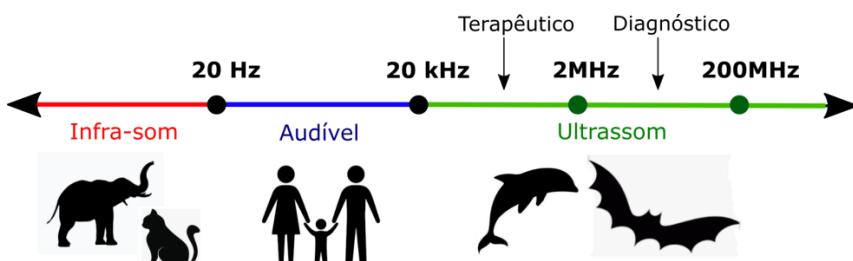


Figura 1. Faixas de frequência da onda acústica.

Na medicina, o ultrassom terapêutico é gerado por um dispositivo

Estudos pré-clínicos

chamado transdutor ultrassônico, por meio do fenômeno conhecido como efeito piezoelétrico reverso. Este efeito ocorre quando uma corrente alternada é aplicada em um cristal piezoelétrico alojado no transdutor, originando a vibração do cristal que resulta em ondas de ultrassom que são repassadas ao alvo terapêutico, transmitindo energia mecânica/acústica (Figura 2). [20]

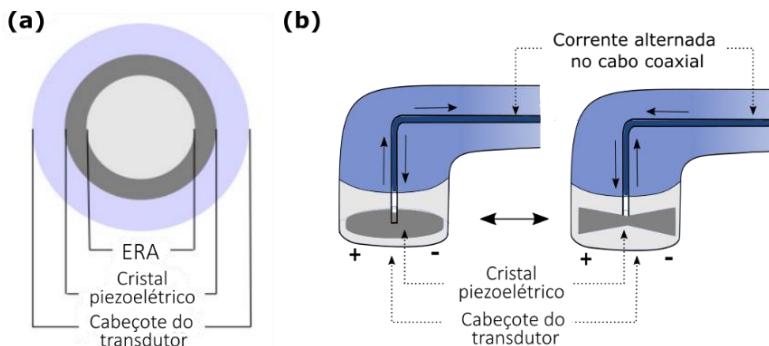


Figura 2. A vista (a) facial e (b) lateral do transdutor e suas componentes. ERA: A área efetiva de radiação que corresponde à área do cristal onde há a maior parte da emissão de radiação ultrassônica. O efeito piezoelétrico reverso faz com que o cristal piezoelétrico se expanda e se contraia, produzindo dipolos elétricos.

Quando uma onda ultrassônica se propaga dentro de um material, o tipo de onda é classificado como onda longitudinal ou transversal (Figura 3). O ultrassom se propaga nos tecidos moles como uma onda longitudinal, porém quando atinge tecidos biológicos mais duros, como o osso, ele se torna uma onda transversal. [20]

Ao contrário da luz, a onda acústica não é uma onda eletromagnética, mas uma onda mecânica, portanto requer um meio físico para se propagar. O som audível (e.g., a voz humana) pode ser transmitido no ar, no entanto, a alta frequência do ultrassom requer um meio mais denso (e.g., água) para ser transmitido com maior velocidade de propagação. [20]

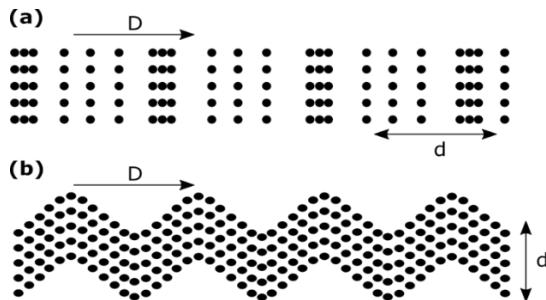


Figura 3. (a) Representação de uma onda longitudinal e (b) transversal ou de cisalhamento, onde o deslocamento da molécula (d) ocorre de forma paralela e perpendicular à direção de propagação (D) do som, respectivamente.

3 Cavitação acústica

Durante a irradiação ultrassônica de fluidos, o ultrassom se propaga no meio gerando pulsos alternados de pressão: o pulso de alta pressão ou pressão positiva ($+ΔP$) é chamado de compressão, enquanto o pulso de baixa pressão ou pressão negativa ($-ΔP$) é chamado de rarefação (Figura 4). [20]

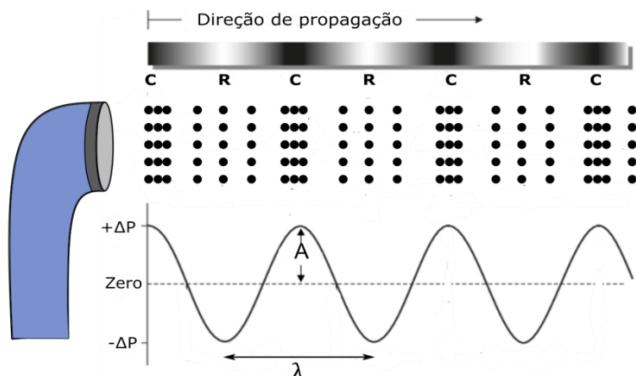


Figura 4. Representação esquemática de uma onda acústica de forma sinusoidal. C: Fase de compressão, R: Fase de rarefação, A: Amplitude, $ΔP$: Variação de pressão, $λ$: Comprimento de onda.

Quando a pressão negativa é suficientemente grande, a distância entre as moléculas de um fluido excede a distância molecular crítica necessária para manter o fluido intacto, portanto o líquido se quebra e

Estudos pré-clínicos

espaços vazios são criados, formando microbolhas (MBs). Este fenômeno induzido pelo ultrassom, que envolve a formação, crescimento e colapso de microbolhas (MBs), é conhecido como **cavitação acústica**. Existem dois tipos de cavitação: cavitação não inercial ou estável e cavitação inercial ou transitória (Figura 5).[21,22]

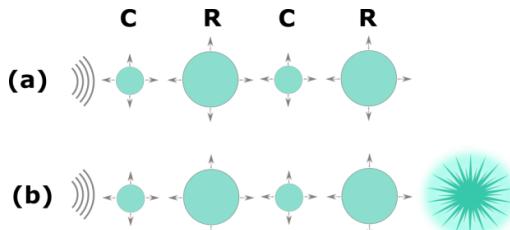


Figura 5. Tipos de cavitação acústica: (a) Cavitação não inercial ou estável e (b) cavitação inercial ou transitória. C: Fase de compressão, R: Fase de rarefação. Fonte: Pratavieira *et al.* [9]

A cavitação estável refere-se às microbolhas que oscilam continuamente, se contraindo e se expandindo de forma estável com uma vida útil de muitos ciclos acústicos. A cavitação inercial envolve o crescimento muito rápido de MBs até atingir um tamanho crítico superior, em que a bolha não pode absorver a energia das ondas sonoras, portanto não consegue mais sustentar sua estrutura, implodindo fortemente em sua vizinhança imediata. [21] Enquanto ambos os tipos de cavitação são capazes de gerar efeitos sonomecânicos como ondas de choque, *microstreaming* e microjatos; apenas a cavitação inercial pode produzir efeitos sonoquímicos (e.g., pirólise da água, geração de EROs), fruto dos altos pontos de temperatura e pressão (4000-25000 K, ~800 atm), e o fenômeno de sonoluminescência (SL) (i.e., o som transduzido em luz) que acontece durante a forte implosão das microbolhas.[22–25] A frequência do ultrassom tem efeito significativo no processo de cavitação. O ultrassom com frequência mais baixa induz MBs de maior diâmetro, levando a uma cavitação mais violenta com temperaturas e pressões localizadas mais altas. [21, 22]

4 Interação do ultrassom com o tecido biológico

Quando o feixe de ultrassom atinge uma interface acústica, isto é uma superfície onde dois materiais de diferentes densidades se encontram, por exemplo, diferentes camadas de tecido, o curso do ultrassom é influenciado pelo grau de mudança na densidade entre ambos os tecidos. Portanto, o ultrassom sofre fenômenos de reflexão (e.g., um eco) e refração (e.g., tecido mole/ar é uma interface altamente reflexiva). Além disso, o ultrassom pode sofrer espalhamento devido a sua interação com células e tecidos que são menores que o comprimento de onda, e absorção ao longo de sua propagação devido ao atrito interno intrínseco do meio no qual está se propagando. Cada vez que as ondas de ultrassom sofrem esses fenômenos físicos ao longo de sua propagação através de diferentes interfaces de tecidos, a energia ultrassônica diminui, o que é chamado de atenuação. [23] A profundidade de penetração do ultrassom dentro de um tecido biológico é afetada pela atenuação do ultrassom, tendo uma relação inversa com a frequência do ultrassom (Figura 6). Quanto mais baixa for a frequência de saída, mais profunda será a penetração nos tecidos. [20]

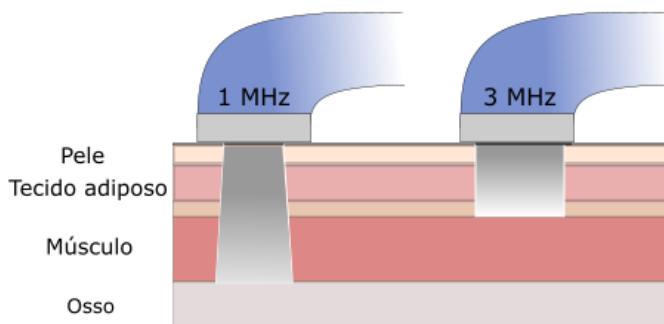


Figura 6. Profundidade de penetração do ultrassom de acordo com a frequência do ultrassom.

De acordo com a frequência e amplitude das ondas de ultrassom, elas são aplicadas na medicina para aplicações diagnósticas (2,5-15 MHz, baixa amplitude) como a ultrassonografia; ou aplicações terapêuticas (0,75-3,3

MHz, alta amplitude) como a terapia sonodinâmica. [20]

5 Terapia sonodinâmica

A TSD é outra abordagem promissora para o tratamento do câncer, com base nos efeitos sinérgicos do ultrassom de baixa intensidade e uma droga sonoativa chamada de sonossensibilizador (SS) (Figura 7).

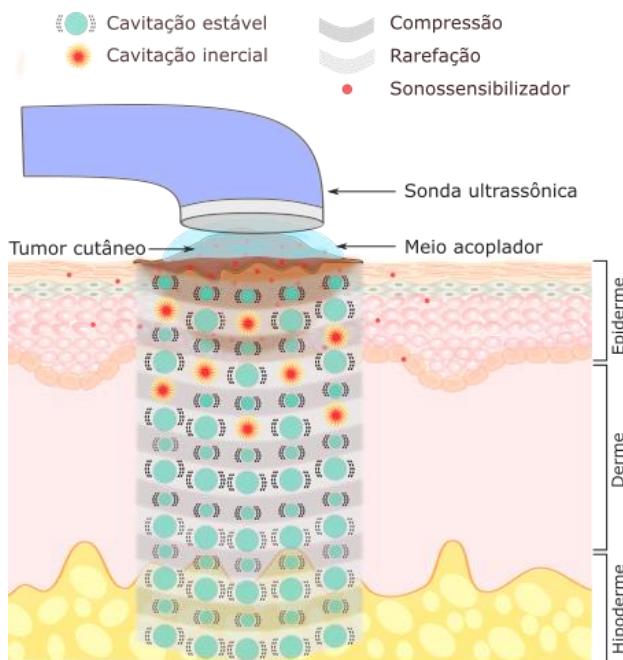


Figura 7. Tratamento de um tumor de pele por terapia sonodinâmica. O fenômeno de cavitação acústica gerado pelo ultrassom terapêutico se propaga no tecido biológico até certa profundidade de acordo com o parâmetro de frequência do ultrassom aplicado. Os efeitos sonodinâmicos ocorrerão na região com alta concentração de SS (i.e., na região tumoral), induzindo a morte das células alvo.

Similar ao protocolo clínico da TFD, a TSD baseia-se na administração sistêmica ou tópica do SS no tecido tumoral, seguido da irradiação do ultrassom. Finalmente, produto da interação ultrassom-SS são gerados efeitos sonoquímicos e sonofísicos, descritos na Figura 8, que levam à erradicação das células tumorais. O ultrassom, ao contrário da

luz, tem uma excelente penetração nos tecidos biológicos, o que permite a indução de dano nas células tumorais em camadas mais profundas. [8, 26]

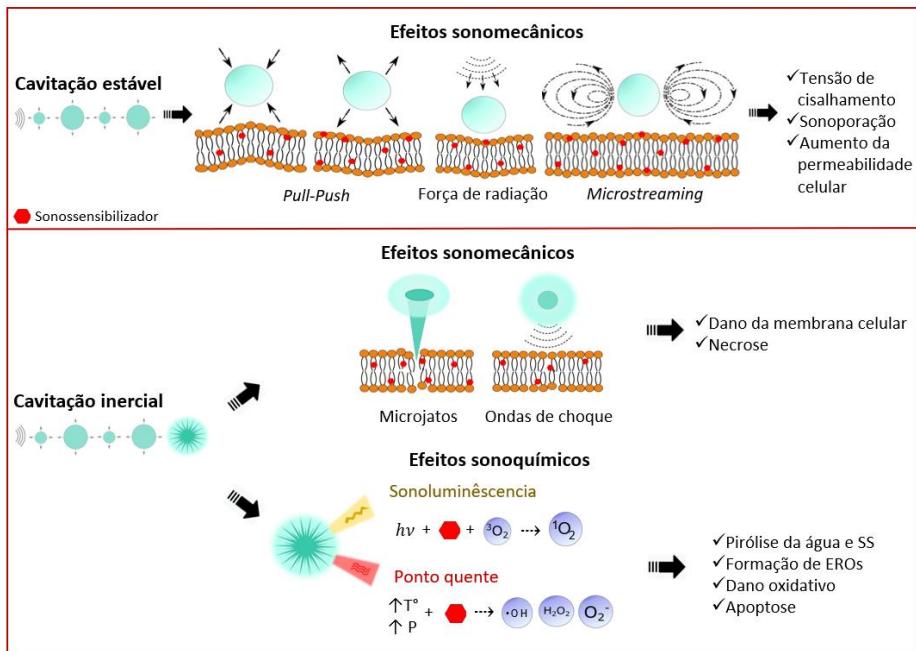


Figura 8. Efeitos sonomecânicos e sonoquímicos induzidos pela cavitação acústica durante a terapia sonodinâmica aplicando ultrassom de baixa intensidade. Os efeitos sonomecânicos ocorrem na membrana celular desestabilizada pela absorção do SS. Os efeitos sonoquímicos ocorrem produto da interação da cavitação com o SS. ${}^3\text{O}_2$: oxigênio molecular. Fonte: Adaptada de Alves *et al.* [32]

Embora os mecanismos de ação por trás dos efeitos citotóxicos da TSD ainda não sejam totalmente compreendidos, existem três potenciais mecanismos de ação que poderiam explicar tais efeitos, os quais estão baseados no fenômeno da cavitação acústica. O primeiro mecanismo envolve a ação das forças mecânicas severas (i.e., ondas de choque, *microstreaming* e microjatos) sobre a membrana celular desestabilizada pela absorção do SS, induzindo a lise celular. O segundo mecanismo proposto é baseado no fenômeno da SL. Dessa forma, a emissão de luz sonoluminescente fotoativa o SS seguindo o mesmo mecanismo da TFD

Estudos pré-clínicos

para a geração de espécies altamente citotóxicas. O terceiro mecanismo envolve a ação dos altos pontos de temperatura e pressão gerados durante a cavitação inercial. Essas condições extremas geram a pirólise do SS e a formação de EROs altamente citotóxicos e de curta duração, predominantemente radicais hidroxila ($\bullet\text{OH}$), superóxidos (O_2^-) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).[8, 26]

6 Terapia sonofotodinâmica

A TSFD é uma técnica terapêutica anticâncer que se baseia no efeito sinérgico da combinação da TFD e TSD. Assim, a TSFD usa o ultrassom de baixa intensidade e a luz visível como gatilhos externos para estimular uma molécula sensibilizadora sonofotoativa (chamada de sonofotossensibilizador), em um meio oxigenado (Figura 9)

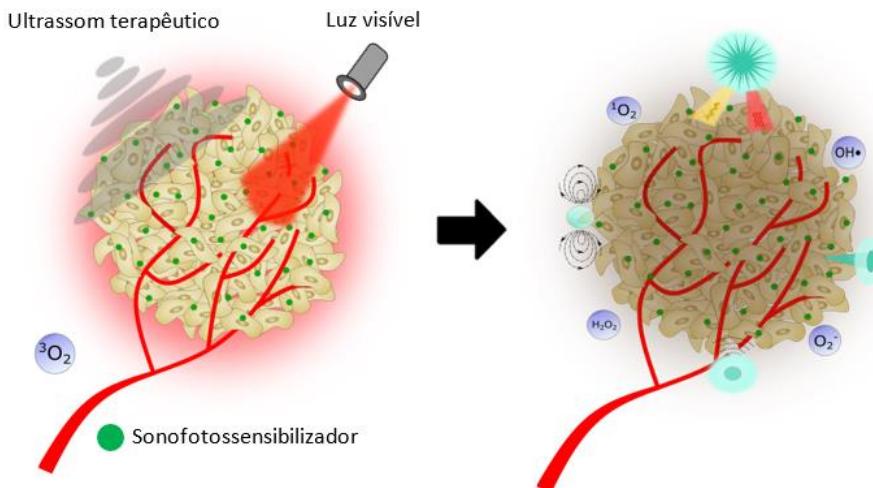


Figura 9. Terapia Sonofotodinâmica. Após a irradiação luminosa e ultrassônica do alvo previamente sensibilizado com um agente sono-fotoativo, efeitos sonofotodinâmicos e fotodinâmicos são desencadeados, levando a célula tumoral à morte.

A TSFD surgiu em 1995 com as descobertas de Kessel et al. sobre os efeitos citotóxicos em células de leucemia murina quando tratadas com mesoporfirina exposta à luz e ao ultrassom. [27] Estudos in vitro e in vivo, bem como alguns ensaios clínicos, têm sido cada vez mais relatados, mostrando que esta técnica combinada pode inibir a migração celular por ativação imune, conduzir ao dano na vasculatura tumoral, diminuir o potencial de membrana mitocondrial, e induzir necroses, apoptose e autofagia. [33] Portanto, com a finalidade de melhorar os resultados clínicos da TFD no tratamento de lesões de maior espessura ou pigmentados, a TSFD começou a ser estudada no Instituto de Física de São Carlos (IFSC). [9,34] Nas tabelas 1 e 2 mostramos os resultados mais destacados de estudos de TSFD encontrados na literatura até o momento.

Estudos pré-clínicos

Tabela 1. Estudos *in vitro* e *in vivo* aplicando a TSFD.

Autor	Linhagem celular/ animal	Droga (Dose/tempo de encubação)	Propriedades luz/ultrassom	Eficácia
Kessel <i>et al.</i> , 1995 [27]	Células de leucemia murino L1210	-Mesoporfirina -5 µM -30 min	-630 nm, 5 mW/cm ² , 0- 0,36 J/cm ² -1,94 MHz, 7,5 W/cm ² , 10 min	Efeitos na eliminação imediata de células. -TFD: 5% -TSD: 50% -TSD+PDT: 50% -PDT+SDT: 85%
Jin <i>et al.</i> , 2000 [18]	Carcinoma de células escamosas 1126) Camundongo C3H/HeN	- Derivado defeofoforbide-a (PH- 1126) -5 e 10 mg/kg.bw -36 h	-650 nm, 44 J/cm ² -1MHz, 0,51 W/cm ² , 10 min	Inibição do crescimento do tumor: -TFD: 27%(ATX), 76%(PH) -TSD: 77%(ATX), 43%(PH) -TSFD:92%(ATX), 98%(PH)
		- Análogo de gálio porfirina (ATX-70) -5 e 10 mg/kg.bw -24 h	-575 nm, 88 J/cm ² -1MHz, 0,51 W/cm ² , 10 min	A TSFD pode induzir necrose tumoral 2 a 3 vezes mais profunda do que a TSD e TFD.
Tserkovsky <i>et al.</i> , 2012 [28]	Glioma C6 Rato branco	-Fotolon -2.5 mg/kg.bw -2 h	-661 nm, 0,17 W/cm ² , 50, 100 J/cm ² -1 MHz, 0,4, 0,7 e 1 W/cm ² , 10 min	Área de necroses: -US: 45% (0,4 W/cm ²), 54% (0,7), 66% (1); -TSD: 61% (0.4 W/cm ²), 83% (0,7), 78% (1); -TFD: 61% (50 J/cm ²), 86% (100); -TSD+PDT: 86% (0,7 W/cm ² +50 J/cm ²), 100% (0,7 W/cm ² +100 J/cm ²)

Wang P. et al., 2015 [29]	Câncer de mama humano MDA-MB-231 e MCF-7	-Chlorin e6 -1 µg/mL -4h	-650 nm, 10,4 mW/cm ² , 1,2 J/cm ² -1 MHz, 0,36 W/cm ² , 1 min	Citotoxicidade: -TFD: 30.89%, 25.60%, 28.21%; -TFD+TSD: 55.71%, 48.80%, 53.62%; -TSD+TFD: 52.17%, 55%, 44.34%; para 4T1, MDA-MB-231 e MCF-7 respectivamente.
	Carcinoma mamário murino 4T1	-Chlorin e6 -10 mg/kg.bw	-650 nm, 10,4 mW/cm ² , 120 J/cm ² -1 MHz, 1,6 W/cm ² , 3 min	A taxa de inibição do crescimento do tumor no 22º dia após o tratamento: -TFD: 24,22%; -TSD: 25,87%; -PDT+SDT: 47,48%; -SDT+PDT: 52,2%
	Camundongos Balb/c			
Jasim et al., 2019 [30]	Carcinoma de ascite de Ehrlich	- Nano-5-ALA -Injeção IP -18-20 h	-904 nm (4 e 7 kHz)	% Área de necroses: -TFD: 65% (4 KHz), 75% (7 kHz); -TSD: 74% (Pulsado), 79% (Contínuo); -TSFD: 95% (pulsado, 7 kHz)
	Camundongos albinos suíços		-0,8 MHz, 3 W/cm ² , 3 min	
Zhu J. et al., 2021 [31]	Células cancerosas do fígado HepG2	-CUR, CUR-MBs, and GPC3-CUR-MBs -30 min	-445 nm, 500 mW, 20 J/cm ²	Taxas de viabilidade celular: -TSD: 94,66%, 87,44%, 68,94%; -TFD: 86,71%, 61,41%, 43,57%; -TSFD: 75,84%, 56,37%, 34,20%; para CUR, CUR-MBs e GPC3-CUR-MBs, respectivamente. No grupo GPC3-CUR-MBs-SPDT in vivo, o dano ao tecido foi o mais extenso com maior número de células tumorais necróticas.
	Células cancerosas do fígado HepG2	-CUR, CUR-MBs, and GPC3-CUR-MBs	-3 MHz, 60%, 2 W/cm ² , 5 min	
	Camundongos nus BALB/c machos	-10 mg/kg, 1×10 ⁸ /mL.		

Estudos pré-clínicos

Tabela 2. Ensaios clínicos aplicando a TSFD.

Autor	Tumor	Droga (Dose/tempo de encubação)	Propriedades luz/ultrassom	Reporte
Wang <i>et al.</i> , 2009 (14)	Carcinoma de mama refratário avançado	-Sonoflora I -Sublingual (por 2 dias) 3 pacientes	-630 nm, 20 mW/cm ² , 30 min -1MHz, 2 W/cm ² , 20 min -Tratamento por 3 dias. Repetido 1 ou 2 semanas depois, com base na situação de cada paciente.	A TSFD foi bem tolerada nos 3 casos, quase não gerou efeitos tóxicos nem danificou órgãos importantes. Dor nas regiões tumorais foi o principal efeito colateral da TSFD, porém os pacientes melhoraram em poucos dias. Os 3 pacientes apresentavam metástases na coluna vertebral e, para o caso 1, o tumor no pescoço havia reduzido de 13×6 cm ² para 5×3 cm ² e conseguia respirar sem respirador, os casos 2 e 3 tiveram respostas parciais significativas.
Kenyon <i>et al.</i> , 2009 (13)	Câncer de mama, cérebro, bexiga, etc.	-Sonnelux-1 -Sublingual 115 pacientes	-660, 940 nm -1 MHz, 1 W/cm ² -Tratamento por 3 dias. Repetido 1 semana depois.	Alta tolerabilidade do método e a ausência de eventos adversos graves. Vários pacientes com extensão significativa no tempo médio de sobrevida, mostrando redução da massa tumoral e doença estável tanto clinicamente quanto em imagens radiográficas.

D.A. Tzerkovsky et al., 2016 (16)	Glioblastoma recorrente grau IV. 15 pacientes	- Fotolon -Intravenosa -2-2.5 mg/kg -30 min	-660 nm, 100 mW/cm ² , 50 J/cm ² , 27 min -1.04 MHz, 1 W/cm ² , 10 min	As reações adversas não excederam o grau I / II e foram facilmente interrompidas. Boa segurança e tolerabilidade do método. O controle de MRI em 3 e 6 meses revelou a possibilidade de estabilização do crescimento tumoral.
Zhang W et al., 2017 (17)	Câncer de mama avançado 12 pacientes	-Derivados de clorofila Sonoflora-1, SFa e UF -Sublingual durante 2 dias. -4-6 dias	-554 nm, 45 mW/cm ² , 30 min -1 MHz, 2 W/cm ² , 20-40 min -Tratamento por 3 dias. Repetido 1 semana depois, seguido por 1 semana de descanso (um ciclo). Aplicaram de 1-4 ciclos	O tempo médio de acompanhamento foi de 34 meses. A resposta terapêutica foi observada em 75% dos casos, a taxa de regressão completa foi de 16,7%, a taxa de regressão parcial foi de 58,3% e a estabilização foi observada em 25% dos casos. Os resultados mostraram que a TSFD foi bem tolerada e não foi associada a efeitos colaterais graves.

Referências bibliográficas

- [1] INCA. *Incidência de Câncer no Brasil*. [sl:sn]. E-book;2020.
- [2] Wan GY, Liu Y, Chen BW, et al. Recent advances of sonodynamic therapy in cancer treatment. *Cancer Biology and Medicine*. 2016; 13: 325–38.
- [3] Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed Pharmacother* 2018; 106: 1098–1107.
- [4] Henderson BW, Dougherty TJ. How Does Photodynamic Therapy Work? *Photochem Photobiol* 1992; 55: 145–157.
- [5] Bagnato VS, Kurachi C, Mayumi N, et al. *Photodynamic Reactions: Cancer and Microbiological Control*. AND GENETICS, 2018.
- [6] Bagnato VS. *Terapia Fotodinâmica Dermatológica: Programa TFD Brasil*. São Carlos: Compacta grafica e editora, 2015.
- [7] Tzerkovsky D, Protopovich E. SONODYNAMIC AND SONOPHOTODYNAMIC THERAPY IN ONCOLOGY. *Biomed Photonics* 2019; 8: 31–46.
- [8] Yang Y, Tu J, Yang D, et al. Photo- and Sono-Dynamic Therapy: A Review of Mechanisms and Considerations for Pharmacological Agents Used in Therapy Incorporating Light and Sound. *Curr Pharm Des* 2019; 25: 401–412.
- [9] Pratavieira S, Requena MB, Stringasci MD, et al. The Physics of Light and Sound in the Fight Against Skin Cancer. *Brazilian Journal of Physics* 2022; 52: 106.
- [10] Su X, Li L WP. Research progress of the anti-tumor effect of sonodynamic and photodynamic therapy. *J Biomed Eng* 2012; 29: 583–587.
- [11] Huang Z. A review of progress in clinical photodynamic therapy. *Technol Cancer Res Treat* 2005; 4: 283–293.
- [12] Kenyon J, Fulle R, Lewis T. Activated Cancer Therapy Using Light and Ultrasound - A Case Series of Sonodynamic Photodynamic Therapy in 115 Patients Over a 4 Year Period. *Curr Drug ther* 2009; 4: 179–193.
- [13] Wang X, Zhang W, Xu Z, et al. Sonodynamic and Photodynamic Therapy in Advanced Breast Carcinoma: A Report of 3 Cases. *Integr Cancer Ther* 2009; 8: 283–287.

- [14] Norman Kenyon J, James Fuller R. Outcome Measures Following Sonodynamic Photodynamic Therapy – A Case Series. *Curr Drug ther* 2010; 6: 12–16.
- [15] Tzerkovsky DA, Istomin YP, Artemieva TP, *et al.* Sono-photodynamic therapy with photolon for recurrence glioblastoma grade IV: Case report and review of experimental studies. *J Anal Oncol* 2016; 5: 62–66.
- [16] W Z. Sonodynamic and Photodynamic Therapy in Breast Cancer - A Pilot Study. *Int J Complement Altern Med* 2017; 9: 1–5.
- [17] Soratijahromi E, Mohammadi S, Dehdari Vais R, Azarpira N, Sattarahmady N. Photothermal/sonodynamic therapy of melanoma tumor by a gold/manganese dioxide nanocomposite: In vitro and in vivo studies. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2020; 31: 101846.
- [18] Jin ZH, Miyoshi N, Ishiguro K, *et al.* Combination effect of photodynamic and sonodynamic therapy on experimental skin squamous cell carcinoma in C3H/HeN mice. *J Dermatol* 2000; 27: 294–306.
- [19] Xu M, Zhou L, Zheng L, *et al.* Sonodynamic therapy-derived multimodal synergistic cancer therapy. *Cancer Lett* 2021; 497: 229–242.
- [20] Starkey C, Professor Coordinator F, Davis FA, *et al.* *Therapeutic Modalities Fourth Edition Library of Congress Cataloging-in-Publication Data.* 2013.
- [21] Yasui K. *Acoustic cavitation and bubble dynamics.* Cham: Springer International Publishing., 2018.
- [22] Suslick KS, Nyborg WL. ULTRASOUND: Its Chemical, Physical and Biological Effects. *J Acoust Soc Am* 1990; 87: 919–920.
- [23] Flannigan DJ, Suslick KS. Plasma formation and temperature measurement during single-bubble cavitation. *Nature* 2005; 434: 52–55.
- [24] Putterman SJ, Weninger KR. Sonoluminescence: How bubbles turn sound into light. *Annu Rev Fluid Mech* 2000; 32: 445–476.
- [25] Crum LA, Roy RA. Sonoluminescence. *Science (80-)* 1994; 266: 233–234.
- [26] Choi V, Rajora MA, Zheng G. Activating Drugs with Sound: Mechanisms behind Sonodynamic Therapy and the Role of Nanomedicine. *Bioconjug Chem* 2020; 31: 967–989.
- [27] Kessel D, Lo J, Jeffers R, *et al.* Modes of photodynamic vs. sonodynamic cytotoxicity. *J Photochem Photobiol B Biol* 1995; 28: 219–221.

Estudos pré-clínicos

- [28] Tserkovsky DA, Alexandrova EN, Chalau VN, *et al.* Effects of combined sonodynamic and photodynamic therapies with photolon on a glioma C6 tumor model. *Exp Oncol* 2012; 34: 332–335.
- [29] Wang P, Li C, Wang X, *et al.* Anti-metastatic and pro-apoptotic effects elicited by combination photodynamic therapy with sonodynamic therapy on breast cancer both in vitro and in vivo. *Ultrason Sonochem* 2015; 23: 116–127.
- [30] Jasim A, Abdulrahman J, Abd El-kaream S, *et al.* Biochemical and pathological evaluation of the effectiveness of nano-targeted sono-photodynamic therapy in breast cancer. *J Biosci Appl Res* 2019; 5: 18–31.
- [31] Zhu J, Wang Y, Yang P, *et al.* GPC3-targeted and curcumin-loaded phospholipid microbubbles for sono-photodynamic therapy in liver cancer cells. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2021; 197: 111358.
- [32] Alves F, Ayala ETP, Pratavieira S. Sonophotodynamic Inactivation: The power of light and ultrasound in the battle against microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 2021; 7: 100039.
- [33] Ponce Ayala ET, Alves Dias de Sousa F, Vollet-Filho JD, *et al.* Photodynamic and Sonodynamic Therapy with Protoporphyrin IX: In Vitro and In Vivo Studies. *Ultrasound Med Biol.* 2021;47(4):1032–44.
- [34] Zheng Y, Ye J, Li Z, *et al.* Recent progress in sono-photodynamic cancer therapy: From developed new sensitizers to nanotechnology-based efficacy-enhancing strategies. *Acta Pharm Sin B.* 2021;11(8):2197–219.

Uso do aumento da temperatura na superfície para promover o aumento da produção da PpIX no tecido

Mirian D. Stringasci, Hilde Harb Buzzá e Vanderlei Salvador Bagnato

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

A terapia fotodinâmica tópica comumente utiliza o ácido aminolevulínico ou o aminolevulinato de metila como agentes precursores da protoporfirina IX (PpIX), um fotossensibilizador endógeno presente em pequenas quantidades na célula. Estudos vem sendo realizados utilizando alteração da temperatura na superfície da pele para aumentar a produção da PpIX no tecido, um fator limitante do tratamento. Nestes estudos foi verificado que temperaturas mais elevadas influenciam principalmente no aumento da permeação do precursor no tecido. O uso de agentes termogênicos/vasodilatadores também se mostrou eficaz, aumentando tanto a quantidade quanto a profundidade da PpIX presente no tecido. Os resultados se mostraram promissores, podendo favorecer o desenvolvimento de novos protocolos clínicos que permitam tratar lesões mais espessas e, até mesmo, diminuir o período de incubação do creme, aumentando o conforto do paciente e favorecendo a rotina ambulatorial.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605433

1 Introdução

O ácido aminolevúlico (ALA) e o aminolevulinato de metila (M-ALA) são comumente usados no tratamento tópico de lesões de pele não melanoma utilizando terapia fotodinâmica (TFD). ALA e M-ALA ao serem aplicados sobre o tecido, penetram nas células, participam da biossíntese do grupo heme e estimulam maior formação de protoporfirina IX (PpIX) que se acumula preferencialmente em tecidos anormais. A PpIX é um fotosensibilizador endógeno presente em pequenas quantidades nas células. [1, 2]

A permeação cutânea do ALA ou M-ALA, assim como os longos tempos necessários de incubação para produção de PpIX suficiente para o tratamento são fatores limitantes da técnica. É necessário um período de incubação de cerca de 3 horas para que a PpIX produzida atinja até 2 mm de profundidade no tecido. Ainda assim, as heterogeneidades do tecido fazem com que a PpIX seja produzida de maneira não uniforme, de forma com que porções de tecido não contenham fotossensibilizador e o tratamento possa ser prejudicado. [3, 4]

Existem relatos que o aumento da temperatura do tecido pode favorecer a permeação do fármaco, além de aumentar o metabolismo celular acelerando o processo de produção da PpIX nas células. Desta forma, o aquecimento do tecido a ser tratado pode melhorar a eficácia da PDT em muitos aspectos, especialmente em áreas do corpo que apresentam temperaturas mais baixas naturalmente, como as extremidades. [5, 6] O aumento de temperatura também provoca a dilatação dos vasos sanguíneos da região, aumentando desta forma o aporte sanguíneo e, consequentemente, o abastecimento de oxigênio ao tecido. O Oxigênio é um elemento fundamental para que ocorra a ação fotodinâmica e, garantir que mais de suas moléculas cheguem ao tecido, é outra forma de favorecer a eficiência do tratamento. [7, 8]

Existem agentes termogênicos e/ou vasodilatadores comumente utilizados em tratamentos tópicos. O mentol é um vasodilatador que

possui também efeito analgésico, o que poderia aliviar a sensação de dor frequentemente reportada pelos pacientes e que vem sendo um fator limitante para aceitação da TFD. [9, 10] O uso do mentol em produtos cosméticos é autorizado pela ANVISA na concentração máxima de 1%. [11] O nicotinato de metila (NM) é outro vasodilatador que vem sendo utilizado em formulações tópicas para favorecer maior penetração na pele. [12] A ANVISA permite o uso na concentração máxima de 0,5%. [13] O gengibre é considerado um agente termogênico de origem natural e sem contraindicações. [14]

Vários estudos têm sido realizados no Instituto de Física de São Carlos utilizando modelo animal para explorar técnicas eficazes para aumentar e acelerar o processo de produção da PpIX alterando a temperatura na superfície do tecido, por meio de instrumentos físicos e por uso de agentes termogênicos incorporados no creme.

2 Alterando a temperatura do tecido para aumento da produção da PpIX

Foi realizado um estudo em modelo de pele de rato sadio testando o resfriamento/aquecimento do tecido tanto antes quanto após a aplicação de creme contendo ALA/M-ALA 20%. A condição de resfriamento/aquecimento previamente à aplicação do creme permitiu demonstrar se a alteração de temperatura da superfície tem efeito na permeação do fármaco. A condição de resfriamento/aquecimento imediatamente após a retirada do creme permitiu observar se a alteração da temperatura influencia no metabolismo celular no processo de produção da PpIX. [15]

Foi utilizado um equipamento peltier em contato com a pele do animal para resfriamento (em 20 °C) ou aquecimento (em 40 °C). As condições experimentais utilizadas estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições experimentais utilizadas no estudo.

Imediatamente antes da aplicação do creme	Período de incubação	Imediatamente após a aplicação do creme
Resfriamento (20 °C) / aquecimento (40 °C) da pele por 15 minutos	Creme contendo ALA/M-ALA por 30 minutos	_____
_____	Creme contendo ALA/M-ALA por 30 minutos	Resfriamento (20 °C) / aquecimento (40 °C) da pele por 180 minutos
_____	Creme contendo ALA/M-ALA por 30 minutos	_____

Foram adquiridos espectros de fluorescência para diferentes tempos de incubação (0, 1, 2 e 3 horas) e, imediatamente após os períodos de incubação, os animais foram eutanasiados e um fragmento de tecido foi retirado e foi obtida imagem de fluorescência utilizando um microscópio confocal. Alguns exemplos estão demonstrados na Figura 1.

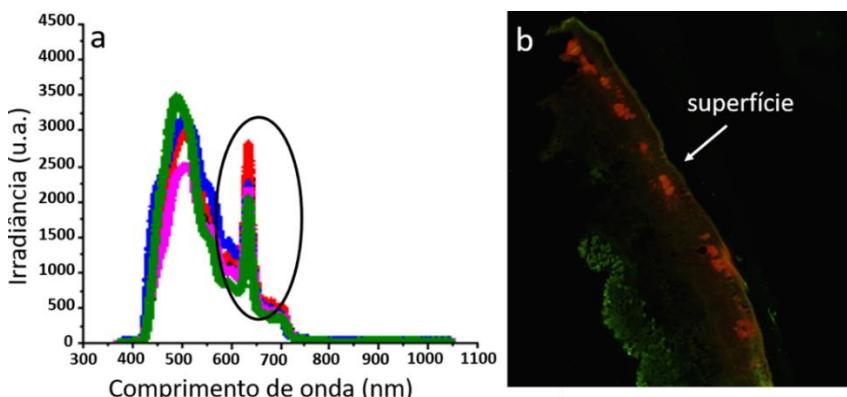


Figura 1. Dados obtidos da pele após 2 horas de incubação do creme M-ALA 20% associado com NM 0,5%. (a) Espectro de fluorescência. Dentro do círculo preto está o pico característico da PpIX emitido em 630nm; (b) imagem de microscopia confocal, a fluorescência verde é característica da autofluorescência do tecido, enquanto a vermelha é característica da PpIX.

A fluorescência verde (pico em 500 nm) observada tanto no espectro de fluorescência quanto na imagem por confocal é característica da autofluorescência do tecido, enquanto a fluorescência vermelha (pico em

630 nm) é característica da PpIX. [16]

Através dos resultados obtidos no estudo foi observado que tanto o aumento quanto a diminuição da temperatura durante longos períodos após a incubação do creme de ALA ou MAL causou melhora na produção de PpIX. A maior produção de PpIX foi observada na condição em que o tecido foi aquecido previamente à incubação do creme, favorecendo sua penetração.

No entanto, este estudo utilizou grandes variações de temperatura. A temperatura natural da superfície da pele dos ratos é cerca de 32 °C, sendo que foram refrigeradas a 20 °C ou aquecidas a 40 °C. Então, foram conduzidos novos estudos utilizando agentes termogênicos incorporados ao creme a fim de obter aumentos de temperatura mais discretos.

3 Uso de agentes termogênicos/vasodilatadores incorporados ao creme ALA/M-ALA

Este estudo também foi realizado em modelo de pele de rato sadio. Os agentes mentol (1%), NM (0,5%) e gengibre (5%) foram incorporados aos cremes contendo ALA/M-ALA 20% e ficaram incubados por 3 horas. [17]

Através dos espectros de espectroscopia de fluorescência foi verificado que o NM incorporado ao M-ALA aumentou a produção de PpIX em cerca de 50% após 180 minutos de incubação. Todos os agentes (mentol, NM e gengibre) incorporados ao ALA aumentaram a produção de PpIX nas 2 primeiras horas de incubação, porém, em 3 horas a PpIX produzida foi equivalente. Nas imagens de confocal dos fragmentos de pele dos animais verificou-se que os tecidos que receberam os cremes contendo agentes termogênicos apresentaram fluorescência vermelha, característica da PpIX, mais intensa e mais predominante se comparado aos tecidos que receberam os cremes contendo apenas ALA/M-ALA.

Devido os resultados promissores observados do NM 0,5% incorporado ao creme M-ALA 20%, um novo estudo foi realizado. Neste foi demonstrado *in vitro* que a concentração de 0,5% de NM não é citotóxica

Estudos pré-clínicos

às células saudáveis, além de demonstrar o efeito vasodilatador da substância em modelo de membrana coreoalontóica (Figura 2). [18]

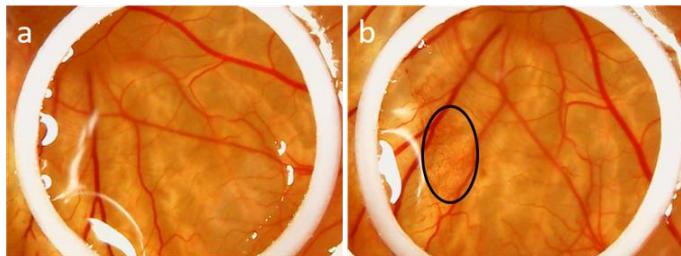


Figura 2. Imagens de modelo de membrana coreoalontóica (a) inicialmente e (b) após 15 minutos de incubação com NM 1%.

Na Figura 2, podem-se observar vasos de ovo de galinha após 15 minutos de incubação com MN 1 %, no círculo preto é possível observar pequenos vasos que se romperam devido à dilatação promovida pelo MN. Neste estudo também foi aplicada a TFD nos tecidos previamente incubados com os diferentes cremes e, através de análise visual das crostas (Figura 3) e das lâminas histológicas, foi observado que os danos mais severos foram apresentados nos grupos que receberam NM associado ao creme M-ALA 20%.

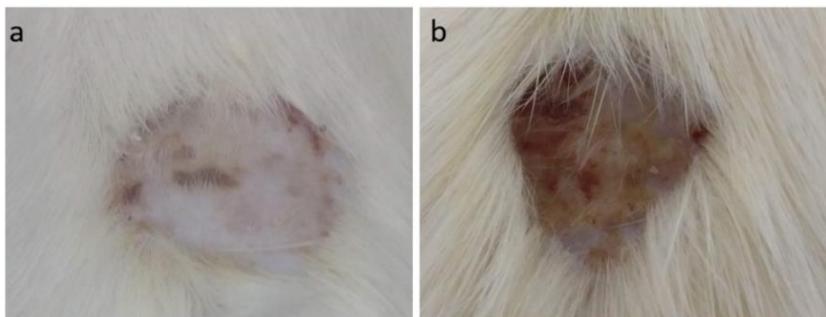


Figura 3. Exemplos do aspecto visual dos tecidos após tratamento de TFD usando (a) apenas M-ALA 20% e (b) M-ALA 20% associado com NM 0,5%.

Estes estudos são promissores e podem favorecer os protocolos clínicos aumentando a profundidade da produção de PpIX no tecido permitindo

que lesões mais espessas sejam tratadas e, além disso, pode tornar-se viável para a diminuição do tempo de incubação do creme, aumentando o conforto do paciente e favorecendo a rotina ambulatorial.

Referências bibliográficas

- [1] Torezan L, Niwa ABM, Neto CF. Terapia fotodinâmica em dermatologia: Princípios básicos e aplicações. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 2009; 84: 445–459.
- [2] MacCormack MA. Photodynamic Therapy. *Advances in Dermatology* 2006; 22: 219–258.
- [3] LaRochelle EPM, Marra K, LeBlanc RE, et al. Modeling PpIX effective light fluence at depths into the skin for PDT dose comparison. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2019; 25: 425–435.
- [4] Peng Q, Soler AM, Warloe T, et al. Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Photochem Photobiol B Biol* 2001; 62: 140–145.
- [5] Willey A, Anderson RR, Sakamoto FH. Temperature-Modulated Photodynamic Therapy for the Treatment of Actinic Keratosis on the Extremities. *Dermatologic Surg* 2014; 40: 1094–1102.
- [6] Ishida N, Watanabe D, Mizutani K, et al. Heating increases protoporphyrin IX production in normal skin after delivery of 5-aminolevulinic acid by iontophoresis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2009; 25: 333–334.
- [7] House J, Tipton M. Using skin temperature gradients or skin heat flux measurements to determine thresholds of vasoconstriction and vasodilatation. *Eur J Appl Physiol* 2002; 88: 141–145.
- [8] Wilson BC. Photodynamic therapy for cancer: principles. *Can J Gastroenterol* 2002; 16: 393–396.
- [9] Galeotti N, Di Cesare Mannelli L, Mazzanti G, et al. Menthol: a natural analgesic compound. *Neurosci Lett* 2002; 322: 145–148.
- [10] Nortier YLM, van de Haven JA, Koks CHW, et al. Preparation and stability testing of a hydrogel for topical analgesia. *Pharm World Sci* 1995; 17: 214–217.
- [11] Anvisa. Assunto: Mentol em produtos cosméticos. Disponível em:

Estudos pré-clínicos

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/cosmeticos/parceres/parecer-tecnico-no-8-de-10-de-novembro-de-2005-atualizado-em-26-7-2006>

- [12] Boelsma E, Anderson C, Karlsson AMJ, *et al.* Microdialysis technique as a method to study the percutaneous penetration of methyl nicotinate through excised human skin, reconstructed epidermis, and human skin *in vivo*. *Pharm Res* 2000; 17: 141–147.
- [13] Anvisa. Assunto: Avaliação toxicológica do nicotinato de metila.
- [14] Kemper KJ. Ginger (*Zingiber officinale*). *The Longwood Herbal Task Force* 1999; 1–18.
- [15] Stringasci MD, Moriyama LT, Vollet-Filho JD, *et al.* Temperature effect on the PpIX production during the use of topical precursors. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2020; 30: 101786.
- [16] Valentine RM, Ibbotson SH, Brown CT a, *et al.* A quantitative comparison of 5-Aminolaevulinic acid- and methyl aminolevulinate-induced fluorescence, photobleaching and pain during photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2011; 87: 242–249.
- [17] Stringasci MD, Vollet-Filho JD, Moriyama LT, *et al.* Investigation of protoporphyrin IX production induced by aminolevulinic acid combined with thermogenic and/or vasodilator substances. In: Hasan T (ed) *17th International Photodynamic Association World Congress*. SPIE, p. 216.
- [18] Stringasci MD, Cioli H, Romano RA, *et al.* MAL-associated methyl nicotinate for topical PDT improvement. *J Photochem Photobiol B Biol* 2020; 213: 112071.