

Universidade Federal do Paraná

Departamento de Clínica Médica

Serviço de Dermatologia

**Janyana Marcela Doro Deonizio**

***Criopeeling* para tratamento de fotodano e ceratoses actínicas:**

**comparação entre nitrogênio líquido e sistema portátil**

Curitiba

2010

Universidade Federal do Paraná

Departamento de Clínica Médica

Serviço de Dermatologia

***Criopeeling* para tratamento de fotodano e ceratoses actínicas:  
comparação entre nitrogênio líquido e sistema portátil**

***Janyana M. D. Deonizio***

***Monografia apresentada ao programa  
de Pós-graduação em Dermatologia,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do certificado de conclusão  
da especialização em Dermatologia.***

***Orientadora: Dra Fabiane Andrade  
Mulinari Brenner***

Curitiba

2010

## RESUMO

*Fundamentos:* O *criopeeling* utiliza a crioterapia difusa, não somente nas lesões de ceratose actínica, mas em toda a pele fotodanificada. *Objetivos:* Comparar dois métodos de *criopeeling* (nitrogênio líquido- **NL** e sistema portátil de éter dimetílico, propano e isobutano - **SP**) quanto à eficiência no tratamento de ceratoses actínicas, tolerabilidade do paciente, preferência do paciente e do pesquisador e resultado estético. Investigou-se as alterações histológicas induzidas pelos tratamentos. *Métodos:* Dezesesseis pacientes (N=16) com múltiplas ceratoses actínicas nos antebraços foram submetidos à *criopeeling* com **NL** em um dos antebraços e com **SP** no outro, randomicamente. Realizaram-se biópsias de pele antes e após os procedimentos. *Resultados:* Quanto à eficácia terapêutica para ceratoses actínicas, o **NL** obteve 74% de melhora e o **SP** 62% ( $p = 0,019$ ). A média da escala visual analógica (0-10) foi  $5,7 \pm 1,61$  com o **NL** e  $4,3 \pm 1,44$  com o **SP** ( $p = 0,003$ ). Não houve diferença estatística entre os métodos quanto à preferência do paciente e do pesquisador. Na análise das fotos, observou-se melhora do aspecto da pele nos dois tratamentos ( $p < 0,001$ ). Com o **NL** em 62,5% das vezes houve algum grau de melhora e com o **SP** em 52% ( $p > 0,05$ ). Na análise histológica, não houve diferença estatística quanto à espessura da epiderme e da zona Grenz ou densidade de fibras colágenas após os tratamentos. A quantidade de pigmento foi menor após o tratamento com **SP** ( $p < 0,05$ ). *Discussão:* O **SP** foi mais tolerado, mas menos eficiente do que o **NL**. Não houve diferença estatística entre os métodos na preferência do paciente e do pesquisador. Apesar da melhora clínica, não houve evidência de melhora histológica do fotodano após os tratamentos. *Conclusões:* A técnica de *criopeeling* é uma opção para o tratamento do fotodano. O **SP** pode ser uma alternativa interessante na prática clínica com boa tolerância e resultados aceitáveis no tratamento de ceratoses actínicas. O *criopeeling* não induziu alterações histológicas significativas, exceto na quantidade de pigmento com o **SP**.

**Palavras-chave:** Ceratose Actínica, Crioterapia, Envelhecimento da Pele

## **ABSTRACT**

*Fundamentals:* Cryopeeling uses diffuse cryotherapy, not only on the lesions of actinic keratosis, but all over the photodamaged skin. Objectives: The aim of this study was to compare two methods of cryotherapy: liquid nitrogen (LN) and portable system (PS) and demonstrate their efficiency while treating actinic keratosis, aesthetic results, patient tolerance and preference, as well as researcher preferences were evaluated. Histological changes induced by treatments were investigated. *Methods:* Sixteen patients (N = 16) with multiple actinic keratosis on the forearms received cryopeeling with LN on a forearm and with PS on the other, randomly. *Results:* Regarding actinic keratosis treatment, LN obtained 74% efficiency and SP 62% ( $p = 0.019$ ). The mean visual analogue scale (0-10) was  $5.7 \pm 1.61$  with NL and  $4.3 \pm 1.44$  with PS ( $p = 0.003$ ). There was no statistical difference between the methods regarding the preference of the patient and the researcher. Photo analysis demonstrated an improvement of the skin appearance with both treatments ( $p < 0.001$ ). With LN in 62.5% of the cases some degree of improvement was noticed and with PS in 52% ( $p > 0.05$ ). Histological analysis showed no statistical difference on the thickness of the epidermis and Grenz zone or the collagen fibers density after treatments. Epidermal pigment was lower after treatment with SP ( $p < 0.05$ ). *Discussion:* The PS was well tolerated, but less efficient than LN. Despite clinical improvement, no measurable histological improvement on photodamage was demonstrated after treatments. *Conclusions:* Cryopeeling technique may be an option on the treatment of photodamage. The PS may be an interesting alternative in clinical practice with good tolerance and acceptable results when treating actinic keratosis. Cryopeeling was not able to induce significant histological changes, except on the amount of pigment with PS.

**Keywords:** Actinic Keratosis, Cryotherapy, Skin Aging

## **Agradecimentos**

*Agradeço enormemente minha orientadora, Dra Fabiane, pela prontidão incondicional e pelo carinho para me guiar nessa jornada. Algumas pessoas servem de exemplo para as nossas vidas. Minha sincera admiração e gratidão.*

*À dermatopatologista Betina Werner, um exemplo de doação descompromissada, por todos os ensinamentos na histologia e por ter disponibilizado tempo precioso para análise das lâminas desse trabalho.*

*Às minha colegas de residência, as quais considero as irmãs que eu não tive, por todo o companheirismo e amizade que marcaram para sempre minha vida.*

*Ao Dr. Jesus, pela disposição constante em nos ajudar a crescer.*

*Ao Dr. Sérgio por toda a inspiração. Você me ensinou que os verdadeiros sábios são humildes.*

*Aos meus pais e ao Rodrigo pelo apoio e compreensão que me oferecem todos os dias nesse caminho longo para atingir meus objetivos.*

## **Lista de Tabelas**

TABELA 1 – COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DA ESPESSURA DA EPIDERME, ZONA GRENZ E QUANTIDADE DE PIGMENTO .....	28
--	----

## Lista de Figuras

FIGURA 1 – TÉCNICA DO <i>CRIOPEELING</i> .....	17
FIGURA 2 – EFICIÊNCIA NO TRATAMENTO DE CERATOSES ACTÍNICAS.....	18
FIGURA 3 – AVALIAÇÃO DA ESPESSURA DA EPIDERME.....	20
FIGURA 4 – ABERTURA DOS ACROSSIRÍNGEOS.....	20
FIGURA 5 – AVALIAÇÃO DA ESPESSURA DA ZONA GRENZ.....	21
FIGURA 6 – AVALIAÇÃO DA QUANTIDADE DE PIGMENTO.....	22
FIGURA 7 – AVALIAÇÃO DAS FIBRAS ELÁSTICAS .....	23
GRÁFICO 1 – COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS TRATAMENTOS.....	24
GRÁFICO 2 – COMPARAÇÃO DA TOLERABILIDADE DOS TRATAMENTOS.....	25
GRÁFICO 3 – PREFERÊNCIAS DOS PACIENTES E DO MÉDICO .....	26
FIGURA 8 – DOCUMENTAÇÃO FOTOGRÁFICA .....	27
GRÁFICO 4 – ANÁLISE DO ASPECTO SUPERFICIAL DA PELE .....	27
GRÁFICO 5 – ANÁLISE DO PIGMENTO MELÂNICO.....	29
GRÁFICO 6- COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DE PIGMENTO MELÂNICO .....	29
GRÁFICO 7 – DENSIDADE DE FIBRAS COLÁGENAS.....	30
GRÁFICO 8 – PORCENTAGEM DE ACERTOS NA ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	31

## **Lista de Abreviaturas**

NL: nitrogênio líquido

SP: sistema portátil

SP: portable system

LN: liquid nitrogen

CA: ceratose actínica

CEC: carcinoma espinocelular

## Sumário

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
3.1	FOTODANO .....	12
3.2	CERATOSSES ACTÍNICAS .....	13
3.3	OPÇÕES TERAPÊUTICAS .....	14
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	16
4.1	ANÁLISE CLÍNICA .....	16
4.2.	ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	19
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	24
5.1	RESULTADOS CLÍNICOS .....	24
5.2	RESULTADOS HISTOLÓGICOS .....	28
<b>6.</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	37
<b>8.</b>	<b>CONFLITOS DE INTERESSE</b> .....	38
<b>9.</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1. INTRODUÇÃO

A ceratose actínica é uma neoplasia intraepidérmica induzida pelo sol com possibilidade de transformação neoplásica estimada em 0,075- 0,096% por lesão por ano.<sup>1,2,3</sup> Esses dados justificam tratamento eficiente da ceratose actínica, especialmente nos casos de múltiplas lesões.

A crioterapia usando nitrogênio líquido (**NL**) é a modalidade mais comum de tratamento de ceratoses actínicas.<sup>4,5</sup> Um sistema portátil (**SP**) é uma alternativa mais recente para crioterapia, o qual utiliza gases (éter dimetílico, propano e isobutano) em um recipiente de plástico portátil. Uma das vantagens seria a praticidade do método, uma vez que não é necessário reabastecer periodicamente a substância, como é o caso do nitrogênio líquido, e tem um prazo de validade de três anos.

O criopeeling é uma técnica que utiliza a crioterapia de maneira difusa, em toda a pele da região afetada pelo dano solar com o objetivo de promover descamação e renovação celular, com possíveis benefícios no surgimento de novas lesões. Poucos trabalhos foram realizados com a técnica de criopeeling até hoje.<sup>6,7</sup> No estudo de CHIARELLO (2001) com 373 pacientes com ceratoses actínicas, os resultados obtidos com o *criopeeling* foram satisfatórios e mais eficientes que o 5-fluoracil. Concluiu-se que o uso *criopeeling* parece ser eficiente, acessível e de fácil aplicação.<sup>7</sup>

Estabelecer opções vantajosas, do ponto de vista prático e de eficiência, no tratamento do fotodano e de ceratoses actínicas é importante em países tropicais devido à elevada prevalência. O objetivo do presente estudo foi comparar os dois métodos de crioterapia (nitrogênio líquido e sistema portátil) quanto à eficiência no tratamento de ceratose actínica; tolerabilidade do paciente; preferência do paciente e do médico pesquisador e resultado estético. Investigaram-se as possíveis alterações histológicas induzidas pelos tratamentos.

## 2. OBJETIVOS

O objetivo do presente estudo foi comparar duas técnicas de *criopeeling* (nitrogênio líquido e sistema portátil) quanto a:

- Eficiência do tratamento no tratamento de ceratoses actínicas;
- Tolerabilidade;
- Preferência do paciente e do médico;
- Resultado estético;
- Investigação de alterações histológicas na pele fotodanificada após os tratamentos.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fotodano

As alterações histológicas devido ao fotoenvelhecimento são bastante debatidas na literatura. Acredita-se que haja uma diminuição do *turn over* celular que resulta em: diminuição taxa de renovação do estrato córneo, atrofia epidérmica, aumento do tempo de cicatrização e descamação menos efetiva. Há um acúmulo de corneócitos que torna a superfície da pele áspera e com um aspecto comprometido. Quanto à derme, há uma redução de cerca de 20% de sua espessura, com desorganização das fibras colágenas e acúmulo de material contendo elastina anormal.<sup>8</sup>

Os três componentes primários da derme são: colágeno, elastina e glicosaminoglicanas. O primeiro, responsável pela força e suporte da pele, com o fotoenvelhecimento se desorganiza e apresenta fibrilas espessas arranjadas em feixes tipo corda. Em contraste com a proporção de 80% de colágeno tipo I e 15 % de colágeno tipo III da pele jovem, na pele envelhecida a relação entre colágeno tipo III/I aumenta.<sup>8,9,10</sup> A exposição à radiação ultravioleta induz fatores de transcrição envolvidos na ativação de genes de metaloproteinases da matriz e a produção conseqüente de colagenases, gelatinases e estromelina, mecanismo talvez responsável pela diminuição dos níveis de colágeno.<sup>8</sup>

O fotodano é marcado pela elastose, que se caracteriza por alterações nas fibras elásticas com acúmulo de material de elastina amorfo e espessamento e agrupamento das fibras elásticas na derme papilar. A microscopia eletrônica evidencia uma redução das microfibrilas e aumentos das áreas interfibrilares, da complexidade das formas e arranjos das fibras, bem como e inclusões eletron-densas. A resposta inicial ao dano solar é hiperplásica, resultado no aumento da quantidade de fibras. Posteriormente a resposta é degenerativa, com diminuição da elasticidade e resiliência da pele.

Há mudança no padrão normal das fibras elásticas imaturas, chamadas de oxitalânicas, localizadas na derme papilar. Essa rede ascendente, perpendicular da camada mais alta da papila dérmica até logo abaixo da membrana basal, vai desaparecendo gradativamente. Todas as glicosaminoglicanas (ácido hialurônico, dermatan sulfato e condroitin sulfato) estão diminuídas na pele fotodanificada, particularmente o ácido hialurônico.<sup>8</sup>

O peeling médio com ácido tricloroacético induziu um aumento das fibras elásticas na derme papilar após o procedimento, estabelecendo o que se chamou de zona Grenz<sup>11</sup>. Uma resposta hiperplásica da epiderme havia sido notada em alguns estudos anteriores após várias seções de peeling, mas nesse estudo não conseguiram, com uma única sessão, evidenciar essa modificação. O significado da palavra Grenz é “fronteira” e o termo zona Grenz pode ser usado para designar uma área subepidérmica poupada pelo infiltrado inflamatório no granuloma anular. Esse termo foi usado no presente estudo, por analogia, para designar a área subepidérmica que separa a epiderme da área de elastose na derme.

### **3.2 Ceratoses actínicas**

A ceratose actínica (CA) é uma neoplasia induzida pelo sol confinada a epiderme passível de evolução para carcinoma espinocelular (CEC).<sup>1,2</sup> Estima-se que a possibilidade de desenvolvimento de CEC invasivo seja de 0,075-0,096% por lesão por ano.<sup>3</sup> Estes dados justificam tratamento eficiente da ceratose actínica, especialmente nos casos de múltiplas lesões. Mais de 80% das lesões são encontradas nas áreas expostas ao sol como face, pescoço e membros.<sup>12</sup> Indivíduos mais idosos, com pele clara e com histórico de exposição excessiva ao sol estão sob maior risco de desenvolvimento das lesões. A lesão primária é caracterizada por pápula hiperkeratótica áspera com escama amarelada ou branca, de tamanho variável. No início as lesões podem ser apenas eritematosas e de difícil visualização podendo tornar-se hiperkeratóticas com a evolução. Além da CA clássica existem alguns subtipos,

a saber: hiperkeratótica, pigmentada, liquenóide, atrófica, bowenóide, corno cutâneo e queilite actínica. Histologicamente encontra-se queratinócitos atípicos com pleomorfismo nuclear acometendo parcialmente a epiderme, o que a diferencia do CEC *in situ*, o qual acomete toda a espessura. Hiperkeratose e parakeratose geralmente estão presentes e caracteristicamente poupam o acrosíngio e acrotríquia, locais em que se observa uma ortokeratose. Produz-se, dessa maneira, o que é chamado de sinal da bandeira: ortokeratose alternada com parakeratose<sup>3</sup>

### 3.3 Opções terapêuticas

O tratamento das ceratoses actínicas pode ser feito com diversas modalidades, entre elas a crioterapia, na qual o congelamento das células provoca necrose. A crioterapia usando nitrogênio líquido (NL) é uma opção freqüente, de fácil acesso aos dermatologistas e com bom custo/benefício no tratamento dessas lesões.<sup>1,5,6</sup> Um sistema portátil (SP) é uma alternativa mais recente para crioterapia, o qual utiliza gases (éter dimetílico, propano e isobutano) em um recipiente de plástico portátil. A temperatura atingida pelo aplicador é de -55°C. O nitrogênio em sua forma líquida tem uma temperatura de -196°C e a temperatura a ser atingida no tecido para tratamento de neoplasias está entre -50°C e -60°C.<sup>3</sup>

Em um estudo multicêntrico prospectivo concluiu-se que o tempo de congelamento das lesões influencia o sucesso terapêutico. A resposta completa foi de 39% para tempos de congelamento menores que 5 segundos, 69% com tempos maiores que 5 segundos e 83% com tempos maiores que 20 segundos.<sup>13</sup> Nesse estudo os resultados cosméticos foram bons a excelentes em 94% dos casos que obtiveram resposta completa. A porcentagem global de resposta completa foi de 67,2%.

Apesar dos métodos ablativos focais serem considerados opções efetivas, um conceito mais recente relacionado ao tratamento do “campo de

cancerização” tem norteado o tratamento das ceratose actínicas múltiplas. O campo de cancerização é definido por toda a área fotodanificada que, apesar de não apresentar lesões clínicas, evidencia alterações pré-neoplásicas e mutações genéticas, as quais precedem o desenvolvimento de tumores. Considerando esse fato, outros tratamentos podem ser escolhidos para o tratamento das ceratose actínicas como a terapia fotodinâmica e medicação tópica, visando o tratamento de uma maior área de pele e de lesões subclínicas. O uso de 5 fluoracil, diclofenaco tópico e imiquimod são alternativas nessa linha de abordagem dessas lesões.<sup>1</sup>

O uso combinado de terapias como 5-fluoracil 0,5% tópico seguido de crioterapia, crioterapia seguida de diclofenaco e terapia fotodinâmica seguida de imiquimod parecem ser melhores do que as terapias isoladas.<sup>1</sup>

Assim como a ceratose actínica, a doença de Bowen é também um tumor intraepidérmico, com riscos para transformação em CEC invasivo ainda maiores (3-10% dos pacientes desenvolvem neoplasia invasora). KAMINAKA *et al* (2009) avaliaram clínica e histologicamente o peeling de fenol como uma nova terapêutica eficiente das ceratoses actínicas e doença de Bowen.<sup>2</sup> A espessura da camada córnea e do tumor foram medidas no centro da lesão em três campos microscópicos. Concluíram que o sucesso do tratamento se correlaciona com a espessura do tumor em si e não com a espessura da camada córnea.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Análise clínica

Selecionaram-se dezesseis pacientes (**n=16**) atendidos em consultas dermatológicas com fotodano importante que apresentavam múltiplas ceratoses actínicas em membros superiores. Foram incluídos homens e mulheres com idade entre 50-80 anos. Pacientes com doenças crônicas descompensadas ou alterações na coagulação foram excluídos do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de ética do hospital atendendo às normas oficiais vigentes (Resolução CNS 196/96, Lei 6.638/79 e Resolução Normativa 04/97).

Os pacientes foram submetidos à documentação fotográfica padronizada antes e após o procedimento. Os pacientes receberam o tratamento de *criopeeling* utilizando-se o sistema portátil (**SP**) em um dos antebraços e o nitrogênio líquido (**NL**) no outro antebraço, randomicamente. Aplicou-se anestésico tópico (lidocaína 5% e prilocaína 5%) oclusivo por duas horas antes do procedimento. Para orientar a aplicação, foi realizada a demarcação de quadrantes e das lesões de ceratose actínica a serem individualmente tratadas. O *criopeeling* foi realizado aplicando-se a substância congelante com movimentos de pincel em toda a extensão do antebraço até o branqueamento da pele.<sup>8</sup> As lesões de ceratose actínica foram tratadas em seguida, individualmente, com tempo variável de congelamento estipulado pelo pesquisador (**Figura 1**). Realizou-se previamente curetagem superficial das lesões muito hiperkeratóticas. Seguindo as orientações do fabricante para a utilização do sistema portátil, a válvula foi pressionada até que algumas gotas do produto fossem eliminadas pela ponteira. Em seguida o aplicador foi girado 90° e aguardou-se cerca de quinze segundos até o congelamento da ponteira. Esta foi deslizada sobre a pele com movimentos rotacionais provocando o branqueamento da pele. Após algumas aplicações o processo foi repetido para

se manter a eficácia do procedimento. Utilizou-se topicamente vaselina no pós-operatório para hidratar a pele e diminuir o desconforto da cicatrização. Logo após o procedimento os pacientes responderam uma escala visual analógica (VAS) de zero (sem desconforto) a 10 (pior desconforto possível).<sup>14</sup>

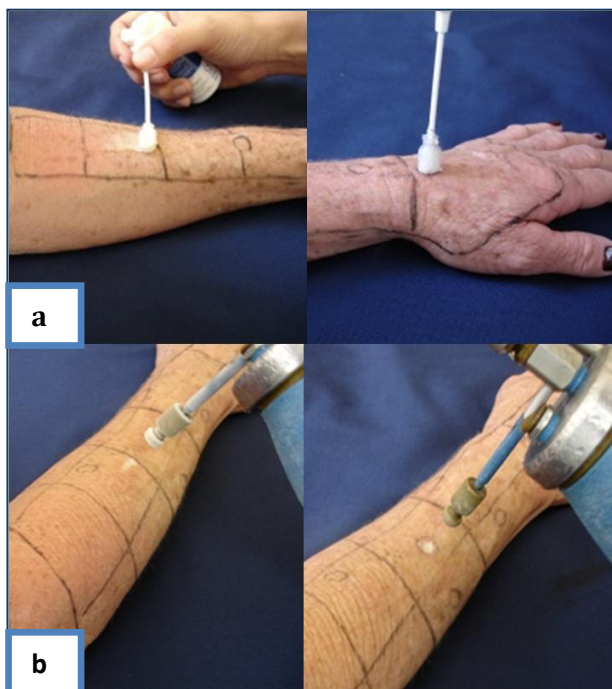


Figura 1: Aplicação do sistema portátil (a) e do nitrogênio líquido (b) em movimentos de pincel e, em seguida, tratamento das lesões de ceratose actínica isoladamente.

Os pacientes foram seguidos em consultas periódicas no 7º, 14º, 21º, 30º e 60º dia após o procedimento. Nessas ocasiões, novas fotos foram realizadas para documentação da evolução da cicatrização.

Avaliou-se a eficiência dos métodos por meio da marcação prévia das lesões com folhas de acetato e caneta de tinta permanente (**Figura 2**). Após sessenta dias contabilizaram-se as lesões completamente tratadas, ou seja, sem qualquer resquício da lesão.



**Figura 2: Avaliação da eficiência do tratamento de ceratoses actínicas usando folha de acetato para contabilizar as lesões completamente tratadas.**

Após sessenta dias o paciente e o médico pesquisador responderam a uma escala de cinco pontos a qual variava de -2 (direito muito melhor que esquerdo) a +2 (esquerdo muito melhor que direito)<sup>14</sup>, levando em consideração o resultado até aquele momento.

O resultado estético foi avaliado por meio da comparação das fotos antes e após sessenta dias do procedimento. Três profissionais médicos dermatologistas aplicaram notas de avaliação de melhora do aspecto superficial da pele seguindo uma escala padronizada: 0 = sem melhora / 1 = pouco melhor/ 2= muito melhor. Os avaliadores eram cegos quanto ao tratamento que estava sendo avaliado.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste não paramétrico de comparação de duas amostras pareadas, conhecido como teste do sinal. Para análise da melhora do aspecto superficial da pele utilizou-se o teste *t* de Student.

## 4.2. Análise histológica

Todos os pacientes foram submetidos à biópsia de pele na porção lateral de cada um dos antebraços para análise histológica da pele que receberia cada um dos procedimentos. Evitaram-se intencionalmente áreas de ceratose actínica. Após 60 dias do procedimento, nova biópsia foi realizada em cada antebraço, um cm distal da primeira, com o intuito de evitar a área cicatricial resultante da primeira biópsia e, ao mesmo tempo, manter a mesma região de pele analisada. Foram estabelecidos códigos aleatórios aos casos de maneira a permitir análise cega dos dados em todas as avaliações histológicas. Cada análise foi realizada por um mesmo observador em um único dia, para minimizar as variações nas medidas.

Na coloração de hematoxilina eosina, analisou-se a espessura da epiderme por meio de três medidas consecutivas dos pontos de menor espessura utilizando-se o do programa software Image-Pro<sup>®</sup> versão 4.5.123 (**Figura 3**). Dessa maneira objetivou-se descartar os aumentos de espessura da epiderme decorrentes das aberturas dos acrossiríngenos (**Figura 4**).

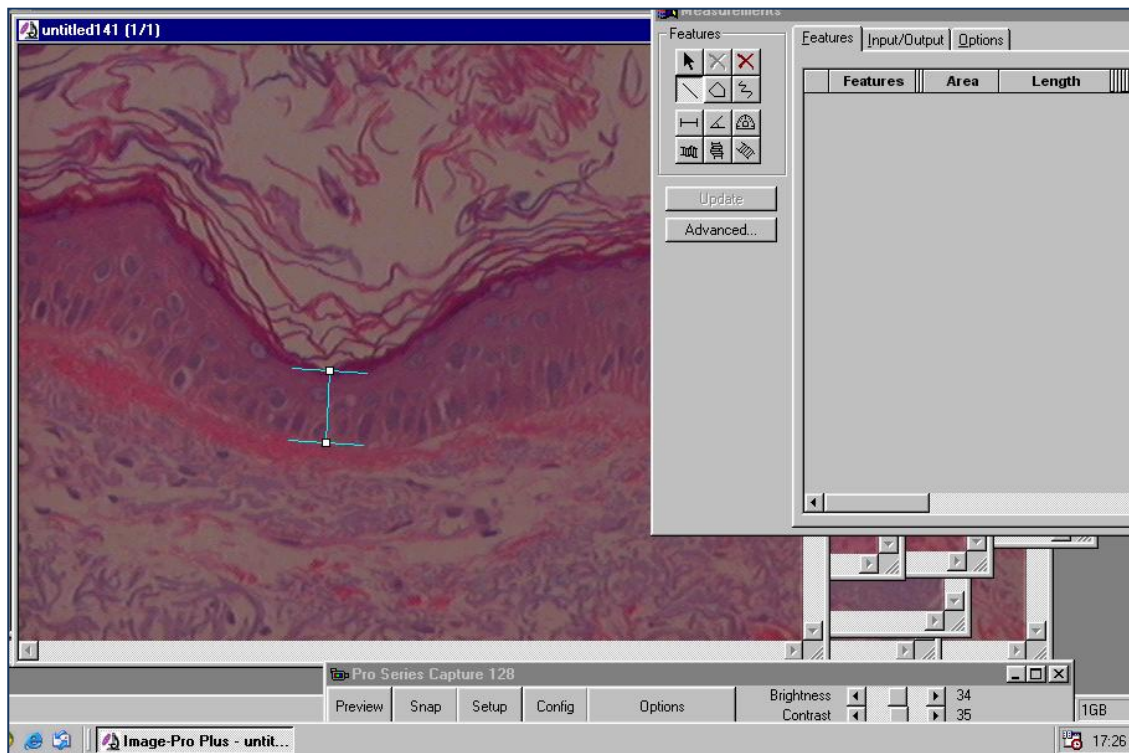


Figura 3: Medida da espessura da epiderme colocando-se o cursor de maneira que as barras perpendiculares da extremidade acompanhassem a linha superior e inferior da epiderme. Outras duas medidas foram tiradas de áreas de menor espessura.

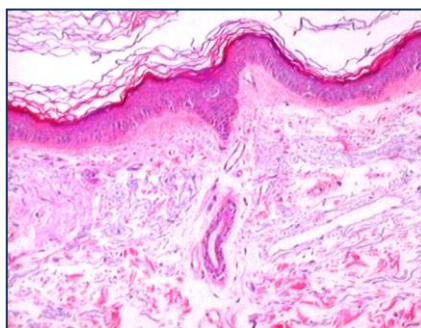
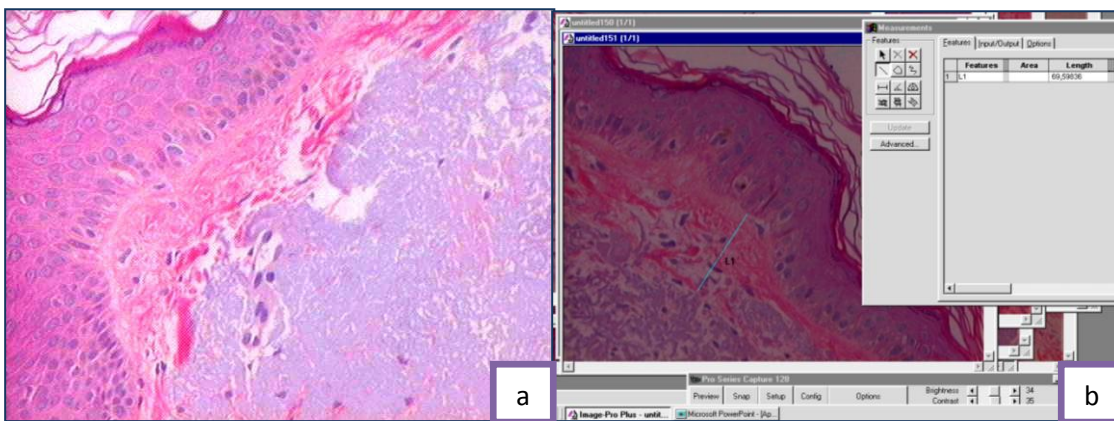


Figura 4: Área do acrossíngeo com aumento da espessura da epiderme que foi propositadamente evitada com as medidas da menor espessura.

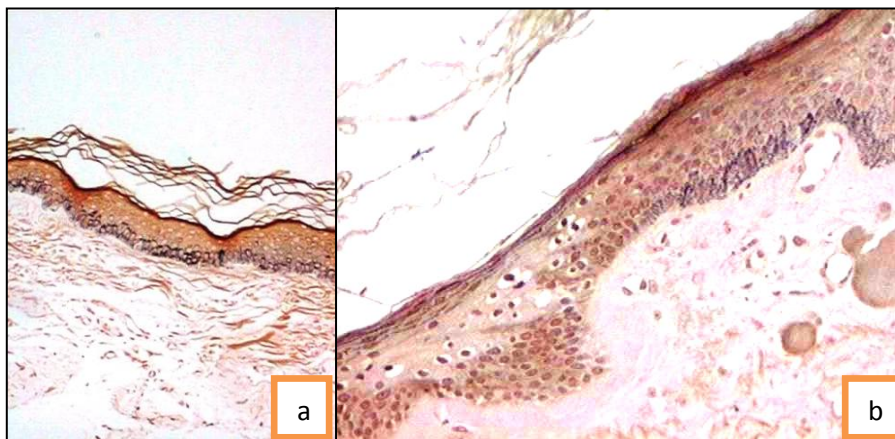
Foram obtidas três medidas de cada corte para a zona Grenz, área da derme papilar frouxa poupada pela elastose. A maior medida foi descartada quando era maior que o dobro da segunda maior medida, a fim de diminuir os erros de medição (**Figura 5**).



**Figura 5:** Exemplo de zona Grenz, a área de colágeno frouxo logo abaixo da epiderme que é poupada pela área de elastose intensa com coloração lilás (a). Medida da espessura da zona Grenz, do fim da camada basal da epiderme até o início da área de elastose. Imagem obtida utilizando-se o software Image-Pro® versão 4.5.123 (b).

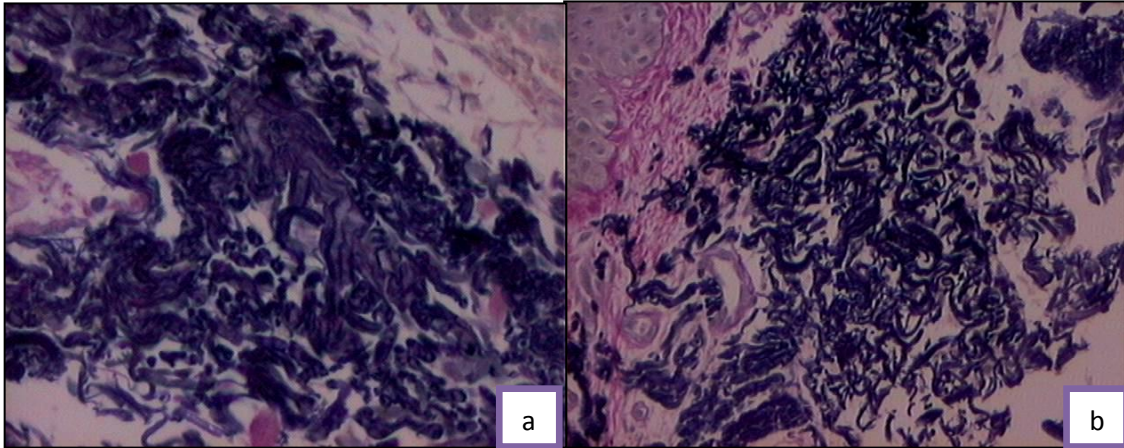
Uma dermatologista analisou os pares de lâminas pré e pós procedimento, de maneira cega. Considerou-se uma análise global da qualidade da pele, levando-se em consideração a normalidade da camada córnea, espessura da epiderme, presença de lentigos e qualidade/quantidade da elastose. Cegamente tentou-se estabelecer qual das duas lâminas tinha sido submetida ao procedimento, ou seja, tentou-se definir qual corresponderia ao pré e ao pós, ou se não era possível definir esse parâmetro. Uma segunda análise foi realizada nos mesmos moldes, mas considerando apenas a análise da camada córnea.

Com o objetivo de analisar a distribuição do pigmento da camada basal a coloração de Fontana Masson foi utilizada. Cada lâmina foi dividida em 5 partes, sendo que cada uma corresponderia a 20% do total. Cada segmento foi classificado de acordo com a quantidade de pigmento em: pouco, moderado ou intenso. Assim cada espécime recebeu uma distribuição do pigmento, por exemplo: 20% com pouco pigmento e 80% com intenso, sempre totalizado 100% (**Figura 6**).



**Figura 6:** Exemplo de área classificada como pigmento intenso (a). Transição de área com pouco e moderada quantidade de pigmento (b).

A coloração para fibras elásticas Weigert foi realizada a fim de comparar a elastose antes e após o tratamento. De maneira cega os pares de lâminas pré e pós procedimento foram analisados, escolhendo qual deles teria uma maior densidade de fibras elásticas (**Figura 7**).



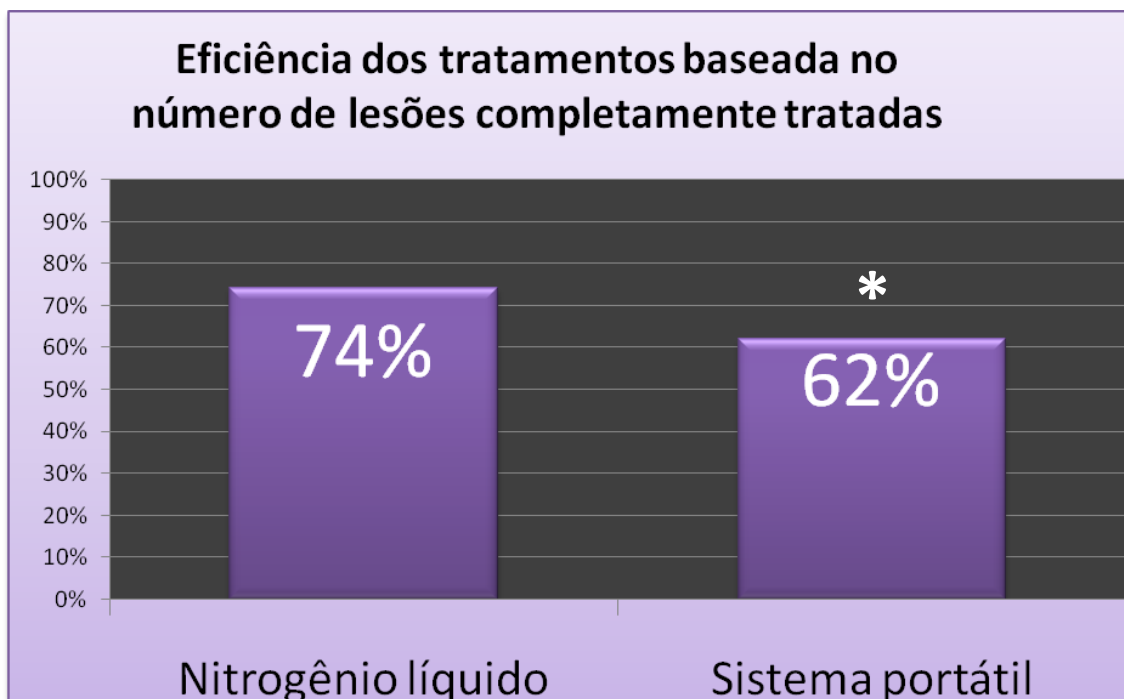
**Figura 7:** Demonstração de um dos casos em que se observa as fibras elásticas agrupadas de maneira mais densa (a) e com maiores espaços entre as fibras (b) em um paciente tratado com nitrogênio líquido.

Na análise estatística dos dados, utilizou-se o teste t de Student para dados pareados, antes e após os tratamentos. Para a comparação entre os tratamentos, o teste t para amostras independentes foi utilizado. Para análise da densidade de fibras elásticas e análise cega das lâminas coradas com hematoxilina eosina, utilizou-se o teste exato de Fisher.

## 5. RESULTADOS

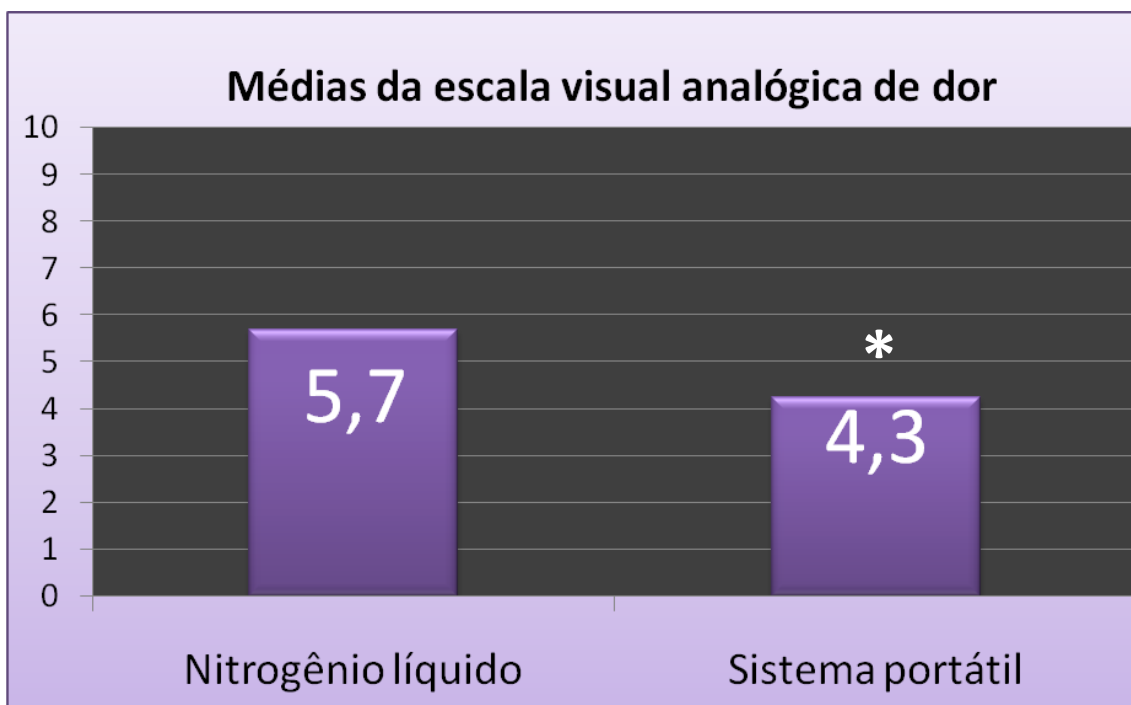
### 5.1 Resultados clínicos

A porcentagem de lesões completamente tratadas com o tratamento com nitrogênio líquido foi de 74% e do sistema portátil de 62%, considerando a média de lesões iniciais e remanescentes após dois meses dos tratamentos. Os dois tratamentos foram eficientes no tratamento das lesões de ceratoses actínicas ( $p < 0,0001$ ). O tratamento com nitrogênio líquido foi mais eficiente quando comparado ao sistema portátil ( $p = 0,019$ ). (**Gráfico 1**)



**Gráfico 1:** Com o NL 74,1%  $\pm$ 23,74 das lesões foram completamente tratadas e com o SP 62,1%  $\pm$ 22,75 (\* $p = 0,019$ ).

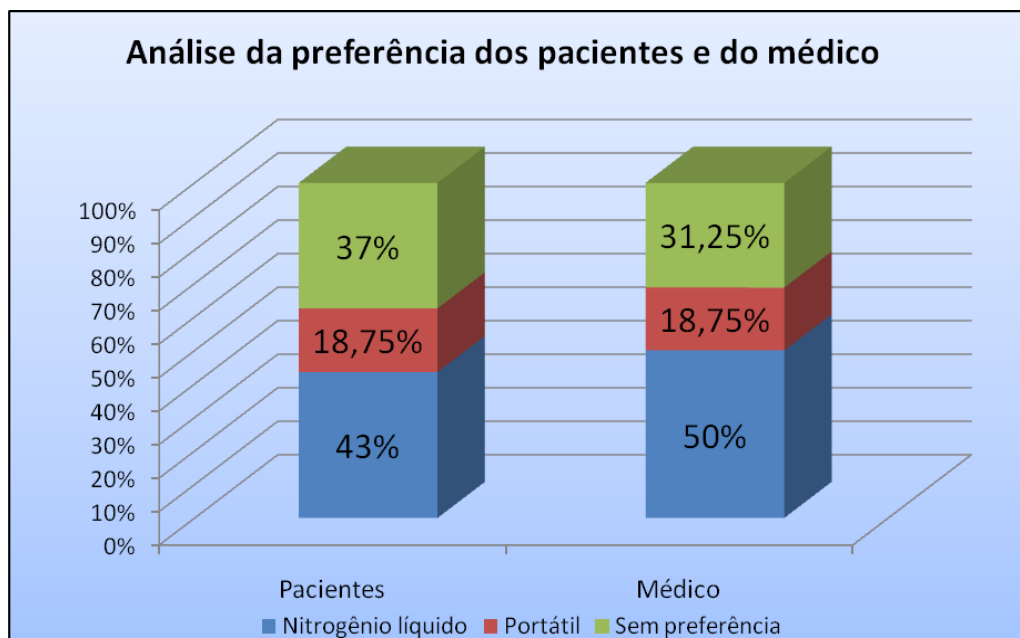
As médias da escala visual analógica (VAS) do tratamento com nitrogênio líquido foi de 5,7 e com sistema portátil foi de 4,3. Os pacientes apresentaram significativamente ( $p = 0,003$ ) maior tolerância à dor com o sistema portátil (**Gráfico 2**).



**Gráfico 2:** A média da escala visual analógica que varia de 1 a 10 foi de  $5,7 \pm 1,61$  com o NL e  $4,3 \pm 1,4$  com o SP. Houve maior tolerância ao tratamento com sistema portátil ( $*p = 0,003$ ).

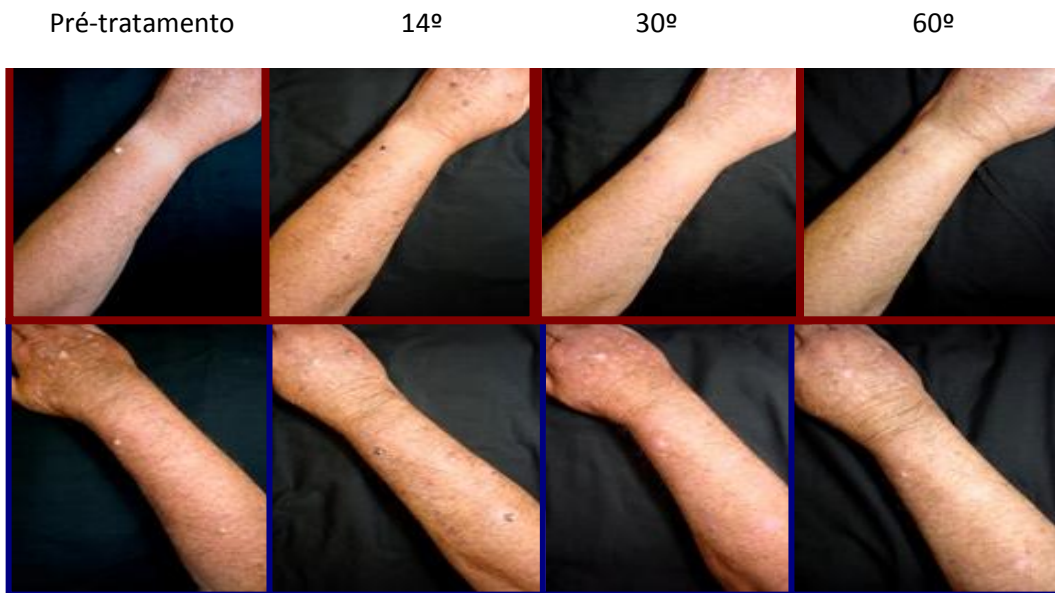
Com relação à preferência global do paciente e do médico após sessenta dias do procedimento constatou-se que 37,5% dos pacientes preferiram o nitrogênio líquido, 18,75% o sistema portátil e 43,75% não tiveram preferência entre os métodos. Quanto ao médico, essas porcentagens foram

de 50%, 18,75% e 31,25%, respectivamente (**Gráfico 3**). Não houve diferença estatística da preferência entre os métodos ( $p > 0,05$ ).

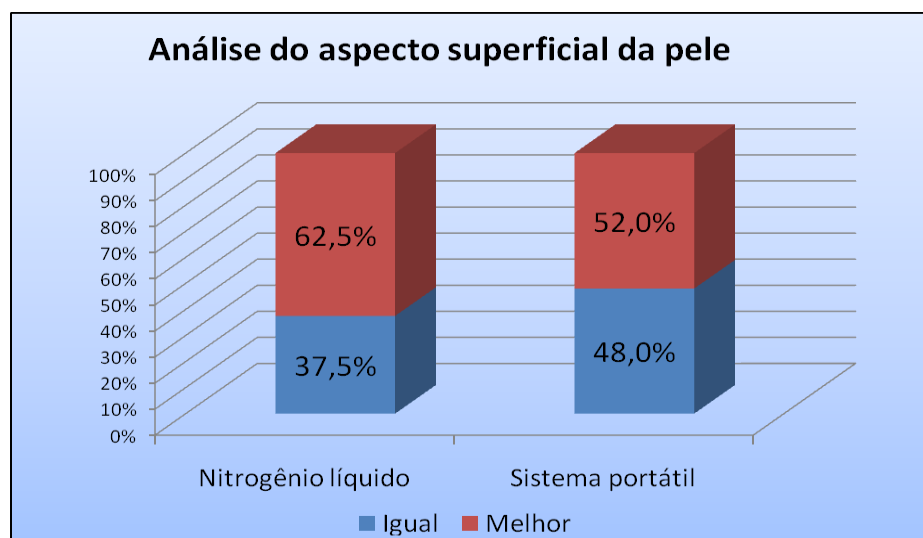


**Gráfico 3:** Análise da preferência global dos pacientes e do médico pesquisador após sessenta dias dos procedimentos. Não se observou diferença estatística entre os métodos.

O resultado estético foi avaliado por meio de documentação fotográfica (**Figura 6**). Na análise das fotos antes e após sessenta dias após os procedimentos, os observadores notaram melhora estatisticamente significativa do aspecto superficial da pele nos dois tratamentos ( $p < 0,001$ ). Com o tratamento com o nitrogênio líquido em 62,5% das vezes houve algum grau de melhora (notas 1 ou 2) e em 37,5% não houve melhora (nota 0). Com o sistema portátil houve melhora em 52% dos casos e em 48% não houve melhora. Não houve diferença significativa entre os tratamentos nessa análise (**Gráfico 4**).



**Figura 6:** Documentação fotográfica de um dos dezesseis casos estudados. Fotos pré-tratamento seguidas do 14º, 30º e 60º dia após o procedimento. Tratamento com nitrogênio líquido contorno em vermelho e sistema portátil em azul. Na análise da melhora superficial da pele comparou-se as fotos pré-tratamento e após sessenta dias dos procedimentos.



**Gráfico 4:** Análise do aspecto superficial da pele por meio de documentação fotográfica e escala padronizada 0 = sem melhora /1 = pouco melhor/ 2= muito melhor. O gráfico demonstra as porcentagens dos casos em que se considerou melhora do aspecto superficial da pele em algum grau com os dois tratamentos. Os observadores eram cegos quanto aos tratamentos analisados. Não houve diferença significativa entre os tratamentos.

## Resultados histológicos

Foram analisados 16 casos tratados com o nitrogênio líquido (**n=16**) e 15 casos tratados com o sistema portátil (**n=15**) pois um dos casos teve que ser excluído por problemas técnicos de inclusão na parafina.

Os dados das análises histológicas estão sumarizados na **Tabela 1**. Na análise da espessura da epiderme houve um aumento da espessura da epiderme em 54% dos casos e diminuição em 48%. Não houve diferença estatística antes e após o tratamento com nitrogênio líquido ( $p=0,09$ ) bem como com o sistema portátil ( $p=0,13$ ). Com relação à zona Grenz, houve um aumento da espessura após o tratamento em 52% dos casos, mas sem diferença estatística em ambos os tratamentos ( $p>0,05$ ). A quantificação global do pigmento, dada pela média ponderada da análise da quantidade de pigmento correlacionado com a extensão da área demonstrou que em 61% dos casos o pigmento diminuiu, em 32% aumentou e em 7% permaneceu igual (**Gráfico 5**). Houve uma diminuição do pigmento com ambos os tratamentos e essa diferença foi significativa no sistema portátil ( $p=0,025$ ) (**Gráfico 6**).

	<i>Pré-tratamento</i>	<i>Pós- tratamento</i>	<i>n</i>	<i>p</i>
<b><i>Espessura epiderme</i></b>				
Nitrogênio	39,34	43,37	16	0,09
Sistema Portátil	38,26	42,28	15	0,13
<b><i>Espessura zona Grenz</i></b>				
Nitrogênio	61,41	64,37	16	0,71
Sistema Portátil	71,08	80,58	15	0,36
<b><i>Quantidade de pigmento</i></b>				
Nitrogênio	75,42	71,88	16	0,54
Sistema Portátil	69,55	58,89	15	<b>0,025</b>

**Tabela 1:** Comparação das médias da espessura da epiderme e da zona Grenz e da quantidade de

pigmento antes e após os tratamentos. Houve diferença estatística no grupo do sistema portátil

quanto à quantidade de pigmento utilizando-se o teste *t* de Student( $p=0,025$ ).

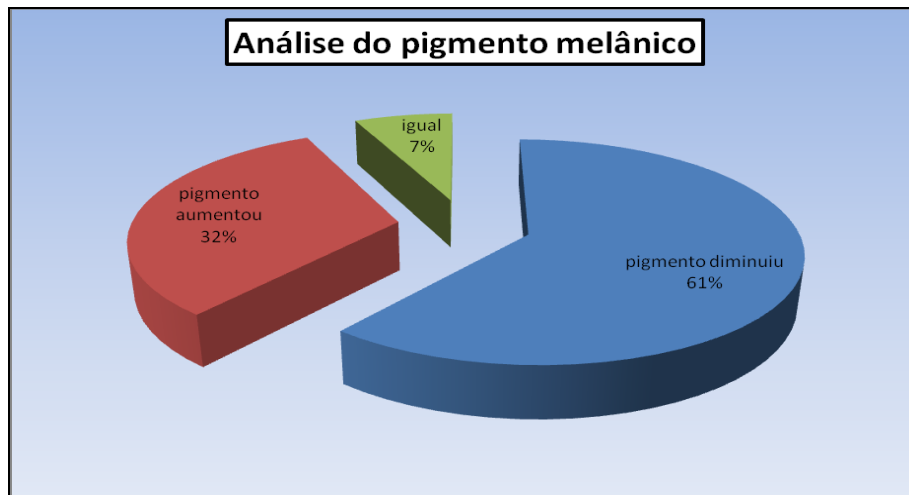


Gráfico 5: Gráfico demonstrando a porcentagem dos casos em que o pigmento aumentou e diminuiu considerando a média ponderada.

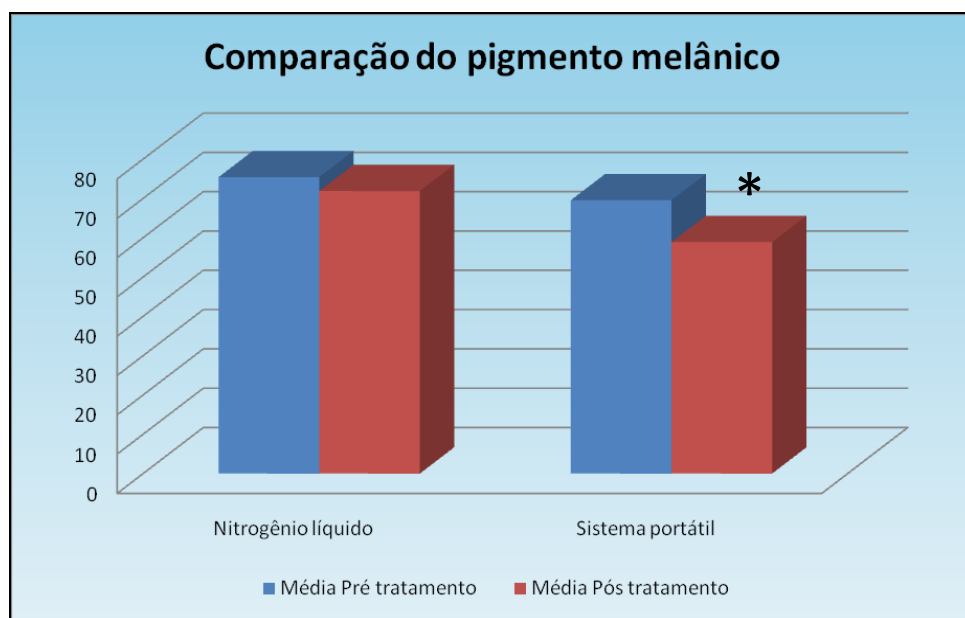
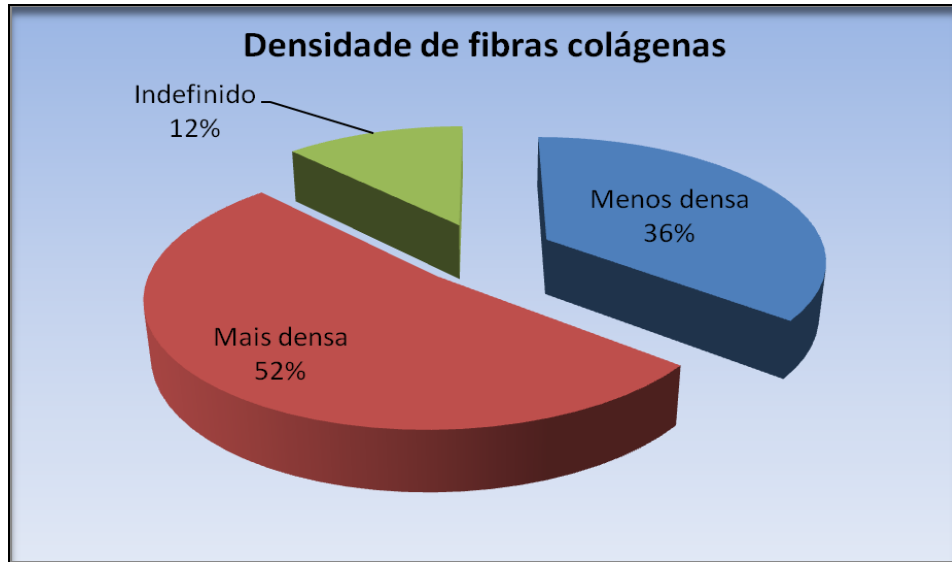


Gráfico 6: Comparação entre as médias ponderadas do pigmento melânico antes e após os tratamentos. Houve diferença estatística no grupo do sistema portátil (\* $p=0,025$ ).

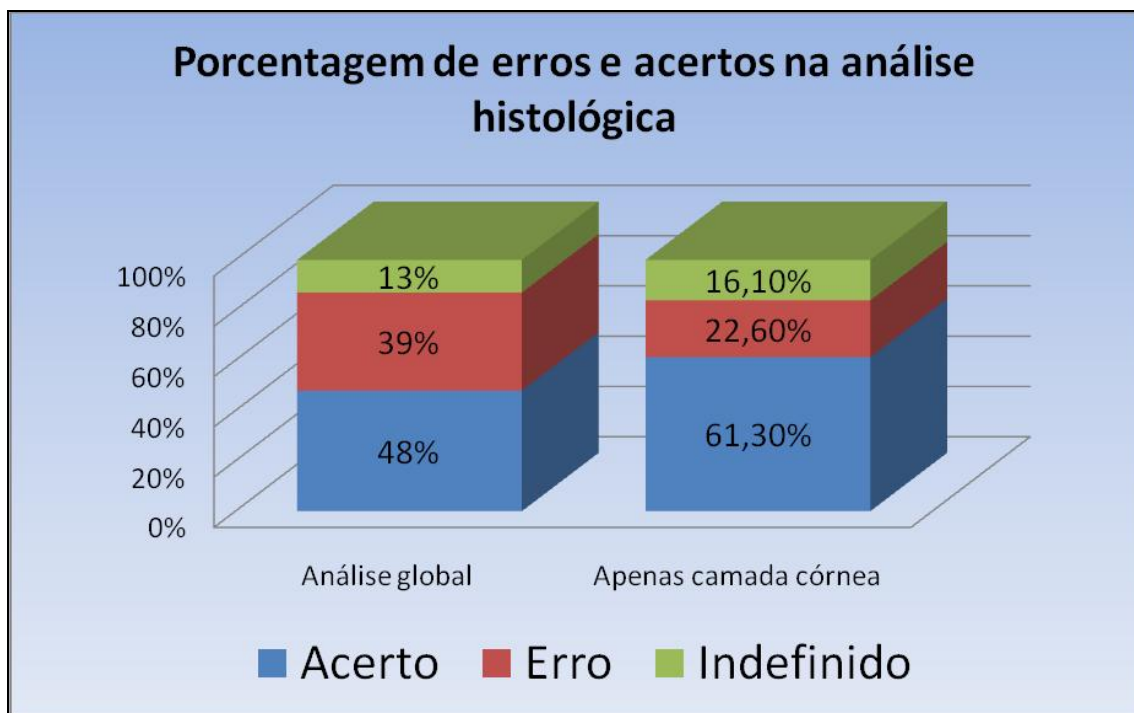
A densidade das fibras elásticas mostrou-se maior após o procedimento em 52% dos casos analisados, sem diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) utilizando o teste exato de Fischer (**Gráfico 7**).



**Gráfico 7:** Demonstração da análise da densidade das fibras colágenas, feita de maneira cega pelo observador ( $p > 0,05$ ).

Houve três casos em que se demonstrou fibrose dérmica: uma antes do procedimento, um após tratamento com nitrogênio líquido e outro após o sistema portátil.

Na análise das lâminas coradas com hematoxilina-eosina, tanto na análise global quanto na análise apenas da camada córnea não houve diferenças significantes. A porcentagem de acertos foi de 48% na análise global e 61,3% na análise apenas da camada córnea. (**Gráfico 8**).



**Gráfico 8:** Gráfico demonstrando a porcentagem de erros e acertos na análise realizada de maneira cega na tentativa de definir qual lâmina havia sido submetida ao procedimento. Na primeira coluna a análise global, na segunda apenas considerando a camada córnea ( $p > 0,05$ ).

## 6. DISCUSSÃO

Apesar de a crioterapia ser um método bastante utilizado na prática clínica, poucos estudos com a técnica de *criopeeling* haviam sido realizados até o momento.<sup>6,7</sup> O uso do congelamento não só das lesões de ceratose actínica, mas de toda a área fotodanificada, pode ser interessante com o intuito de melhorar o aspecto da pele e, aliada à fotoproteção intensiva, prevenir o surgimento de novas lesões, baseando-se no raciocínio de campo de cancerização.<sup>1</sup>

Do ponto de vista prático, houve dificuldade no uso de nitrogênio líquido para a técnica do *criopeeling* devido ao congelamento da ponteira após algumas aplicações. Como vários pacientes foram tratados no mesmo dia provavelmente esse inconveniente deva ser minimizado nas aplicações em consultório com menor tempo de uso. Quanto ao uso do dispositivo portátil, observou-se que, durante o tratamento individual das lesões de ceratose actínica, muitas vezes ocorreu um aumento abrupto da área congelada. Esse fato merece atenção uma vez que pode ocorrer um aumento eventual não controlado da área congelada.

A decisão de randomizar a escolha de qual tratamento a ser utilizado em cada antebraço foi tomada com o objetivo de diminuir interferências da maior exposição solar em um dos membros, como, por exemplo, em pacientes que dirigem e se expõem mais ao sol no membro superior esquerdo.

A taxa de eficiência do método de crioterapia varia muito da literatura e o tempo de congelamento influencia o sucesso do tratamento. Em um estudo prospectivo com 90 pacientes usando a criocirurgia para tratamento de ceratoses actínicas<sup>13</sup>, observou-se uma resposta completa de 69% com tempos de congelamento maiores que 5 segundos. Resultados semelhantes foram observados no presente estudo: 74% das lesões completamente tratadas com o NL e 62% com o SP. Uma vez que o tempo de congelamento não foi pré-

determinado, o fato de todos os pacientes terem sido tratados pelo mesmo pesquisador é importante para diminuir as variações de resultados.

Em um estudo multicêntrico randomizado intra-individual (direito-esquerdo) com 119 pacientes comparou-se o uso de terapia fotodinâmica e crioterapia no tratamento de ceratoses actínicas.<sup>14</sup> Avaliou-se a preferência do paciente e do investigador utilizando uma escala de cinco pontos variante de -2 (direito muito melhor que esquerdo) a +2 (esquerdo muito melhor que direito). Essa mesma escala foi usada mais tarde por outros autores<sup>15</sup>. Os indivíduos mensuraram o desconforto usando uma escala visual analógica (VAS) de zero (sem desconforto) a dez (pior desconforto possível) imediatamente após o procedimento. A terapia fotodinâmica foi o método preferido pelos pacientes com eficiência comparável à crioterapia. Tanto a escala visual analógica quanto a escala de cinco pontos foram utilizadas como ferramentas de avaliação dos métodos de crioterapia no presente estudo.

Ambos os métodos foram bem tolerados pelos pacientes e a contribuição do anestésico tópico nesse achado é, sem dúvida, importante. No entanto observou-se uma melhor tolerância do sistema portátil, com diferença estatisticamente significativa. Em contrapartida, uma menor eficiência no tratamento das ceratoses actínicas foi atingida com esse método. É possível que haja um dano tecidual menor com o sistema portátil, o que justificaria esses achados. Além disso, uma menor experiência com o uso do método pode ter influenciado esses resultados.

Os dois métodos foram capazes de melhorar o aspecto superficial da pele sem diferenças estatísticas entre eles. Observou-se uma melhora da textura da pele ao toque com uma notável diminuição da aspereza da pele. O fato dos dermatologistas que analisaram as fotos serem cegos quanto aos tipos de tratamentos avaliados permite que a constatação de que não houve diferença entre os métodos seja mais confiável. É interessante analisar que, embora o sistema portátil tenha sido menos eficiente para o tratamento das ceratoses actínicas, não houve diferença entre os métodos tanto na análise de

preferência global do médico pesquisador e do paciente, tampouco na análise das fotos. Portanto, pode-se inferir que, no objetivo da melhora do aspecto e textura da pele, o sistema portátil pode ser uma alternativa válida.

A recuperação de todos os pacientes foi satisfatória, com boa cicatrização. A principal queixa foi de prurido no pós-operatório. Todos os pacientes ficaram satisfeitos com os resultados.

A análise histológica dos casos foi um grande desafio técnico, uma vez que métodos comprovados na literatura não estão disponíveis. Há grande variabilidade das amostras, mesmo considerando o mesmo paciente, porque as técnicas de fixação do material e de coloração podem oferecer muitas variáveis, mesmo com um procedimento padronizado e sistemático. Todas as amostras foram preparadas e coradas em um mesmo momento para evitar discrepâncias nesses procedimentos. Procurou-se minimizar os erros das medidas por meio da análise dos dados por um único observador em um mesmo dia.

Nesse contexto, definir que tipo de alteração histológica esperada com o tratamento de *criopeeling* e qual o melhor método para mensurar essa possível alteração foi o primeiro desafio. A melhora clínica foi comprovada por diversos parâmetros (análise do paciente, do observador e de outros dermatologistas que não participaram diretamente da pesquisa), mas ela não se refletiu proporcionalmente na histologia. Na análise pareada das lâminas pré e pós procedimento, considerando uma análise global das lâminas (camada córnea, epiderme e elastose solar), não foi possível identificar com acurácia os casos submetidos ao tratamento com o *criopeeling* ( $p > 0,05$ ). Refinando a análise e considerando apenas as modificações da camada córnea, sem considerar a elastose, obteve-se um maior número de acertos nas análises, embora sem diferença estatística. A impossibilidade de prever qual material correspondia ao antes e depois do procedimento, observando caso a caso, indica a inconstância da melhora histológica após o tratamento. Possivelmente, por ser um método de esfoliação superficial, não foi encontrado um marcador fidedigno

na análise. A maior densidade das fibras elásticas, embora encontrada em maior número de casos após os tratamentos, também não estabeleceu uma diferença estatística significativa. O fato dos parâmetros quantitativos - espessura da epiderme e da zona grenz - da mesma forma não terem evidenciado diferença estatística após os tratamentos, corroboram para essas conclusões. O *criopeeling*, por definição um peeling superficial, não consegue atingir níveis mais profundos da derme. Apesar da obtenção de melhora do aspecto superficial e textura da pele em todos os pacientes, isso não se refletiu em alterações histológicas mensuráveis. Esta técnica não parece induzir respostas mais profundas na pele. Talvez a melhora do aspecto superficial da pele se deva ao tratamento das ceratoses actínicas em si, e não ao tratamento de toda a pele acometida pelo fotodano.

Com o envelhecimento da pele, alguns estudos mostram que há uma diminuição da espessura da epiderme e outros um aumento.<sup>8</sup> Apesar de não ter sido encontrada diferença estatística na espessura da epiderme após os tratamentos, houve uma maior tendência a essa diferença no tratamento com nitrogênio líquido ( $p=0,09$  quando comparado a  $p=0,13$  no sistema portátil). O fato de o nitrogênio líquido ter apresentado maior eficiência no tratamento de ceratoses actínicas, bem como menor tolerância à dor quando comparado ao sistema portátil, sugere que se trata de um método provavelmente mais intenso e, por conseguinte, produza maior reação epidérmica.

Embora tenha havido uma diminuição do pigmento após os dois tratamentos, essa diferença foi significativa apenas com o sistema portátil. A crioterapia é um método que reconhecidamente provoca hipopigmentação como o principal efeito colateral. É possível que um aumento súbito não controlado durante a aplicação do sistema portátil possa ter contribuído para esse achado.

Três casos demonstraram fibrose dérmica: um antes do procedimento, um após tratamento com nitrogênio líquido e outro com o sistema portátil. Dessa maneira não se pode atribuir que essa fibrose fosse devida ao procedimento e sim, provavelmente, seja apenas um achado ocasional.

A técnica de *criopeeling* foi bem tolerada pelos pacientes com boa eficiência no tratamento de ceratoses actínicas e melhora no aspecto da pele fotodanificada. O sistema portátil mostrou-se uma alternativa viável na aplicação de *criopeeling* no consultório. Apesar da melhora clínica, não foi possível demonstrar alterações histológicas mensuráveis na elastose solar, organização e espessura da epiderme e espessura da zona Grenz com os tratamentos. Houve uma diminuição do pigmento após os tratamentos, significativa com o sistema portátil, o que sugere uma maior cautela com relação a esse tipo de efeito colateral da técnica.

## 7. CONCLUSÕES

A técnica de *criopeeling* é bem tolerada pelos pacientes com boa eficiência no tratamento de ceratoses actínicas e melhora no aspecto da pele fotodanificada. Do ponto de vista prático, o dispositivo portátil pode ser considerado uma alternativa viável na aplicação de *criopeeling* no consultório.

Apesar da melhora clínica evidenciável, o tratamento com *criopeeling* não foi capaz de induzir alterações histológicas mensuráveis na elastose solar, organização e espessura da epiderme e espessura da zona Grenz. Houve uma diminuição significativa do pigmento após o tratamento com o sistema portátil.

## **8. CONFLITOS DE INTERESSE**

O sistema portátil foi fornecido gratuitamente pela empresa Neolatina, mas sem qualquer auxílio financeiro para realização do estudo. Não há, portanto, conflito de interesse entre os pesquisadores.

## 9. REFERÊNCIAS

1. Fenske NA, Spencer J, Adam F. Actinic keratoses: past, present and future. *J Drugs Dermatol*. 2010; 9:45-9.
2. Kaminaka C, Yamamoto Y, Yonei N, Kishioka A, Kondo T, Furukawa F. Phenol peels as a novel therapeutic approach for actinic keratosis and Bowen disease: prospective pilot trial with assessment of clinical, histologic, and immunohistochemical correlations. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:615-25.
3. Rigel DS, Cockrell CJ, Carucci J, Wharton J. Actinic keratosis, basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. *Dermatology*. 2<sup>th</sup> ed. Spain: Mosby; 2008. p.1641-59.
4. McIntyre WJ, Downs MR, Bedwell SA. Treatment options for actinic keratoses. *Am Fam Physician*. 2007;76:667-71.
5. Shoimer I, Rosen N, Muhn C. Current management of actinic keratoses. *Skin Therapy Left*. 2010;15:5-7.
6. Chiarello SE. Full-face cryo- (liquid nitrogen) peel. *J Dermatol Surg Oncol*. 1992;18:329-32.
7. Stephen E. Cryopeeling (extensive cryosurgery) for treatment of actinic keratoses: an update and comparison. *Dermatol Surg*. 2000;26:728-32.
8. Baumann L. Skin ageing and its treatment. *J Pathol*. 2007 Jan;211(2):241-51.
9. Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N Engl J Med* 1997;337(20):1419–1428.
10. Griffiths CE, Russman AN, Majmudar G, Singer RS, Hamilton TA, Voorhees JJ. Restoration of collagen formation in photodamaged human skin by tretinoin (retinoic acid). *N Engl J Med* 1993;329(8):530–535.

11. Nelson BR, Fader DJ, Gillard M, Majmudar G, Johnson TM. Pilot histologic and ultrastructural study of the effects of medium-depth chemical facial peels on dermal collagen in patients with actinically damaged skin. *J Am Acad Dermatol*. 1995; 32(3):472-8.
12. Schwartz RA, Bridges TM, Butani AK, Ehrlich A. Actinic keratosis: an occupational and environmental disorder. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22:606-15.
13. Thai KE, Fergin P, Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Murrell D, Anderson C, Weightman W, Reid C, Watson A, Foley P. A prospective study of the use of cryosurgery for the treatment of actinic keratoses. *Int J Dermatol*. 2004;43:687-92.
14. Morton C, Campbell S, Gupta G, Keohane S, Lear J, Zaki I, Walton S, Kerrouche N, Thomas G, Soto P; AKtion Investigators. Intraindividual, right-left comparison of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy and cryotherapy in subjects with actinic keratoses: a multicentre, randomized controlled study. *Br J Dermatol*. 2006;155:1029-36.
15. Kaufmann R, Spelman L, Weightman W, Reifenberger J, Szeimies RM, Verhaeghe E, Kerrouche N, Sorba V, Villemagne H, Rhodes LE. Multicentre intraindividual randomized trial of topical methyl aminolaevulinate-photodynamic therapy vs. cryotherapy for multiple actinic keratoses on the extremities. *Br J Dermatol*. 2008;158(5):994-9.