

Artigo Original

Autores:

Sílvia Arroyo Rstom¹
Beatrice Martinez Zugaib Abdalla²
Gisele Gargantini Rezze³
Francisco Macedo Paschoal⁴

¹ Médica dermatologista colaboradora do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) - São Paulo (SP), Brasil.

² Acadêmica de medicina da Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) - São Paulo (SP), Brasil.

³ PhD. Dermatologista assistente do Departamento de Oncologia Cutânea do Hospital A C Camargo - São Paulo (SP), Brasil.

⁴ PhD. Professor de dermatologia do Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina do ABC - São Paulo (SP), Brasil.

Correspondência para:

Dra. Sílvia Arroyo Rstom
Av. Príncipe de Gales, 821 -
Vila Príncipe de Gales
09060-650 - Santo André - SP
E-mail: silviaarrostom@gmail.com

Data de recebimento: 10/06/2014

Data de aprovação: 05/08/2014

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina do ABC (FMABC) - Santo André (SP), Brasil.

Suporte Financeiro: Laboratório ISDIN (São Paulo, SP, Brasil) forneceu material para estudos)
Conflito de interesses: Professor Francisco Macedo Paschoal atua como pesquisador do Laboratório ISDIN.

Avaliação da ação de creme contendo fotolíase em lipossomas e filtro solar FPS 100 na queratose actínica da face: estudo clínico, dermatoscópico e por microscopia confocal

Evaluation of the effects of a cream containing liposome-encapsulated photolyase and SPF 100 sunscreen on facial actinic keratosis: clinical, dermoscopic, and confocal microscopy based analysis

RESUMO

Introdução: A exposição crônica à radiação ultra-violeta é a causa primária de carcinomas de pele. A queratose actínica é considerada uma lesão precursora. A aplicação tópica da fotolíase mostrou eficiência com remoção de 40-45% dos dímeros formados pela radiação ultra-violeta, diferindo da fotoproteção convencional pela habilidade de reparar um dano já estabelecido ao DNA celular. A microscopia confocal é um recurso para visualização in vivo das alterações cutâneas.

Objetivo: Avaliar a ação da aplicação de creme contendo fotolíase associado ao filtro solar FPS 100 no dano actínico e queratoses actínicas na face utilizando a dermatoscopia e a microscopia confocal como parâmetros de avaliação.

Métodos: Ensaio clínico longitudinal observacional em 17 lesões de queratoses actínicas. Foi realizada dermatoscopia e microscopia confocal antes da aplicação do creme e após 120 dias. As imagens foram comparadas.

Resultados: Das 14 queratoses actínicas grau I, 9 apresentaram melhora clínica e dermatoscópica, 3 permaneceram inalteradas e 1 evoluiu para queratose actínica grau II. A microscopia confocal mostrou redução das escamas e melhora da arquitetura epidérmica nas 5 queratoses actínicas grau I. As 3 queratoses actínicas grau II documentadas não apresentaram melhora.

Conclusões: A aplicação da fotolíase em creme com filtro promove fotoproteção e reparo ao DNA. A microscopia confocal é uma arma útil no monitoramento do tratamento de queratoses actínicas.

Palavras-chave: ceratose actínica; microscopia confocal; dermatoscopia.

ABSTRACT

Introduction: Chronic exposure to ultraviolet radiation is the primary cause of skin carcinomas. Actinic keratosis is considered a precursor lesion. Topical application of photolyase showed effectiveness with the removal of 40-45% of the dimers formed by ultraviolet radiation, contrasting with conventional photoprotection for its ability to repair already damaged cellular DNA. Confocal microscopy is used for the in vivo visualization of skin alterations.

Objective: To evaluate the effects of the cream containing photolyase and SPF 100 sunscreen on facial actinic damage and keratoses, using dermoscopy and confocal microscopy as evaluation parameters.

Methods: Observational longitudinal clinical trial in 17 actinic keratosis lesions. Dermoscopy and confocal microscopy were carried out before applying the cream and 120 days after, with comparison of the images.

Results: Of the 14 Grade I actinic keratoses, nine showed clinical and dermoscopic improvement, three remained unchanged and one progressed to Grade II actinic keratosis. Confocal microscopy showed a reduction of scales and improvement in the epidermal architecture in the five Grade I actinic keratoses. The three Grade II actinic keratoses analyzed did not show improvement.

Conclusions: The application of photolyase in cream with sunscreen promotes photoprotection and DNA repair. Confocal microscopy is a useful tool for monitoring the treatment of actinic keratoses.

Keywords: keratosis, actinic; microscopy, confocal; dermoscopy.

INTRODUÇÃO

A exposição crônica à radiação ultra-violeta (UV) é a causa primária de carcinomas de pele, sendo a queratose actínica (QA) considerada uma lesão precursora do carcinoma espinocelular (CEC). A QA é um dos diagnósticos dermatológicos mais comuns e afeta um número estimado de 58 milhões de pessoas nos Estados Unidos.^{1,2} Na Austrália acomete cerca de 40 a 50% dos indivíduos acima de 40 anos, devido à grande proporção de indivíduos com fototipo I e II na população.³ Estima-se que o risco relativo de um indivíduo portador de QA desenvolver CEC é de 6 a 10%.⁴

A exposição excessiva à UV pode causar mutações gênicas no ácido desoxirribonucléico (DNA) dos queratinócitos. A absorção da energia da radiação UV pelo DNA das células epidérmicas traz como efeito a produção dos dímeros de ciclobutano-pirimidina e fotoprodutos pirimidina-pirimidona, evento inicial do processo de imunossupressão, mutação e carcinogênese.⁵ A aplicação tópica da fotólise, enzima presente em praticamente todos os seres vivos expostos a luz com exceção dos mamíferos placentários, mostrou eficiência com remoção de 40-45% destes dímeros do DNA da pele humana irradiada com UV.⁶ A fotólise liga-se aos dímeros ciclobutano-pirimidina (CPDs) e a exposição do complexo fotólise-dímeros à radiação converte as pirimidinas dimerizadas para sua estrutura original, combatendo este processo de carcinogênese.⁵⁻⁸ Quando associada a filtro solar FPS 100 traz um incremento à fotoproteção convencional pela possibilidade de reparar o dano já estabelecido no DNA celular.

A classificação da QA, baseada em critérios clínicos e dermatoscópicos, divide a QA em grau I e grau II (Tabela 1), sendo a QA grau II a que apresenta maior risco de evolução para CEC.⁹ Em alguns pacientes observam-se múltiplas lesões de QA e, nestes casos, o conceito de campo de cancerização pode ser utilizado. Trata-se de região contendo anormalidades pré-neoplásicas subclínicas e multifocais com mutações genéticas que poderão constituir a sede de novos tumores primários e de recorrência local.¹⁰⁻¹²

Nos últimos anos, tem aumentado o interesse para desenvolver exames de diagnóstico não-invasivos para detectar não apenas lesões clinicamente suspeitas de QAs, mas também para detectar e definir as lesões subclínicas, que também devem ser tratadas.^{10,13} A microscopia confocal *in vivo* é um recurso para visualização “*in vivo*” das alterações cutâneas e que pode ser usado também para acompanhar tratamentos. Os principais cri-

térios diagnósticos da QA na microscopia confocal são: hiperqueratose irregular, pleomorfismo e aumento nuclear epidérmico e desarranjo arquitetural.¹⁴⁻¹⁶

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação da aplicação de creme contendo fotólise em lipossomas associado ao filtro solar FPS 100 em pacientes com dano actínico e QA na face utilizando como parâmetro de avaliação a dermatoscopia e a microscopia confocal (MC) *in vivo*.

MÉTODOS

Trata-se de ensaio clínico longitudinal e observacional realizado no Departamento de Dermatologia da Faculdade de Medicina do ABC.

Foram estudados prospectivamente 14 pacientes, sendo 8 homens e 6 mulheres, com idade entre 45 e 65 anos, portadores de QAs grau I e grau II e outros sinais cutâneos de dano actínico crônico na face.

Os pacientes selecionados e que concordaram em participar do estudo, foram voluntários do ambulatório de dermatologia e após a explicação detalhada sobre os objetivos do estudo, a forma que iriam colaborar e o esclarecimento das dúvidas, assinaram o termo de consentimento para a realização da pesquisa, que transcorreu alinhada aos princípios éticos da boa prática clínica.

Os critérios de inclusão adotados foram: idade entre 45 e 85 anos, capacidade de compreensão do método a ser utilizado, concordância em participar do projeto, presença de QAs grau I ou II associadas ou não a outros sinais cutâneos de dano actínico crônico.

Foram critérios de exclusão: incapacidade de compreender o método a ser utilizado, gravidez, amamentação, doenças neurológicas e psiquiátricas, doenças fotossensibilizantes, portadores de collagenoses como lúpus eritematoso, uso de medicamentos fotossensibilizantes ou imunossupressores, suspeita clínica de câncer de pele e lesões na face compatíveis com doenças infecto-contagiosa em atividade.

Após a seleção das lesões de QAs por paciente, foi realizada a documentação através de fotografia clínica, dermatoscopia óptica com dermatoscópio de luz polarizada (DermLite FOTO System, USA) e MC *in vivo* (VivaScope 1500, Mavig VivaScope Systems, Munich, Alemanha).

A área avaliada pela MC foi de 8 mm² onde metade da área analisada apresentava a QA parcial ou em sua totalidade ou

TABELA 1: CLASSIFICAÇÃO DA QUERATOSE ACTÍNICA

Queratose Actínica Grau 1

Lesão plana, rósea, em áreas de fotodano, áspera.
Pseudo rede pigmentar vermelha (padrão em morango).
Escamação lamelar.

Queratose Actínica Grau 2

Pápula ou placa rósea ou eritematosa, com escama e endureção.
Padrão estrelado (starburst) vermelho.
Vasos em pontos ou glomerulares.
Descamação amarela opaca.

Adaptado de Zalaudek e cols.⁹

e a outra metade, a região perilesional.

Os pacientes foram orientados a realizar aplicações diárias do creme contendo fotoliase em lipossomas e filtro solar FPS 100 (Eryfotona®-AK-NMSC, ISDIN Produtos Farmacêuticos LTDA, São Paulo, Brasil) seguindo as recomendações de um folheto explicativo. Os pacientes foram seguidos a cada 30 dias em consulta dermatológica e após 120 dias foi realizada nova documentação fotográfica clínica, dermatoscópica e pela MC *in vivo*.

As imagens obtidas antes e 120 dias após o início do tratamento foram comparadas e a avaliação da respostas nas QAs foi realizada a partir das imagens dermatoscópicas de luz polarizada e da MC.

Dezessete lesões de QA, 14 grau I e 3 grau II, foram documentadas com fotografias clínicas e dermatoscópicas antes e após 120 dias do uso de creme contendo fotoliase em lipossomas e filtro solar FPS 100, sendo 8 destas lesões estudadas pela MC *in vivo*.

RESULTADOS

Das quatorze QAs grau I, nove apresentaram melhora clínica e dermatoscópica com diminuição do eritema e da descamação, (Figura 1) três permaneceram inalteradas e uma lesão evoluiu para QA grau II.

Todas as três QA grau II não manifestaram melhora clínica e dermatoscópica após 120 dias de uso do creme. (Figura 2)

No exame de MC das oito lesões, cinco eram de QAs grau I e três de QAs grau II. Todos os pacientes com QA grau I apresentaram redução das escamas e melhora do padrão arquitetural epidérmico nos exames. Os três pacientes de QA grau II não apresentam mudanças à MC após os 120 dias do uso da medicação. (Figuras 1 e 2)

DISCUSSÃO

Os fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento dos cânceres de pele não melanoma são bem conhecidos e incluem principalmente raça, idade, gênero, exposição crônica a agentes mutagênicos químicos e físicos (radiação UV), além de fatores genéticos. A exposição excessiva à radiação UV, em especial ao ultravioleta tipo B (UVB), está associada ao aumento do risco para o desenvolvimento dos cânceres cutâneos incluindo o carcinoma basocelular e CEC, pois pode causar mutações gênicas no DNA dos queratinócitos. A falha no reparo dessas alterações gênicas pode levar a crescimento celular desordenado e formação do câncer. Além disso, a radiação UV tem grande efeito sobre o sistema imune cutâneo, induzindo a um estado de imunossupressão local que impede a rejeição do tumor em formação.

As mutações que ocorrem no gene que codifica a p53, importante gene de supressão tumoral, estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento do câncer de pele, sendo a radiação UV a sua causa primária. Altos níveis de p53 (evidenciado pela imunohistoquímica) devido a mutações e aumento da expressão gênica podem ser considerados como marcador biológico do dano actínico e do campo de cancerização.¹⁰

A fotoliase é uma enzima pertencente à família das flavo-

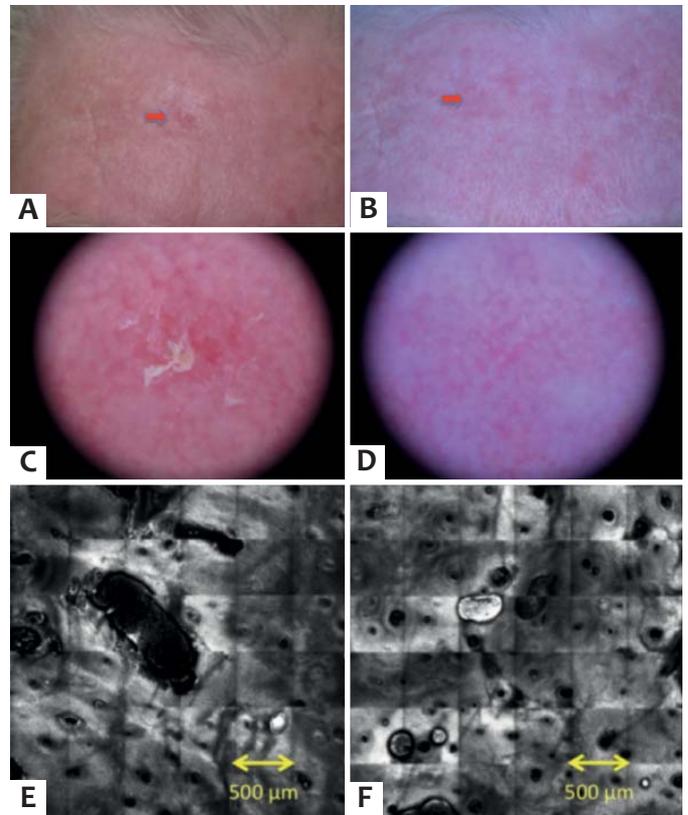


FIGURA 1: Imagens clínicas (seta vermelha) de queratose actínica grau 1 antes e após 120 dias de uso de creme contendo fotoliase em lipossomas e filtro solar FPS 100 (A e B). Comparação dermatoscópica da lesão de queratose actínica grau 1: observa-se melhora das escamas e do eritema (C e D). Comparação microscopia confocal: observa-se redução das escamas e melhora da arquitetura epidérmica (E e F).

proteínas, sendo constituída por 400–600 aminoácidos. Tem uma estrutura essencialmente globular. A enzima está presente em seres procaríotas e certos eucaríotas, incluindo peixes e marsupiais, entretanto está ausente em seres humanos e mamíferos placentários. Essas enzimas são produzidas por tecnologia genética recombinante e/ou extração de bactérias e algas sendo então encapsuladas em lipossomas multilamelares. Os Photosomes® são lipossomos que contêm a fotoliase biologicamente ativa preparada a partir de culturas de *Anacystis nidulans* (alga unicelular). O componente lipossomal é constituído de lipídeos do ovo, fosfatidilcolina, ácido oléico e colesterol.^{5,17}

Os dois principais tipos de dano no DNA são a formação dos dímeros ciclobutano-pirimidina (CPDs) e fotoprodutos pirimidina-pirimidona (6-4PPs). Estes fotoprodutos interferem nos processos de replicação e transcrição celular com redução na síntese do RNA, lentificam a progressão do ciclo celular e podem resultar em apoptose. A formação dos dímeros tem fundamental importância no processo de carcinogênese: promovem mutações em genes supressores de tumores e contribuem para a imunossupressão cutânea (permitindo o crescimento desordenado das células transformadas).⁵⁻⁸

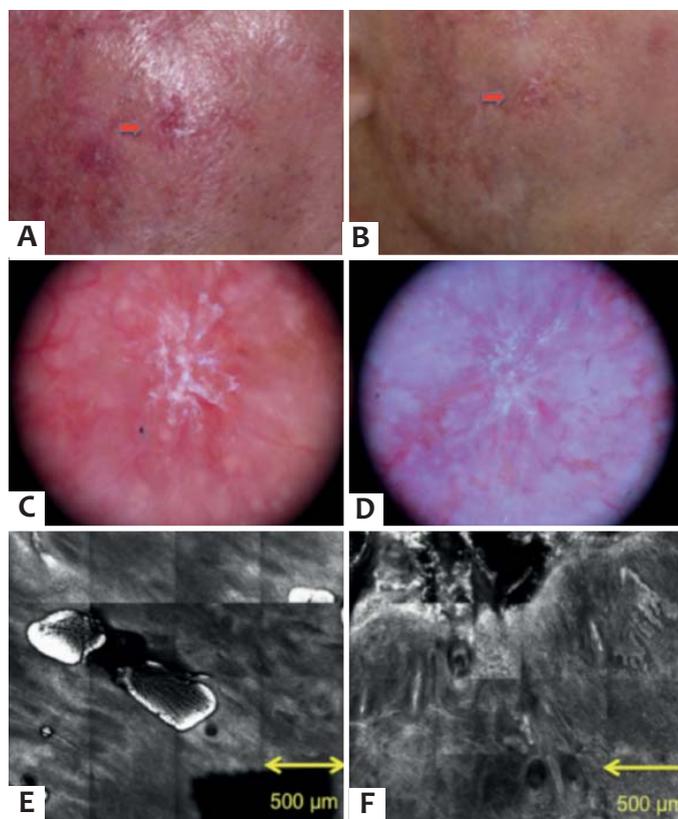


FIGURA 2: Imagens clínicas (seta vermelha) de queratose actínica grau 2 antes e após 120 dias de uso de creme contendo fotólise em lipossomas e filtro solar FPS 100 (A e B). Comparação dermatoscópica da lesão de queratose actínica grau 2: padrão estrelado (starburst) vermelho inalterado (C e D). Comparação microscopia confocal: permanência das escamase do desarranjo arquitetural epidérmico (E e F).

Como proteção para prevenir os eventos adversos da radiação UV na pele os seres humanos contam com um sistema de reparo (reparo e excisão de nucleotídeos – NER) que protege o genoma e remove as lesões do DNA. Em adição ao sistema de reparo (NER), alguns sistemas biológicos, exceto de mamíferos placentários, utilizam a fotólise para remover de maneira efetiva os dímeros de ciclobutano-pirimidina. A fotólise liga-se aos dímeros ciclobutano-pirimidina (CPDs) e a exposição do complexo fotólise-dímeros à radiação (300–500nm) converte as pirimidinas dimerizadas para sua estrutura original (forma monomérica). O processo conhecido como fotoreativação envolve, portanto, duas etapas críticas: a ligação da enzima com os dímeros (CPDs) que independe da luz, e uma segunda etapa quando o processo de catálise tem início com a utilização de um fóton de luz azul como substrato resultando no reparo dos CPDs.⁵ A aplicação tópica da fotólise mostrou grande eficiência com remoção de 40–45% dos dímeros ciclobutano-pirimidina presentes em pele humana irradiada com UVB, imediatamente após a fotoreativação. Além disso, restabeleceu a expressão de moléculas de adesão (ICAM 1) que tem papel fundamental na manutenção da resposta imune na pele após radiação UVB.

Outro benefício adicional é que ao reverter os CPDs, a fotólise previne a saturação dos sistemas de reparo natural e potencializa o mecanismo de reparo-excisão do nucleotídeo.⁶

A aplicação da fotólise exógena difere da fotoproteção convencional pela habilidade de reparar um dano já estabelecido ao DNA celular. Representa uma estratégia inovadora que promove fotoproteção convencional e reparo ao DNA em um mesmo produto. Nos pacientes do atual estudo, houve uma melhora importante das lesões de QAs grau 1 e do fotodano após 120 dias do uso do medicamento. O medicamento provou atuar diretamente no campo de cancerização, hoje motivo de muitos estudos por ser uma região que deve ser tratada para prevenção na formação de novas QAs e do câncer de pele não melanoma.

Hoje a QA é considerada um CEC *in situ* incipiente que se desenvolve num processo que envolve várias etapas, onde a radiação UV leva a formação de um campo cancerizável, formação de QAs e que culmina com o aparecimento do CEC.^{1,18–20} Frequentemente o CEC e a QA são lesões contíguas. Em estudo de mais de 1000 CECs avaliados em áreas expostas ao sol, cerca de 100% das lesões apresentavam alterações histológicas compatíveis com QAs na sua periferia.^{21,22} Desta forma, além de ser lesão precursora do câncer de pele não melanoma, a QA também é considerada marcador de risco para o desenvolvimento deste grupo de neoplasias. Devido a este fato, é cada vez mais importante o desenvolvimento de novas tecnologias e produtos que tratam também as lesões pré-neoplásicas, além da conscientização da população em relação ao uso do filtro solar. Este produto apresentou a vantagem de associar um filtro solar FPS 100 a um medicamento que pode inibir alguns fatores de carcinogênese.

As novas tecnologias não invasivas que têm auxiliado no diagnóstico destas lesões de pele são o exame de dermatoscopia e, recentemente, o exame de MC *in vivo*. Esses exames são importantes não apenas para detectar lesões clinicamente suspeitas de QAs ou CECs, mas também para detectar e definir as lesões subclínicas do campo de cancerização e acompanhar o tratamento proposto.

Em relação ao exame de dermatoscopia, existem poucos estudos sobre as características deste exame em lesões de QA. A característica mais descrita na lesão inicial da QA é o padrão em pseudo-rede pigmentar vermelha (“padrão vascular em morango”).²³ Conforme a lesão progride para carcinoma intra-epitelial desenvolve um padrão denominado “starburst vermelho”, além de apresentar escamas amarelo-opacas difusas. Conforme a lesão vai se transformando para CEC aumenta a neovascularização, desenvolvendo vasos agrupados pontilhados ou glomerulares e por fim lineares e irregulares, além disso as escamas vão se tornando mais espessas e é comum a presença de ulcerações.⁹ No estudo atual foi possível analisar estes padrões. Os pacientes com presença do padrão em pseudo-rede pigmentar vermelha e com presença de escamação lamelar apresentaram uma melhora no exame de dermatoscopia após 120 dias do uso do medicamento. Já os pacientes com queratoses actínicas grau 2, com padrão em “starburst vermelho” não apresentaram melhora tão significativa pelo exame de dermatoscopia após o uso do medicamento por apenas 120 dias.

A MC *in vivo* surgiu como potencial recurso para estudar alterações cutâneas epidérmicas. Isto porque permite a visualização *in vivo* de forma não invasiva das camadas superficiais da pele, a partir de imagens elaboradas pelos diferentes índices de reflexão da luz das estruturas cutâneas com resolução microscópica semelhante à histopatologia convencional.^{14,24,25} Desta forma, a MC também pode ser utilizada para diagnóstico da QA com sensibilidade e especificidade de 98%.¹³ Hoje ela pode ser considerada um método não invasivo para o diagnóstico e acompanhamento da QA e também do campo de cancerização.¹³

Os achados das lesões de QA à MC incluem hiperqueratose irregular com paraqueratose, desarranjo arquitetural, e aumento dos núcleos das células da epiderme com pleomorfismo. O padrão de desarranjo arquitetural não envolve toda a espessura da epiderme nos casos da QA. As imagens da QA também podem apresentar espessas bandas refráteis na derme correspondendo a elastose solar.^{14,15,26-28}

O maior fator limitante da MC é a pouca profundidade que o comprimento de onda do aparelho atinge na pele, impedindo a visualização precisa da junção dermoepidérmica nas lesões hiperqueratóticas. Ulrich e colaboradores,²⁶ após estuda-

rem 44 casos de QAs pela MC relataram sensibilidade estimada de 97,7% do exame. Sendo assim, a MC pode ser uma ferramenta diagnóstica útil no manejo e seguimento de pacientes com fototipos baixos e história de exposição solar intensa, permitindo o diagnóstico precoce da QA.²⁶ Foi descrito também o seu emprego no monitoramento de resposta terapêutica após terapia fotodinâmica, demonstrando normalização progressiva da arquitetura da epiderme nos casos tratados com sucesso, abrindo espaço para o seu uso no monitoramento e avaliação da resposta terapêutica de outras modalidades de tratamento da QA.²⁹ No atual estudo, o exame de MC mostrou-se um importante exame diagnóstico complementar no acompanhamento das lesões de QA e das regiões peri-lesionais do campo de cancerização.

CONCLUSÃO

A aplicação tópica de creme contendo fotoliase em lipossomas e FPS 100 representa estratégia inovadora, promovendo fotoproteção e reparo do DNA em um mesmo produto, demonstrando resultados de melhora da QA grau I e do campo de cancerização tanto do ponto de vista clínico como dermatoscópico e pela MC. ●

REFERÊNCIAS

- Ceiley RI, Jorizzo JL. Current issues in the management of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1 suppl 1):28-38.
- Berman B1, Bienstock L, Kuritzky L, Mayeaux EJ Jr, Tyring SK; Primary Care Education Consortium, et al. Actinic keratosis: sequelae and treatments. Recommendations from a consensus panel. *J Fam Pract*. 2006;55(suppl):1-8.
- Nora AB, Panarotto D, Lovatto L, Boniatti L, Manozzo M. Frequency of counseling for skin cancer prevention by the various specialties in Caxias do Sul. *An Bras Dermatol*. 2004;79(1):45-52.
- Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(1Pt2):4-7.
- Sancar A. Structure and function of photolyase and *in vivo* enzymology: 50th anniversary. *J Biol Chem*. 2008;283(47):32153-7.
- Stege H, Roza L, VinkAA, Grewe M, Ruzicka T, Grether-Beck S, et al. Enzyme plus light therapy to repair DNA damage in ultraviolet-B-irradiated human skin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(4):1790-5.
- Jans J, Shul W, Sert Y-G, Rijken Y, Rebel H, Eker PM, et al. Powerful skin cancer protection by a CPD photolyasetransgene. *Current Biology*. 2005;15(2):105-15.
- Stege H. Effect of xenogenic repair enzymes on photoimmunology and photocarcinogenesis. *J Photochem Photobiol B*. 2001;65(2-3):105-8.
- Zalaudek I, Giacomel J, Schmid K, Bondino S, Rosendahl C, Cavicchini S, et al. Dermatoscopy of facial actinic keratosis, intraepidermal carcinoma, and invasive squamous cell carcinoma: A progression model. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(4):589-97.
- Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res*. 2003;63(8):1727-30.
- Torezan LA, Festa-Neto C. Cutaneous field cancerization: clinical, histopathological and therapeutic aspects. *An Bras Dermatol*. 2013;88(5):775-86.

12. Szeimies RM, Torezan L, Niwa A, Valente N, Unger P, Kohl E, et al. Clinical, histopathological and immunohistochemical assessment of human skin field cancerization before and after photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2012;167(1):150-9.
13. Ulrich M, Maltusch A, Rowert-Huber J, Gonzalez S, Sterry W, Stockfleth E, et al. Actinic keratoses: non-invasive diagnosis for field cancerization. *Br J Dermatol*. 2007;156(Suppl):13-7.
14. Ulrich M, Stockfleth E, Roewert-Huber J, Astner S. Noninvasive diagnostic tools for nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol*. 2007;157(Suppl):56-8.
15. Horn M, Gerger A, Ahlgrimm-Siess V, Weger W, Koller S, Kerl H, et al. Discrimination of Actinic Keratoses from Normal Skin with Reflectance Mode Confocal Microscopy. *Dermatol Surg*. 2008;34(5):620-5.
16. Braga JCT, Scope A, Klaz I, Mecca P, González S, Rabinovitz H, et al. The significance of reflectance confocal microscopy in the assessment of solitary pink skin lesions. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(2):230-41.
17. Hofer A, Legat FJ, Gruber-Wackernagel A, Quehenberger F, Wolf P. Topical liposomal DNA repair enzymes in polymorphic light eruption. *Photochem Photobiol Sci*. 2011;10(7):1118-28.
18. Kaufmann, R. The Concept of Field cancerization. e-Supplement Abstracts of the 6th Congress of the European Association of Dermatologic Oncology. 2010 Jun.
19. Berman B, Cohen DE, Amini S. What is the role of field-directed therapy in the treatment of actinic keratosis? Part 1: overview and investigational topical agents. *Cutis*. 2012;89(5):241-50.
20. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(1pt 2):23-4.
21. Guenther ST, Hurwitz RM, Buckel LJ, Gray HR. Cutaneous squamous cell carcinomas consistently show histologic evidence of in situ changes: A clinicopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol*. 1999;41(3 pt 1):443-8.
22. Yanofsky VR, Mercer SE, Phelps RG. Histopathological variants of cutaneous squamous cell carcinoma: a review. *J Skin Cancer*. 2011;2011:210813.
23. Zalaudek I, Giacomel J, Argenziano G, Hofmann-Wellenhop R, Micantonio T, Di Stefani A, et al. Dermatoscopy of facial non-pigmented actinic keratosis. *Br J Dermatol*. 2006;155(5):951-6.
24. Rigel DS, Gold LFS. The importance of early diagnosis and treatment of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1):S20-7
25. Gerger A, Koller S, Weger W, Richtig E, Kerl H, Samonigg H, et al. Sensitivity and specificity of confocal laser-scanning microscopy for in vivo diagnosis of malignant skin tumors. *Cancer*. 2006;107(1):193-200.
26. Ulrich M, Maltusch A, Rius-Diaz F, Rowert-Huber J, Gonzalez S, Sterry W, et al. Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatol Surg*. 2008;34(5):610-9.
27. Wurm EMT, Curchin CES, Lambie D, Longo C, Pellacani G, Soyer HP. Confocal features of equivocal facial lesions on severely sun-damaged skin: Four case studies with dermatoscopic confocal and histopathologic correlation. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(3):463-73.
28. Rishpon A, Kim N, Scope A, Porges L, Oliviero MC, Braun RP, et al. Reflectance confocal microscopy criteria for squamous cell carcinomas and actinic keratoses. *Arch Dermatol*. 2009;145(7):766-72.
29. Giacomo THBD, Santiago AVDA, Braga JCT, Blumetti TCMP, Ferreira JASLB, Canosa JM, et al. Perspectivas no uso da microscopia confocal in vivo na prática do cirurgião dermatológico. *Surg Cosmet Dermatol*. 2011;3(4):338-44.