



Universidad  
Católica  
de Valencia  
San Vicente Mártir

TÍTULO

Estudio comparativo del tratamiento de las queratosis actínicas con imiquimod tópico, terapia fotodinámica con metilaminolevulinato y terapia secuencial de terapia fotodinámica con metilaminolevulinato seguida de imiquimod tópico.

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR

Luis Hueso Gabriel

DIRIGIDA POR

Dr. Eduardo Nagore Enguñdanos

Dr. Carlos Serra Guillén

AÑO DE DEFENSA

2018



# ÍNDICE

1. ANTECEDENTES.....	9
1.1. QUERATOSIS ACTÍNICA.....	9
1.1.1 INTRODUCCIÓN .....	9
1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA .....	9
1.1.3. ETIOPATOGENIA .....	14
1.1.4. CLÍNICA .....	25
1.1.5. HISTOPATOLOGÍA .....	28
1.1.6. PROGRESIÓN A CARCINOMA EPIDERMOIDE.....	33
1.1.7. TRATAMIENTO .....	35
1.2. IMIQUIMOD.....	37
1.2.1. INTRODUCCIÓN Y MECANISMO DE ACCIÓN .....	37
1.2.2. IMIQUIMOD Y TRATAMIENTO DE QUERATOSIS ACTÍNICAS.....	39
1.3. TERAPIA FOTODINÁMICA .....	42
1.3.1. INTRODUCCIÓN .....	42
1.3.2. MECANISMO DE ACCIÓN Y PROCEDIMIENTO CLÍNICO .....	44
1.3.3. TRATAMIENTO DE LAS QUERATOSIS ACTÍNICAS .....	51
1.4. TERAPIA FOTODINÁMICA VS IMIQUIMOD .....	55
1.5. TRATAMIENTOS SECUENCIALES O COMBINADOS.....	59
1.6. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO Y REJUVENECIMIENTO .....	63
1.6.1. INTRODUCCIÓN .....	63
1.6.2. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO TRAS TERAPIA FOTODINÁMICA .....	63
1.6.3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO TRAS IMIQUIMOD .....	65
1.6.4. ELASTOSIS .....	66
2. HIPÓTESIS .....	69
3. OBJETIVOS .....	71

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL .....	71
3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS .....	71
4. PACIENTES Y MÉTODO.....	73
4.1 PACIENTES .....	73
4.2. MÉTODO .....	74
4.2.1. ESTUDIO DE LA EFICACIA, SATISFACCIÓN Y TOLERANCIA A LOS TRATAMIENTOS.....	74
4.2.2. ESTUDIO HISTOLÓGICO ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO .....	82
4.2.3. ESTUDIO DE FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS.....	93
4.2.4. ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	93
5. RESULTADOS.....	95
5.1 POBLACIÓN.....	95
5.2. RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS .....	97
5.2.1 RESPUESTA CLÍNICA.....	97
5.2.2 RESPUESTA HISTOLÓGICA .....	102
5.2.3 RESPUESTA CLINICOPATOLÓGICA .....	102
5.3. TOLERANCIA Y SATISFACCIÓN .....	104
5.3.1 TOLERANCIA AL TRATAMIENTO CON IMIQUIMOD .....	105
5.3.2. REACCIÓN LOCAL EN EL TRATAMIENTO CON IMIQUIMOD.....	106
5.3.3 TOLERANCIA AL TRATAMIENTO CON TFD .....	107
5.3.4 COMPARACIÓN DE LA TOLERANCIA ENTRE TFD E IMIQUIMOD .....	108
5.3.5 SATISFACCIÓN CON EL TRATAMIENTO.....	108
5.3.6 INTENCIÓN DE REPETIR EL TRATAMIENTO.....	110
5.4. ESTUDIO HISTOLÓGICO PREVIO Y POSTERIOR AL TRATAMIENTO .....	111
5.5. ESTUDIO DE FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA DE LOS TRATAMIENTOS.....	121

5.5.1. FACTORES CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS.....	121
5.5.2 FACTORES HISTOLÓGICOS .....	125
5.5.3. FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS .....	128
6. DISCUSIÓN .....	133
6.1. LIMITACIONES.....	133
6.2. EFICACIA, TOLERANCIA Y SATISFACCIÓN.....	135
6.3. ESTUDIO HISTOLÓGICO .....	144
6.4. FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS .....	148
6.5. CONSIDERACIONES SOBRE EL MANEJO DE LAS QUERATOSIS ACTÍNICAS.	151
7. CONCLUSIONES.....	153
8. BIBLIOGRAFÍA .....	155
9. MATERIAL SUPLEMENTARIO .....	173



## ABREVIATURAS

Grupo 1 Terapia fotodinámica en monoterapia

Grupo 2 Imiquimod en monoterapia

Grupo 3 Terapia fotodinámica seguida de imiquimod

QA Queratosis actínica

CCNM Cáncer cutáneo no melanoma

CEC Carcinoma epidermoide cutáneo

UV Ultra violeta

IR Infrarroja

ERO Especie reactiva de oxígeno

IFN Interferón

EGFR Receptor del factor de crecimiento epidérmico

IL Interleuquina

TNF Factor de necrosis tumoral

COX Ciclooxygenasa

MIF Factor inhibidor de la migración de los macrófagos

PAF Factor activador de las plaquetas

UCA Acido urocánico

HPV Virus del papiloma humano

H.E. Hematoxilina-eosina

AJCC American Joint of Committee on Cancer

NCCN National Comprehensive Cancer Network

TFD Terapia fotodinámica

ALA Ácido aminolevulínico

MAL Metilaminolevulinato

PpIX Protoporfirina IX

IPL Luz intensa pulsada

RC Respuesta completa

RP Respuesta parcial

OR Odds ratio

DS Desviación standard

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1. QUERATOSIS ACTÍNICA

### 1.1.1 INTRODUCCIÓN

La queratosis actínica (QA) es una entidad conflictiva y ha sido muy debatida entre dermatólogos y dermatopatólogos. En 1896 Dubreuilh fue el primero en distinguir entre queratosis seborreica y queratosis solar como dos entidades distintas<sup>1</sup>. Actualmente la QA sigue siendo objeto de controversias referentes a su clasificación como entidad patológica, a su identificación como lesión pre-neoplásica, a su relación con el cáncer cutáneo no melanoma (CCNM) y a su tratamiento<sup>2,3</sup>.

El estudio de la QA ha ganado cada vez mayor interés dentro de la dermatología y en la actualidad, con ayuda de técnicas de inmunohistoquímica, se intenta demostrar un origen genético común para QA y carcinoma epidermoide cutáneo (CEC).

### 1.1.2. EPIDEMIOLOGÍA

La QA es uno de los motivos más frecuentes de consulta en dermatología. Con una incidencia siempre en aumento, los datos estadísticos demuestran que en países como los Estados Unidos (EEUU) la QA es el segundo motivo de consulta más frecuente en la consulta del dermatólogo. Según algunos trabajos epidemiológicos realizados por Feldman y colaboradores<sup>4</sup>, de 127 millones de consultas a dermatólogos en un periodo de tiempo de 4 años, 14.6 millones (11.5 % del total) fueron para la evaluación y el tratamiento de la QA.

El lugar del mundo con más prevalencia de QA es Australia, dónde se estima que hasta un 40%-50% de la población mayor de 40 años tiene alguna lesión. En Europa la prevalencia es del 15 % en hombres y del 6 % en mujeres y a partir de los 70 años aumenta al 34 % en hombres y al 18 % en mujeres<sup>5</sup>. En Japón la prevalencia de QA es la más baja del mundo y oscila entre 0.76 % - 5 %<sup>6</sup>, pero se incrementa en los inmigrantes japoneses, alcanzando cifras similares al país dónde residen<sup>7</sup>.

Hay varios factores de riesgo relacionados con el desarrollo de la QA. Podemos clasificarlos en dos grandes grupos. Uno es el de los factores debidos a la susceptibilidad individual como son la edad, el género, el fenotipo, el estado inmunitario y ciertos síndromes genéticos que predisponen a padecer esta patología. El otro grupo es el relacionado con la exposición acumulada de radiación ultravioleta (UV) y otros agentes, que implica a los hábitos o modos de vida o la latitud en donde se resida (tabla I)<sup>8,9</sup>.

Tabla I. Epidemiología de la queratosis actínica

Susceptibilidad individual	-Edad -Género -Fenotipo -Estado inmunitario -Síndromes genéticos
Exposición a radiación UV y otros agentes	-Hábito de vida: trabajo, hobbies -Latitud

### 2.2.1-Factores de riesgo por susceptibilidad individual

La edad es el factor de riesgo más relevante dentro del grupo de los factores relacionados con la susceptibilidad individual. Todos los estudios epidemiológicos apuntan a una mayor prevalencia de QA a medida que la

población es de edades más avanzadas con tasas de prevalencia inferiores al 10% en la tercera década de la vida, que contrastan con valores de más del 80% a partir de la séptima década de la vida<sup>9</sup>.

La presencia de QA es más frecuente en los hombres que en las mujeres, con una relación aproximada 2:1 cuando se compara el género en edades jóvenes. No obstante, en edades ancianas la relación hombre : mujer tiende a equilibrarse<sup>10</sup>.

La mayor o menor sensibilidad de la persona al sol está determinada por su fenotipo, de forma que los individuos de tez blanca, ojos claros (azules o verdes) y pelo rojo o rubio están relacionadas con una mayor sensibilidad al sol. Estos rasgos determinan incapacidad para broncearse, facilidad para padecer quemaduras solares, así como una gran propensión a desarrollar efélides o léntigos solares. Estos fenotipos se recogen en la clasificación de Fitzpatrick (tabla II) como fototipos I-II y son considerados como las variables más proclives al desarrollo de QA y CEC.

Tabla II. Fototipos según Fitzpatrick

<b>Fototipo</b>	<b>Fenotipo</b>
Fototipo I	Altamente foto-sensible. Piel muy clara, con frecuencia pelirrojos, ojos azules, con pecas en la piel. Piel blanco lechosa. Intensas quemaduras solares, prácticamente no se pigmentan nunca.
Fototipo II	Pelo claro, ojos azules y pecas, piel de color blanca. Se queman fácil e intensamente, se pigmentan ligeramente.
Fototipo III	Razas caucásicas y piel blanca que no está expuesta habitualmente al sol. Pelo castaño. Su piel tiende a enrojecerse primero y a broncearse tras los primeros días de exposición
Fototipo IV	Piel morena o ligeramente morena, pelo y ojos oscuros. Propio de los mediterráneos, mongólicos y orientales. Se queman moderada o mínimamente, se pigmentan con bastante facilidad.
Fototipo V	Personas de piel morena amarronada. Propio de amerindios, indostánicos, árabes e hispanos. Se pigmentan con facilidad e intensidad, y siempre presentan reacción de pigmentación inmediata. Nunca se queman por el sol.
Fototipo VI	Razas negras. No se queman nunca y se pigmentan intensamente. Siempre presentan reacción de pigmentación inmediata

En relación a la susceptibilidad individual, el estado de inmunosupresión es otro de los factores de riesgo que predispone al desarrollo de QA. Los pacientes con inmunodepresión debido a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), mielodisplasia o cáncer visceral tienen un mayor riesgo de padecer QA y CEC. Las personas inmunodeprimidas de forma crónica, como los receptores de trasplantes de órganos, tienen un riesgo 250 veces mayor de desarrollar QA y 100 veces mayor de desarrollar un CEC invasivo. Por lo tanto, en estos pacientes el examen de la piel debe ser exhaustivo y la confirmación histológica de las lesiones sospechosas es crucial antes de iniciar cualquier tratamiento<sup>11,12</sup>.

Por último, la presencia de algunos síndromes genéticos como el albinismo o el xeroderma pigmentoso predisponen a un mayor riesgo de desarrollar QA incluso a edades tempranas. De la misma forma los antecedentes de QA o de otros cánceres de piel también predisponen a la aparición de éstas.

#### 2.2.2-Factores de riesgo relacionados con la exposición a la radiación UV

El otro grupo de factores de riesgo es el relacionado con la exposición acumulada de radiación UV y otros agentes. En este grupo de factores de riesgo hay que entender que el desempeño de algunos trabajos así como vivir en determinadas latitudes predisponen a la exposición a la radiación ultravioleta de forma crónica y también a la exposición de algunos agentes tóxicos que pueden facilitar el desarrollo de QA.

El hecho de que el 80% de las QA se distribuyan en regiones del cuerpo fotoexpuestas como son el cuero cabelludo, la cara, las manos nos ayuda a entender el papel que desempeña la exposición a la radiación UV en el desarrollo de las QA. Los denominados trabajos con exposición solar continua (obreros de la construcción, pescadores, comerciales, agricultores, o las actividades recreativas al aire libre, como tenistas o golfistas) se relacionan con un mayor riesgo de desarrollar lesiones cutáneas premalignas y malignas. La edad a la que la persona recibió la radiación UV

en mayor cantidad e intensidad resulta relevante ya que el máximo riesgo se presenta durante la niñez<sup>13</sup>.

En algunos casos la exposición acumulada a la radiación UV viene de la mano de algunas terapias, como la fototerapia, empleadas en patologías crónicas como la psoriasis, la dermatitis atópica, el vitíligo o algunos linfomas cutáneos.

En la década de los años noventa comenzó la moda del bronceado artificial. Esta moda, extendida sobre todo en la población más joven ha supuesto también una fuente de exposición crónica que va a determinar muchos problemas futuros en relación con el desarrollo de QA y cáncer de piel.

De igual manera que la exposición solar o la radiación UV, la exposición a otros agentes tóxicos de forma incidental o iatrogénica, como ocurre en los tratamientos con hidroxiurea, aumenta el riesgo de desarrollar QA. En este sentido también hay que tener en cuenta la exposición al arsénico en lugares de residencia donde existen problemas de hidroarsenicismo crónico regional endémico como ocurre en algunas provincias de Argentina y la administración de radioisótopos o rayos X en contexto de su uso como técnica diagnóstica o como resultado de una actividad profesional.

Actualmente se acepta que la QA es una lesión precursora de CEC, con un riesgo de transformación que varía según estudios entre un 0.001 y un 0.025% por año para cada una de las lesiones individuales. Este porcentaje aumenta desde un 10% hasta un 40% si se trata de un paciente inmunodeprimido<sup>14,15</sup>. Estos números son comparables a las de neoplasias intraepiteliales de otras partes del cuerpo como por ejemplo las del cuello del útero<sup>16,17,18</sup>.

El riesgo relativo de CEC se incrementa con el número de lesiones de QA de forma que, en casos con más de 20 lesiones, se demuestran incidencias de transformación mucho mayores. Esto tiene importancia para los pacientes con múltiples lesiones de QA, ya que sería un marcador biológico de alto riesgo de desarrollar cáncer de piel.

Aunque existen otros factores que pueden influir en el desarrollo de un CEC además de la exposición a radiación ultravioleta, la gran mayoría son el resultado de este estímulo. De hecho, prácticamente todos los CEC tienen QA contiguas o adyacentes a la neoplasia y cerca del 60% de los CEC invasivos aparecen sobre una QA previa<sup>11</sup>.

Figura 1. Múltiples queratosis actínicas en un paciente con daño solar crónico (A) y desarrollo de un carcinoma epidermoide (B).



### 1.1.3. ETIOPATOGENIA

El inicio de la QA es un proceso de difícil detección en fases precoces de la enfermedad. La exposición ambiental a la radiación UV inicia una cadena multifactorial de acontecimientos moleculares, celulares, virales, inmunológicos y genéticos que van a determinar el desarrollo de la QA y su posible malignización.

No existe un mecanismo para poder predecir qué células se encuentran en riesgo de transformación así como cuál es la QA con mayor riesgo de

progresión hacia un CEC. A esto se le suma el hecho de que parece que la interrupción de la exposición a la radiación UV es insuficiente una vez se ha activado la cadena de acontecimientos que llevan al desarrollo de la QA.

En este sentido, a pesar de los efectos beneficiosos de la radiación UV en relación con la síntesis cutánea de vitamina D, la radiación UV es considerado actualmente el principal carcinógeno al que el ser humano expone su piel en el día a día.

El espectro de la luz solar terrestre comprende tres zonas fundamentales: luz visible, ultravioleta e infrarroja. La luz visible o blanca, está compuesta por las distintas radiaciones que se observan en el fenómeno del arco iris o cuando se refracta la luz a través de un prisma: violeta, índigo, azul, verde, amarillo anaranjado y rojo. A partir del violeta existen radiaciones invisibles denominadas: ultravioletas (UV). Después del rojo aparecerían otras, también invisibles, constituidas por las radiaciones infrarrojas (IR).

El espectro solar terrestre nos proporciona aproximadamente un 5% de UV, un 45% de radiaciones visibles y un 50% de IR. Antes de los UV se sitúan los rayos Roëntgen o X, las sustancias radioactivas y los rayos cósmicos. Después de los IR, se encuentran las llamadas ondas cortas (de acción calorífica, empleadas en fisioterapia), las ondas hertzianas (radio) y las ondas largas de la telegrafía sin hilos.

La radiación UV representa el componente con mayor poder energético del espectro solar. Con fines didácticos se la divide en tres partes: los UV-A (largos), los UV-B (medianos) y los UV-C (cortos).

-Los UV-A (315-400 nm) atraviesan la mayor parte de los vidrios comunes. No producen prácticamente eritema, pero poseen poder pigmentógeno. Son los responsables de la pigmentación directa de color dorado que se produce sin eritema (bronceado).

-Los UV-B (280-315 nm) eritematógenos, son los responsables de las quemaduras solares (eritema, edema, ampollas) y de la pigmentación indirecta, apagada, grisácea. Son absorbidos por el vidrio.

-Los UV-C (100-280 nm) son absorbidos por las capas más altas de la atmósfera y estratosfera y no llegan prácticamente a la superficie terrestre. Este proceso se atribuye a una capa de ozono situada a 40 km de altura.

La penetración de los rayos luminosos en la piel es proporcional a su longitud de onda. Los UV son casi totalmente absorbidos por las primeras hileras celulares epidérmicas. La luz visible es bastante más penetrante que los UV, atravesando íntegramente 0.6 mm de piel. La penetración lumínica está supeditada a la radiación incidente, la reflexión, absorción, dispersión y transmisión de los rayos hacia las zonas más profundas, además de ser influenciada por factores individuales raciales, regionales y anatómicos. Sólo las radiaciones absorbidas por la piel son biológicamente activas. Por eso las que poseen los efectos más marcados y severos son las UV, en especial las de más corta longitud de onda. Los rayos de corta longitud de onda (UV-C) poseen efectos semejantes a los de los rayos X, provocando alteraciones de la queratinización, telangiectasias, y CCNM en caso de ser proyectadas directamente a la piel. Como su proporción en el espectro solar es mínima, ya que son eliminados en su mayor parte por la capa de ozono, su acción no se manifiesta hasta muchos años después de que el ser humano haya sufrido una irradiación suficiente<sup>19-21</sup>.

La radiación UV, por tanto, juega un importante papel en la patogenia de la QA. Éste viene dado por el daño directo que provoca sobre el ADN y sobre las señales de transducción, por su capacidad de desencadenar diferentes eventos inflamatorios, así como por sus efectos inmunosupresores y por las alteraciones mutagénicas que provoca sobre algunos genes como el gen supresor P53 entre otros (tabla III)<sup>22</sup>.

Tabla III. Mecanismos y mediadores en la patogenia de la queratosis actínica.

<b>MECANISMOS</b>	<b>MEDIADORES</b>	<b>EFFECTOS</b>
Inflamación	-Acido araquidónico: COX-2 y prostaglandinas -Moléculas de adhesión proinflamatoria-citoquinas -Mastocitos -ERO -MIF	-Peroxidación de lípidos -Aumento de linfocitos T y células de Langerhans -Aumento de p53 y bcl-2: disminución de Fas(CD95) y su ligando -Enlace entre inflamación crónica y progresión tumoral vía MIF
Estrés oxidativo	-ERO	-Daño en el ADN y el ADN mitocondrial y peroxidación de lípidos
Inmunosupresión	-Daño en el ADN -Fop3 + Linfocitos T reguladores -Receptores toll-like -HPV -PAF y UCA	-Supresión inmune local y sistémica -Inhibición de los genes de supervivencia inmune -Potenciación de IL-10 y TGF-β -Inhibición de la activación y proliferación de células T-CD4 -Defensa inmune cutánea -Baja regulación de IL-8 debilitando la respuesta a la radiación UV -Mediación precoz en la supresión inmune
Alteraciones apoptosis	-p53 -PKC-δ -HPV	-Vía supresora, elimina la activación de mediadores apoptóticos CD-95 y TNF -Vía mutación de genes, elimina la supresión tumoral proapoptótica -Regulación actividad apoptótica de p53 -Inhibición de la apoptosis
Mutagenesis	-MYC proto-oncogen -p53 -gen supresores: p14 <sup>ARF</sup> , p16 <sup>INK14a</sup> , p15 <sup>Ink4b27</sup>	-Amplificación y sobreexpresión -Disrupciones en codón de genes supresores -Acumulación de mutaciones genómicas, pérdida y transcripción de señales
Crecimiento celular Diferenciación	-E-cadherina/catenina -EGFR -Interferon -Osteopontina	-Expresión anormal -Vía ERO, fosforilación, inactivación y disregulación de la apoptosis vía p38, ERK, AKT -Supresión de la señal de interferón -Expresión elevada en cáncer
Remodelación tisular	-Dímeros de Ciclobutano pirimidina -Metaloproteinasas	-Ras y Raf activación -Disociación de NF-κB-IB

		-Producción de citoquinas (IL-1, IL-6), TNF, IL, GM-CSF -Activación de la vía del ácido araquidónico induciendo la degranulación de mastocitos y la liberación de histamina. -Degradación de la membrana basal -Invasividad tumoral
--	--	--

AKT, proteína kinasa A; BCL, proteína reguladora de la apoptosis; COX, ciclooxigenasa; EGFR, receptor del factor de crecimiento epidérmico; ERK, señal reguladora de kinasa extracelular; Foxp3, forkhead box p3; GM-CSF, factor estimulador de crecimiento de colonias granulocíticas; HPV, virus del papiloma humano; IL, interleuquina; MIF, factor inhibidor de la migración del macrófago; NF-kB-IB, factor nuclear kB-inhibidor IB; PAF, factor activador de plaquetas; RAS y RAF, vía de proteína kinasa mitógeno activado; ERO, especie reactiva de oxígeno; TGF, factor transformador de crecimiento; TNF, factor de necrosis tumoral; UCA, ácido urocánico; UV, ultravioleta

### 1-Daño directo al ADN

Uno de los principales efectos de la radiación UV es el daño directo del ADN. La absorción de los rayos UV-B por el ADN puede causar dos tipos de lesiones a nivel molecular: la producción de fotoproductos y la generación de dímeros de pirimidinas o ciclobutanos. En ambas situaciones el daño es causado por la unión errónea de dos pirimidinas en la cadena del mismo ADN. Ambos tipos de lesiones pueden dar lugar a mutaciones genéticas relevantes en el desarrollo de procesos oncogénicos.

La radiación UV-A, más abundante, penetra a mayor profundidad en la piel y da lugar a la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO). Las ERO, una vez desarrolladas, pueden dar lugar a la formación de determinadas alteraciones en las bases nitrogenadas que forman la molécula de ADN, provocando desequilibrio así como mutaciones y reordenamientos cromosómicos que pueden conducir al desarrollo de cáncer<sup>23</sup>.

## 2-Alteración de las señales de transducción

La exposición a la radiación UV induce aberraciones moleculares a diferentes niveles del proceso de transducción. Estas alteraciones ocurren por diferentes mecanismos como la fosforilación de proteínas tirosina quinasa de membrana, las alteraciones de receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), la activación del gen Ras y gen Raf y la disociación y activación de factores de activación nucleares. Todos estos eventos precipitan la producción de citoquinas entre las que se encuentran de manera más relevante la interleuquina-1 (IL -1), el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleuquina-6 (IL-6). Estas cascadas de señales también conducen por otro lado a la activación de la cascada del ácido araquidónico, que estimula a su vez diferentes reacciones oxidativas y de fosforilación que inducen a su vez la transducción de señales e inician la liberación de histamina secundaria a la degranulación de los mastocitos. Estas vías van a causar la translocación de factores de transcripción en el núcleo, donde dan lugar a cambios en la expresión de los genes<sup>24-27</sup>.

## 3-Papel de la inflamación en el desarrollo de la queratosis actínica.

Son varias las vías de la inflamación que se ven alteradas por la radiación UV. En este sentido se han estudiado con más en detalle algunas de ellas, como son las alteraciones en la vía de la inflamación de la ciclooxigenasa (COX), las alteraciones en el receptor Fas (CD 95) y las alteraciones en el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF).

### -Alteraciones de la vía de la COX.

Actualmente se acepta que como paso previo de la progresión de una QA a un CEC suele haber un periodo en el que las lesiones presentan una marcada inflamación.

COX es una enzima del metabolismo del ácido araquidónico así como de la producción de prostaglandinas que tiene un rol importante en la inflamación. Esta enzima es sensible a la radiación UV ya que la convierte en

su forma activa, conocida como isoenzima COX -2. Esta enzima está estrechamente relacionada con el desarrollo de QA hasta tal punto que actualmente la inhibición farmacológica de esta vía es un mecanismo que ha sido utilizado para su tratamiento<sup>28</sup>.

#### -Alteraciones en el receptor Fas (CD 95)

Este receptor tiene una misión de defensa, mediante la eliminación del DNA dañado en una célula con potencial capacidad de transformación maligna.

CD95 se sobreexpresa en los queratinocitos expuestos a la radiación UV. No obstante, el acumulo de esta radiación en el tegumento provoca una disminución progresiva que permite el inicio del desarrollo de la lesión precancerosa. Así, esta disminución en la actividad del receptor es proporcional al grado de displasia del queratinocito hasta alcanzar el grado de QA, en el que su expresión es nula<sup>29-31</sup>.

#### -Alteraciones en el factor inhibidor de la migración del macrófago (MIF)

Esta molécula es una citoquina proinflamatoria que esta aumentada por el estímulo de la radiación UV tanto en los queratinocitos normales como en los alterados de las QA y CEC.

Su función es reducir la expresión de otros genes reguladores de la apoptosis como son el gen P53 o el gen P21<sup>32,33</sup>. Tanto en las QA como en el CEC hay una sobreexpresión de MIF de manera que de forma indirecta se está reduciendo la apoptosis y facilitando, por tanto, el desarrollo tumoral<sup>34</sup>.

#### 4-Efectos inmunosupresores

La inmunosupresión inducida por la radiación UV se produce como resultado de daño en el ADN, con la consiguiente liberación de citoquinas alteradas, que actúan sobre las células presentadoras de antígeno y las células T inmunosupresoras. Todos estos procesos conducen a una vigilancia inmunitaria disminuida. En este ámbito son varias las alteraciones descritas en la actualidad como las más relevantes a la hora de entender este

mecanismo. Éstas son las alteraciones en el funcionamiento de las células T reguladoras y el marcador forkhead Fox P3 (Fox P3), la alteración de los receptores Toll-like, la alteración en el funcionamiento del factor activador de las plaquetas (PAF) y del fotoreceptor UCA y las alteraciones en el ADN mitocondrial.

-Alteración de la célula T reguladora y el marcador FoxP3

Las células T reguladoras están presentes de una forma más relevante en áreas de daño solar con presencia de QA<sup>35</sup>. Las células T reguladoras expresan un marcador de superficie denominado fox P3. La actividad de este marcador a través de la liberación de citoquina IL-10 y factor de crecimiento- $\beta$  determinan la inhibición de la función y la activación de las células T CD 4 y por tanto la secreción de citoquinas activadoras de las células dendríticas<sup>36,37</sup>. En definitiva la función es la de inhibir la actividad de las células efectoras contra las células del tumor por lo que facilita su progresión o desarrollo. Ésta es la diana sobre la que el Imiquimod actúa inhibiendo su función con la finalidad de destruir a la lesión precancerosa.

-Alteración de los receptores Toll-like

Los receptores Toll son una familia de proteínas transmembrana que se expresan en las células presentadoras de antígenos y otras células del sistema inmune. Su función es activar y organizar la respuesta inmunitaria a modo de un estado de defensa funcional.

Esto se consigue mediante la regulación de la homeostasis y la regeneración celular, mediante la producción de Interferón- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) y la producción de otras citoquinas que promueven mediadores y células T antígeno-específicos de la respuesta inmune.

De manera que la alteración de estos receptores induce de forma indirecta una mala respuesta en el sistema inmunitario<sup>38,39</sup>. Medicamentos como el Imiquimod, agonista de estos receptores, pueden mejorar la alteración existente a este nivel en la QA.

#### -Alteración en el PAF fotorreceptor UCA

PAF es un fosfolípido derivado del ácido araquidónico que se produce durante el estrés oxidativo mediado por la radiación UV. El aumento del PAF aumenta la transcripción de COX-2 y de IL-10.

El fotorreceptor UCA induce inmunosupresión por su unión al receptor de la serotonina (5-HT<sub>2A</sub>) en presencia de radiación UV<sub>A</sub>.

De forma interesante, se ha demostrado a través de estudios experimentales que el bloqueo de PAF y de UCA facilita la reparación del ADN. Este hecho vislumbra una nueva línea de investigación para el desarrollo de nuevas armas terapéuticas para el CCNM.

#### -Alteraciones en el ADN mitocondrial

Este es un indicador sensible que marca la exposición a la radiación UV. Las ROS dañan de forma directa los mecanismos de reparación del ADN mitocondrial. El daño en el genoma mitocondrial deteriora la capacidad mitocondrial de fosforilación oxidativa, lo que supone una mala función en la respiración mitocondrial, con la consiguiente generación de una mayor cantidad de ERO<sup>22</sup>.

#### 5-Alteraciones en gen supresor P53

La radiación UV determina un aumento en la expresión y la activación del gen P53 y su proteína. La función que tiene este gen es la de detener el ciclo celular y activar los mecanismos de reparación del ADN en las células dañadas. En los casos de daños irreparables provoca una activación de la apoptosis celular<sup>40-43</sup>.

Mutaciones en este gen hacen que éste no se active ante los estímulos pertinentes favoreciendo la carcinogénesis.

Se ha demostrado en numerosos trabajos la presencia de mutaciones en este gen tanto en QA como en CEC y de la misma manera en el tejido

perilesional, lo que recientemente se ha definido como campo de cancerización<sup>44,45</sup>.

La mutación de este gen es muy frecuente en la mayoría de los tumores de nuestro organismo (aproximadamente el 80% en los diferentes subtipos histológicos). En la QA se detecta hasta en un 50 % de los casos presentándose en unas localizaciones del gen diferentes a las que se encuentran en los tumores de otras localizaciones extracutáneas. Esto refuerza la relevancia de la radiación UV en las fases iniciales del desarrollo de la QA a modo de promotor tumoral. No obstante, el papel de la radiación UV en el mantenimiento de la enfermedad parece irrelevante, dado que una vez mutada la p53, la exposición UV no parece tener papel alguno en esta proteína, que adquiere un comportamiento autónomo<sup>44</sup>.

## 6-Otras alteraciones

Junto a los principales daños descritos previamente hay otros puntos de alteración algo menos estudiados que también están provocados o mediados por la radiación ultravioleta. Éstos incluyen las alteraciones de la proteína quinasa C, las alteraciones del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), las alteraciones en el gen MYC, las alteraciones por la infección por virus del papiloma humano (HPV), los errores en el funcionamiento del interferón y del factor estimulador de colonias granulocíticas, la alteración de la función de metaloproteasas y cadherinas, relacionadas sobre todo con la capacidad de invasión de algunos tumores, y las alteraciones de otras moléculas en estudio como la osteopontina y el gen brahma<sup>22</sup>.

### -Alteraciones en la proteína quinasa C

Esta es una familia de moléculas clave en las cascadas de transducción ya que regulan los mecanismos iniciales en el desarrollo y en la proliferación celular, así como en la apoptosis. En este sentido, se ha observado una disminución de la actividad proapoptótica de una variante de la familia de

las proteínas quinasas, proteína quinasa C-  $\delta$ , tanto en las QA como en el CEC<sup>22</sup>.

#### -Alteraciones en el EGFR

Este receptor de superficie activado permite la proliferación epidérmica y suprime la apoptosis. En condiciones normales se encuentra inactivado. La radiación UV lo activa por mediación de las ROS. La expresión de EGFR alterado se ha detectado en el 52% de las QA y en el 77.1% de los CEC<sup>46</sup>.

#### -Alteración del gen MYC

Se han detectado alteraciones en este gen tanto en QA como en CEC. Su sobre-expresión podría desempeñar un papel en la progresión tumoral de una lesión premaligna como la QA<sup>22</sup>.

#### -Infección por el HPV

El papel del HPV podría representar un papel importante en el desarrollo de la QA y en su progresión al CEC. Esta hipótesis se basa en la detección de diferentes subtipos de este virus tras el análisis de grandes series de CEC. A su vez, existe una mayor incidencia de QA y CEC en aquellos pacientes inmunosuprimidos, particularmente en aquellos transplantados renales, y en pacientes que presentan epidermodisplasia verruciforme. Este grupo de pacientes presenta la particularidad de desarrollar los tumores en localizaciones acrales sometidas a una fotoexposición crónica, lo que apoya la teoría de una posible relación entre VPH y radiación UV<sup>47</sup>.

Dada la diferente incidencia de desarrollo de cáncer en presencia de HPV entre áreas cutáneas y mucosas, se ha sugerido que existen mecanismos etiopatogénicos distintos implicados en la transformación neoplásica maligna cutánea<sup>48,49</sup>. En esta línea, se ha objetivado que el gen E6 del HPV de alto riesgo parece provocar la degradación rápida de p53, la abolición de la detención del ciclo celular y de la apoptosis. A su vez, el HPV puede ser responsable de la longevidad de los queratinocitos humanos lo que los hace más susceptibles a su malignización.

#### 1.1.4. CLÍNICA

La QA se define una lesión hiperqueratósica preneoplásica que ocurre en las áreas de piel expuestas a la luz solar, que aparece con mayor frecuencia en personas de fototipo bajo como respuesta a la exposición crónica a la radiación ultravioleta, aunque con algunas excepciones.

Clínicamente se manifiesta como una mácula o pápula eritematosa o marronácea con escama-costra amarillenta o marronácea en la superficie de bordes imprecisos. Se presentan de forma aislada o más a menudo de forma múltiple, con tamaños variables, en sitios de predilección como el cuero cabelludo, el labio inferior, la cara, los pabellones auriculares, y el dorso de manos entre otras. La escama o costra es dura, seca, áspera, y se detecta fácilmente al tacto. Se trata de un tipo de lesión habitualmente asintomática, aunque ocasionalmente asocian dolor o prurito.

Aunque la QA ocasionalmente puede regresar, lo habitual es un crecimiento lento con episodios de inflamación y ocasional sangrado hasta su posible evolución a un CEC.

La clasificación clínica clásica de la QA diferencia 5 tipos clínicos<sup>50</sup>:

– QA hiperqueratósica: son pápulas o placas con una escama adherente en superficie de color blanquecino o amarillento y de base eritematosa. Sobre éstas puede aparecer un cuerno cutáneo, que es una tumoración de aspecto exofítico y base infiltrada en la cara, tronco y dorso de manos. Hasta un 15% de los cuernos cutáneos que asientan sobre queratosis actínicas son realmente CEC. (figura 2 A y B )

– QA pigmentada: son lesiones pigmentadas pero que a la palpación son duras y rugosas. En ocasiones el pigmento de la QA puede asemejar a un retículo por lo que la dermatoscopia puede ser de utilidad en el diagnóstico diferencial con las lesiones melanocíticas. (figura 3 A y B)

– QA liquenoide: se trata de una lesión de base muy eritematosa que produce picor o dolor. Estos hallazgos clínicos se traducen histológicamente en un infiltrado linfocitario en banda debajo de la disqueratosis que caracteriza a la queratosis actínica (figura 4 A).

– QA atrófica: es un tipo de queratosis actínica de escasas dimensiones que histológicamente muestra atrofia epidérmica.

– Queilitis actínica: se trata de la expresión de la QA en la porción cutánea de los labios, principalmente el hemilabio inferior. Aparece como resultado de la exposición solar crónica, a lo que se le suman los efectos del hábito tabáquico y de algunos procesos de inflamación crónica. Se trata de una lesión costrosa o descamativa que se suele acompañar de unos labios eritematosos, descamativos y agrietados (figura 4 B).

En el año 2007 Rowert-Huber y colaboradores, proponen una clasificación clínica basada en el espesor de las lesiones de QA<sup>51,52</sup>. Estos autores describen tres grados en la evolución de la QA: Grado I: delgadas (se palpan pero no son visibles); Grado II: espesor moderado (se ven y se palpan); Grado III: gran espesor o gruesas (hiperqueratóticas). Aunque esta clasificación tiene utilidad para la elección del tratamiento, la interpretación clínica es muy variable, ya que depende de la subjetividad del que la realiza.

Figura 2. Cuerno cutáneo sobre queratosis actínica hipertrófica. A. En el párpado inferior. B. En el pabellón auricular

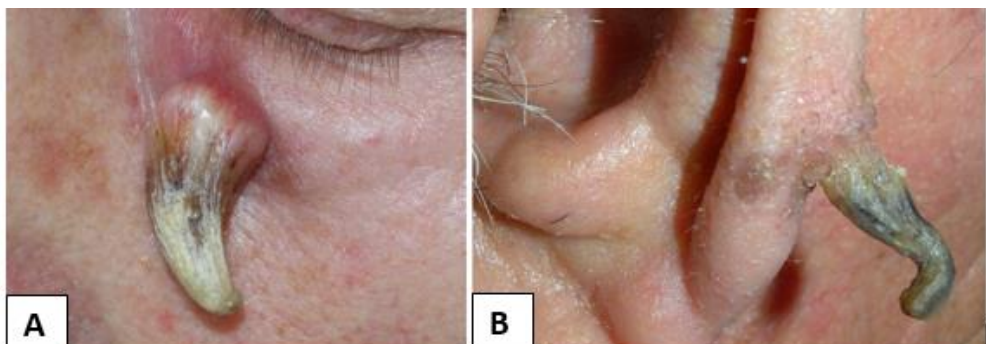


Figura 3. A. Queratosis actínica pigmentada. B. Área erosiva sobre queratosis actínica

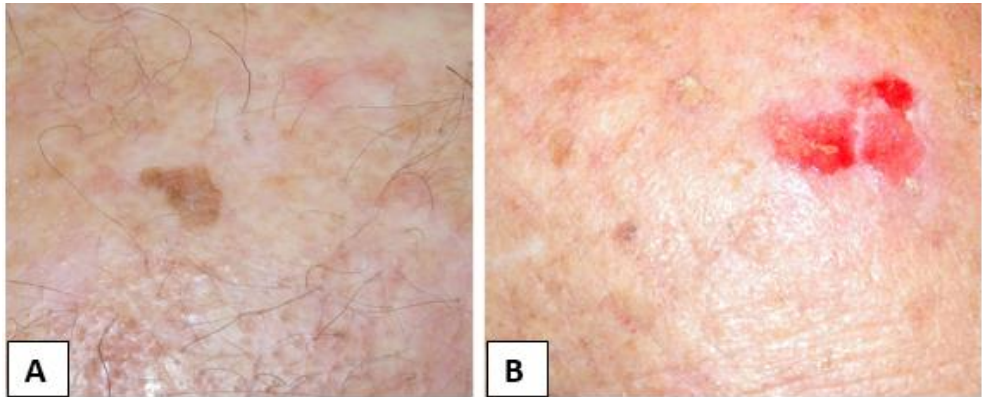
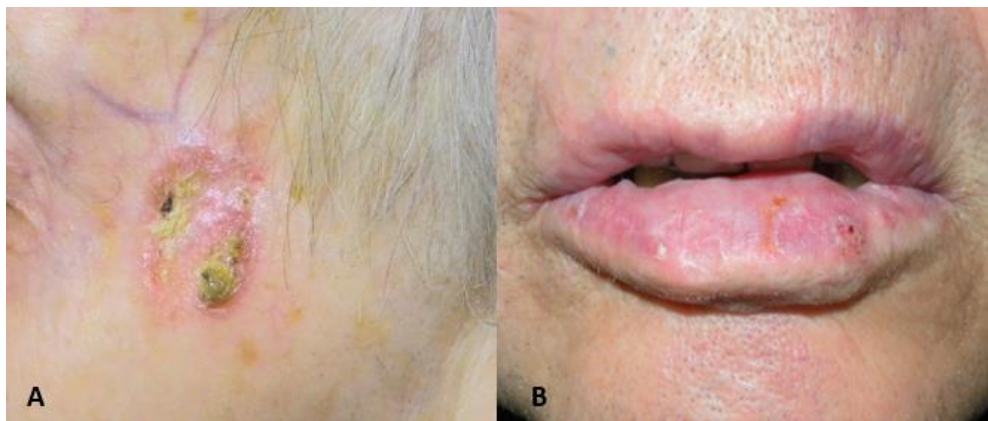


Figura 4. Queratosis actínica liquenoide (A) y queilitis actínica (B).



### 1.1.5. HISTOPATOLOGÍA

En rasgos generales la QA típica se caracteriza por la presencia de paraqueratosis focal, con pérdida de la capa granulosa y moderado engrosamiento de la epidermis con de crestas irregulares. Excepcionalmente la epidermis puede estar adelgazada. En todos los casos hay una pérdida variable de la correcta estratificación de la epidermis, asociada a atipia moderada o intensa de los queratinocitos. La displasia puede extenderse por la porción infundibular del folículo piloso o incluso provocar hendiduras suprabasales. Las columnas de paraqueratosis a veces son tan pronunciadas que dan lugar a cuernos cutáneos. En la dermis es frecuente la presencia de elastosis solar, en ocasiones muy intensa, acompañada de un discreto infiltrado inflamatorio crónico.

Aunque el diagnóstico histopatológico es necesario sólo en un pequeño número de casos, ya que en la mayoría el diagnóstico de la QA es clínico, atendiendo a variaciones en la forma de expresión de las características histológicas generales se describen varios tipos histológicos clásicos (tabla IV)<sup>53,54</sup>:

-Forma hiperplásica o hipertrófica: se caracteriza por la presencia de ortoqueratosis y paraqueratosis prominente, acompañada de una epidermis con hiperplasia psoriasiforme, a veces papilomatosa y con displasia queratinocítica moderada limitada a la capa basal (figura 5 A y B ).

-Variante pigmentada de la QA: se caracteriza por tener abundante melanina en la epidermis, que está presente tanto en los melanocitos como en los queratinocitos. Son frecuentes en esta variante la presencia de melanófagos dérmicos (figura 6 A y B).

-Queratosis actínica liquenoide: se caracteriza por un infiltrado inflamatorio crónico en banda en la dermis papilar. Se pueden encontrar ocasionales queratinocitos apoptóticos en el estrato basal epidérmico y también áreas de degeneración vacuolar (figura 7).

-QA atrófica: se caracteriza por la presencia de una epidermis adelgazada, sin redes de crestas con la presencia de abundantes atípicas en su capa basal con llamativos núcleos grandes e hiper cromáticos. Aunque puede proyectarse hacia la dermis papilar en forma de “ductos” suele respetar el epitelio de los anejos (figura 8 A y B).

-QA acantolítica: se caracteriza por la pérdida de cohesión entre los queratinocitos con importantes áreas de disqueratosis y desaparición de puentes intercelulares que recuerda a algunos de los cambios observados en la enfermedad de Darier (figura 9 A y B).

-QA epidermolítica: se caracteriza por la presencia de hiperqueratosis compacta, vacuolización perinuclear del estrato granuloso y de la porción superior de la capa espinosa junto a gránulos de queratohialina de morfología irregular. Esto constituye un patrón histopatológico de la epidermis que puede evidenciarse en una amplia variedad de alteraciones cutáneas por lo que más que una verdadera variedad de queratosis actínica debería considerarse un hallazgo incidental en algunas de ellas.

-QA bowenoide: se caracteriza por la presencia de atipia en todo el espesor de la epidermis pero con preservación del epitelio anexial. Sin embargo algunos autores consideran estos cambios como un carcinoma de células escamosas in situ<sup>55</sup>(figura 10 A y B).

- Otras variantes. Además de estos tipos histológicos clásicos se han descrito algunas variaciones en la apariencia histológica de la QA en los pacientes inmunodeprimidos. Ésta se caracteriza por presentar más hiperqueratosis de la habitual con numerosas áreas de paraqueratosis confluyente y abundancia de mitosis.

Otra variación histológica que se puede encontrar de manera incidental y que se puede encontrar en la mayoría de los tipos histológicos es la presencia de células claras producidas por el depósito abundante de glucógeno en el citoplasma de los queratinocitos.

Por último se ha descrito otra variación histológica de la QA a modo de extensión pagetoide de queratinocitos, lo que recuerda a la histología de la enfermedad de Paget extramamaria y que se ha propuesto el nombre de QA pagetoide para definirla.

En un intento de definir el grado de severidad histológica de la QA se plantea otra forma de clasificar esta entidad. Esta clasificación hace referencia al grado de afectación de la epidermis por queratinocitos displásicos. Esta clasificación es análoga a la clasificación de algunas otras neoplasias intraepiteliales de nuestro organismo como la neoplasia intraepitelial cervical y la neoplasia intraepitelial vulvar. Este sistema clasifica en 3 categorías (KIN I, II y III) a la QA, basándose en la evaluación clínica e histológica, no obstante esta clasificación no ha sido adoptada ampliamente<sup>56</sup>.

Figura 5. Queratosis actínica hipertrófica (tinción hematoxilina-eosina, H.E.)  
A. Imagen panorámica (x10). B. Detalle de las capas de queratinocitos (x100).

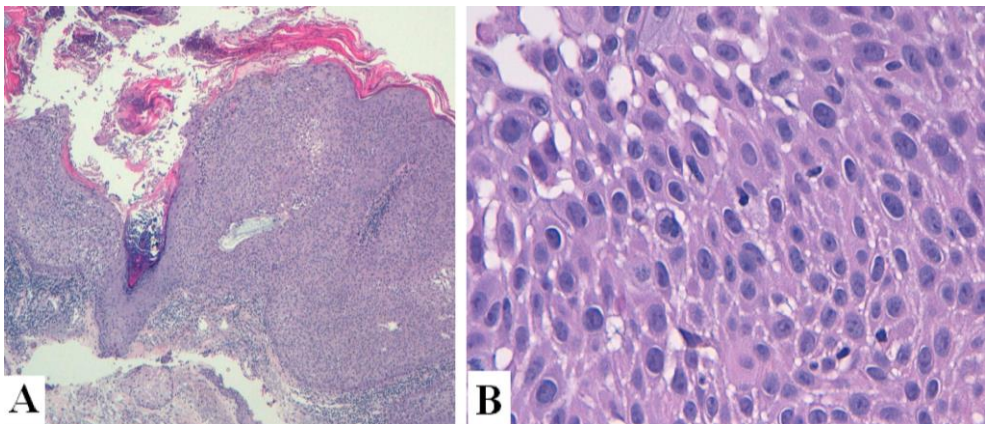


Figura 6. Queratosis actínica pigmentada. A. Imagen panorámica (H.E. x10). B. Detalle de los numerosos depósitos de pigmento. (H.E. x100).

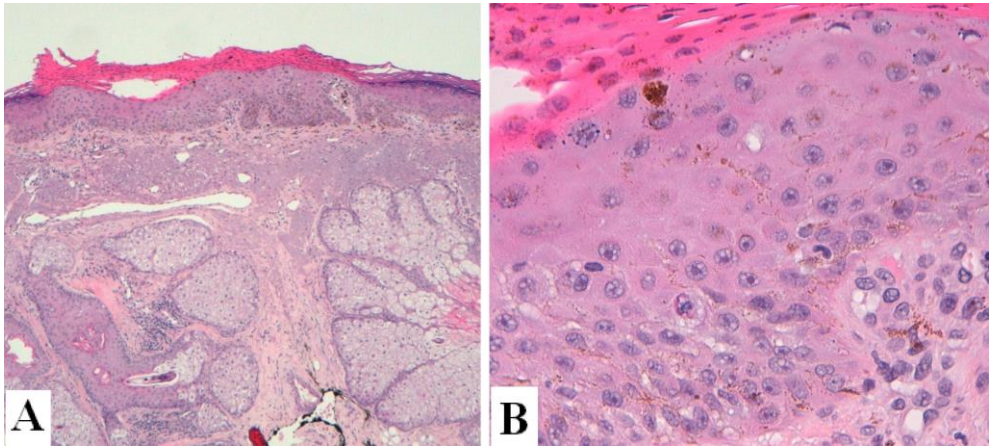


Figura 7. Queratosis actínica liquenoide. Llamativo infiltrado inflamatorio en banda. (H.E. x10).

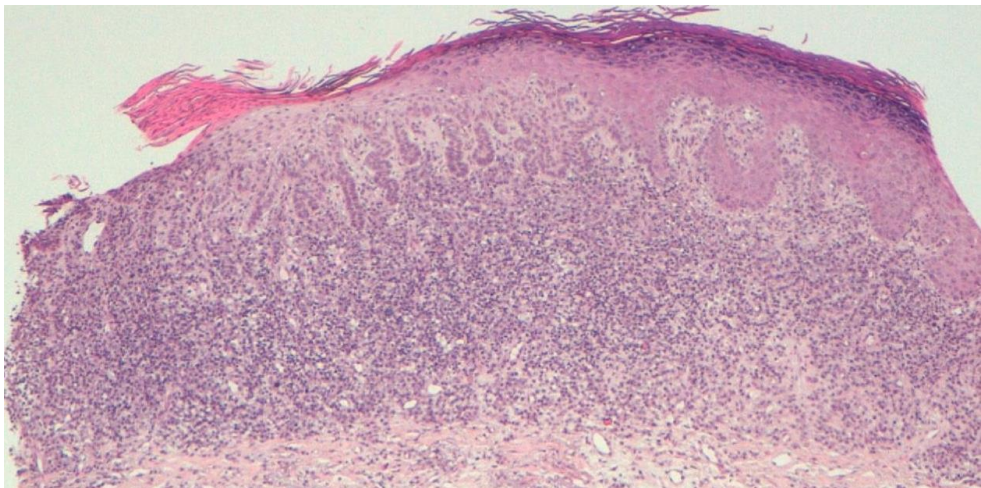


Figura 8. Queratosis actínica atrófica A. Imágen panorámica (H.E. x10). B. Detalle de la epidermis adelgazada y queratinocitos displásicos. (H.E. x100).

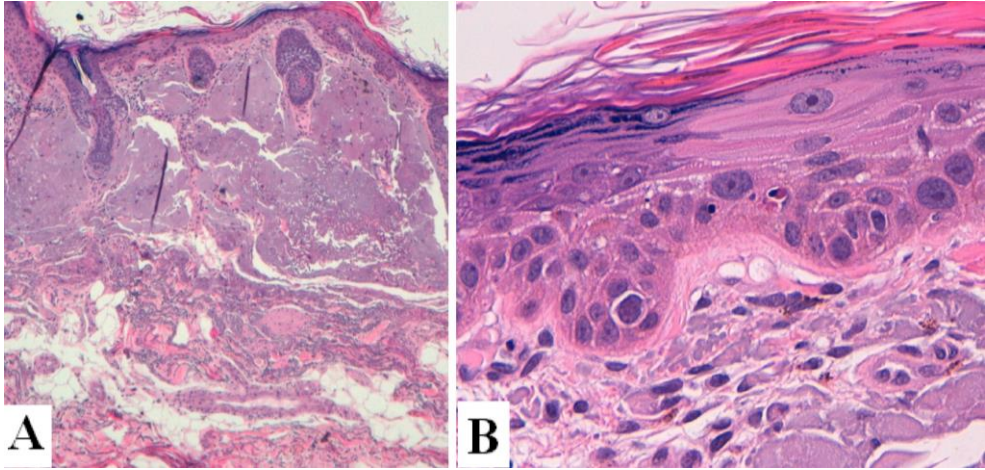


Figura 9. Queratosis actínica acantolítica. A. Imágen panorámica (H.E x10). B. Detalle de los queratinocitos acantolíticos. (H.E. x100)

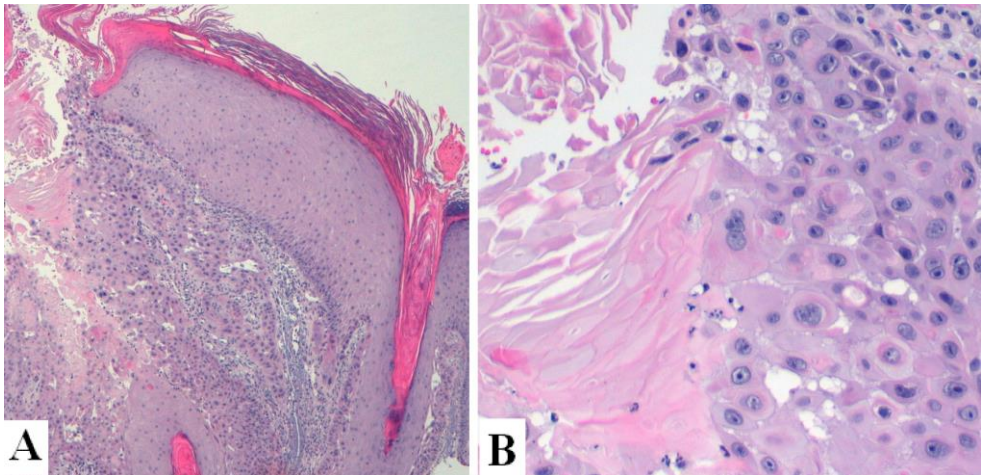
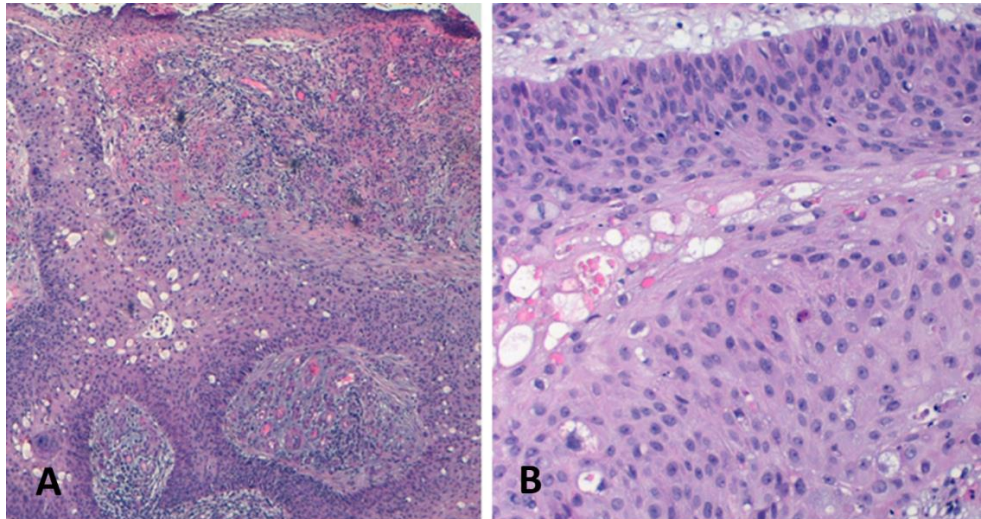


Figura 10. Queratosis actínica bowenoide A. Imagen panorámica de los queratinocitos atípicos ocupando gran parte del estrato epidérmico (H.E. x10). B. Detalle del grado de displasia de la epidermis. (H.E. x100).



### 1.1.6. PROGRESIÓN A CARCINOMA EPIDERMOIDE

#### 1-Riesgo de progresión a CEC

La queratosis actínica es la lesión precancerosa más frecuente en la piel.

Las QA tienen 3 posibles vías de evolución: pueden resolverse de forma espontánea, pueden permanecer estables en el tiempo, o pueden evolucionar a la enfermedad invasiva, conocida como CEC. El riesgo de transformación de cada lesión de forma individual es muy variable oscilando enormemente según series desde el 0.025% al 16%<sup>14</sup>. De forma práctica se establece un riesgo medio de un 1% por lesión al año, lo que supondría que un paciente con 10 lesiones no tratadas desarrollaría un CEC en un periodo de 10 años. Este riesgo de progresión, aunque aparentemente bajo, supone un riesgo importante en muchos pacientes con múltiples queratosis actínicas. Como no se dispone de marcadores clínicos, histológicos o

genéticos que puedan predecir de una forma precisa el riesgo de progresión a CEC, existe la opinión generalizada y consensuada de la necesidad de tratar las QA<sup>50,57,58</sup>.

## 2-Vías de progresión a CEC

Durante un tiempo ha sido ampliamente aceptado que la progresión de la QA al CEC podía seguir el modelo de otras neoplasias intraepiteliales como la cervical. Por ello se proponía una clasificación en 3 categorías donde el estadio III, en el que la displasia afectaba a todo el grosor epidérmico llegando a estratos superiores, era la fase previa a la lesión infiltrante. Esta vía de transformación puede definirse como la vía clásica. En un trabajo reciente, se ha comprobado como la lesión precursora más frecuente del CEC infiltrante es una queratosis actínica con displasia en capa basal (KIN I) por lo que no es preciso la progresión de la displasia a capas superiores de la epidermis para evolucionar a lesión infiltrante. Esta vía de transformación, más frecuente al parecer, se puede denominar la vía diferenciada<sup>59</sup>.

## 3-Carcinoma epidermoide cutáneo

El CEC, con una incidencia a lo largo de la vida de entre un 7 y un 11%, es la segunda neoplasia más frecuente dentro del grupo de los CCNM representando entre el 20 y el 25% de los casos, sólo por detrás del carcinoma basocelular<sup>60</sup>.

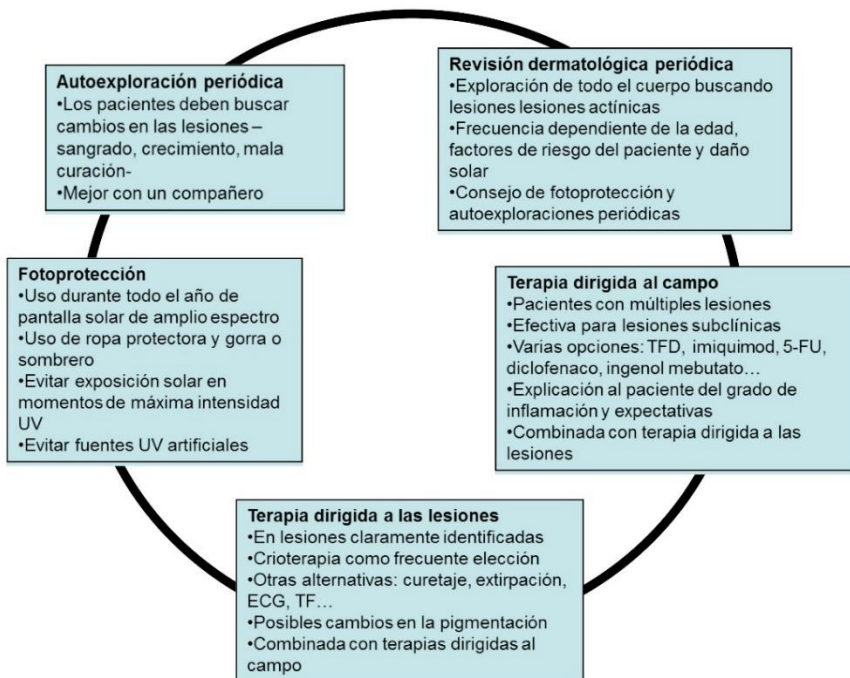
Puede existir la creencia de que el CEC es una patología de pronóstico excelente. La realidad es que, efectivamente, la mayoría de los CEC muestran un comportamiento benigno y pueden ser completamente erradicados mediante cirugía y otros procedimientos. Esto se traduce en una supervivencia global a los 5 años tras la resección del CEC superior al 90% y una tasa de mortalidad aproximadamente del 1%. Sin embargo, existe un subgrupo de CEC que se asocia a una mayor capacidad de desarrollar metástasis nodal, con una elevada morbilidad y mortalidad. Esto ha llevado a la AJCC (American Joint of Committee on Cancer) y a la NCCN (National Comprehensive Cancer Network) a darle un trato diferente a este subgrupo

tumoral capaz de desarrollar adenopatías hasta en un 20% de los casos y de alcanzar una mortalidad del 5%<sup>61</sup>.

### 1.1.7. TRATAMIENTO

Se ha propuesto un manejo de las QA basado en 5 pasos<sup>50</sup>: (1) educación del paciente sobre la necesidad de fotoprotección y tratamiento de las queratosis actínicas (2) controles periódicos dermatológicos, (3) autoexploración de forma regular (4) terapia dirigida a las lesiones de forma individual y (5) terapia dirigida al campo de cancerización. (Figura 11)

Figura 11. Manejo de las queratosis actínicas



El tratamiento de las QA debe ir enfocado tanto a las lesiones clínicamente visibles, como a las lesiones más discretas y subclínicas que puedan existir en la piel perilesional con daño actínico crónico.

La crioterapia es el procedimiento más utilizado para el tratamiento de las QA bien definidas clínicamente y es la única terapia utilizada en muchos pacientes, sobre todo en aquellos con un número reducido de lesiones. Otras alternativas dirigidas a la lesión pueden ser el curetaje, la electrocoagulación y la extirpación quirúrgica. La mayor limitación de estos procedimientos es la falta de control del campo de cancerización.

Los tratamientos dirigidos al campo de cancerización obtienen buenos resultados en el porcentaje de remisión de las lesiones clínicas y en la disminución del número de nuevas lesiones. Sin embargo, provocan diferentes grados de inflamación y molestias locales y algunos de ellos requieren de un uso prolongado que pueden disminuir la adherencia del paciente al tratamiento. Por ello, es esencial la correcta información del médico respecto a la necesidad del tratamiento y el control de las QA y a las expectativas de estos tratamientos. Existe ya una amplia experiencia en terapias como el 5-fluorouracilo, el imiquimod, la terapia fotodinámica (TFD), el diclofenaco tópico y el ingenol mebutato dirigidas tanto al tratamiento de lesiones clínicas como al campo de cancerización.

La tendencia actual va encaminada a la terapia combinada de las QA, sobre todo cuando existen lesiones múltiples y recurrentes. Así se proponen pautas con agentes tópicos antes o después de la crioterapia y la combinación de diferentes tratamientos de campo.

La discreta tasa de respuesta completa clínica e histológica a medio plazo y la elevada tasa de recurrencia de las lesiones previas o la aparición de nuevas lesiones hacen necesario un control periódico de estos pacientes y el empleo de diferentes técnicas terapéuticas.

Se precisa la determinación de factores clínicos, histológicos y moleculares que permitan predecir tanto el riesgo de progresión de las QA a CEC como

el grado de respuesta a los diferentes tratamientos disponibles, que nos permita un abordaje más eficaz.

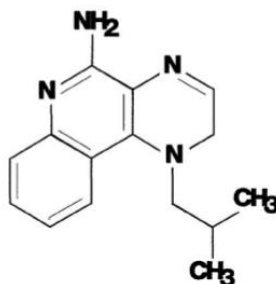
La TFD y el imiquimod tópico son probablemente los tratamientos más aceptados y de elección en el tratamiento de múltiples QA y del campo de cancerización puesto que pueden abarcar áreas extensas de piel consiguiendo buenos resultados clínicos y cosméticos y amplios periodos libres de recurrencias<sup>57,62,63</sup>. Existen múltiples trabajos comparando la TFD<sup>64-67</sup> y el imiquimod<sup>68-70</sup> con otros tratamientos, fundamentalmente frente a placebo y crioterapia, pero muy pocos han comparado estas terapias entre sí.

## 1.2. IMIQUIMOD

### 1.2.1. INTRODUCCIÓN Y MECANISMO DE ACCIÓN

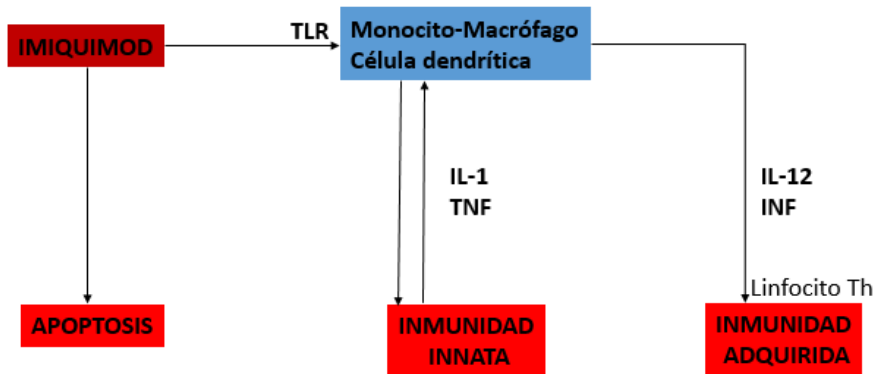
El imiquimod es una molécula de síntesis cuya fórmula es  $C_{14}H_{16}N_4$  [1-(2-metilpropil)-1H-imidazol[4,5-c]quinolin-4 amina]. (Figura 14) Se trata de una amina imidazoquinolina sintética y su peso molecular es de 240,3 daltons.

Figura 12. Fórmula química del imiquimod



El imiquimod es un tratamiento desarrollado originariamente como agente antiviral pero posteriormente se demostró su capacidad antitumoral y es esta última la que mayor protagonismo ha adquirido dentro del arsenal terapéutico en dermatología. Esta actividad se debe a que es un modificador de la respuesta inmune innata y adquirida. Su mecanismo de acción se lleva a cabo mediante la unión a los llamados toll-like receptors 7 y 8 en las células del sistema monocito macrófago. Esta unión produce la liberación directa de interferón y de otras citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) y la interleuquina 12 (IL 12). La producción de estas citoquinas es dosis-dependiente y su pico de máxima producción se produce a las 8 horas de la aplicación tópica de imiquimod. Estas citoquinas producen la activación de células presentadoras de antígenos, la creación de clones específicos de linfocitos T con actividad antitumoral<sup>71,72</sup> y la activación de linfocitos B. Los linfocitos T CD8+ citotóxicos destruyen las células infectadas o tumorales de manera controlada según el reconocimiento antigénico por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Los linfocitos B se diferencian a células plasmáticas y producen inmunoglobulinas antígeno específicas. Además, el imiquimod también posee actividad pro-apoptótica que contribuye a su capacidad antitumoral mediante los linfocitos T citotóxicos y la acción de IFN y TNF $\alpha$ . (figura 15)

Figura 13. Esquema del mecanismo de acción de imiquimod



El imiquimod estaba únicamente comercializado en el momento del inicio del estudio en crema al 5% (Aldara crema®; Laboratorios MEDA, Solna, Suiza). Se aplica por el propio paciente. Está aprobado para el tratamiento de los condilomas acuminados, las QA no hiperqueratósicas y no hipertróficas de la cara y el cuero cabelludo de pacientes inmunocompetentes y para pequeños carcinomas basocelulares superficiales. La posología en el caso de las QA es de una aplicación al día, preferentemente por la noche dejando la crema actuar durante 8 horas, tres días a la semana durante 4 semanas. Si tras una evaluación no ha existido respuesta se puede repetir otro ciclo de tratamiento de 4 semanas.

### 1.2.2. IMIQUIMOD Y TRATAMIENTO DE QUERATOSIS ACTÍNICAS

#### 1-Eficacia en el tratamiento

El imiquimod es especialmente útil y eficaz para el tratamiento del campo de cancerización<sup>73</sup> puesto que permite tratar una amplia zona de piel y tratar también las lesiones subclínicas, aunque parece complicado determinar el porcentaje exacto de curación que tiene para las QA. La mayoría de los

estudios evalúan la proporción de pacientes con respuesta clínica completa o parcial. Otros trabajos evalúan, además, la respuesta histológica. Se debe señalar que el régimen de tratamiento utilizado es muy diferente de unos estudios a otros. De cualquier forma, se puede asegurar, según varios metaanálisis, que el imiquimod es muy eficaz para el tratamiento de las QA, con respuestas completas (100% de las lesiones resueltas tras el tratamiento) superiores al 70% de los pacientes<sup>74-76</sup>. Por otra parte, una de las características más importantes del imiquimod es el alto valor predictivo negativo que tiene la valoración clínica de la respuesta. En este sentido, la probabilidad de que las lesiones de QA clínicamente resueltas con imiquimod lo estén también histológicamente varía del 86% al 100%<sup>77-79</sup>. En distintos estudios comparativos, el imiquimod ha demostrado ser más eficaz en el tratamiento de las QA que otros tratamientos de campo y lesiones<sup>74,75,80</sup>.

Otra característica importante de los estudios de imiquimod en QA es el mayor seguimiento a largo plazo que tienen. Son numerosos los trabajos que reevalúan la respuesta clínica al año de terminar el tratamiento y aunque la mayoría refieren recidivas próximas al 10%<sup>78,80,81</sup>, en otros trabajos observaron tasas superiores, como en el estudio de Jorizzo y colaboradores con un 39% de recidivas al año<sup>82</sup>.

## 2-Efectos secundarios del imiquimod

El principal efecto secundario del imiquimod es la reacción inflamatoria local que se produce durante el tratamiento. Esta reacción, que es necesaria e incluso predictiva de una buena respuesta<sup>76</sup>, aparece a los pocos días del inicio del tratamiento en forma de eritema, inflamación, edema e incluso costras (Figura 14). Además de este efecto secundario local, algunos pacientes desarrollan un cuadro sistémico pseudogripal en forma de malestar general, fiebre y decaimiento, causado por la liberación de 40nterferón al torrente circulatorio. La existencia de estos efectos secundarios propios del imiquimod puede limitar su empleo. Dado que el tratamiento dura 4 semanas, es posible que esta reacción local se prolongue

durante casi dos meses y por lo tanto, requiere de una adecuada información, tanto al paciente como a sus familiares, para que entiendan bien el proceso al que se va a someter para evitar el abandono del tratamiento y consultas urgentes o no programadas. Esta reacción adversa al imiquimod, que ha sido ampliamente estudiada en los protocolos y estudios, es referida en prácticamente el 100% de los pacientes según la mayoría de publicaciones<sup>74,76,78,79</sup>. Sin embargo, es paradójico que en estos estudios se concluye que el imiquimod es un tratamiento bien tolerado para las QA<sup>69,78,83</sup>. Los intentos para disminuir los efectos secundarios locales del imiquimod manteniendo la eficacia han ido encaminados a disminuir la concentración del fármaco al 2,5% o al 3,75%. En dos trabajos publicados en 2010, se comparó imiquimod en crema al 2,5%, imiquimod al 3,75% y placebo en dos regímenes de dos o tres semanas de tratamiento, descanso de dos o tres semanas y otro ciclo de tratamiento<sup>84,85</sup>. Se demostró la eficacia de estas dos nuevas concentraciones y pautas de tratamiento de imiquimod y además los efectos secundarios fueron menores que los referidos con imiquimod al 5%. Por lo tanto, esta reducción en la concentración puede ser interesante en cuanto a la disminución de la reacción local del imiquimod pero manteniendo su eficacia en el tratamiento de las QA. Otra alternativa para intentar disminuir los efectos secundarios del imiquimod, según publica Zeichner y colaboradores<sup>86</sup> es la aplicación del tratamiento únicamente una vez a la semana durante 24 semanas, con buenos resultados en cuanto a la disminución de QA con pocos efectos secundarios.

Como conclusión, el imiquimod es uno de los tratamientos más eficaces para las QA, tanto en la resolución de las lesiones como en el bajo número de recidivas que tiene. Aunque los efectos secundarios locales característicos de este tratamiento y el largo periodo de tiempo de aplicación pueden condicionar su uso en las QA, es un tratamiento excelente, indicado, sobre todo, para el campo de cancerización, puesto que permite tratar una amplia zona de piel y tratar también las lesiones incipientes y subclínicas.

Figura 14. Reacción local a imiquimod tópico.



### 1.3. TERAPIA FOTODINÁMICA

#### 1.3.1. INTRODUCCIÓN

La terapia fotodinámica (TFD) consiste en la administración de un sensibilizante que se acumula selectivamente en determinadas células o tejidos, habitualmente hiperproliferativos, de forma que, al ser iluminados con una luz de adecuada longitud de onda, en presencia de oxígeno, se producen especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres que inducen la fotooxidación y destrucción celular o tisular<sup>87</sup>. (Figura 15)



especialmente ventajosa o de elección en determinadas situaciones<sup>88</sup>: casos con múltiples lesiones; QA recurrentes con fallos a otras terapias; áreas como la cara donde el resultado cosmético sea importante; áreas de difícil cicatrización como los miembros inferiores y áreas con intenso fotoenvejecimiento donde se trate el área de cancerización y se mejore la piel fotodañada.

### 1.3.2. MECANISMO DE ACCIÓN Y PROCEDIMIENTO CLÍNICO

#### 1-Fotosensibilizantes

El ALA y su derivado el metil aminolevulinato (MAL) son las sustancias más utilizadas en la TFD en dermatología. El ALA no es por sí mismo un fotosensibilizante, sino que es un precursor de la protoporfirina IX (PpIX) que será la sustancia fotosensibilizante en el proceso fotodinámico. Al administrar exógenamente ALA, compuesto intermedio en la síntesis de las porfirinas, se acumulará PpIX en la célula debido a la limitación de la enzima ferroquelatasa por exceso de sustrato. El resultado es que la célula desarrollará fluorescencia y se convertirá en una célula fotosensibilizada.

El ALA es, sin embargo, una molécula hidrofílica con poca capacidad para atravesar las membranas biológicas y que requiere de un mecanismo de transporte activo. Por ello, se necesita en la práctica de unas concentraciones relativamente altas (ALA 20%) y un tiempo largo de aplicación (4-8 horas) para conseguir una acumulación suficiente de PpIX en los tejidos a tratar. El éster metilado del ALA (MAL) es mucho más lipofílico que el ALA y puede penetrar en la célula mediante un mecanismo de difusión pasiva. Esta circunstancia permite que, a dosis de MAL al 16% (Metvix crema®) y un tiempo de incubación de 3 horas, una mayor penetración y especificidad por células malignas y premalignas que el ALA. De hecho, la acumulación de PpIX es 10 veces mayor en los queratinocitos

alterados que en las células sanas de alrededor, si se compara MAL y ALA. (figura 16)

Figura 16.A. Fórmula química del ALA

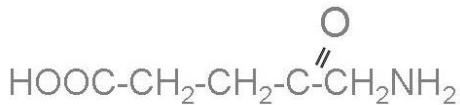
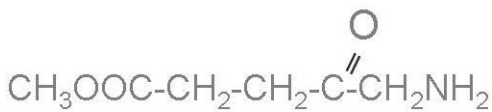


Figura 16.B. Fórmula química del MAL

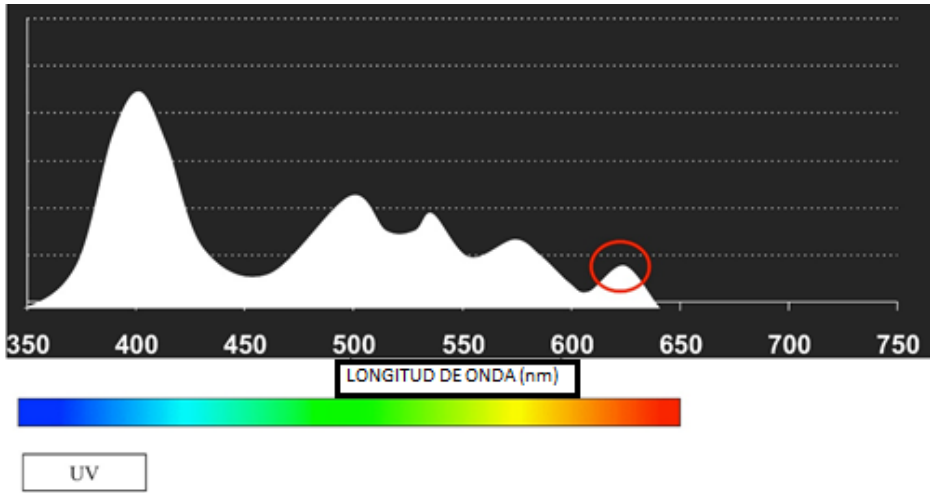


BF-200 ALA es un gel nanosomado con 7.8% de ALA que aumenta la su estabilidad y la penetración en el estrato córneo<sup>89-91</sup>. Actualmente es la alternativa en nuestra práctica al MAL en TFD para el tratamiento de las QA, comercializado como Ameluz gel<sup>®</sup>. Un estudio multicéntrico, randomizado, doble-ciego, con más de quinientos pacientes tratados con BF-200 ALA por queratosis actínicas demostró una buena tolerancia y una gran efectividad, por encima de la TFD con MAL<sup>92,93</sup>. El parche autoadhesivo de ALA empleado sobre la zona con queratosis actínicas, sin eliminación previa de las costras, ha demostrado un resultado superior en el grado de resolución de lesiones comparado a crioterapia<sup>94,95</sup>.

## 2-Fuentes de luz y mecanismo de acción

El espectro de absorción de las porfirinas tiene un pico máximo en la banda "soret" en torno a los 410 nm y otros picos menores en las bandas Q entre 500 y 635 nm (Figura 19). La luz azul aprovecha esa banda de mayor actividad y es la que se emplea en la TFD con ALA. La luz roja con una longitud de onda de 635 nm, aunque con menor capacidad de inactivación de la PpIX, permitirá tratar lesiones más profundas debido a su mayor capacidad de penetrar en profundidad (TFD-MAL).

Figura 17. Espectro de absorción de la PpxIX



La penetración de la luz a través de los tejidos a tratar depende de las características titulares y de la longitud de onda de la misma. Las longitudes de onda inferiores a 600 nm son absorbidas fundamentalmente por la hemoglobina, mientras que el agua absorbe longitudes de onda superiores a 1300 nm. Los fotones de longitud de onda superiores a 850 nm apenas pueden generar especies reactivas de oxígeno efectivas.

Las luces utilizadas para tratamiento de las lesiones cutáneas pueden ser lámparas de luz no-coherentes y láseres.

Entre las lámparas de luz no-coherente las más utilizadas en TFD son: lámparas de fluorescentes (BLU-U® y ClearLight®) con longitudes de onda en torno a 415nm; lámpara de de haluro metálico a alta presión (Waldmann PDT 1200®) con longitudes entre 595 y 700 nm, con pico a 640 nm; luz intensa pulsada (IPL) que gracias a filtros adecuados pueden variar la longitud de onda entre 515 y 755nm adecuándose a cada fotosensibilizante y a la profundidad de la lesión a tratar; díodos emisores de luz (Atkilite® y Omnilux®) con una longitud de onda en torno a 630-635 nm.

Estos dispositivos de luz no-coherente permiten tratar áreas extensas, son de fácil manejo, permiten un buen nivel de seguridad y menor coste que

los láseres. Por el contrario, entre sus desventajas, tienen menor intensidad y es más difícil el control exacto de la dosis de luz que los láseres. Asimismo suelen tener un efecto térmico significativo, salvo los díodos emisores de luz como la lámpara Aktelite®.

Entre los láseres más utilizados en TFD, se han utilizado principalmente láseres de luz roja a 630 nm, como el de vapor de cobre, Nd-YAG, argón ión y argón sintonizable. También se ha empleado, de forma más reciente, el láser de colorante de pulso largo (LP PDL) (595 nm) en combinación con ALA.

El láser permite utilizar una alta intensidad, acortando el tiempo de tratamiento, seleccionar la longitud de onda exacta para el pico de absorción del fotosensibilizante empleado y tratar de forma más exacta lesiones más pequeñas. Por contra, los láseres de luz roja se han asociado a efectos adversos significativos en TFD como ampollas, eritema, edema y despigmentación. Además, no permiten tratar áreas extensas de forma simultánea, son de manejo más difícil y requieren de una instalación específica más cara.

El fraccionamiento o iluminación discontinua puede mejorar el resultado de la TFD en algunas lesiones. Un trabajo ha demostrado, tras TFD con ALA de queratosis actínicas en dos sesiones separadas por una semana, una respuesta clínica a los 3 meses del 96% mediante fraccionamiento frente al 89% con iluminación continua, mientras que a los 12 meses las tasas fueron de 94% y 85% respectivamente<sup>96</sup>.

El mecanismo de acción de la terapia fotodinámica se basa en la destrucción tisular mediante la fotooxidación de materiales biológicos en determinados tejidos.

Existen dos tipos de reacciones fotooxidativas: la tipo I, mediada por transferencia de electrones, por la que se genera la formación de radicales libres y la tipo II, mediada por la transferencia de energía al oxígeno, por la que se produce oxígeno singlete que es el principal responsable de la destrucción tisular en producido por la TFD.

Las principales dianas bioquímicas celulares son las proteínas y los lípidos. La TFD parece tener un bajo potencial para dañar el ADN. Así, diversos estudios han demostrado la ausencia de mutagenicidad y carcinogenicidad, datos que deberán ser corroborados en un seguimiento a más largo plazo.

Además del efecto directo sobre las células o tejidos diana a tratar, la TFD ejerce también un efecto indirecto sobre la vascularización, la matriz extracelular y el sistema inmunológico que contribuye al efecto final del tratamiento.

### 3-Procedimiento clínico

Antes del tratamiento fotodinámico se debe tener en consideración si el paciente se está aplicando sustancias tóxicas en la zona a tratar que puedan aumentar la fototoxicidad como los retinoides. La toma de medicaciones como las tetraciclinas, sulfamidas, sulfonilureas, y fenotiacinas, que aumentan la sensibilidad a la luz, no contraindica la TFD pero sí obliga a una monitorización más estrecha del paciente durante el procedimiento para detectar reacciones de fototoxicidad. Ante la toma de retinoides orales, parece aconsejable su retirada un mes antes del procedimiento fotodinámico. Se debe comprobar en la historia clínica la ausencia de enfermedades que cursen con fotosensibilidad, como la porfiria, o la alergia al cacahuete, presente en los excipientes de la crema Metvix®. En el caso de historia de herpes simple recidivante en la zona de tratamiento o adyacente se deberá realizar profilaxis antiviral. Se debe explicar correctamente al paciente el procedimiento y los posibles efectos adversos antes de la firma del consentimiento informado.

El procedimiento de la TFD con MAL puede resumirse en estos puntos (figura 18):

#### - Preparación:

Limpieza de la zona con alcohol o acetona y rasurado si es una zona pilosa. Curetaje o raspado de las lesiones hiperqueratósicas y costras. Se puede

aplicar vaselina con o sin ácido salicílico a baja concentración (2.5-5%) unos días antes del tratamiento ante lesiones muy queratósicas. Ante sangrado local, se puede realizar compresión mediante gasas o apósitos hemostáticos. Si el sangrado es abundante se puede aplicar cloruro de aluminio al 25% o electrocoagulación suave.

#### - Aplicación de MAL:

La crema de MAL al 16% se debe aplicar en la lesión o zona de lesiones, con un espesor de 1mm y 1cm alrededor de las lesiones. Se cubrirá posteriormente con un apósito plástico oclusivo y posteriormente un apósito opaco, como papel de aluminio, que impida el paso de la luz. El tiempo de aplicación será de 3 horas, tiempo durante el cual el paciente podrá realizar una actividad normal, evitando la sudoración excesiva y las temperaturas bajas que puedan impedir la correcta metabolización del MAL. Trascurrido el tiempo, se retirarán los apósitos y se limpiará la zona a tratar con suero fisiológico y gasas.

Previamente a la iluminación, y debido al acúmulo de PpIX en los tejidos lesionales, la iluminación con luz de Wood (370-405nm) permitirá observar la fluorescencia rojo coral y la determinación de las lesiones clínicas y el campo de cancerización.

#### -Iluminación:

Aplicación de lámpara de luz roja (Aktilite®), con longitud de onda 635nm a una dosis de 37 J/cm<sup>2</sup>. La lámpara deberá situarse entre 5 y 8cm en un tiempo preconfigurado de entre 7 y 9 minutos. Durante la iluminación se produce una sensación de quemazón y/o dolor en la zona, efecto adverso local más frecuente y relevante. Para disminuir el dolor ocasionado se podrá utilizar un ventilador, pulverización con agua fría, aplicación de nitrógeno líquido a más de 10 cm de distancia o sistemas de crioadestesia. Si se requiere, se interrumpirá la iluminación hasta la mejoría del dolor y posteriormente se procederá a terminar el tiempo total en un segundo tiempo.

Se puede considerar, antes de la iluminación, la infiltración de la zona con anestesia local o regional.

-Cuidados posteriores al tratamiento:

Aplicación de frío local tras la iluminación y toma de analgésicos como paracetamol o metamizol si lo requiere el paciente. Se deberá evitar la exposición a sol y a luces intensas en 24 horas, siendo recomendable llevar la zona cubierta. Durante una semana se deberá aplicar diariamente alguna crema cicatrizante o epitelizante o un antibiótico tópico, como el ácido fusídico o mupirocina.

Figura 18. Procedimiento clínico de la TFD: 1-Curetaje de la hiperqueratosis; 2-Aplicación de crema con MAL; 3-Oclusión de la zona a tratar 4-Iluminación mediante luz roja.



### 1.3.3 TRATAMIENTO DE LAS QUERATOSIS ACTÍNICAS

#### 1-Eficacia clínica

La TFD con MAL está estandarizada siguiendo un protocolo con dos tratamientos separados de una semana en el tratamiento de la enfermedad de Bowen y el carcinoma basocelular, pero con un único tratamiento para las QA, repitiéndose a los 3 meses si se requiere<sup>97</sup>. Este protocolo en QA ha demostrado una eficacia equivalente al doble tratamiento con una semana de intervalo<sup>98</sup>. (Figura 19)

Un estudio prospectivo y aleatorizado en el que los pacientes con múltiples QA en el cuero cabelludo fueron tratados secuencialmente con TFD-MAL y TFD-ALA en dos diferentes campos demostró una diferencia no estadísticamente significativa en la reducción de las lesiones pero sí un mayor grado de dolor con TFD-ALA<sup>99</sup>.

La TFD de QA no hiperqueratósicas (grado 1 y 2) ha demostrado un aclaramiento de lesiones del 89-92% de lesiones tras 3 meses del tratamiento, equivalente o superior a los resultados con crioterapia, dependiendo del protocolo utilizado<sup>98,100,101</sup>. El aclaramiento de las lesiones al año ha sido descrito del 78% tras TFD-ALA (hasta dos sesiones) y del 63-69% tras un único tratamiento con parche de ALA(60, 61). Un estudio intraindividual randomizado con 119 pacientes demostró una mayor eficacia de la TFD-MAL respecto a la crioterapia tras un tratamiento (87 vs 76%), mientras que tras un segundo tratamiento a los 3 meses de los no respondedores la eficacia fue equivalente (89 vs 86%)<sup>102</sup>. El tratamiento de las QA en la cara mediante la aplicación de MAL en crema durante 90 minutos sin oclusión, imitando pautas descritas para el acné, ha demostrado también una reducción significativa de lesiones y una mejoría estética<sup>103</sup>.

La eficacia de la TFD en QA en zonas acrales parece ser un 10% menos efectiva que en la cara y el cuero cabelludo, probablemente por la mayor proporción de lesiones hiperqueratósicas. La TFD con MAL para QA acrales

fue menos efectiva que la crioterapia (78% vs 88%) tras 6 meses de tratamiento<sup>104</sup>. En un estudio intraindividual que comparaba la eficacia del tratamiento de QA en los brazos con TFD-ALA frente a imiquimod se demostró una mayor eficacia de la TFD en lesiones más queratósicas de grado II (58% vs 37%) y una eficacia similar en lesiones de grado I (72%)<sup>105</sup>.

Figura 19. Múltiples queratosis actínicas en el cuero cabelludo (A) antes y (B) a los 3 meses del tratamiento con TFD.



## 2-Efectos adversos

El dolor es, como se ha comentado, el principal efecto adverso del tratamiento y la principal queja de los pacientes. Se describe como una sensación de quemazón durante la aplicación de la luz que es más intensa en los primeros minutos<sup>106</sup>. Parece que existe una importante variabilidad interpersonal en cuanto a la cantidad de dolor referida y se ha sugerido que es mayor en hombres que en mujeres. El dolor referido parece asimismo superior en el tratamiento de las QA que en el tratamiento del carcinoma basocelular o la enfermedad de Bowen<sup>107</sup>. Estas percepciones parecen indicar que los factores más importantes relacionados al grado de dolor son el tamaño de las lesiones y el grado de daño actínico en la zona a tratar<sup>108</sup>. De esta forma, los pacientes con un número elevado de QA y un importante

daño solar en la frente y/o cuero cabelludo serían aquellos que más dolor sentirían. Por otro lado, éste es el prototipo de paciente más común en el que se plantea un tratamiento de campo como la TFD en nuestra consulta. El bloqueo del nervio supraorbitario y supratrocLEAR antes de la iluminación en estos pacientes es un método sencillo, seguro y efectivo que ha demostrado disminuir enormemente el dolor referido y facilita el tratamiento con TFD<sup>109</sup>. (Figura 20)

Figura 20. Bloqueo nervioso del nervio supraorbitario y supratrocLEAR antes de la iluminación.



En cuanto a la fuente de luz utilizada, parece que con la luz pulsada intensa o el láser pulsado de pulso largo el dolor referido es significativamente menor con respuestas clínicas similares<sup>110,111</sup>.

El eritema es el efecto secundario más frecuente tras la iluminación y suele durar de pocos días hasta dos semanas. En un 20-30% de los casos se acompaña de edema que suele resolverse en 2-3 días. (Figura 21 A)

La aparición de descamación y/o costras puede ocurrir ante una reacción fotodinámica intensa, habitualmente en presencia de un intenso daño actínico, y suele seguirse de la curación en las 2-4 semanas siguientes. (Figura 21 B)

La aparición local de habones o pústulas estériles ocurre en menos del 5% de los pacientes tratados, mientras que la aparición de ampollas, necrosis o ulceración sólo aparece en un 0,5%.

La hipopigmentación o hiperpigmentación residual es poco frecuente y suele resolverse con el paso de los meses.

Figura 21. Eritema residual inmediato (A) y lesiones costrosas a las 48 horas del tratamiento fotodinámico (B).



## 1.4. TERAPIA FOTODINÁMICA VS IMIQUIMOD

Como se ha descrito previamente, existen múltiples trabajos comparando la TFD y el imiquimod con otros tratamientos, fundamentalmente frente a placebo y crioterapia, pero muy pocos han comparado estas terapias entre sí. Estos trabajos se describen a continuación:

-Sotiriou y colaboradores<sup>105</sup>.

30 pacientes con QA en el dorso de las manos y antebrazos fueron incluidos en el estudio donde, de forma aleatorizada, recibieron en el lado derecho o en el izquierdo uno de los dos tratamientos. Los pacientes tenían al menos 3 lesiones en cada lado de grado I y grado II y, globalmente, se contabilizaron 256 lesiones. La TFD se realizó mediante ALA al 20% tras 4 horas de incubación en oclusión y mediante la iluminación con luz roja de 570-670 nm. Se realizaron dos sesiones separadas de dos semanas. El otro lado fue tratado con imiquimod tópico según la pauta más estandarizada para QA de 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas. Al mes de terminar la pauta con imiquimod, si no se había obtenido una respuesta completa, siguieron un segundo ciclo igual que el primero. Al mes de realizar la segunda sesión de TFD-ALA y de terminar la primera pauta de imiquimod la tasa de lesiones resueltas fue de 70,16% vs 18,26% a favor de la TFD. La tasa a los 6 meses, tras realizar un segundo ciclo de imiquimod en los pacientes que lo requirieron, fue de 65,32% para TFD vs 55,65% para imiquimod, siendo de 57,89% y 37,03% respectivamente para QA de grado II. No se advirtieron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a efectos adversos o tolerancia para ambos tratamientos. Sí se obtuvo una mayor satisfacción en el grupo de ALA-TFD y un mayor porcentaje de pacientes que repetiría la técnica antes que el tratamiento con imiquimod.

-Hadley y colaboradores<sup>112</sup>.

61 hombres fueron reclutados del Hospital de Veteranos de Salt Lake City. Estos pacientes presentaban al menos 5 QA en cada lado de la cara y

recibieron en un lado de la cara tratamiento con TFD-ALA y en el otro imiquimod tópico. La TFD se realizó en dos sesiones separadas de 8 semanas mediante aplicación de ALA al 20% sin oclusión una hora antes de la iluminación con luz azul de 417nm. En el otro lado, la aplicación de imiquimod al 5% se realizó aplicando medio sobre de 250mg (125mg) dos veces por semana durante 16 semanas. Los resultados a las 24 semanas de comenzar los tratamientos no depararon diferencias estadísticamente significativas en cuanto a aclaramiento completo (100% de lesiones) o aclaramiento parcial (más del 75%). Sin embargo sí se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa en la reducción del número de lesiones a favor de la TFD, 59,2 % vs 41,4 con imiquimod. El efecto de los tratamientos en la calidad de vida (medido con DLQI) no mostró diferencias entre ambas terapias, pero la tolerancia fue mayor con la TFD.

-Tanaka y colaboradores<sup>113</sup>.

18 pacientes con 40 QA en total (de grado I, II, III y tanto en cara, cuero cabelludo como manos) fueron randomizados para seguir tratamiento con TFD-ALA, imiquimod o tratamiento combinado de ambas modalidades. La TFD-ALA se realizó una vez por semana durante 3 semanas consecutivas y con la exposición de excimer dye láser de 630 nm. El imiquimod al 5% se aplicó 3 días por semana durante 4 semanas. El grupo con terapia combinada empezó a la vez tratamiento con TFD un día por semana durante 3 semanas e imiquimod 3 días por semana durante 4 semanas. Al mes de finalizar los tratamientos fueron reevaluados y siguieron un nuevo curso de tratamiento igual al inicial en caso de no tener respuesta completa de todas las lesiones. Al mes del primer curso de TFD, imiquimod y terapia combinada la tasa de respuesta completa fue de 41.7%, 66.7% y 100% respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas de la terapia combinada sobre las otras dos alternativas, pero sin diferencias entre TFD e imiquimod. Tras el segundo curso de tratamiento todos los pacientes de TFD e imiquimod consiguieron remisión completa de las lesiones. A los 6 meses de

seguimiento no hubo ninguna recidiva en ninguno de los grupos. En lo referente a efectos adversos, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre dolor y eritema entre los 3 grupos, pero sí hubo un riesgo significativamente mayor de aparición de erosiones y costras en la terapia combinada en comparación con las monoterapias. Al evaluar el resultado cosmético entre los 3 grupos sólo se observaron diferencias significativas en cuanto a mayor riesgo de pigmentación tras imiquimod que tras TFD en monoterapia. Los autores concluyeron que la mayoría de pacientes con QA en Japón podían ser satisfactoriamente tratados con TFD o imiquimod en monoterapia. Sin embargo, en sólo algunos casos aislados podían ser mejor tratados con la terapia combinada que mostró mayor eficacia a pesar de los efectos adversos frecuentes.

-Sotiriou y colaboradores<sup>114</sup>.

El grupo de Sotiriou llevó a cabo un estudio comparativo en el que 44 pacientes recibieron en un lado u otro de la cara o cuero cabelludo TFD con MAL o imiquimod para evaluar y comparar la eficacia y seguridad en la prevención de CCNM en un área de cancerización. En la semana 0 los pacientes comenzaron los dos tratamientos, la TFD se realizó en dos sesiones separadas de una semana con aplicación de MAL en oclusión 3 horas e iluminación con lámpara de luz roja de 570-670 nm y el imiquimod con la aplicación de un sobre de 250mg 3 días no consecutivos por semana en dos ciclos de 4 semanas con un descanso entre ambos ciclos de 2 semanas. El objetivo principal fue la evaluación de las nuevas lesiones que pudieran aparecer durante el siguiente año en la zona tratada, tanto QA como carcinomas basocelulares o epidermoides (CCNM). No se obtuvieron diferencias significativas en este respecto entre los dos grupos. En cuanto a tolerancia y efectos adversos tampoco hubo diferencias, pero en cuanto a satisfacción y preferencia los pacientes se decantaron en su mayoría por la TFD.

Estos trabajos se resumen en la siguiente tabla:

<b>Autor; año (Ref)</b>	<b>Pacientes; localización; tipo estudio</b>	<b>Tipos de tratamientos comparados</b>	<b>Ciclos; seguimiento</b>	<b>Resultados</b>
Sotiriou; 2009 <sup>105</sup>	30 pacientes; manos y antebrazos; un lado vs otro aleatorizado	-TFD-ALA: 2 sesiones  -IMIQ: 3x4semanas	Segundo ciclo si necesario;  6 meses	-Lesiones resueltas: TFD 65,32% vs IMIQ 55,65%  -NS efectos adversos ni tolerancia  -Satisfacción y repetir tratamiento: TFD>IMIQ
Hadley; 2012 <sup>112</sup>	61 pacientes; cara, un lado vs otro aleatorizado	-TFD-ALA: 2 sesiones  -IMIQ: 2x16 semanas	6 meses	-Lesiones resueltas: TFD 59,2% vs IMIQ 41,44%  -NS % RC o RP (>75% lesiones)  -NS Calidad de vida  -Tolerancia: TFD>IMIQ
Tanaka; 2013 <sup>113</sup>	18 pacientes con 40 lesiones; cara, cuero cabelludo y manos; 3 grupos aleatorizado	-TFD-ALA: 3 sesiones  -IMIQ: 3x4 semanas  -A la vez TFD- ALA + IMIQ	Segundo ciclo si necesario;  6 meses	-RC: TFD 41,7% vs IMIQ 66,7% vs combinado 100% tras primer ciclo; 100% 3 grupos tras segundo ciclo  -NS dolor ni eritema  -Erosiones y costras: combinado > IMIQ y TFD  -Pigmentación residual: IMIQ>TFD
Sotiriou; 2015 <sup>114</sup>	44 pacientes; cara, cuero cabelludo, un lado vs otro aleatorizado	-TFD-MAL: 2 sesiones  -IMIQ: 2x 3x4semanas	1 año	-Nuevas queratosis actínicas en la zona tratada: NS  -NS Tolerancia y efectos adversos  -Satisfacción y preferencia: TFD>IMIQ

TFD-ALA: terapia fotodinámica con aminolevulinato; TFD-MAL: terapia fotodinámica con metil-aminolevulinato; IMIQ: imiquimod 5% tópico, NS: no diferencias significativas; RC: remisión completa; RP: remisión parcial.

## 1.5. TRATAMIENTOS SECUENCIALES O COMBINADOS

Diferentes esquemas con terapias combinadas o secuenciales han sido utilizadas y publicadas en la literatura, con predominio de las asociaciones con la crioterapia, técnica más extendida y accesible en nuestra práctica clínica<sup>115,116</sup>. En los últimos años, la disponibilidad de varios tratamientos de campo y la elevada recurrencia de las QA, ha llevado al empleo de diferentes modalidades.

El tratamiento secuencial con 5-fu y TFD-ALA permite obtener una buena respuesta clínica y tolerancia con tiempos breves de incubación de ALA<sup>117-119</sup>. Más recientemente, Pei y colaboradores<sup>120</sup> han realizado un estudio comparativo entre TFD-ALA y secuencial con 5-fu y TFD-ALA. 17 pacientes recibieron de forma randomizada tratamiento en un lado de la cara con TFD-ALA y en el otro lado 5-fu y TFD-ALA de forma secuencial. La aplicación de crema de 5-fu al 5% fue de dos veces al día durante una semana antes de la realización de la TFD. La reducción en el porcentaje de lesiones fue del 66,7% a los 6 meses y 82,6% a los 12 meses para la zona tratada sólo con TFD y del 100% a los 6 y 12 meses para la zona con tratamiento secuencial. No obtuvieron diferencias en cuanto al eritema obtenido por ambos regímenes. También observaron una mayor mejoría cosmética significativa en el tratamiento secuencial que en la TFD en monoterapia.

Price<sup>121</sup> publicó un trabajo en el año 2007 en el que 48 pacientes con QA completaron tratamiento combinado con 5-fu e imiquimod una semana al mes durante 3 meses con un excelente resultado

El tratamiento secuencial mediante diclofenaco sódico y TFD ha sido también descrito en la literatura. Así, Van der Geer y colaboradores<sup>122</sup> obtuvieron una reducción significativa de QA al año de ser tratadas con esta combinación en el dorso de las manos frente al grupo de placebo y TFD-ALA. Sin embargo, registraron una mayor intensidad en el dolor a la TFD en el grupo tratado previamente con diclofenaco.

Berman y colaboradores<sup>123</sup> realizaron un estudio con 24 pacientes con QA donde compararon dos sesiones de TFD-ALA, un ciclo de 3 días de ingenol mebutato y el tratamiento secuencial de una sesión de TFD-ALA seguido de un ciclo de ingenol mebutato. El tratamiento con doble sesión de TFD consiguió una mayor reducción en el número de QA que tras las otras dos opciones terapéuticas.

Los trabajos que han estudiado el tratamiento secuencial con imiquimod y TFD se describen a continuación:

-Held y colaboradores<sup>126</sup>.

En un estudio preliminar realizaron tratamiento en 3 pacientes con QA mediante TFD con ALA (4 horas de incubación en oclusión e iluminación con láser Aktilite CL128) y dos semanas después con aplicación de imiquimod 5% 3 días por semana durante 4 semanas. Al terminar dicha pauta, ante la ausencia de remisión clínica completa de las lesiones, los 3 pacientes recibieron un segundo curso de imiquimod 3 días durante 4 semanas. Se obtuvo en los dos casos con lesiones en cuero cabelludo un excelente resultado y una buena tolerancia. En el tercero de los casos, con queratosis actínicas en manos que ya habían fracasado a anteriores tratamientos, no se obtuvo respuesta clínica.

-Shaffelburg y colaboradores<sup>124</sup>.

Diseñaron un estudio randomizado para evaluar la eficacia y la seguridad de la TFD seguida de imiquimod. 24 pacientes realizaron dos sesiones separadas de un mes de TFD con ALA al 20% en los dos lados de la cara tras una hora de incubación y con iluminación mediante lámpara de luz azul. Al mes de completar la TFD, comenzaron tratamiento con imiquimod o placebo, de forma aleatorizada, en cada lado de la cara dos veces por semana durante 16 semanas. A los 12 meses del tratamiento se consiguió una reducción del número de lesiones del 87% mediante TFD seguido de imiquimod vs el 73% mediante TFD seguido de placebo. Se observó una gran mejoría en la reducción de las lesiones tras el tratamiento con TFD en dos

sesiones. El porcentaje de reducción de lesiones se mantuvo tras la aplicación de imiquimod a lo largo del estudio, mientras que descendió lentamente en el lado tratado con placebo. La mayoría de los pacientes experimentó reacciones locales con la aplicación de imiquimod, eritema en el 87.5% de los pacientes, seguido con menor frecuencia de descamación y costras. Los autores consideraron, en comparación a otros estudios con imiquimod en monoterapia, que la incidencia de reacciones locales intensas no disminuía con el pretratamiento con TFD.

-Sotiriou y colaboradores<sup>125</sup>.

Sotiriou y colaboradores demostraron una buena tasa de curación de la queilitis actínica utilizando TFD con MAL seguido de forma secuencial de imiquimod tópico. En este estudio, 30 pacientes completaron el tratamiento con dos sesiones de TFD con MAL separadas de dos semanas y posterior tratamiento con imiquimod 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas. A los 3 meses, 27 pacientes obtuvieron una respuesta completa y, al año de seguimiento, 22 pacientes mantuvieron respuesta completa clínica e histológica.

Estos trabajos se resumen en la siguiente tabla:

Autor; año (Ref)	Pacientes; localización; tipo estudio	Tipos de tratamientos comparados	Ciclos; seguimiento	Resultados
Shaffelburg; 2009 <sup>124</sup>	24 pacientes; cara; aleatorizado	-TFD-ALA 2 sesiones seguidas de IMIQ 2x16 semanas -TFD-ALA 2 sesiones seguidas de placebo 2x16 semanas	1 año	-Lesiones resueltas: TFD-placebo 74,5% vs TFD-IMIQ 89,9%  -Ningún paciente dejó tratamiento por efectos adversos
Sotiriou; 2011 <sup>125</sup>	30 pacientes; queilitis actínica	TFD-MAL 2 sesiones seguidas de IMIQ 3x4semanas	3 meses  1 año	-RC: 90% a los 3 meses  -RC e histológica: 73,3% al año
Tanaka; 2013 <sup>113</sup>	18 pacientes con 40 lesiones; cara, cuero cabelludo y manos; 3 grupos aleatorizado	-TFD-ALA: 3 sesiones -IMIQ: 3x4 semanas -A la vez TFD-ALA + IMIQ	Segundo ciclo si necesario; 6 meses	-RC: TFD 41,7% vs IMIQ 66,7% vs combinado 100% tras primer ciclo; 100% 3 grupos tras segundo ciclo  -NS dolor ni eritema  -Erosiones y costras: combinado > IMIQ y TFD  -Pigmentación residual: IMIQ>TFD
Held; 2013 <sup>126</sup>	3 pacientes; cuero cabelludo (2) y manos	TFD-ALA 3 sesiones seguidas de IMIQ 3x4 semanas	2º ciclo IMIQ tras ausencia de RC	-RC y tolerancia excelente en los dos pacientes con lesiones en cuero cabelludo  -Ausencia de respuesta en el paciente tratado en las manos

TFD-ALA: terapia fotodinámica con aminolevulinato; TFD-MAL: terapia fotodinámica con metil-aminolevulinato; IMIQ: imiquimod 5% tópico, NS: no diferencias significativas; RC: remisión completa; RP: remisión parcial.

## 1.6. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO Y REJUVENECIMIENTO

### 1.6.1. INTRODUCCIÓN

Los trabajos sobre imiquimod y TFD con estudio histológico se han centrado en la confirmación histológica de la presencia o ausencia de la lesión fundamentalmente. En aquellos trabajos donde se han medido otros parámetros histológicos, la intención ha sido la comprobación o cuantificación de los efectos rejuvenecedores de estos dos tratamientos. Existe la opinión generalizada acerca de la mejoría cosmética en los pacientes tratados mediante imiquimod o TFD. Estos cambios suelen valorarse a nivel de la reducción de hiperpigmentaciones, descamación y arrugas finas. Sin embargo, no existe un protocolo establecido por el cual estas terapias puedan ser utilizadas como tratamiento rejuvenecedor ni consenso en los trabajos publicados acerca de los cambios clínicos e histológicos esperables.

### 1.6.2. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO TRAS TERAPIA FOTODINÁMICA

Muchos estudios de los que disponemos y la mayoría de los más iniciales basaron sus datos en la observación clínica, sin una valoración de criterios histopatológicos<sup>127-129</sup>.

Marmur y colaboradores describieron un aumento de las fibras I de colágeno en la piel fotoenvejecida tras el tratamiento de 7 pacientes con IPL-ALA<sup>130</sup>.

Orringer y colaboradores también demostraron un aumento del procolágeno tipo I y tipo III tras TFD-ALA en 25 pacientes<sup>131</sup>.

-Issa y colaboradores<sup>132</sup>.

Trataron a 14 pacientes mediante dos sesiones, separadas de 4 semanas, de TFD-MAL en oclusión durante 2 horas e iluminación con lámpara LED roja de 635 nm. Realizaron biopsias de 5 mm de piel preauricular antes, a los 3 meses y a los 6 meses del tratamiento. Mediante tinciones inmunohistoquímicas y valoración de la intensidad mediante un programa informático determinaron la disminución estadísticamente significativa de las fibras elásticas a los 3 y a los 6 meses y el aumento estadísticamente significativo de las fibras de colágeno a los 6 meses del tratamiento. Aunque se definió en el trabajo la elastosis, no se cuantificó ni comparó su evolución en las biopsias previas y posteriores al tratamiento.

-Park y colaboradores<sup>133</sup>.

Trataron a 14 pacientes con dos sesiones de TFD mediante ALA al 20% en crema en oclusión durante 4 horas e iluminación mediante lámpara de luz roja y se compararon las biopsias de 2 a 3 mm realizadas antes y al mes del tratamiento. Encontraron, tras la TFD, una disminución del grosor epidérmico y del infiltrado inflamatorio, aumento del volumen de colágeno en dermis con expresión de procolágeno tipo I y III, aumento del factor transformador de crecimiento beta y su receptor tipo II en la epidermis y la disminución de la expresión de metaloproteinasas 1 y 3 en la matriz extracelular. Asimismo, observaron una disminución del material elastótico en la dermis, que se valoró mediante una escala semicuantitativa de 5 puntos (de 0 a 4).

-Bagazgoitia y colaboradores<sup>134</sup>.

Estudiaron a 22 pacientes tratados con una sesión de TFD-MAL mediante una biopsia previa y otra a las 6 semanas del tratamiento. Mediante un programa informático evaluaron la elastosis y obtuvieron una reducción estadísticamente significativa de su grosor. Además, encontraron una disminución en el grado de displasia, así como en la expresión de Ki67 y p53, tras el tratamiento.

-Sanclemente y colaboradores<sup>135</sup>.

Un total de 38 mujeres completaron un estudio en el que de forma randomizada recibieron tratamiento con MAL y placebo en un lado u otro de la cara y posteriormente iluminación con luz roja en dos sesiones separadas de 15 días. Se realizó en cada lado una biopsia previa y posterior al tratamiento. Encontraron un aumento en el grosor dérmico tras uso de TFD-MAL y mejoría en el colágeno, fibras elásticas y fibrosis perifolicular pero ninguno de estos hallazgos fue estadísticamente significativo. Destacar que emplearon un método arbitrario semicuantitativo en 4 puntos y que, en el análisis de la elastosis, sólo en un caso hubo una mejoría respecto a la medida inicial.

### 1.6.3. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO TRAS IMIQUIMOD

-Metcal y colaboradores<sup>136</sup>.

Este estudio fue una extensión del trabajo en el que se estudiaba el tratamiento de pacientes con lentigo maligno mediante imiquimod diariamente durante 12 semanas<sup>137</sup>. Se compararon las biopsias realizadas previamente y a las 4 semanas de concluir el tratamiento con imiquimod tópico en 26 pacientes. Además de una restauración del normal grosor epidérmico y niveles de melanina, se obtuvo de forma estadísticamente significativa un aumento en la fibroplasia papilar dérmica y una reducción de la elastosis solar. Los autores midieron la elastosis de una forma semicuantitativa en 4 estadios donde 0 era ausencia, 1 leve (<25%), 2 moderada (<50%) y 3 intensa (>50%).

-Smith y colaboradores<sup>138</sup>.

Estudiaron en 14 pacientes con piel fotoenvejecida el rejuvenecimiento histológico e inmunohistoquímico tras el tratamiento con imiquimod durante 4 semanas. Para ello realizaron biopsias de 3 mm previas y

posteriores al tratamiento en el área preauricular donde no había lesión clínica de QA. Tras el tratamiento, encontraron menos hiperqueratosis compacta, un patrón más uniforme de las crestas interpapilares con mayor orden en la proliferación de la epidermis y una disminución en los melanocitos dañados por el sol. La dermis papilar mostró una celularidad más uniforme y había una mayor celularidad en el área de elastosis. La tinción de p53, p63, y el antígeno nuclear de proliferación celular disminuyó en la epidermis. Asimismo, la tinción de c-kit disminuyó pero fue más uniforme en el estrato basal y la expresión del factor XIIIa aumentó en la dermis papilar con un patrón más ordenado.

#### 1.6.4. ELASTOSIS

La elastosis es ampliamente considerada como el signo histológico “gold standard” en la medición del fotoenvejecimiento<sup>139,140</sup>.

Hugues y colaboradores compararon varios parámetros histológicos predictivos del daño solar crónico obteniendo únicamente correlación entre el porcentaje de células p53 positivas y la elastosis histológica<sup>141</sup>.

El fotoenvejecimiento de la piel un proceso acumulativo donde el daño medioambiental, fundamentalmente por radiación ultravioleta, se superpone al envejecimiento intrínseco de la piel. Clínicamente, la piel es áspera, laxa, con arrugas e hiperpigmentaciones. En estadíos avanzados pueden verse lesiones premalignas como las QA y malignas como carcinomas epidermoides y basocelulares. Histológicamente, se suele apreciar un engrosamiento de la epidermis en las etapas más precoces y una atrofia en las más tardías. Los queratinocitos fotoexpuestos pueden variar en forma y tamaño y tener acúmulos de células p53 positivas. La distribución de melanosomas es irregular y suele haber aumento del contenido en melanina y de atipia melanocítica. Suele haber aplanamiento de las crestas epidérmicas. Sin embargo, los cambios más marcados en la piel fotodañada

suelen darse en la dermis. La dermis reticular contiene fibras basófilas engrosadas e hiperplásicas acumuladas en masas amorfas compuestas principalmente de elastina. La elastosis es la característica más específica de la piel fotodañada. Una zona Grenz eosinofílica suele separar en la porción alta de la dermis papilar la elastosis de la epidermis. En esta banda las microfibrillas ricas de fibrilina suelen estar ausentes o muy alteradas y reducidas en la piel fotoenvejecida. En la dermis también es común la degeneración y la pérdida del entramado reticular de colágeno. Otros hallazgos en la dermis son los cambios en los depósitos de glucosaminglicanos.

No existe un consenso ni una escala ampliamente aceptada que clasifique y categorice la elastosis histológica, a pesar de que, como se comentaba previamente, se considere la medida “gold standard”.

En su trabajo, Hugues y colaboradores clasificaron la elastosis como: grado 0, cuando no existían fibras elásticas engrosadas; grado 1, con fibras elásticas dispersas; grado 2 con mínimas confluencias focales de fibras; grado 3, con confluencias más extensas; grado 4, con la presencia de una banda de fibras; grado 5, con bandas de fibras con un mínimo componente granular de material amorfo y grado 6, con bandas con un componente predominante de material elastótico granular.

Landi y colaboradores<sup>142</sup> utilizaron una clasificación en 11 puntos para medir la elastosis en su trabajo de melanoma: 0: ausencia de fibras elásticas; 0+: fibras elásticas aisladas distinguibles únicamente a 200x; 1: fibras elásticas aisladas como unidades individuales entre las bandas de colágeno (“-“ o “+” según la densidad menor o mayor de las fibras); 2: Fibras elásticas densas aisladas distribuidas predominantemente como agrupaciones más que unidades individuales (“+” o “-“ según el predominio de las agrupaciones o las unidades individuales); 3: Depósitos amorfos de material azul-gris con pérdida de la textura fibrilar (“+” o “-“ según fueran grandes aglomerados o solamente focales)



## 2. HIPÓTESIS

Dado que el imiquimod y la terapia fotodinámica tienen mecanismos de acción diferentes, su administración de forma secuencial para el tratamiento de las queratosis actínicas obtendrá respuestas clínicas superiores a las obtenidas con cada uno de los tratamientos por separado.

El mecanismo de acción predominantemente inmunológico del imiquimod proporcionará una respuesta clínica superior a la terapia fotodinámica a corto y medio plazo.

La forma de administrar cada uno de los tratamientos sugiere que la tolerancia y la satisfacción de los pacientes no es la misma. La mayor brevedad de la terapia fotodinámica probablemente se asocie a una mayor tolerancia y satisfacción por parte del paciente.

Por otra parte, dado que la respuesta a los tratamientos no es uniforme, deben existir características clínicas, histológicas, inmunohistoquímicas y epidemiológicas que determinen una mayor o menor respuesta a la terapia fotodinámica, al imiquimod y a la terapia secuencial de ambas.



### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Comparar la eficacia del tratamiento secuencial con TFD seguida de imiquimod tópico, con la eficacia de cada uno de los dos tratamientos por separado en pacientes con múltiples queratosis actínicas en la cara y/o cuero cabelludo.

#### 3.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- 1) Comparar la tolerancia y la satisfacción del paciente entre cada una de las modalidades.
- 2) Evaluar y comparar los cambios histológicos antes y después de cada tratamiento.
- 3) Identificar factores clínicos, histológicos, inmunohistoquímicos y epidemiológicos predictivos de la respuesta a cada uno de los tratamientos.



## 4. PACIENTES Y MÉTODO

### 4.1 PACIENTES

#### 4.1.1. SUJETOS DEL ESTUDIO

Pacientes con múltiples QA y campo de cancerización, en la cara o en el cuero cabelludo, con más de 5 QA en un área de piel de 25 cm<sup>2</sup>. Se entendió el campo de cancerización como aquel tejido adyacente a las QA, con o sin alteraciones clínicas, que comparte alteraciones moleculares con las QA y es capaz de desarrollar tanto QA como CEC.

Los pacientes fueron reclutados de forma prospectiva por el Servicio de Dermatología del Instituto Valenciano de Oncología (IVO) entre enero de 2009 y noviembre de 2010.

#### 4.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes capaces de firmar un consentimiento informado.
2. Mayores de 40 años.
3. Presencia de > 5 QA en un área de 25 cm<sup>2</sup>.
4. El paciente accedía a no utilizar cremas de protección solar ni otro tipo de crema durante el tratamiento.
5. El paciente accedía y era capaz de participar y completar el estudio.

### 4.1.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Tratamiento previo con imiquimod o TFD.
2. Tratamiento con 5-fluorouracilo tópico, crioterapia, diclofenaco tópico, retinoides tópicos, electrocoagulación o peelings en los 3 meses previos.
3. Pacientes con tratamiento inmunosupresor.
4. Pacientes que estaban participando o hubieran participado en algún ensayo clínico previo.
5. Pacientes con enfermedades hereditarias que predisponían al cáncer cutáneo (por ejemplo: genodermatosis como el síndrome de Gorlin o el xeroderma pigmentoso).
6. Pacientes con enfermedades autoinmunes o psoriasis.
7. Mujeres con capacidad reproductiva.
8. Zona perioral y periocular de la cara.

## 4.2. MÉTODO

### 4.2.1. ESTUDIO DE LA EFICACIA, SATISFACCIÓN Y TOLERANCIA A LOS TRATAMIENTOS

#### 4.2.1.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio comparativo observacional prospectivo aleatorizado

Fue aprobado por el Comité Ético del Instituto Valenciano de Oncología.

#### 4.2.1.2. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Antes de comenzar el estudio, uno de los investigadores explicó a cada sujeto la naturaleza del estudio, su objetivo, los procedimientos, los tratamientos alternativos disponibles y los beneficios y riesgos del participar en el estudio. Cada paciente recibió un folleto informativo y un documento de consentimiento informado, en los que se incluyó toda la información importante del estudio. Cada paciente tuvo la oportunidad de preguntar las cuestiones que consideró necesarias y fue informado de su derecho de interrumpir el estudio en cualquier momento sin que ello conllevara un perjuicio para su persona. Después de esta explicación, y antes de la realización de ningún procedimiento específico del estudio, el sujeto firmó y fechó de forma voluntaria una declaración de consentimiento informado y recibieron una copia del formulario.

#### 4.2.1.3. OPCIONES TERAPÉUTICAS

Después de la valoración del cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión, y tras la firma del consentimiento informado, cada paciente seleccionado fue asignado de forma aleatorizada (1:1:1) a una de las siguientes opciones:

##### -OPCIÓN 1: TERAPIA FOTODINÁMICA

Terapia fotodinámica con metilaminolevulinato en crema (TFD-MAL), 1 única sesión aplicada tal y como se explicaba en el prospecto del medicamento y como se realizaba de forma habitual, es decir:

-Curetaje de las lesiones más hiperqueratósicas.

-Aplicación de Metvix crema® tubo de 2 gramos entero en la zona de tratamiento.

-Cobertura de la zona de tratamiento con apósito oclusivo Tegaderm® de 3M y posterior apósito adhesivo opaco Hypafix® de BSN medical.

-Incubación de la crema durante tres horas.

-Retirada de los apósitos y limpieza de la zona con suero fisiológico.

-Iluminación con lámpara de diodo (Aktilite CL 128, Laboratorios Galderma) a una distancia de 5cm de la piel y durante 8 minutos a 37J/cm<sup>2</sup>.

-Aplicación de frío local con spray de nitrógeno líquido o aparato Cynosure Cryo-5® (Zimmer MedizinSystems, Bavaria, Alemania) según las molestias del paciente durante la iluminación.

#### -OPCIÓN 2: IMIQUIMOD

Imiquimod en crema al 5%, Aldara sobres®, aplicado tal y como explicaba el prospecto del medicamento cuando se empleaba para el tratamiento de las QA. Esto era 3 aplicaciones semanales (un sobre de 2.5 gramos por aplicación) a días alternos durante 4 semanas aplicado por el propio paciente por la noche y en su propio domicilio. Se advirtió al paciente de los efectos secundarios del tratamiento como la inflamación y la aparición de costras incluso más allá de la zona de tratamiento.

#### OPCIÓN 3: TERAPIA FOTODINÁMICA SEGUIDA DE IMIQUIMOD

TFD-MAL, 1 única sesión (aplicada de la misma forma que se ha explicado en la opción1), seguida al mes de imiquimod en crema, 3 aplicaciones semanales a días alternos durante 4 semanas (tal como se ha explicado en la opción 2).

#### 4.2.1.4. VISITAS DEL ESTUDIO

##### **Visita de inicio:**

- Obtención del formulario de consentimiento informado firmado y fechado antes del inicio de cualquier procedimiento específico del estudio (incluida la biopsia previa al inicio del estudio).
- De cada paciente se recogieron los siguientes datos: edad, sexo, fototipo y tipo de exposición solar recibida.
- Realización de fotografías digitales de la zona de tratamiento.
- Se realizó una biopsia en sacabocados de 4 mm de diámetro de una de las lesiones clínicamente diagnosticadas de QA (Biopsia 1) y se marcó en la fotografía otra lesión para ser biopsiada como control del tratamiento al mes de finalizar cualquiera de las opciones terapéuticas (Biopsia 2).
- Evaluación clínica por parte del mismo dermatólogo del daño actínico y de la elastosis.
- Asignación aleatoria de la opción de tratamiento y explicación del mismo.

##### **Visita 1:**

- Confirmación del diagnóstico histológico de QA en la biopsia 1 (pretratamiento). Si no se confirmó, el paciente quedó excluido del estudio.
- En los grupos 1 y 3 se realizó la terapia fotodinámica y se valoró la tolerancia del paciente.
- En el grupo 2 se indicó el comienzo del tratamiento con imiquimod esa misma noche.
- A los pacientes del grupo 3, tras realizárseles la TFD, se les citó al mes para indicarles entonces el inicio del tratamiento posterior con imiquimod.

### **Visitas 2 y 4 semanas tras inicio de imiquimod:**

En ellas se valoró la reacción local y la tolerancia en los pacientes del grupo 2 y 3 que recibieron tratamiento con imiquimod.

### **Visita 1 mes tras finalizar el tratamiento:**

-Se consideró el final del tratamiento el día de la realización de la TFD en el grupo 1 y el último día de aplicación de imiquimod en los grupos 2 y 3.

-Se tomó una foto digital en la misma posición que la foto de la visita de inicio.

-Se tomó la biopsia número 2 mediante un punch de 4mm.

-Se preguntó al paciente por su satisfacción con el tratamiento recibido.

-Se evaluó por parte del investigador la respuesta al tratamiento.

### **Visita 3 meses tras finalizar el tratamiento:**

-Se comprobó el resultado de persistencia o ausencia de QA en la biopsia 2.

-Se tomó una foto digital en la misma posición que las fotos de las visitas previas.

-Se evaluó por parte del investigador la respuesta al tratamiento.

### **Visita 6 meses tras finalizar el tratamiento:**

-Se tomó una foto digital en la misma posición que las fotos de las visitas previas.

-Se evaluó por parte del investigador la respuesta al tratamiento.

### **Visita 12 meses tras finalizar el tratamiento:**

-Se tomó una foto digital en la misma posición que las fotos de las visitas previas.

-Se evaluó por parte del investigador la respuesta al tratamiento.

#### **4.2.1.5 PROTOCOLO HISTOLÓGICO**

##### **Procesado de las biopsias cutáneas**

El material obtenido por biopsia cilíndrica de 4 mm (punch) se incluyó en formaldeído al 10% que se procesó en alcoholes a concentraciones crecientes y xiloles para su inclusión en bloques de parafina. Se realizaron secciones de 3 micrómetros, y se fijaron en un portaobjetos con Poly-L-Lysina. Se realizó una tinción con hematoxilina-eosina, de acuerdo al protocolo estándar adjunto.

##### **Tinción con hematoxilina-eosina:**

- 1- Se incubaron las muestras a 60°C antes de desparafinar, 20 minutos.
- 2- Se desparafinaron las muestras en xilol durante 5 minutos.
- 3- Se hidrataron las muestras con pases por etanol a concentraciones decrecientes.
- 4- Se realizó la tinción nuclear con hematoxilina durante 5 minutos.
- 5- Se enjuagó con agua destilada durante 2 minutos
- 6- Se sumergieron las muestras en ácido clorhídrico al 0,5% para decolorar (1 pase rápido).
- 7- Se lavaron con agua corriente, posteriormente con hidróxido de amonio, y nuevamente un lavado con agua corriente.
- 8- Para la tinción citoplasmática se sumergieron las muestras en eosina durante 4 minutos, y se lavaron con agua corriente.
- 9- Se deshidrataron las muestras con pases de etanol a concentraciones crecientes.

10- Se aclararon con xilol durante 1 minuto.

11- Finalmente se montaron con Entallan® (medio de inclusión para microscopía de Merck) y un cubreobjetos.

#### 4.2.1.6 VARIABLES

##### **Edad**

Edad del paciente en años.

##### **Sexo**

Hombre o mujer.

##### **Fototipo**

Según la clasificación de Fitzpatrick, de I a VI.

##### **Fotoexposición**

Años de exposición solar crónica, fundamentalmente por motivo laboral: <1 año; 1-20 años; >20 años.

##### **Daño actínico clínico**

Antes de empezar el tratamiento, el dermatólogo evaluó el grado de daño actínico o fotoenvejecimiento del paciente, en la región facial y/o cuero cabelludo. Para ello se consideró la presencia y el grado de hiperpigmentaciones, descamación, eritema y telangiectasias, así como los signos clínicos de la elastosis. Fue clasificado como: 1-leve; 2-moderado; 3-intenso.

##### **Elastosis clínica**

La elastosis actínica clínica se interpretó como los cambios apreciables en la superficie de la piel debidos a la destrucción de las fibras elásticas de la dermis y al acúmulo de material elastótico. Se valoró el grado de coloración amarillenta o tono céreo, la presencia de arrugas profundas y la presencia

de pápulas o micropápulas amarillentas. Fue clasificada como: 1-leve; 2-moderada; 3-intensa.

### **Tolerancia**

A los pocos minutos de finalizar la técnica de la TFD y en la semana 2 y 4 de tratamiento con imiquimod se preguntó al paciente por la incomodidad del tratamiento (las molestias durante el tratamiento, la duración del tratamiento, los efectos secundarios, etc.) y se obtuvo una respuesta en forma de puntuación en una escala analógica de 0 a 10, donde 0 significaba un tratamiento muy cómodo y muy bien tolerado y 10 un tratamiento insoportable o muy incómodo.

### **Reacción local por imiquimod**

El investigador evaluó, a las 2 y 4 semanas de tratamiento con imiquimod, el grado de reacción local originado en la zona de aplicación mediante una escala analógica de 0 a 10, donde 0 era ausencia de reacción y 10 un grado muy alto de inflamación. Para ello se consideró la presencia de eritema, edema, descamación, costras o úlceras.

### **Satisfacción**

Los pacientes fueron evaluados acerca del grado de satisfacción con el tratamiento recibido un mes después de finalizarlo. Se entendió como el beneficio obtenido con el tratamiento en relación a la incomodidad, molestias y efectos adversos del mismo. El paciente la calificó mediante una escala analógica de 0 a 10, donde 0 era absolutamente insatisfecho y 10 totalmente satisfecho.

### **Respuesta clínica**

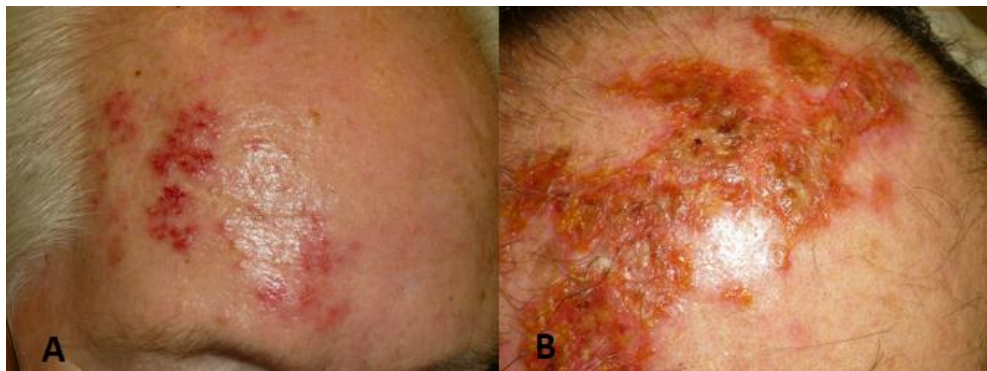
El dermatólogo, comparando las diferentes fotografías (visita de inicio y visita al 1, 3, 6 y 12 meses tratamiento) dio una puntuación de 0 a 10 donde 0 era ausencia de respuesta y 10 era respuesta completa con resolución de todas las lesiones. Además del valor absoluto de la respuesta, también se

agruparon como respuesta completa (RC) cuando había resolución de todas las lesiones y puntuación de 10 y respuesta parcial (RP) cuando había más de un 75% de lesiones resueltas, con una puntuación de 8-9.

### **Respuesta histológica**

Mediante el estudio microscópico de la biopsia 2 se determinó si existía respuesta histológica cuando se demostraba ausencia de queratosis actínica y no respuesta cuando se demostraba la persistencia de queratosis actínica. El criterio histológico aplicado para definir la ausencia de queratosis actínica incluyó normalización del estrato córneo sin presencia de paraqueratosis y una maduración normal de los queratinocitos epidérmicos sin atipia arquitectural ni citológica.

Figura 22. Reacción local por imiquimod moderada (A) e intensa (B)



## **4.2.2. ESTUDIO HISTOLÓGICO ANTES Y DESPUES DEL TRATAMIENTO**

### **4.2.2.1. INTRODUCCIÓN**

El estudio comparativo histológico entre el antes y el después del tratamiento se realizó en un segundo tiempo, durante los años 2014 y 2015. Esta segunda parte del trabajo fue también aprobada por el Comité Ético del

Instituto Valenciano de Oncología. De los pacientes que completaron la primera parte del estudio se disponía de dos biopsias en sacabocados de 4 mm previamente y al mes de finalizar el tratamiento seleccionado. Los bloques de dichas biopsias ya realizadas sirvieron como material para el estudio histológico e inmunohistoquímico posterior. Se realizó una tinción con hematoxilina-eosina, orceína y tricrómico de Masson en todas las biopsias. Se realizó inmunotinción con Ki-67 y p53 para la biopsia previa al tratamiento.

#### 4.2.2.2 PROTOCOLO HISTOLÓGICO

##### **Procesado de las biopsias cutáneas**

El material obtenido por biopsia cilíndrica de 4 mm (punch) se incluyó en formaldeído al 10% que se procesó en alcoholes a concentraciones crecientes y xiloles para su inclusión en bloques de parafina. Se realizaron secciones de 3 micrómetros, y se fijaron en un portaobjetos con Poly-L-Lysina. Se realizó una tinción con hematoxilina-eosina, de acuerdo al protocolo estándar adjunto.

##### **Tinción con hematoxilina-eosina:**

- 1- Se incubaron las muestras a 60°C antes de desparafinar, 20 minutos.
- 2- Se desparafinaron las muestras en xilol durante 5 minutos.
- 3- Se hidrataron las muestras con pases por etanol a concentraciones decrecientes.
- 4- Se realizó la tinción nuclear con hematoxilina durante 5 minutos.
- 5- Se enjuagó con agua destilada durante 2 minutos
- 6- Se sumergieron las muestras en ácido clorhídrico al 0,5% para decolorar (1 pase rápido).
- 7- Se lavaron con agua corriente, posteriormente con hidróxido de amonio, y nuevamente un lavado con agua corriente.

- 8- Para la tinción citoplasmática se sumergieron las muertas en eosina durante 4 minutos, y se lavaron con agua corriente.
- 9- Se deshidrataron las muestras con pases de etanol a concentraciones crecientes.
- 10- Se aclararon con xilol durante 1 minuto.
- 11- Finalmente se montaron con Entellan® (medio de inclusión para microscopía de Merck) y un cubreobjetos.

### **Protocolos empleados en las técnicas de inmunotinción**

Se realizó el estudio inmunohistoquímico de los cortes parafinados de la biopsia previa al tratamiento con 2 anticuerpos:

-p53 clon Dako, prediluido

-Ki67 clon MIB-1, Dako, prediluido

La técnica de inmunotinción se realizó siguiendo el protocolo establecido por la casa comercial detallado a continuación:

-Tras el desparafinado se llevó a cabo el desenmascaramiento antigénico:

-Para el anticuerpo Ki67 se incubó la muestra en tampón comercial de Dako con pH bajo, durante 3 minutos, a 1, 5 atmósferas de presión en autoclave, a 128°C.

- *(EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution Low pH (50x)) (K8005)*

-Para el anticuerpo p53 se incubó la muestra en tampón comercial de Dako con pH alto, durante 3 minutos, a 1, 5 atmósferas de presión en autoclave, a 128°C.

- *(EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution Hight pH (50x)) (DM828)*

-Una vez realizada la descompresión del autoclave, se incubaron las preparaciones con solución de bloqueo de la peroxidasa comercializada por Dako durante 10 minutos. Se trata de una solución tamponada que contiene peróxido de hidrógeno y conservante (Ref. S2023)

-La incubación de los anticuerpos secundarios se realizó de forma automatizada con *EnVision* durante 30 minutos y se visualizó con DAB+ (CHROM), incluido en el KIT, que produce un color marrón en el lugar del sustrato diana.

-Se contrastó con tinción de hematoxilina-eosina y se cubrieron las preparaciones con Entellan y un cubreobjetos.

## **Protocolos empleados en las técnicas histoquímicas**

### **1-TRICRÓMICO DE MASSON**

La tinción con tricrómico de Masson se hizo de forma automatizada con el Artisan Staining System de Dako, siguiendo el protocolo de la casa comercial.

Los reactivos incluidos se encuentran prediluidos, y los tiempos de exposición predeterminados:

-Solución de Bouin: Ácido pícrico al 0,9 %, formaldehído al 23,8 % y ácido acético al 4,8 % en agua desionizada.

-Hematoxilina A de Weigert: Hematoxilina al 1%, alcohol al 95%.

-Hematoxilina B de Weigert: Cloruro férrico al 1,16% y ácido clorhídrico al 1% en agua desionizada.

-Fucsina ácida escarlata de Biedrich: Fucsina ácida al 0,1 %, escarlata de Biedrich al 0,9 %, y ácido acético al 1% en agua desionizada con Triton X-100 al 1%.

-Ácido fosfotúngstico fosfomolibdico: Ácido fosfotúngstico al 2,5% y ácido fosfomolibdico al 2,5 % en agua desionizada.

-Azul de Anilina al 2,5% y ácido acético al 2% en agua desionizada con Triton X-100 al 1%.

-Ácido acético al 3% en agua desionizada.

La interpretación de la tinción se basa en que las fibras musculares aparecen de color rojo, la fibrina de color rosa, el colágeno azul, los núcleos azul oscuro o negro, y los eritrocitos de color rojo.

## 2-ORCEÍNA

La tinción con Orceína de Sikata para fibras elásticas se realizó manualmente de acuerdo al siguiente protocolo:

Desparafinado:

-Se calentaron las preparaciones a 65°C durante 30 minutos.

-se incubaron en un primer xilol 15 minutos y después se realizaron pases rápidos por xilol limpio.

Rehidratación:

-Se lavaron con alcohol absoluto.

-Se lavaron con alcohol al 70%.

-Se lavaron con alcohol al 50%.

-Se lavaron con abundante agua y agua destilada.

Reactivos:

-Permanganato Potásico al 1% 10 minutos

-Lavado con agua destilada

-Ácido Oxálico al 5% para decolorar, hasta que se perdió la coloración.

-Lavado con agua destilada

-Alcohol al 80% durante 1 minuto

-Alcohol al 96% durante 1 minuto

-Orceína 2-4 horas

-Lavado con agua destilada

-Alcohol clorídrico 5 pases

-Lavado con agua destilada

Aclarado:

-Se realizaron varios pases por Xilol.

Montaje:

-Se cubrieron las preparaciones con Entellan<sup>®</sup> y un cubreobjetos.

Las fibras elásticas aparecen de una coloración purpúrea, permitiendo valorar si están disminuidas o aumentadas, cómo están dispuestas, o si están alteradas

#### 4.2.2.3. VARIABLES

##### **Grosor epidérmico**

Medido en mm desde la capa basal hasta la última capa del estrato granuloso, sin contar el estrato córneo, mediante microscopio micrométrico Leica 800 DMD.

##### **La displasia epidérmica**

Se midió de forma semicuantitativa: 0=ausente; 1=leve; 2=moderada; 3=intensa.

### **Presencia de telangiectasias**

Se midió de forma cualitativa según: 0=ausencia; 1=presencia.

### **Presencia de infiltrado inflamatorio**

Se midió de forma semicuantitativa según: 0=ausente; 1=leve; 2=moderado; 3=intenso.

### **Elastosis histológica**

Se midió de forma cualitativa o semicuantitativa según: 0=ausencia; 1=presencia de fibras aisladas engrosadas (1+ de forma predominante, 1- no predominante); 2=presencia de bandas de material elástico (2+ de forma predominante, 2- no predominante); 3=presencia de masas de material elástico (3+ de forma predominante, 3- no predominante). Se realizó mediante el estudio de hematoxilina-eosina y las tinciones de tricrómico y orceína.

### **Grosor de la elastosis**

Se midió de forma cuantitativa en mm desde la capa basal epidérmica hasta la zona dérmica más profunda con presencia de elastosis, mediante microscopio Leica 800 DMD. Se realizó mediante el estudio de hematoxilina-eosina y las tinciones de tricrómico y orceína.

### **Tinción inmunohistoquímica con p53**

Se determinó el porcentaje de células epidérmicas positivas.

### **Tinción inmunohistoquímica con Ki67**

Se determinó el porcentaje de células epidérmicas positivas.

Figura 23. Displasia: ausente (A); leve (B); moderada (C); intensa (D).

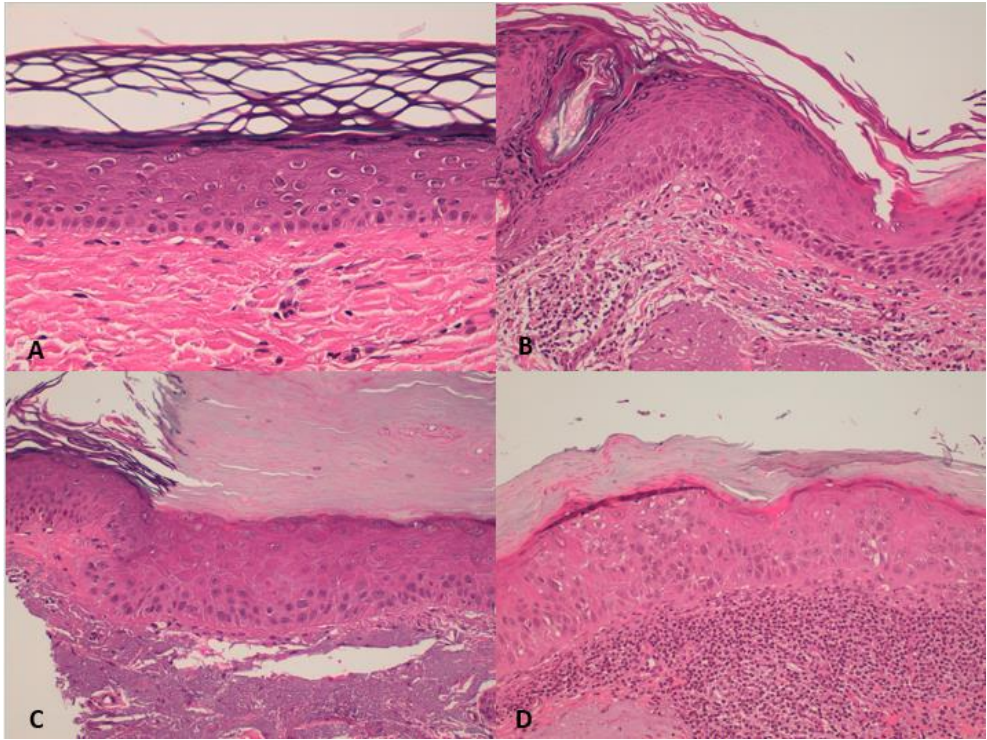


Figura 24. Medición del grosor de la epidermis (A), presencia de telangiectasias (B).

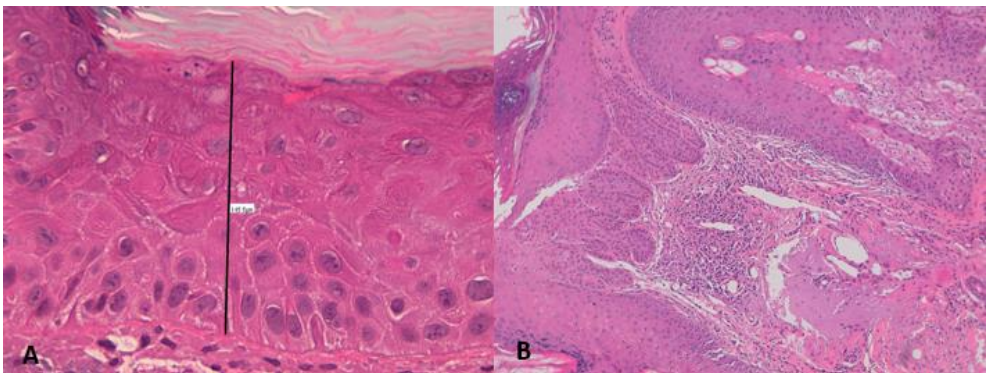


Figura 25. Infiltrado inflamatorio: ausente (A); leve (B); moderado (C); intenso (D).

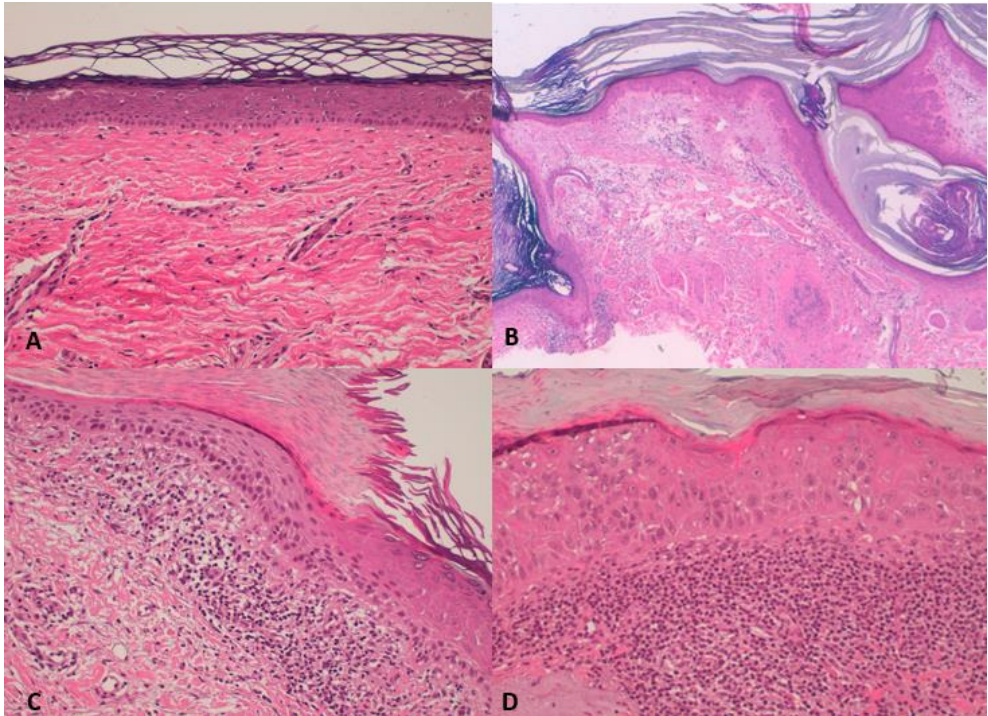


Figura 26. Grados de elastosis.

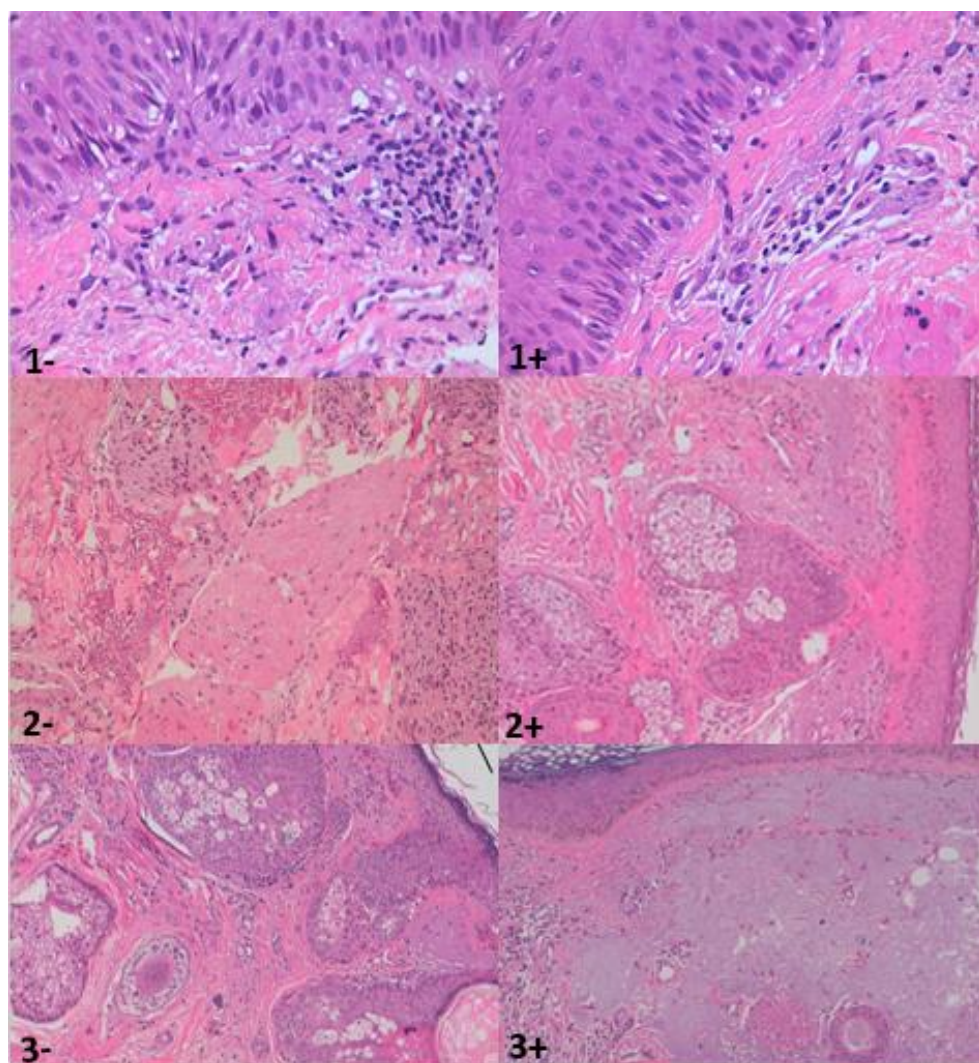


Figura 27. Tinción tricrómico de Masson (A) y orceína (B).

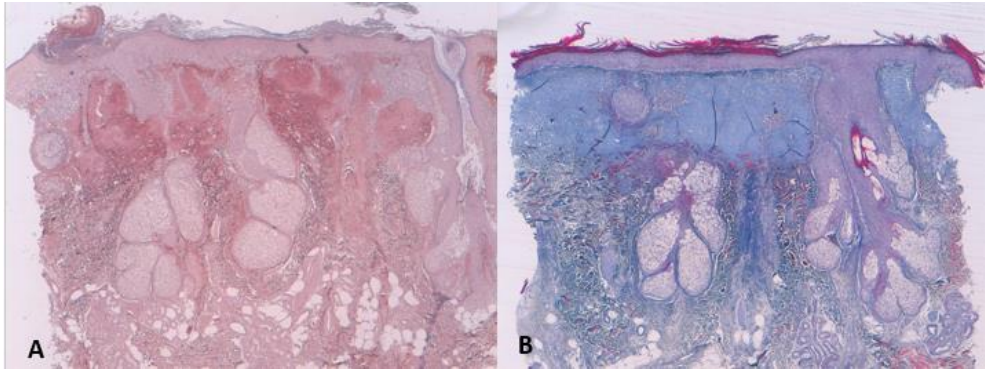
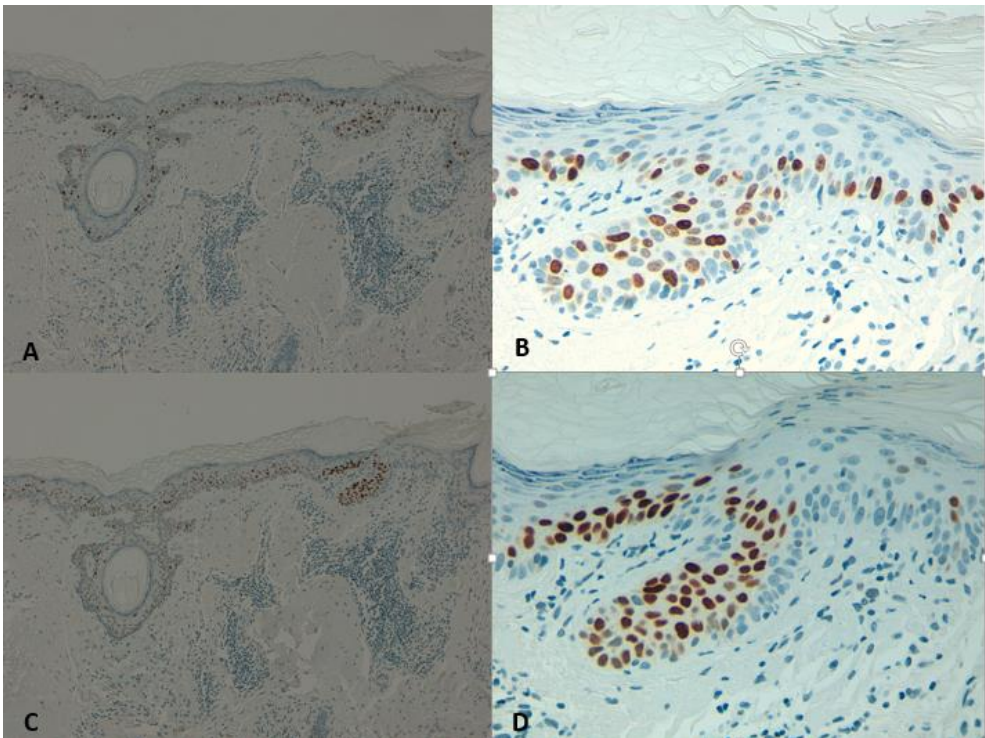


Figura 28. Inmunotinción Ki67: 10x(A) y 40x(B); p53: 10x(C) y 40x(D)



#### 4.2.3. ESTUDIO DE FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS

En un tercer tiempo del estudio, después de tener medidas y registradas las variables clínicas, epidemiológicas, histológicas e inmunohistoquímicas, se procedió a su análisis estadístico en relación al grado de respuesta clínica obtenida a los 3 meses con cada una de las opciones terapéuticas: TFD en monoterapia, imiquimod en monoterapia y terapia secuencial de TFD e imiquimod

#### 4.2.4. ESTUDIO ESTADÍSTICO

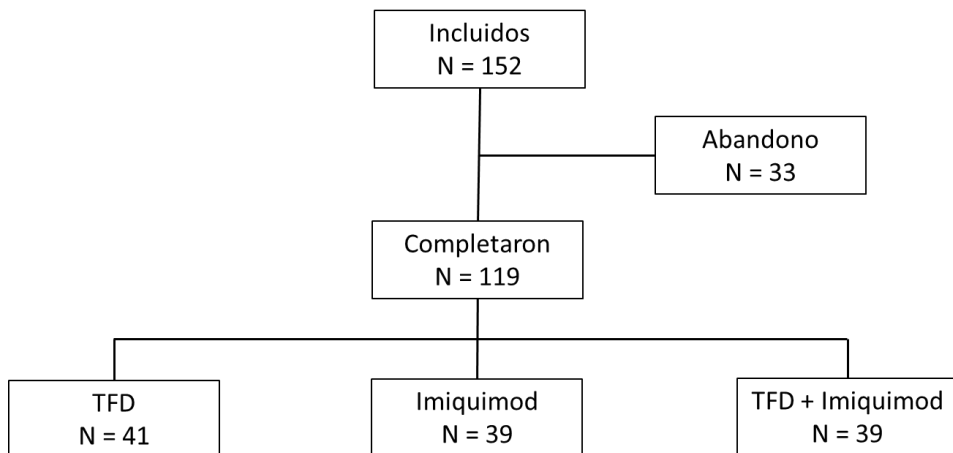
Los datos clínicos se resumieron mediante la media (desviación típica) y la mediana (primer y tercer cuartil) en el caso de las variables continuas y mediante frecuencias relativas y absolutas en el caso de variables categóricas. Con el objetivo de estudiar la evolución de la respuesta clínica en función del tratamiento se llevó a cabo un modelo de regresión lineal mixto. Se realizó un modelo de regresión ordinal mixto para estudiar la elastosis, el infiltrado inflamatorio y la displasia. En el caso de la variable telangiectasia (dicotómica, presencia o ausencia) se construyó un modelo de regresión logística binomial mixto. Las variables grosor de la epidermis y espesor de la elastosis se analizaron mediante modelos de regresión lineal mixta, por tratarse de variables cuantitativas. Se estudió el efecto del ki67 y el p53 sobre la respuesta en cada uno de los tratamientos mediante un modelo de regresión ordinal con interacción. En último lugar, tres modelos de regresión lineal se ajustaron con el fin de estudiar la asociación entre distintas variables y la variable respuesta en función del tratamiento al que han sido sometidos los pacientes. Estas tres variables estudiadas fueron el daño actínico clínico, la elastosis y el tipo de exposición solar. Se extendieron los modelos incluyendo la variable "individuo" como factor de efectos

aleatorios a través de un random intercept con el objetivo de controlar la no independencia de los datos. Los análisis se realizaron a través del software R (versión 3.4.2) y los paquetes ordinal (versión 2015.6-28), lme4 (versión 1.1-13) y brms (versión 1.7.0.9000). Se ha considerado estadísticamente significativo un p-valor inferior a 0.05.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 POBLACIÓN

De los 152 pacientes seleccionados para el estudio, 119 completaron el estudio. La causa más frecuente de abandono fue “razones personales”. El grupo 1 incluyó 41 pacientes y el grupo 2 y 3 incluyeron 39 pacientes cada uno. Los 3 grupos fueron comparados respecto a la edad, sexo, fototipo, historia de fotoexposición y número de QA. Los datos se resumen en el diagrama y la tabla siguientes:



<b>Variable</b>	<b>TFD n = 41</b>	<b>Imiquimod n = 39</b>	<b>TFD + Imiquimod n = 39</b>
Edad			
Media (DE)	72.78 (8.74)	74.03 (7.28)	72.47 (7.98)
Mediana (rango)	73.5 (66, 79.25)	75 (70, 79)	72 (67.75, 76)
Sexo, n (%)			
Hombre	37 (92.5%)	31 (83.78%)	33 (86.84%)
mujer	3 (7.5%)	6 (16.22%)	5 (13.16%)
Fotoexposición n (%)			
<1 año	18 (45%)	12 (32.43%)	23 (63.89%)
1-20 años	8 (20%)	15 (40.54%)	3 (8.33%)
>20 años	14 (35%)	10 (27.03%)	10 (27.78%)
Fototipo, n (%)			
I-II	23 (57,5%)	19 (51,3%)	22 (61.1%)
III-IV	17 (42.5%)	18 (48.7%)	14 (38.9%)
Nº de lesiones			
Media (DE)	9.2 (2.75)	9.48 (3.14)	8.91 (2.51)
Mediana (rango)	8 (7, 11)	9 (7, 11)	8 (7, 11)

DE: Desviación Estándar

## 5.2. RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS

### 5.2.1 RESPUESTA CLÍNICA

La respuesta clínica valorada al mes, a los 3 meses, a los 6 meses y al año tras el tratamiento se muestra en las siguientes tablas para cada una de las opciones terapéuticas estudiadas. Se describe tanto la media y mediana del valor de la respuesta como el número y porcentaje de respuestas completas (100% de las lesiones) como de respuestas parciales (>75% lesiones). Imiquimod fue superior a la TFD en todas las mediciones, mientras que el tratamiento secuencial con TFD seguido de imiquimod fue superior a la TFD en monoterapia en todas las mediciones y al imiquimod en monoterapia en la medición al mes, pero no en el resto de controles, donde fueron equiparables.

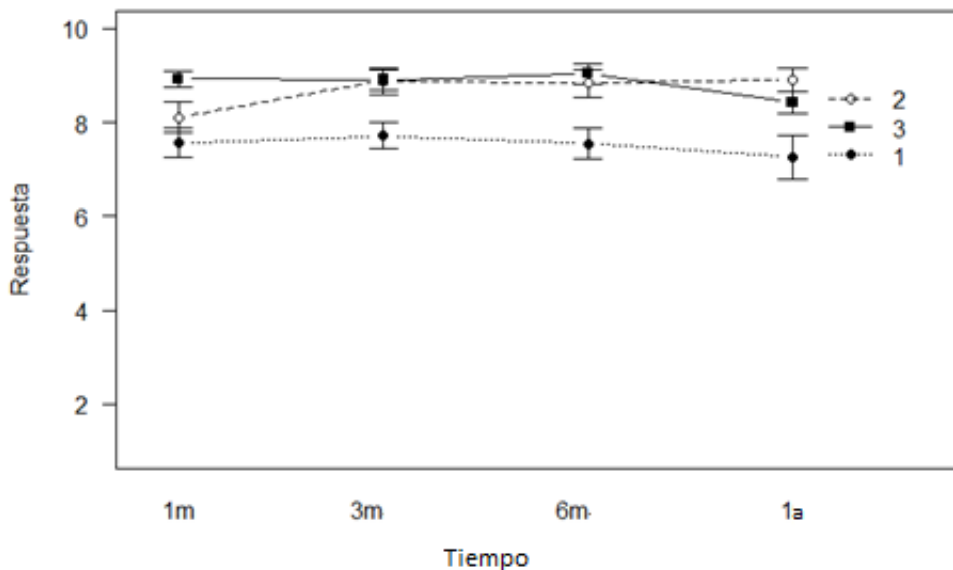
<b>Grupo</b>	<b>TERAPIA FOTODINAMICA n=41</b>			
	<b>1 mes</b>	<b>3 meses</b>	<b>6 meses</b>	<b>1 año</b>
Respuesta clínica				
Media (DE)	7.56 (1.98)	7.71 (1.66)	7.55 (1.86)	7.27 (2.56)
Mediana (rango)	8 (7, 9)	8 (7, 9)	8 (7, 9)	8 (7, 9)
Respuesta clínica				
Completa	5 (12.2%)	4 (11.43%)	4 (12.12%)	5 (16.67%)
Parcial	18 (43.9%)	17 (48.57%)	17 (51.52%)	13 (43.33%)
No respuesta	18 (43.9%)	14 (40%)	12 (36.36%)	12 (40%)

<b>Grupo</b>	<b>IMIQUIMOD n=39</b>			
<b>Evolución</b>	<b>1mes</b>	<b>3 meses</b>	<b>6 meses</b>	<b>1 año</b>
Respuesta clínica				
Media (DE)	8.11 (1.98)	8.88 (1.56)	8.83 (1.58)	8.9 (1.37)
Mediana (rango)	8 (8, 10)	10 (8, 10)	10 (8, 10)	10 (8, 10)
Respuesta clínica				
Completa	10 (27.03%)	17 (51.52%)	16 (53.33%)	15 (51.72%)
Parcial	19 (51.35%)	10 (30.3%)	8 (26.67%)	9 (31.03%)
No respuesta	8 (21.62%)	6 (18.18%)	6 (20%)	5 (17.24%)

<b>Grupo</b>	<b>SECUENCIAL TFD-IMIQUIMOD n=39</b>			
<b>Evolución</b>	<b>1 mes</b>	<b>3 meses</b>	<b>6 meses</b>	<b>1 año</b>
Respuesta clínica				
Media (DE)	8.92 (1.02)	8.91 (1.23)	9.03 (1.19)	8.43 (1.23)
Mediana (rango)	9 (8, 10)	9 (8, 10)	10 (8, 10)	8.5 (8, 9)
Respuesta clínica				
Completa	14 (36.84%)	14 (43.75%)	16 (53.33%)	6 (21.43%)
Parcial	20 (52.63%)	15 (46.88%)	9 (30%)	17 (60.71%)
No respuesta	4 (10.53%)	3 (9.38%)	5 (16.67%)	5 (17.86%)

A continuación, se resume en una tabla descriptiva la respuesta clínica medida en función del grupo y el momento evolutivo del estudio a través de la media (DS) y mediana (1er, 3er cuartil).

	Mes 1	Mes 3	Mes 6	Mes 12
<b>TFD</b>	7.56 (1.98)	7.71 (1.66)	7.55 (1.86)	7.27 (2.56)
	8 (7, 9)	8 (7, 9)	8 (7, 9)	8 (7, 9)
<b>Imiquimod</b>	8.11 (1.98)	8.88 (1.56)	8.83 (1.58)	8.9 (1.37)
	8 (8, 10)	10 (8, 10)	10 (8, 10)	10 (8, 10)
<b>TFD + imiquimod</b>	8.92 (1.02)	8.91 (1.23)	9.03 (1.19)	8.43 (1.23)
	9 (8, 10)	9 (8, 10)	10 (8, 10)	8.5 (8, 9)



1-Terapia fotodinámica; 2-Imiquimod; 3-TFD + imiquimod

Se ha realizado un modelo para comparar la eficacia entre los tratamientos tanto en el primer momento de estudio (1 mes tras tratamiento) como en la evolución de la respuesta a través del tiempo (en los siguientes controles a los 3, 6 y 12 meses tras tratamiento). En la primera tabla se realiza una comparación del grupo de TFD en monoterapia vs los otros dos grupos y en la segunda se compara el grupo de terapia secuencial vs las dos terapias en monoterapia.

	<b>Estimación</b>	<b>IC95%</b>		<b>Valor p</b>
(Intercept)	7.75	7.159	8.341	<0.001
Tiempo 1m	-0.164	-0.306	-0.021	0.024
Grupo 2	0.37	-0.492	1.231	0.405
Grupo 3	1.306	0.453	2.159	0.003
Tiempo:grupo 2	0.302	0.099	0.505	0.004
Tiempo:grupo 3	0.073	-0.132	0.276	0.484

	<b>Estimación</b>	<b>IC 95%</b>		<b>Valor p</b>
(Intercept)	9.056	8.441	9.671	<0.001
Tiempo 1m	-0.091	-0.238	0.055	0.223
Grupo 1	-1.306	-2.159	-0.453	0.003
Grupo 2	-0.936	-1.814	-0.058	0.039
Tiempo:grupo 1	-0.073	-0.276	0.132	0.484
Tiempo:grupo 2	0.229	0.024	0.436	0.03

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

De tal forma, hemos visto que, al mes de tratamiento, la terapia combinada con TFD más imiquimod tiene mayor eficacia que la TFD y el imiquimod en monoterapia ( $p=0.003$  y  $p=0.039$  respectivamente). El imiquimod en monoterapia tuvo al mes de tratamiento una mayor eficacia que la TFD en monoterapia, pero sin alcanzar significación estadística.

El grupo con TFD en monoterapia tiene una evolución negativa de manera significativa en su evolución temporal ( $p=0.024$ , IC95% [-0.306, -0.021]), mientras que el grupo de terapia secuencial mantiene constante su valor y el grupo tratado únicamente con imiquimod tiene una evolución positiva ( $p=0.004$ , IC95% [0.099, 0.505]). Como se puede ver en la gráfica, la respuesta clínica obtenida con TFD, más baja globalmente que en los otros dos grupos, tiende a disminuir ligeramente en las siguientes mediciones realizadas a los 3, 6 y 12 meses. La respuesta clínica obtenida mediante imiquimod en monoterapia tiende a aumentar ligeramente en las siguientes mediciones, siendo inferior a la terapia secuencial al mes de tratamiento pero igualándose a ella en los siguientes controles. A su vez, en el grupo de terapia secuencial los valores de respuesta permanecen más constantes.

Figura 29. Antes del tratamiento y respuesta completa al año de seguimiento



## 5.2.2 RESPUESTA HISTOLÓGICA

Hubo respuesta histológica al mes de tratamiento, es decir ausencia de queratosis actínica en la biopsia 2, en el 55%, 80% y 83.3% de los casos tratados respectivamente con TFD, Imiquimod y TFD seguida de imiquimod.

Respuesta histológica	TFD	Imiquimod	TFD + imiquimod
	n = 41	n = 39	n = 39
	n (%)	n (%)	n (%)
Sí	22 (55%)	28 (80%)	30 (83.33%)
No	18 (45%)	7 (20%)	6 (16.67%)

## 5.2.3 RESPUESTA CLINICOPATOLÓGICA

El porcentaje de pacientes que obtuvieron al mes del tratamiento una respuesta completa, 100% de lesiones resueltas, además de una respuesta histológica fue del 7.3%, 38.5% y 30.8% para TFD, imiquimod y tratamiento secuencial respectivamente. Al igual que la respuesta clínica en todas las mediciones y la respuesta histológica al mes, la respuesta clinicopatológica fue superior con imiquimod respecto a TFD. Asimismo, el tratamiento secuencial con TFD seguido de imiquimod obtuvo una respuesta clinicopatológica superior a la TFD en monoterapia pero no frente al imiquimod en monoterapia.

Respuesta clinicopatológica	TFD	Imiquimod	TFD + imiquimod
	n = 41	n = 39	n = 39
	n (%)	n (%)	n (%)
Sí	3 (7.32%)	15 (38.46%)	12 (30.77%)
No	38 (92.68%)	24 (61.54%)	27 (69.23%)

### Resultados parciales publicados

Los resultados de las repuesta clínicas e histológicas preliminares al mes del tratamiento fueron publicados en 2012 en Journal of American Academy of Dermatology<sup>143</sup> (*en material suplementario, apartado 9*). En ese momento se incluyeron 105 pacientes que habían seguido controlados al mes del tratamiento con TFD (40 pacientes), imiquimod (33 pacientes) y terapia secuencial (32 pacientes).

### 5.3. TOLERANCIA Y SATISFACCIÓN

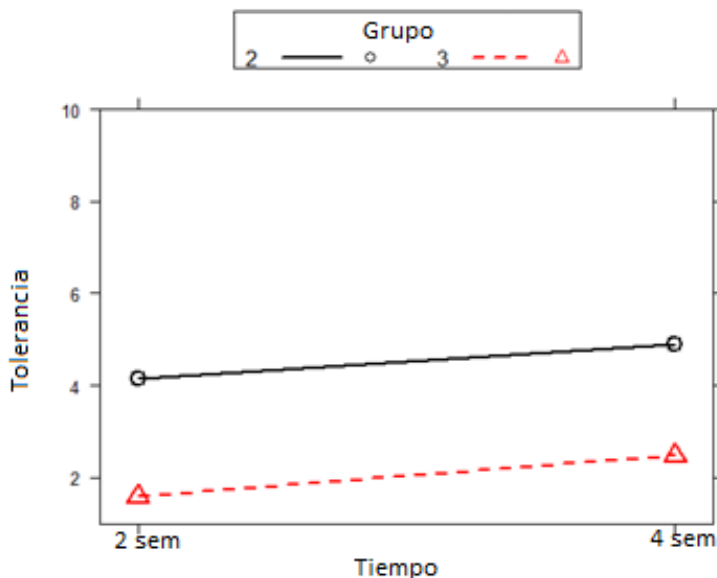
A continuación, en el siguiente descriptivo se exponen las variables tolerancia y satisfacción obtenidas de los 3 grupos y la reacción local ocasionada por imiquimod. Tanto la reacción local como la tolerancia a imiquimod se registraron a las 2 y 4 semanas del tratamiento:

Variable	TFD n = 41	IMIQUIMOD n = 39		TFD + IMIQUIMOD n = 39	
		Semana 2	Semana 4	Semana 2	Semana 4
<b>Tolerancia</b>					
<b>IMIQ</b>		3.97 (2.38)	4.82 (2.95)	1.5 (1.9)	2.47 (2.52)
Media (DE)					
Mediana (rango)		4 (2, 5.25)	5 (3, 7)	1 (0, 2)	2 (0, 3.75)
<b>Reacción local</b>					
<b>IMIQ</b>		4.89 (2.29)	5.84 (3.01)	1.83 (2.16)	3.13 (2.3)
Media (DE)					
Mediana (rango)		5 (3, 7)	6 (4, 8)	2 (0, 3)	3 (1.25, 4)
<b>Tolerancia TFD</b>					
Media (DE)	5 (2.99)			5.08 (2.89)	
Mediana (rango)	5 (3, 8)			5 (3.5, 7.5)	
<b>Satisfacción</b>					
Media (DE)	8.71 (1.57)	7.89 (1.97)		8.87 (1.99)	
Mediana (rango)	9(8, 10)	8 (6, 10)		10 (8, 10)	

### 5.3.1 TOLERANCIA AL TRATAMIENTO CON IMIQUIMOD

Existe un aumento significativo en el valor de la tolerancia al tratamiento con imiquimod, o sea una peor tolerancia, entre la valoración a las 4 semanas, final del tratamiento, frente a la valoración a mitad de tratamiento, a las 2 semanas ( $p=0.036$ , IC95% [0.067, 1.42]). Además, el grupo con terapia secuencial tiene valores inferiores al grupo de imiquimod en monoterapia de manera estadísticamente significativa ( $p<0.001$ , IC95% [-3.72, -1.37]). Esto último traduce una mejor tolerancia al tratamiento con imiquimod en aquellos pacientes tratados previamente con TFD. Por otro lado, no existen diferencias en la evolución entre la semana 2 y 4 ( $p=0.79$ ).

Tolerancia Imiquimod	Estimado	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	4.144	3.344	4.948	<0.001
Tiempo 4 semanas	0.74	0.067	1.418	0.036
Grupo 3	-2.544	-3.721	-1.367	<0.001
Tiempo 4 sem: Grupo 3	0.134	-0.871	1.139	0.795

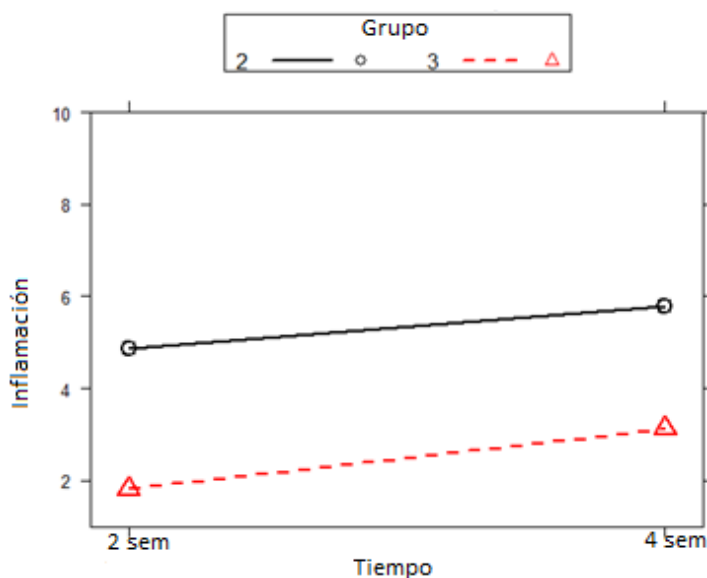


Grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMI

### 5.3.2. REACCIÓN LOCAL EN EL TRATAMIENTO CON IMIQUIMOD

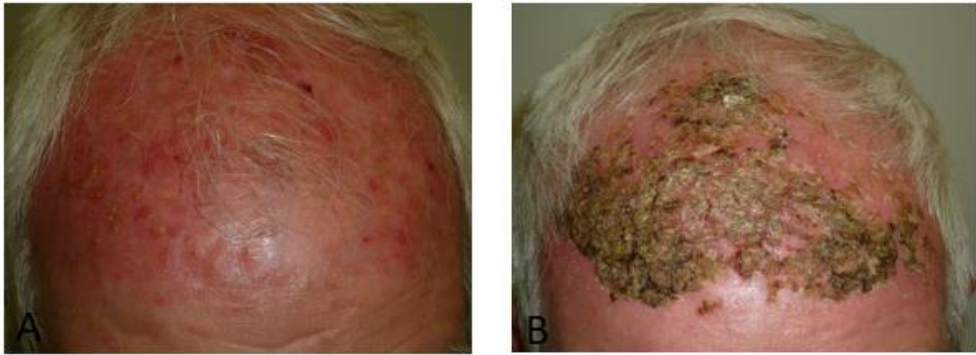
De forma paralela a la tolerancia frente al tratamiento con imiquimod, existe un aumento significativo en el grado de reacción local entre las dos mediciones realizadas a la semana 2 y 4 ( $p=0.037$ , IC95% [0.074, 1.78]). Además, el grupo con terapia secuencial tiene valores menores en el grado de reacción local debido a la aplicación de imiquimod respecto al grupo de imiquimod en monoterapia de manera estadísticamente significativa ( $p<0.001$ , IC95% [-4.21, -1.84]). Por otro lado, tampoco existen diferencias en la evolución entre las 2 y 4 semanas ( $p=0.55$ ).

Reacción local Imiquimod	Estimado	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	4.853	4.044	5.662	<0.001
Tiemp 4 semanas	0.927	0.074	1.783	0.037
Grupo 3	-3.028	-4.216	-1.841	<0.001
Tiempo 4 sem: Grupo3	0.38	-0.87	1.627	0.553



Grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

Figura 30. Reacción local leve (A) e intensa (B) tras 2 y 4 semanas de tratamiento



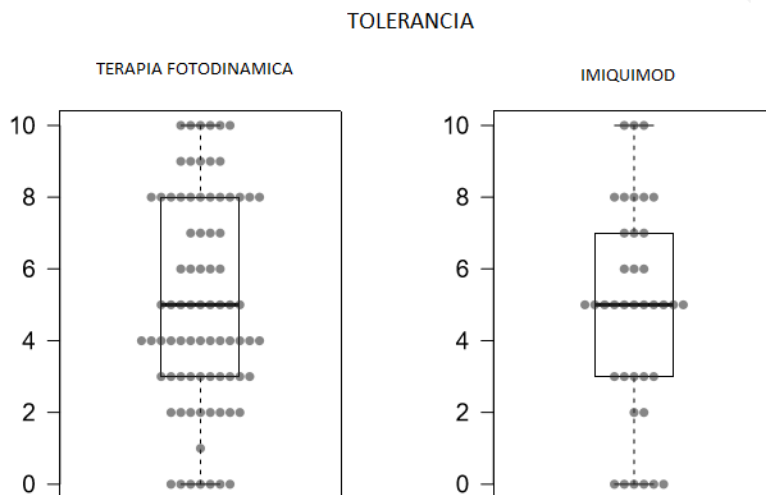
### 5.3.3 TOLERANCIA AL TRATAMIENTO CON TFD

No existen diferencias estadísticamente significativas entre las ramas 1 y 3 en la variable tolerancia tras la TFD,  $p=0.90$  IC95% [-1.23, 1.38]. Algo esperable puesto que ambos grupos, monoterapia y secuencial, habían seguido hasta el momento el mismo tratamiento.

Tolerancia TFD	Estimado	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	5	4.086	5.914	<0.001
Grupo 3	0.077	-1.233	1.387	0.907

### 5.3.4 COMPARACIÓN DE LA TOLERANCIA ENTRE TFD E IMIQUIMOD

Se ha comparado la tolerancia al tratamiento con imiquimod en el grupo que lo recibió en monoterapia con la tolerancia a la TFD en aquellos pacientes que hasta ese momento sólo habían recibido dicho tratamiento y la diferencia no es significativa ( $p=0.86$ )



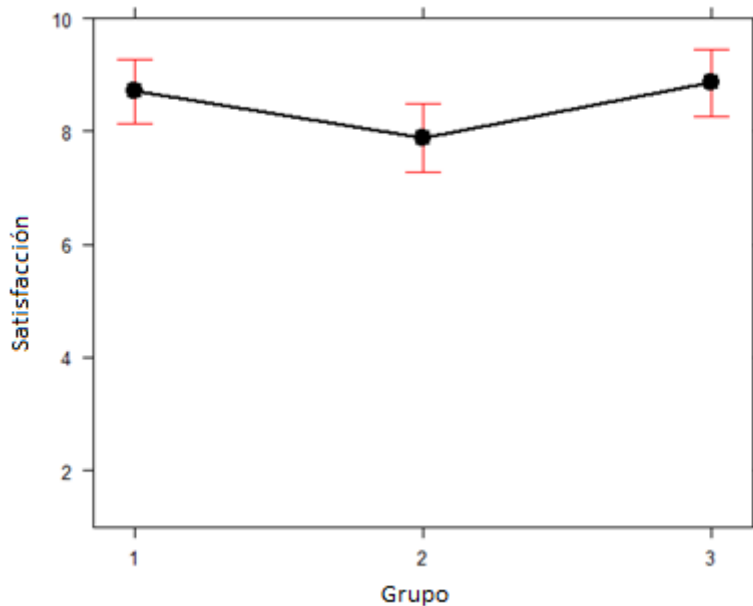
### 5.3.5 SATISFACCIÓN CON EL TRATAMIENTO

Se ha realizado un modelo comparando el grupo 1, TFD en monoterapia, y otro modelo comparando el grupo 3, secuencial, con los otros dos grupos. No existen diferencias estadísticamente significativas entre la satisfacción con el tratamiento con TFD en monoterapia y el tratamiento secuencial con TFD seguido de imiquimod, grupos 1 y 3,  $p=0.69$  IC95% [-0.66, 0.98]. Aunque la diferencia no es estadísticamente significativa ( $p=0.054$ , IC95% [-1.64, 0.013]), la TFD en monoterapia (grupo 1), muestra valores más altos de satisfacción que el imiquimod en monoterapia (grupo 2). Sin embargo, el tratamiento secuencial (grupo 3) sí que muestra valores significativamente

más altos de satisfacción que el imiquimod en monoterapia (grupo 2) (p=0.024, IC95% [-1.82, -0.133])

Satisfaccion	Estimado	< 95%	>95%	Valor p
(Intercept)	8.707	8.137	9.278	<0.001
Grupo 2	-0.815	-1.644	0.013	0.054
Grupo 3	0.161	-0.662	0.984	0.699

	Estimado	<95%	>95%	Valor p
(Intercept)	8.868	8.276	9.461	<0.001
Grupo1	-0.161	-0.984	0.662	0.699
Grupo2	-0.977	-1.82	-0.133	0.024



Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

### 5.3.6 INTENCIÓN DE REPETIR EL TRATAMIENTO

Respecto a la posibilidad de repetir el tratamiento, cuando se les preguntó a los pacientes al mes de finalizarlo, el 100% de los pacientes tratados con terapia secuencial respondió que sí frente al 87.8% y el 77.78% de los pacientes tratados con TFD e imiquimod en monoterapia respectivamente.

<b>Repetiría tratamiento</b>	<b>TFD n = 41</b>	<b>Imiquimod n = 39</b>	<b>TFD + imiquimod n = 39</b>
	n (%)	n (%)	n (%)
No	5 (12.2%)	8 (22.22%)	0 (0%)
Sí	36 (87.8%)	28 (77.78%)	39 (100%)

#### **Resultados parciales publicados**

Los resultados comparativos preliminares entre TFD e imiquimod sobre la tolerancia, satisfacción e intención de repetir el tratamiento fueron publicados en 2011 en *British Journal of Dermatology*<sup>144</sup> (*en material suplementario, apartado 9*). En este trabajo únicamente se recogieron los resultados de 29 pacientes tratados con TFD y 29 pacientes tratados con imiquimod recogidos hasta ese momento.

#### 5.4. ESTUDIO HISTOLÓGICO PREVIO Y POSTERIOR AL TRATAMIENTO

No se pudieron obtener todos los bloques de las dos biopsias realizadas, antes y después del tratamiento, a los 119 pacientes que completaron el estudio. Las principales causas fueron el consumo total del bloque por el estudio previo y errores administrativos o de almacenaje.

De los 41 pacientes incluidos en el grupo de TFD en monoterapia, se pudieron estudiar 37 biopsias previas y 34 biopsias posteriores.

De los 39 pacientes incluidos en el grupo de imiquimod en monoterapia, se pudieron estudiar 36 biopsias previas y 30 posteriores.

De los 39 pacientes incluidos en el grupo de terapia secuencial con TFD e imiquimod, se pudieron estudiar 37 biopsias previas y 32 posteriores.

A continuación se resumen los parámetros histológicos estudiados en la biopsia previa y posterior al tratamiento para cada una de las opciones terapéuticas empleadas:

Variable	Terapia fotodinámica	
	Biopsia previa	Biopsia posterior
	n=37	n=34
Grosor epidermis		
Media (DE)	0.14 (0.08)	0.13 (0.06)
Mediana (rango)	0.12 (0.08, 0.16)	0.11 (0.09, 0.17)
Grosor elastosis		
Media (DE)	0.91 (0.47)	0.83 (0.42)
Mediana (rango)	0.94 (0.55, 1.2)	0.86 (0.46, 1.06)
Elastosis, n (%)		
1-	0 (0%)	0 (0%)
1+	2 (5.41%)	1 (2.94%)
2-	4 (10.81%)	3 (8.82%)
2+	5 (13.51%)	7 (20.59%)
3-	9 (24.32%)	10 (29.41%)
3+	17 (45.95%)	13 (38.24%)
Infiltrado linfocitario, n (%)		
Ausente	3 (8.11%)	4 (11.76%)
Leve	10 (27.03%)	14 (41.18%)
Moderado	13 (35.14%)	10 (29.41%)
Intenso	11 (29.73%)	6 (17.65%)
Telangiectasias, n (%)		
No	19 (51.35%)	17 (50%)
Sí	18 (48.65%)	17 (50%)
Displasia, n (%)		
Ausente	4 (10.81%)	17 (50%)
Leve	15 (40.54%)	11 (32.35%)
Moderada	15 (40.54%)	4 (11.76%)
Intensa	3 (8.11%)	2 (5.88%)

DE: Desviación Estándar

Variable	Imiquimod	
	Biopsia previa n = 36	Biopsia posterior n = 30
Grosor epidermis		
Media (DE)	0.19 (0.2)	0.09 (0.03)
Mediana (rango)	0.14 (0.09, 0.18)	0.09 (0.07, 0.11)
Grosor elastosis		
Media (DE)	0.9 (0.33)	0.95 (0.49)
Mediana (rango)	0.94 (0.66, 1.08)	0.94 (0.56, 1.35)
Elastosis, n (%)		
1-	2 (5.56%)	0 (0%)
1+	0 (0%)	1 (3.33%)
2-	3 (8.33%)	1 (3.33%)
2+	6 (16.67%)	7 (23.33%)
3-	10 (27.78%)	8 (26.67%)
3+	15 (41.67%)	13 (43.33%)
Infiltrado linfocitario, n (%)		
Ausente	2 (5.56%)	3 (10%)
Leve	7 (19.44%)	14 (46.67%)
Moderado	18 (50%)	11 (36.67%)
Intenso	9 (25%)	2 (6.67%)
Telangiectasias, n (%)		
No	18 (50%)	15 (50%)
Sí	18 (50%)	15 (50%)
Displasia, n (%)		
Ausente	2 (5.56%)	20 (66.67%)
Leve	15 (41.67%)	6 (20%)
Moderada	16 (44.44%)	2 (6.67%)
Intensa	3 (8.33%)	2 (6.67%)

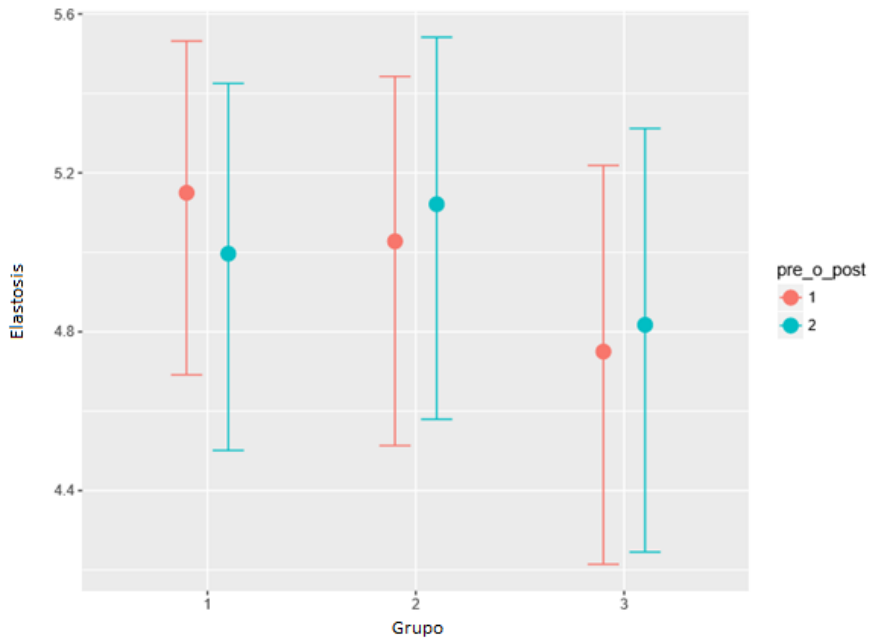
DE: Desviación Estándar

Variable	Terapia fotodinámica + Imiquimod	
	Biopsia previa n = 37	Biopsia posterior n = 32
Grosor epidermis		
Media (DE)	0.19 (0.13)	0.09 (0.03)
Mediana (rango)	0.15 (0.11, 0.23)	0.08 (0.07, 0.11)
Grosor elastosis		
Media (DE)	0.83 (0.33)	0.79 (0.35)
Mediana (rango)	0.85 (0.58, 1.07)	0.82 (0.58, 0.94)
Elastosis, n (%)		
1-	2 (5.41%)	2 (6.25%)
1+	4 (10.81%)	2 (6.25%)
2-	1 (2.7%)	5 (15.62%)
2+	8 (21.62%)	4 (12.5%)
3-	8 (21.62%)	7 (21.88%)
3+	14 (37.84%)	12 (37.5%)
Infiltrado linfocitario, n (%)		
Ausente	3 (8.11%)	5 (15.62%)
Leve	13 (35.14%)	17 (53.12%)
Moderado	12 (32.43%)	7 (21.88%)
Intenso	9 (24.32%)	3 (9.38%)
Telangiectasias, n (%)		
No	23 (62.16%)	19 (59.38%)
Sí	14 (37.84%)	13 (40.62%)
Displasia, n (%)		
Ausente	2 (5.41%)	21 (65.62%)
Leve	16 (43.24%)	8 (25%)
Moderada	14 (37.84%)	3 (9.38%)
Intensa	5 (13.51%)	0 (0%)

DE: Desviación Estándar

En el modelo de regresión ordinal mixto para estudiar la elastosis antes y después del tratamiento, no se han apreciado diferencias entre los 3 grupos (valor  $p > 0.05$ ) ni tampoco entre el pre y post tratamiento (valor  $p=0.938$ ).

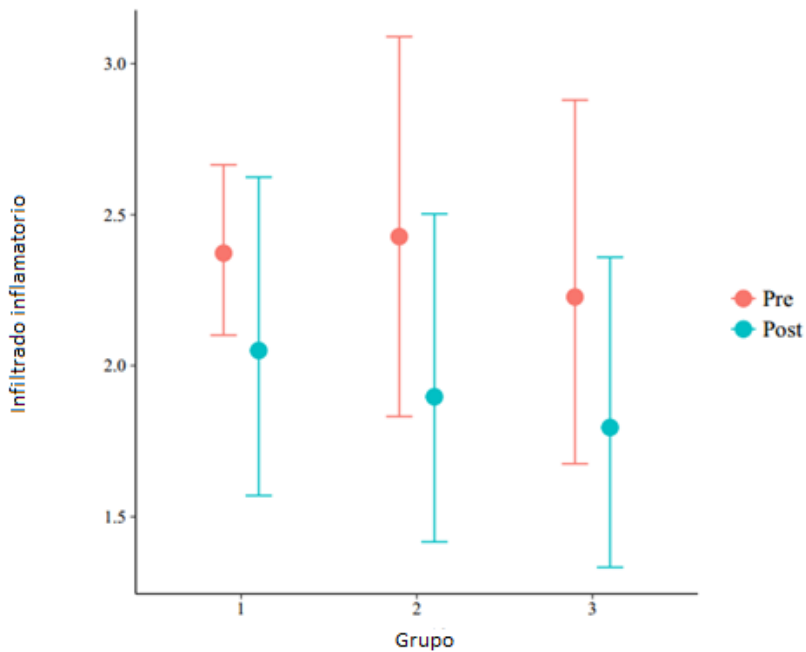
	OR	IC OR 95%	Valor p
Grupo 1	-	-	-
Grupo 2	1.018	[0.43, 2.409]	0.968
Rama 3	0.615	[0.262, 1.443]	0.264
Post	0.979	[0.573, 1.673]	0.938



Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

Al estudiar con el mismo modelo la variable Infiltrado linfocitario, sí que se aprecian diferencias entre el antes y el después del tratamiento (OR=0.35, IC 95% [0.20, 0.61]  $p < 0.001$ ), aunque no entre ramas ( $p > 0.05$ ). La OR (Odds ratio) es inferior a 1, que se traduce en un infiltrado inflamatorio menor después de cualquiera de las 3 opciones terapéuticas.

	OR	IC OR 95%	Valor p
Grupo 1	-	-	-
Grupo 2	0.957	[0.477, 1.921]	0.901
Grupo 3	0.606	[0.3, 1.227]	0.164
Post	0.35	[0.202, 0.606]	<0.001



Infiltrado inflamatorio: 0=ausente, 1=leve, 2=moderado, 3=intenso.

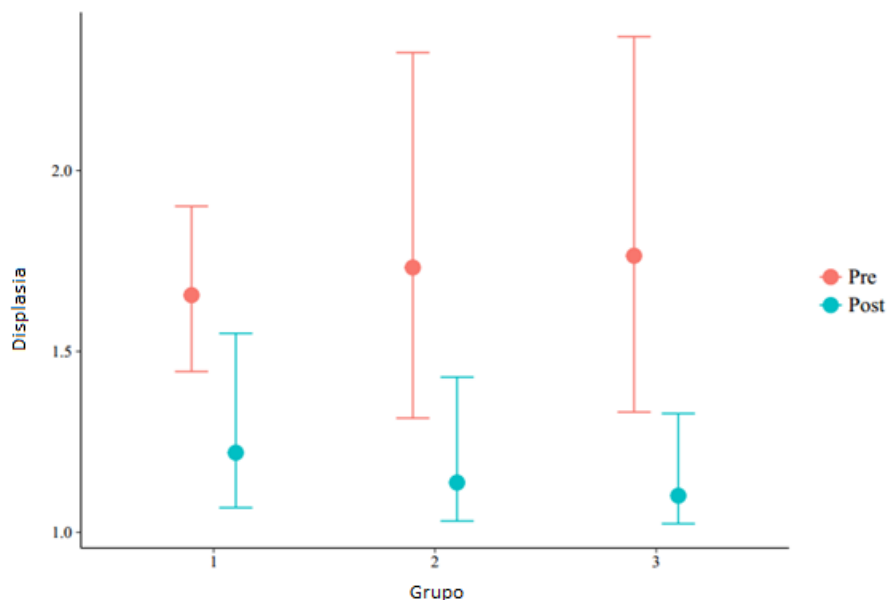
Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

En el caso de la variable Telangiectasia (dicotómica, ausencia o presencia) se ha realizado un modelo de regresión logística binomial mixto. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ni entre el antes y el después del tratamiento ( $p=0.819$ ).

	<b>OR</b>	<b>IC OR 95%</b>	<b>Valor p</b>
Grupo 1	-	-	-
Grupo 2	1.028	[0.495, 2.126]	0.939
Grupo 3	0.651	[0.307, 1.325]	0.237
Post	1.068	[0.607, 1.894]	0.819

Se ha realizado también un modelo de regresión ordinal mixto para la variable Displasia, donde podemos observar que sí existen diferencias entre el antes y el después del tratamiento ( $OR=0.09$ ,  $IC\ 95\% [0.05, 0.17]$   $p < 0.001$ ) con menor grado de displasia tras cualquiera de los tratamientos, sin apreciarse diferencias entre los 3 grupos ( $p>0.05$ ).

	<b>OR</b>	<b>IC OR 95%</b>	<b>Valor p</b>
Grupo 1	-	-	-
Grupo 2	0.839	[0.444, 1.585]	0.588
Grupo 3	0.846	[0.451, 1.587]	0.603
Post	0.092	[0.05, 0.0.171]	<0.001



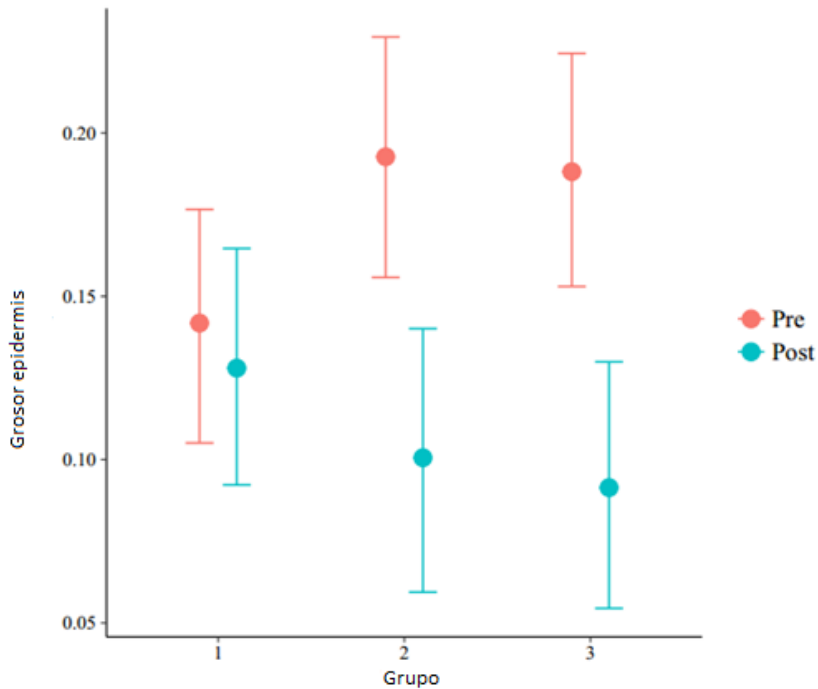
Displasia: 0=ausente, 1=leve, 2=moderada, 3=intensa.

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

En el estudio mediante un modelo de regresión lineal mixto de la variable grosor de la epidermis en función al tratamiento sí se han apreciado diferencias respecto a las 3 opciones terapéuticas. Así pues, en los grupos 2 y 3, imiquimod y secuencial, el grosor epidérmico es significativamente menor tras el tratamiento ( $p=0.024$  y  $p=0.012$  respectivamente) mientras que no se modifica en el grupo tratado sólo con TFD ( $p=0.52$ ).

	Estimación	IC 95%	Valor p
Grupo 1 (Pre)	0.142	[0.107, 0.178]	-
Grupo 2	0.05	[0, 0.101]	0.054
Grupo 3	0.046	[-0.004, 0.096]	0.073
Post	-0.014	[-0.065, 0.029]	0.52
Grupo 2 : Post	-0.074	[-0.133, -0.027]	0.024
Grupo 3 : Post	-0.082	[-0.139, -0.024]	0.012

En la siguiente figura se puede observar de manera más clara:

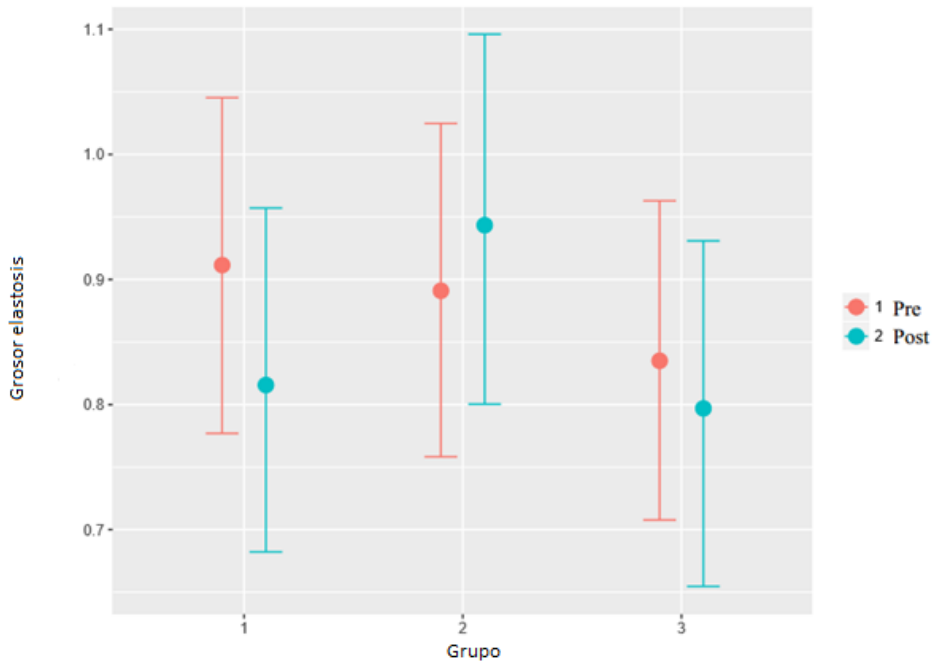


Grosor de la epidermis: en milímetros

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

Sin embargo, estudiando el espesor de la elastosis, no se han visto diferencias significativas entre el antes y el después del tratamiento en ninguna de las tres ramas ( $p=0.54$ ), ni tampoco diferencias entre los tres tratamientos ( $p>0.05$ )

	Estimación	IC 95%	Valor p
Grupo 1 (Pre)	0.879	[0.766, 0.993]	-
Grupo 2	0.049	[-0.103, 0.2]	0.533
Grupo 3	-0.046	[-0.196, 0.103]	0.546
Post	-0.029	[-0.12, 0.064]	0.544



Grosor de la elastosis: en milímetros

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

## 5.5. ESTUDIO DE FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA DE LOS TRATAMIENTOS

En último lugar, se han realizado modelos de regresión lineal, para ver cómo afectan distintas variables a la variable respuesta clínica a los 3 meses en función del tratamiento al que han sido sometidos los pacientes.

### 5.5.1. FACTORES CLÍNICOS Y EPIDEMIOLÓGICOS

#### Fototipo

El estudio del tipo de fototipo del paciente en relación a una diferente respuesta clínica no ha resultado significativo ( $p > 0.05$ )

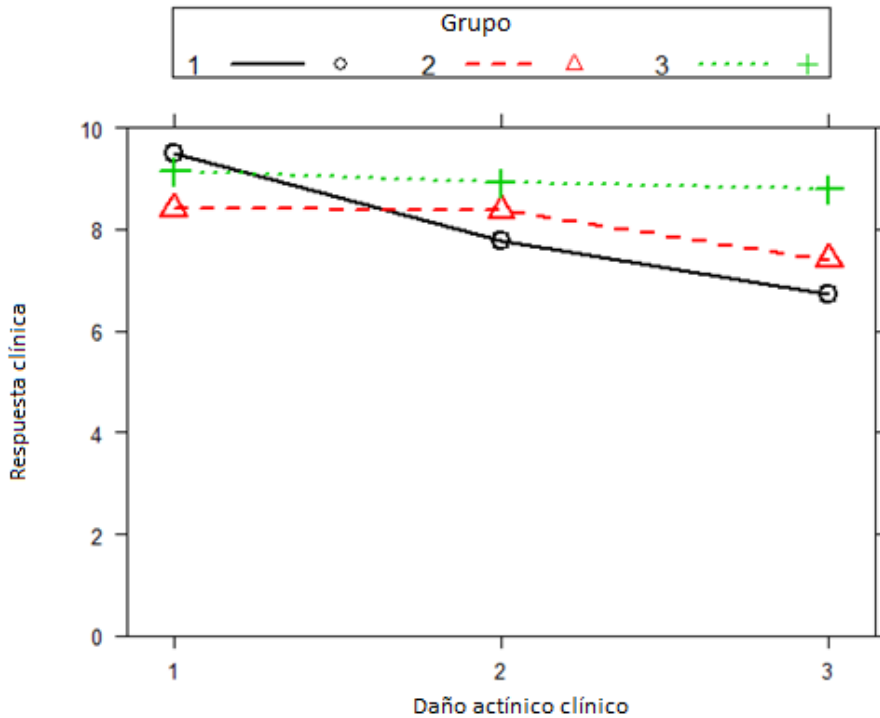
	Estimación	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	8.832	7.868	9.796	<0.001
FototipoII	0.161	-0.827	1.149	
FototipoIII	-0.069	-1.1	0.962	0.68
FototipoIV	-0.439	-1.952	1.074	
FototipoV	0.218	-1.568	2.004	
Grupo1	-1.329	-2.15	-0.507	0.002
Grupo2	-0.75	-1.576	0.075	0.074

#### Daño actínico clínico

Al analizar el daño actínico clínico se ha podido observar que si éste es leve (1), el tratamiento con TFD en monoterapia ofrece una buena respuesta clínica, mientras que si es moderado (2) o severo (3) proporciona peores

resultados ( $p=0.022$  y  $p=0.003$  respectivamente). En cambio, frente a mayor daño actínico, el tratamiento con imiquimod y, sobre todo, secuencial con TFD más imiquimod obtiene mejor respuesta que la TFD en monoterapia ( $p=0.089$ , IC95% [-0.26, 3.65]) y  $p=0.044$  IC95% [0.071, 4.81] respectivamente).

	<b>Estimación</b>	<b>&lt; 95%</b>	<b>&gt;95%</b>	<b>Valor p</b>
(Intercept)	9.5	8.192	10.808	<0.001
Daño actínico 2	-1.717	-3.187	-0.248	0.022
Daño actínico 3	-2.786	-4.569	-1.003	0.003
Grupo 2	-1.1	-2.755	0.555	0.19
Grupo 3	-0.375	-2.106	1.356	0.668
Daño actínico 2:Grupo2	1.692	-0.264	3.649	0.089
Daño actínico 3:Grupo2	1.786	-0.502	4.073	0.125
Daño actínico 2:Grupo3	1.497	-0.486	3.48	0.137
Daño actínico 3:Grupo3	2.438	0.071	4.806	0.044



Daño actínico clínico: 1=leve, 2=moderado, 3=intenso.

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

### Elastosis clínica

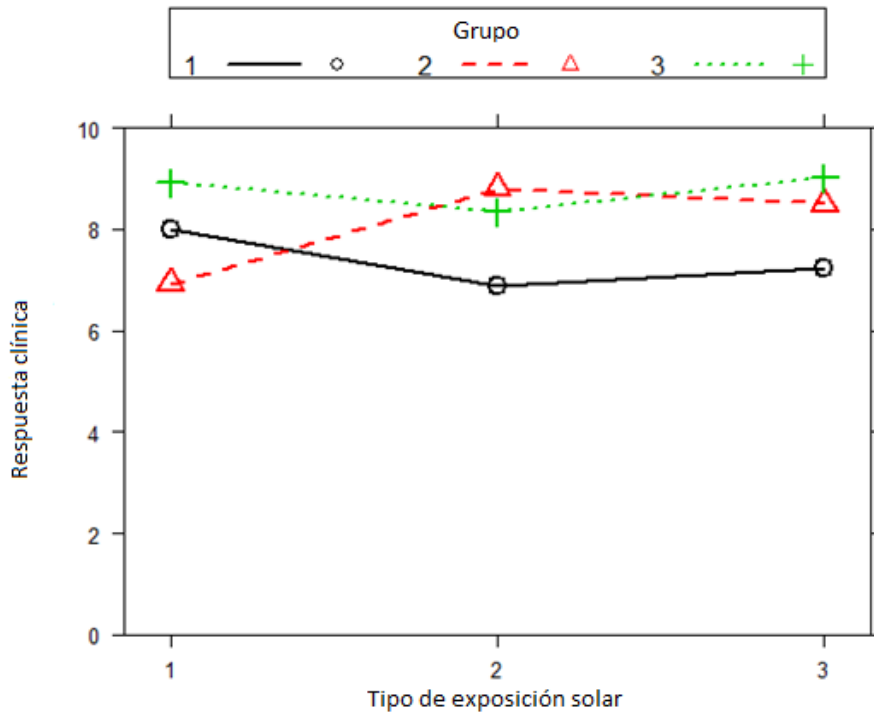
Sin embargo, al estudiar el efecto de la elastosis clínica sobre el valor de la respuesta clínica no se obtiene un resultado significativo ( $p > 0.05$ ).

	Estimación	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	7.406	4.979	9.834	<0.001
Rama2	0.207	-0.576	0.99	0.601
Rama3	1.094	0.318	1.87	0.006
Elastosis1	1.055	-1.432	3.542	0.402
Elastosis2	1.215	-1.256	3.686	0.332
Elastosis3	1.313	-1.261	3.886	0.314

## Tipo de exposición solar

En este modelo observamos que para una historia de exposición solar menor de un año (1), el grupo tratado con imiquimod en monoterapia obtiene valores inferiores en la respuesta clínica que ante una historia de exposición solar entre 1 y 20 años (2) o mayor de 20 años (3) ( $p=0.002$  IC95% [1.09, 4.93] y  $p=0.01$  IC95% [0.51, 4.23] respectivamente). Sin embargo, la respuesta clínica en los grupos tratados con TFD o con terapia secuencial de TFD más imiquimod no parece depender del grado de exposición solar recibida.

	Estimación	< 95%	>95%	Valor p
(Intercept)	8	7.214	8.786	<0.001
Tpoexpsol2	-1.125	-2.543	0.293	0.119
Tpoexpsol3	-0.786	-1.975	0.403	0.193
Grupo2	-1.083	-2.327	0.16	0.087
Grupo3	0.909	-0.151	1.97	0.092
Tpoexpsol2:Grupo2	3.008	1.09	4.927	0.002
Tpoexpsol3:Grupo2	2.369	0.51	4.228	0.013
Tpoexpsol2:Grupo3	0.549	-1.946	3.045	0.663
Tpoexpsol3:Grupo3	0.877	-0.865	2.618	0.32



Tipo de exposición solar: 1= < 1 año, 2= 1-20 años, 3= >20 años

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

## 5.5.2 FACTORES HISTOLÓGICOS

### Telangiectasias y displasia

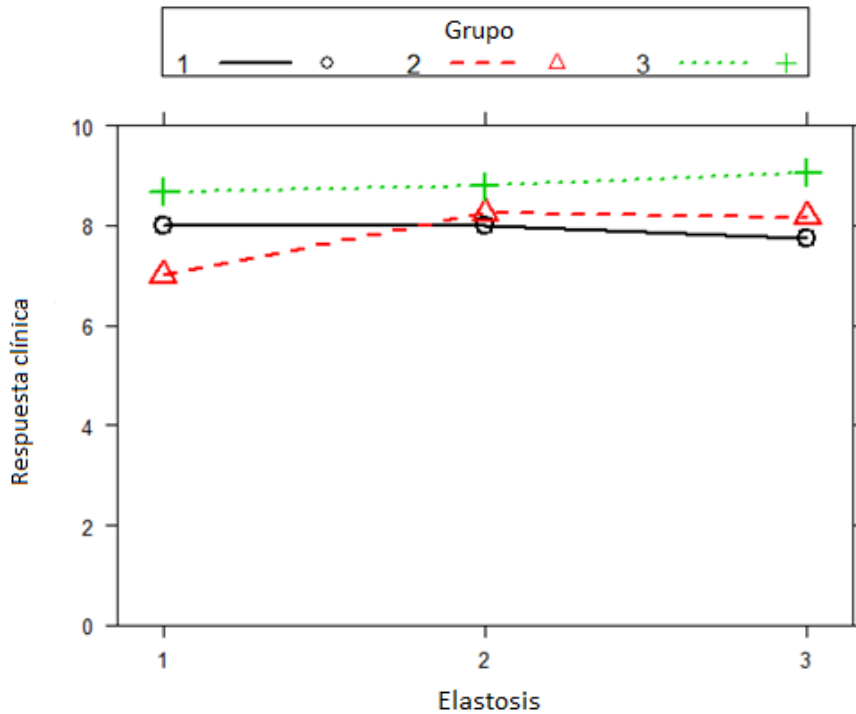
La presencia o no de telangiectasias y el diferente grado de displasia no tienen efecto sobre el valor de la respuesta ( $p > 0.05$ ).

	Estimación	<95%	>95%	Valor p
(Intercept)	9.83	8.52	11.14	<0.001
Grupo1	-1.252	-2.071	-0.432	0.003
Grupo2	-0.841	-1.66	-0.022	0.044
telangiectasias	0.35	-0.33	1.03	0.309
displasia1	-0.87	-2.159	0.418	
displasia2	-1.138	-2.437	0.16	0.18
displasia3	-1.702	-3.301	-0.103	

### Elastosis histológica

No se observan diferencias significativas entre el grado de elastosis histológica medido en la biopsia previa al tratamiento y el grado de respuesta clínica al tratamiento. Todos los valores p son superiores a 0.05.

	Estimación	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	8	4.553	11.447	<0.001
elastosis2	0	-3.634	3.634	1
elastosis3	-0.25	-3.768	3.268	0.888
Grupo2	-1	-5.875	3.875	0.685
Grupo3	0.667	-3.057	4.39	0.723
elastosis2:Grupo2	1.25	-3.905	6.405	0.631
elastosis3:Grupo2	1.417	-3.559	6.392	0.573
elastosis2:Grupo3	0.111	-3.952	4.174	0.957
elastosis3:Grupo3	0.636	-3.235	4.507	0.745



Elastosis histológica: 1=fibras aisladas, 2=bandas y 3=masas elásticas.

Grupo 1: TFD; grupo 2: IMIQ; grupo 3: secuencial TFD-IMIQ

### Grosor de la elastosis, grosor de la epidermis y grado de infiltrado inflamatorio

El grosor de la elastosis, así como el grosor de la epidermis y el diferente grado de infiltrado inflamatorio no modifican el valor de la respuesta clínica ( $p > 0.05$ ).

	Estimate	< 95%	> 95%	Valor p
(Intercept)	8.446	6.52	10.372	<0.001
Grupo1	-1.215	-2.067	-0.363	0.006
Grupo2	-0.909	-1.755	-0.062	0.036
Grosor_epidermis	-0.375	-1.002	0.252	0.238
Infiltrado linfocitario1	-0.16	-1.665	1.344	
Infiltrado linfocitario2	0.431	-1.04	1.901	0.14
Infiltrado linfocitario3	-0.562	-2.059	0.935	
Grosor elastosis	-0.162	-1.094	0.77	0.73

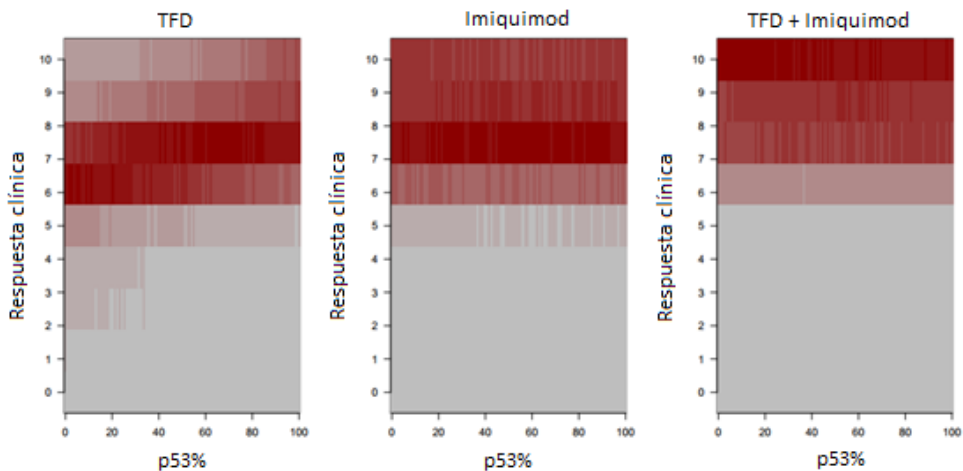
### 5.5.3. FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS

#### Inmunotinción p53 y Ki67

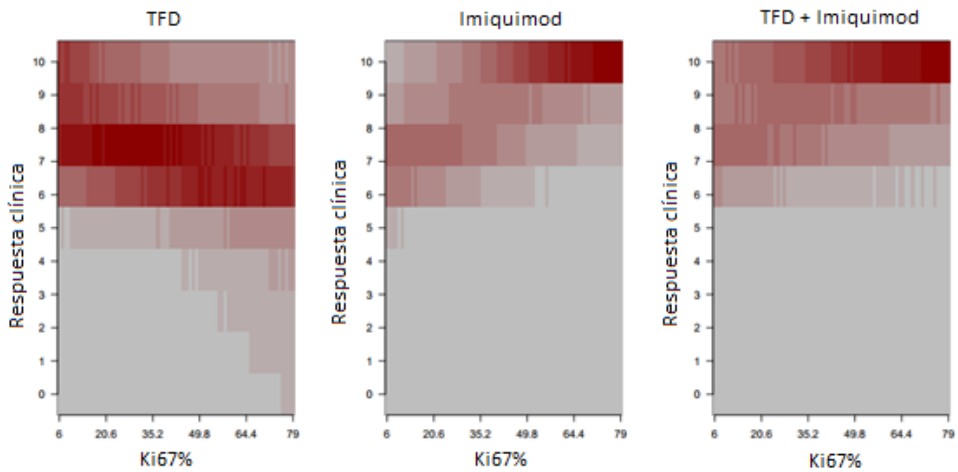
En el modelo de regresión ordinal empleado para valorar la relación entre el grado de expresión de ki67 y p53 en la biopsia previa al tratamiento frente al resultado clínico a los 3 meses en cada uno de los grupos ha resultado estadísticamente significativo. Esto conlleva una respuesta diferente en cada grupo según el porcentaje de células positivas para ambas inmunotinciones.

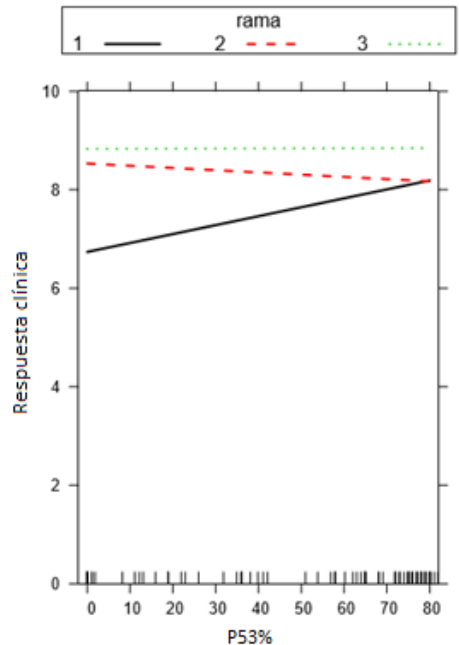
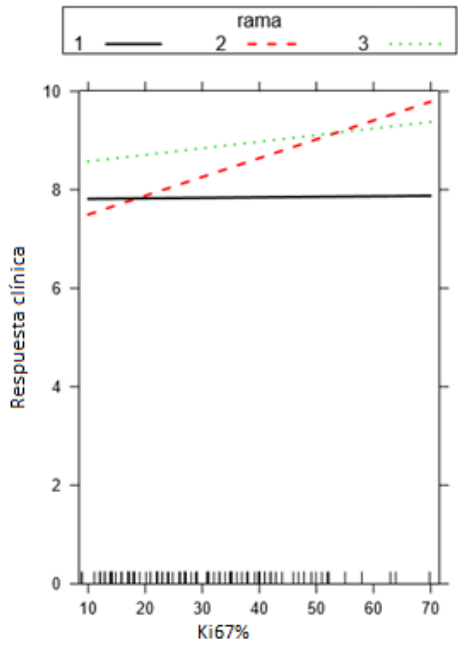
	Estimación	Error st	OR	IC 95% OR	Valor p
Grupo 2	-0.357	1.434	0.7	0.04	11.468
Grupo 3	0.872	1.38	2.391	0.159	37.137
ki67 %	-0.025	0.026	0.975	0.928	1.027
p53 %	0.015	0.011	1.015	0.994	1.037
Grupo 2 : ki67 %	0.071	0.035	1.073	1.002	1.152
Grupo 3 : ki67 %	0.047	0.033	1.048	0.982	1.119
Grupo 2 : p53 %	-0.015	0.016	0.985	0.955	1.016
Grupo 3 : p53 %	-0.015	0.016	0.985	0.953	1.016

En el siguiente gráfico se muestra el efecto del porcentaje de queratinocitos positivos para p53 sobre los diferentes grupos. El eje Y representa la puntuación de la respuesta clínica a los 3 meses. La gradación de color mide la probabilidad (de 0 a 1, siendo el gris probabilidad cero y el rojo probabilidad 1) de tener una respuesta clínica determinada en función del porcentaje de p53. Así, podemos observar que el grupo tratado con TFD en monoterapia tiene mayor probabilidad de tener una respuesta clínica entre 6 y 8. Además, con valores de p53 (%) superiores, la probabilidad de que aumente la repuesta es ligeramente mayor. Por otro lado, el grupo tratado con imiquimod tiene una mayor probabilidad de tener valores de respuesta clínica entre 7, 8 o superiores, mientras que en el grupo tratado con TFD e imiquimod secuencial sus valores de respuesta clínica son más cercanos a 10. Tanto en el tratamiento con imiquimod como en el tratamiento combinado, el p53(%) no influye en el grado de respuesta clínica (el color rojo no tiene un patrón diagonal). Por eso la interacción es significativa ( $p=0.001$ )



En los siguientes gráficos se muestra el efecto del porcentaje de queratinocitos positivos para ki67 en la biopsia previa sobre el grado de respuesta clínica a los 3 meses en los 3 grupos. Se puede observar que a mayor ki67% aumenta la probabilidad de mayor grado de respuesta en los grupos tratados con imiquimod y con terapia secuencial (OR=1.07 IC95% [1.001, 1.152]) y 3 (OR=1.048 IC95% [0.982, 1.119] respectivamente). Sin embargo, en el grupo tratado con TFD, no aumenta la respuesta clínica con un mayor porcentaje de ki67.





Rama 1: TFD; rama 2: IMIQ; rama 3: secuencial TFD-IMIQ



## 6. DISCUSIÓN

### 6.1. LIMITACIONES

Aunque el control evolutivo de los pacientes se prolongó durante un año y las mediciones clínicas se realizaron tanto al mes, 3 meses, 6 meses y al año, la segunda biopsia (posterior al tratamiento) se realizó únicamente al mes. Se decidió de esta manera ante la mayor complejidad y, sobre todo, mayor molestia para el paciente, que hubiera supuesto la realización de más biopsias. Se decidió que un mes tras el tratamiento era tiempo suficiente para la curación de la reacción inflamatoria de la piel ocasionada. De esta forma, se pensó que era el momento más válido para la consideración de una respuesta clinicopatológica. Aunque la toma de la biopsia a los 6 o 12 meses hubiera podido dar más fuerza al estudio de algunas variables histológicas, sobre todo a nivel de la remodelación dérmica, la dificultad a la hora de interpretar en estos momentos si las lesiones clínicas podían interpretarse como persistentes, recurrentes o nuevas lesiones adyacentes hubiera hecho el análisis más complejo.

Por otro lado, las biopsias se realizaron en dos zonas con una lesión clínicamente representativa que se topografiaron antes de iniciar el estudio, de manera similar a la mayoría de los trabajos que estudian la eficacia clínica y patológica de los tratamientos para las queratosis actínicas. Sin embargo, de cara a estudiar la elastosis y los cambios histológicos que pueden justificar la mejoría cosmética y rejuvenecimiento que se le atribuyen a la TFD e imiquimod, hubiera quizás sido más apropiada una biopsia de una zona concreta de piel sana de igual localización para todos los pacientes. De igual manera, hubiera aportado más información una biopsia de mayor tamaño a la empleada en nuestro estudio, punch-biopsia de 4mm, aunque no hay trabajos similares con biopsias superiores a 3 o 4mm.

En cuanto a la medición de la eficacia clínica, las medidas se realizaron en los diferentes controles del estudio (1, 3, 6 y 12 meses) según las fotografías que se habían tomado al inicio del estudio, con el número de lesiones registradas, y la fotografía y la valoración in situ del paciente en dichos momentos. El resultado se evaluó según el porcentaje de lesiones presentes de 0 a 10, donde 0 era la presencia de todas las lesiones y 10 la resolución completa de ellas. De esta forma, no se distinguió entre una lesión persistente o recurrente, lo que hubiera complicado mucho la definición de la respuesta, ni se valoraron nuevas lesiones en zonas donde antes no las hubiera como forma de medida de prevención o tratamiento de campo de cancerización.

En el estudio de los diferentes factores clínicos, epidemiológicos, histológicos e inmunohistoquímicos en relación al diferente grado de respuesta clínica obtenida para cada uno de los tratamientos se decidió realizar el análisis respecto a los valores de respuesta clínica obtenidos a los 3 meses. Se pensó que un análisis respecto a todos los momentos de medición de la respuesta, 1, 3, 6 y 12 meses, hubiera sido muy complejo y difícil de interpretar. Se desestimó realizarlo al mes de tratamiento para disminuir la diferencia relativa en el tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento en cada una de las opciones y no considerar controles posteriores, a los 6 meses o al año, donde se podría discutir si los valores reflejaban respuesta, persistencia, recurrencia o nuevas lesiones.

Las variables clínicas de daño actínico y elastosis fueron determinadas en el momento previo a comenzar el tratamiento y valoradas a partir de la fotografía digital por el mismo dermatólogo en todos los pacientes. Se consideraron los valores como leve, moderado e intenso, pero no se estableció una escala al no disponerse de ella.

La principal limitación del estudio es el empleo de una sola sesión de TFD-MAL y de un único ciclo (3 aplicaciones semanales en 4 semanas) de imiquimod al 5%. En el caso de la TFD-MAL está comúnmente aceptado el empleo de una sesión para el tratamiento de las queratosis actínicas,

aunque no es infrecuente la realización de dos sesiones. Asimismo, la pauta empleada para imiquimod al 5% es la más ampliamente utilizada por los dermatólogos, aunque muchos estudios previos hubieran prolongado hasta 16 semanas el tratamiento. Al contrario que algunos trabajos, no realizamos un segundo ciclo de TFD o imiquimod en aquellos pacientes en los que la respuesta no fuera completa. Esta decisión fue tomada fundamentalmente por el grupo tratado con terapia secuencial, donde la variación del régimen terapéutico hubiera hecho mucho más complejo su análisis.

## 6.2. EFICACIA, TOLERANCIA Y SATISFACCIÓN

Las QA suponen una de las consultas más frecuentes en dermatología con un elevado coste socio-sanitario. Su elevada prevalencia y la presencia de pacientes con múltiples lesiones hace con frecuencia necesario su abordaje mediante terapias dirigidas tanto a las lesiones como al campo de cancerización.

Tanto la TFD como el imiquimod son excelentes tratamientos para las QA puesto que proporcionan altos índices de respuestas con buenos resultados cosméticos<sup>57,63</sup>. Los dos han sido ampliamente comparados con otras opciones de tratamiento sobre todo con el 5-fluoracilo<sup>65,70,75</sup>, la crioterapia<sup>102,145</sup> o el diclofenaco<sup>69</sup>, sin embargo pocos trabajos han comparado entre sí estas dos terapias. (Tabla en página 58, introducción).

Sotiriou y colaboradores<sup>105</sup> realizaron por primera vez un estudio comparativo entre TFD e imiquimod en 30 pacientes con queratosis actínicas en los brazos, siendo sus resultados no extrapolables a la cara y el cuero cabelludo, localizaciones más frecuentes a las que se enfrenta el dermatólogo.

Hadley y colaboradores<sup>112</sup> realizaron 3 años después un estudio en 61 pacientes donde compararon el tratamiento en un lado de la cara con TFD-

ALA en dos sesiones frente a imiquimod 5% dos aplicaciones durante 16 semanas en el otro lado. Obtuvieron una tasa de lesiones resueltas del 59.2% mediante TFD frente al 41.1% con imiquimod. Estos hallazgos contrastan con los observados en nuestro estudio donde una pauta de 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas ha demostrado una mayor respuesta que una sesión de TFD-MAL. Sin embargo, no encontraron diferencias significativas cuando la respuesta se midió en porcentaje de respuestas completas o respuestas parciales (>75% de lesiones resueltas). También observaron una mejor tolerancia a la TFD.

Tanaka y colaboradores<sup>113</sup>, poco después, publicaron un estudio comparativo en 18 pacientes con queratosis actínicas en cuero cabelludo, cara y manos donde un grupo fue tratado con TFD-ALA en 3 sesiones, otro con imiquimod 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas y el tercero con ambos tratamientos a la vez. Tras un primer ciclo el porcentaje de respuestas completas fue del 41.7% para TFD y del 66.7% para imiquimod. La terapia combinada consiguió un 100% de respuestas completas, al igual que la TFD y el imiquimod cuando los pacientes siguieron un nuevo ciclo terapéutico igual al primero. Llama la atención como una pauta de 4 semanas con imiquimod obtuvo una mayor respuesta que 3 sesiones de TFD-ALA, en línea con la superioridad del imiquimod en eficacia encontrada en nuestro estudio. Sin embargo, se deben considerar en este trabajo los pocos pacientes estudiados, la presencia de lesiones en las manos, con diferente grado de respuesta frente a la cara y el cuero cabelludo, y la valoración únicamente de la respuesta completa y no del porcentaje de lesiones.

Más recientemente, el grupo de Sotirou<sup>114</sup> realizó un estudio comparativo en 44 pacientes donde, de forma aleatoria, fueron tratados un lado de la cara o cuero cabelludo y el otro con TFD-MAL con dos sesiones y dos ciclos de imiquimod de 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas. Este trabajo, más similar al nuestro en cuanto a la localización y las pautas empleadas, se orientó al estudio de nuevas lesiones en las zonas tratadas durante el siguiente año como forma de evaluar el tratamiento del campo de

cancerización. Los autores no apreciaron diferencias en el número de nuevas lesiones, ni en la tolerancia o efectos adversos entre ambas opciones, pero sí una mayor satisfacción y preferencia a la TFD frente al imiquimod.

En un metaanálisis realizado en 2013<sup>146</sup> se incluyeron 32 estudios controlados de pacientes inmunocompetentes en los que se comparaban al menos dos opciones terapéuticas para las queratosis actínicas (entre TFD-MAL, TFD-ALA, imiquimod, ingenol mebutato, 5-FU, diclofenaco/ácido hialurónico, crioterapia y placebo) y se medía la tasa de respuesta completa. El estudio determinó una menor eficacia para placebo, diclofenaco y crioterapia progresivamente y una mayor eficacia para 5-FU. La eficacia del resto de opciones, incluida TFD-MAL e imiquimod, fueron equiparables. Como se señala en este metaanálisis, existen limitaciones importantes en el estudio como la variabilidad en la severidad de las lesiones tratadas en cada trabajo y su diferente interpretación de la tasa de remisión completa de lesiones (considerando las lesiones diana, las lesiones subclínicas/nuevas lesiones o ambas). De tal forma, cuando se realiza un subanálisis de los trabajos que únicamente estudian las lesiones diana el ránking de eficacia lo encabeza imiquimod, por delante de 5-FU. Los autores interpretan estos resultados como una mejor respuesta lesional de imiquimod frente a una superioridad del 5-FU en lesiones subclínicas. Estos resultados sí son comparables a nuestro trabajo, con una superioridad para imiquimod, donde la respuesta clínica se basó en el porcentaje de lesiones diana preestablecidas al inicio del tratamiento. Tenemos que añadir más limitaciones a este tipo de estudio, como la variabilidad en las pautas realizadas y el número diferente de ciclos, predeterminado en ocasiones o según la respuesta inicial en otras, así como el tiempo de separación entre ellos.

En 2014 se publicó otro metaanálisis donde se diferenciaron nuevas opciones terapéuticas y pautas disponibles en Europa para el tratamiento de queratosis actínicas en la cara y el cuero cabelludo<sup>147</sup>. Se incluyeron TFD-MAL, TFD-ALA en parche, TFD-BF 200 ALA en gel, imiquimod 3,75%,

imiquimod 5% 4 semanas, imiquimod 5% 16 semanas, 5-FU 0.5%, diclofenaco 3%, ingenol mebutato, crioterapia y placebo. Igualmente, se consideró la tasa de respuesta completa y se obtuvo una mejor respuesta para TFD-BF 200 ALA, seguido de imiquimod 16 semanas, 5-FU, TFD-ALA en parche, imiquimod 4 semanas y TFD-MAL sucesivamente. De nuevo, surgen las dudas y las limitaciones ante este tipo de estudio. El diferente número y tipo de lesiones, el número de ciclos de tratamiento, el momento en el que se mide la eficacia y la posibilidad de recurrencias o nuevas lesiones son factores a considerar y obligan a extrapolar sus resultados con prudencia.

Según los resultados de nuestro estudio, el imiquimod es superior a la TFD para el tratamiento de las QA de la cara y el cuero cabelludo en cuanto a eficacia. Aunque los valores no fueron estadísticamente significativos al mes del tratamiento, sí lo fueron en las siguientes mediciones a los 3, 6 y 12 meses. Además de la respuesta clínica, tanto la respuesta histológica como la respuesta clinicopatológica fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes tratados con imiquimod que en el grupo de pacientes tratados con TFD. Al mes del tratamiento, el imiquimod consiguió un 27% de respuestas completas y un 51% de respuestas parciales frente al 12% y 44% respectivamente de la TFD. La respuesta histológica fue de un 80% para imiquimod frente a un 55% de la TFD. De igual manera la tasa de respuesta clinicopatológica (pacientes con 100% de las lesiones resueltas y ausencia de QA en la biopsia de control) fue del 38% para el imiquimod y del 7% para la TFD. La respuesta clínica fue superior a imiquimod en todas las mediciones realizadas a 1, 3, 6 y 12 meses. Asimismo, la evolución de la respuesta clínica durante el periodo estudiado fue significativamente diferente. La TFD tuvo una evolución negativa, con una ligera pérdida de eficacia a lo largo del año de seguimiento, mientras que el imiquimod tuvo una evolución positiva con una ligera tendencia a aumentar sus valores de respuesta clínica. De tal forma, la superioridad del imiquimod alcanzó significación a los 3, 6 y 12 meses y no al mes. Estos resultados podrían justificarse por un mecanismo de acción más rápido para la TFD, fundamentado en reacciones de

fotooxidación, que para el imiquimod, inmunológico y antitumoral, así como una menor tasa de recidivas para el imiquimod. La evolución temporal en el grupo tratado con TFD e imiquimod secuencial, como se discutirá más adelante, no fue significativa traduciendo unos valores más constantes a lo largo de los diferentes controles.

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la tolerancia a la TFD y al imiquimod.

La tolerancia a un tratamiento viene determinada por factores como las molestias o el dolor, la reacción local, los efectos adversos y el tiempo requerido y a menudo afecta en la decisión de su empleo frente a otra alternativa terapéutica. Algunos estudios han evaluado signos y síntomas asociados a la TFD o al imiquimod como el dolor, la descamación o el eritema, incluso comparados con otros tratamientos o placebo. Sin embargo, estos trabajos no recogen la percepción subjetiva del paciente ocasionada por el tratamiento ni la comparan con otras opciones terapéuticas.

La tolerancia se evaluó al momento de concluir la sesión de TFD y el último día de aplicación del imiquimod. En el grupo de terapia secuencial se obtuvieron dos datos, uno tras la TFD, comparable y equiparable al grupo de TFD en monoterapia (hasta ese momento los pacientes habían recibido igual tratamiento) y otro tras la aplicación de las 4 semanas de imiquimod. Esta segunda medición tenía su principal interés en comparar la diferente tolerancia a imiquimod según fuera en monoterapia o tras la TFD. De esta forma, al comparar la tolerancia tras la realización de la TFD (tanto en pacientes del grupo en monoterapia como los del grupo secuencial) y tras la aplicación de imiquimod en el grupo en monoterapia no se han obtenido diferencias significativas. La tolerancia es muy similar en ambos tratamientos con una puntuación media entre la mejor y la peor tolerancia esperable por parte del paciente: 4.8 de media para imiquimod y 5 de media para TFD, así como 5 de mediana para ambos. Esto se debe en el caso de la TFD fundamentalmente al dolor moderado o intenso que supone el

tratamiento durante los 8 minutos de la iluminación. Cabe señalar que en nuestro estudio sólo se utilizó refrigeración mediante dispositivo de aire frío o spray de nitrógeno líquido, mientras que con la infiltración de anestesia local o el bloqueo nervioso se han demostrado resultados exitosos<sup>109</sup>. También hay que considerar el empleo creciente de la modalidad de TFD con luz de día, con resultados clínicos similares y una mejor tolerancia. En el caso de imiquimod, la presencia de eritema, edema, costras y, en ocasiones úlceras, así como las molestias, habitualmente leves pero que se prolongan durante 4 semanas, justifican la regular tolerancia al tratamiento. Frente a esta valoración, recogida instantes después de la realización de la TFD y tras el último día de aplicación de imiquimod (con máximo grado de inflamación), la satisfacción con el tratamiento se recogió un mes después cuando los pacientes podían realizar una valoración más global y con mejor perspectiva del resultado clínico y el beneficio obtenido en relación a las molestias, efectos adversos y el tiempo del tratamiento. En esta valoración, también subjetiva, los pacientes tratados con imiquimod tuvieron una puntuación peor respecto a los pacientes tratados con TFD, pero que no llegó a alcanzar significación estadística ( $p=0.054$ ). En esta línea un 88% de los pacientes repetiría tratamiento con TFD frente al 78% de pacientes con imiquimod. Contrasta esta tendencia con el mejor resultado clínico registrado por imiquimod y similar tolerancia registrada tras concluir el tratamiento. Probablemente se pueda deber a que, con una mayor perspectiva temporal, los pacientes tengan una mejor consideración a la TFD, con molestias moderadas o intensas, pero puntuales y de resolución breve, que al imiquimod, donde las molestias menos intensas se prolongan durante semanas.

El uso secuencial o combinado de TFD con imiquimod en el tratamiento de las QA ha sido escasamente publicado en la literatura. (Tabla en página 62, introducción).

En su trabajo publicado en 2009, Shaffelburg y colaboradores demostraron que la TFD seguida de imiquimod era superior a la TFD seguida de placebo

para el tratamiento de QA de la cara en un estudio con 24 pacientes<sup>124</sup>. Realizaron doble sesión de TFD-ALA al 20% con una hora de incubación y una pauta de imiquimod o placebo de 2 aplicaciones semanales durante 16 semanas y mantuvieron el seguimiento durante un año. Observaron una respuesta lesional para TFD-placebo del 73% y del 87% para la terapia secuencial TFD-imiquimod a los 12 meses. La respuesta inicial tras las dos sesiones de TFD-ALA fue considerada excelente. El porcentaje de reducción de lesiones se mantuvo, con una ligera mejoría incluso, tras el tratamiento con imiquimod, mientras que hubo un lento descenso en la eficacia tras la aplicación de placebo a lo largo del estudio. En nuestro trabajo, el grupo tratado con TFD e imiquimod también obtuvo una mayor respuesta clínica que la TFD en monoterapia en todas las mediciones realizadas (1, 3, 6 y 12 meses), así como una mejor respuesta histológica y clínico-patológica. De igual manera, la eficacia con el tratamiento secuencial se mantuvo estable a lo largo del estudio frente a la TFD en monoterapia donde la eficacia tendió a disminuir. Los autores también señalan una buena tolerancia en general al tratamiento y que ningún paciente tuvo que dejarlo por efectos adversos. Sin embargo, describieron unos porcentajes de efectos secundarios locales al imiquimod similares a los descritos en monoterapia, sugiriendo que el pretratamiento con TFD no disminuiría su frecuencia. Esta conclusión no se sostiene con una comparación de los efectos adversos entre el imiquimod en monoterapia y tras TFD, por el diseño de su estudio, circunstancia sí comparada en nuestro trabajo y donde se objetivó una mejor tolerancia y menor grado de inflamación en el grupo secuencial.

En un trabajo publicado en 2011, mucho menos comparable al nuestro por falta de grupo control e ir dirigido a la queilitis actínica, Sotiriou y colaboradores demostraron una muy buena respuesta clínica e histológica al año tras tratamiento con doble sesión de TFD-MAL y un ciclo de 3 aplicaciones semanales de imiquimod durante 4 semanas<sup>125</sup>.

En un trabajo muy preliminar en 2013, Held y colaboradores describieron la remisión completa de lesiones y una excelente tolerancia en dos pacientes

con queratosis actínicas en el cuero cabelludo tratados con TFD-ALA en una sesión y dos ciclos de 3 aplicaciones semanales de imiquimod durante 4 semanas<sup>126</sup>. No obtuvieron, por el contrario, respuesta en un tercer paciente con queratosis actínicas en las manos con la misma pauta.

El trabajo de Tanaka y colaboradores, como se ha descrito antes, demostró en un estudio comparativo en 18 pacientes con queratosis actínicas en cara, cuero cabelludo y manos un 100% de respuestas completas con un ciclo de tratamiento simultáneo de TFD-ALA en 3 sesiones e imiquimod 3 aplicaciones semanales durante 4 semanas. Por otra parte, para TFD la remisión completa fue de 41.7% y del 100% tras uno y dos ciclos y para imiquimod del 66.7% y del 100% respectivamente. Al margen de las limitaciones del estudio, ya comentadas previamente, parece deducirse una mejor respuesta con el tratamiento simultáneo que con la monoterapia en un ciclo, igualándose la respuesta si se realiza un segundo ciclo.

En nuestro estudio, la eficacia del tratamiento secuencial con TFD seguida de imiquimod fue superior a la TFD en monoterapia pero no a la terapia con imiquimod en monoterapia.

Al mes del tratamiento, los valores de eficacia obtenidos con el tratamiento secuencial de TFD e imiquimod fueron superiores a los obtenidos con TFD e imiquimod en monoterapia de forma significativa. Se obtuvo, en este momento, un 37 % de respuestas clínicas completas y un 53% de respuestas parciales con la terapia secuencial, frente a los señalados del 12% RC y 44% RP para TFD y del 27% RC y 51% RP para imiquimod.

La respuesta histológica y clinicopatológica, también medida al mes de concluir el tratamiento, fue superior en el tratamiento secuencial y con imiquimod en monoterapia, sin diferencias entre ambas opciones, e inferior en la TFD en monoterapia. La respuesta histológica en el grupo secuencial fue del 83.3% y en el grupo de imiquimod en monoterapia del 80%, frente al 55% del grupo de TFD en monoterapia. La tasa de respuesta clinicopatológica fue del 31% en el grupo secuencial, superior

significativamente de nuevo a la TFD en monoterapia con un 7.3%, pero no al imiquimod en monoterapia, que obtuvo incluso un porcentaje mayor, el 38%.

En la valoración evolutiva de la eficacia, medida a los 3, 6 y 12 meses, la eficacia clínica del tratamiento secuencial fue superior a la TFD en monoterapia, pero equiparable al imiquimod en monoterapia. La tendencia temporal a lo largo del año de seguimiento fue de estabilidad para el grupo secuencial, con unos valores muy constantes de eficacia. Como se comentaba anteriormente, la tendencia de la TFD fue de pérdida ligera de la eficacia y del imiquimod de un aumento ligero de los valores a lo largo del seguimiento. Los valores obtenidos con imiquimod en monoterapia al mes, significativamente inferiores a la terapia secuencial, se igualaron en los siguientes controles. De tal manera, se puede interpretar una mayor eficacia temprana o inicial con el tratamiento secuencial. Estos valores iniciales del grupo secuencial superiores al imiquimod son probablemente debidos al efecto previo de la TFD, realizada un mes antes del imiquimod, por lo tanto 3 meses antes de esa valoración al mes del fin del tratamiento. Sin embargo estos valores tienden a igualarse al grupo de imiquimod en monoterapia a los 3 meses, probablemente por el margen temporal necesario del mecanismo inmunológico y antitumoral del imiquimod.

Como se comentaba previamente al discutir la tolerancia a la TFD frente al imiquimod, comparables sin diferencias significativas, la valoración subjetiva del paciente tratado con terapia secuencial se realizó tanto al momento de concluir la TFD como el último día de tratamiento con imiquimod. La tolerancia tras la TFD fue igual que en el grupo de TFD en monoterapia puesto que el tratamiento hasta el momento era exactamente el mismo en ambos grupos. Lo interesante fue la demostración de una mejor tolerancia al tratamiento con imiquimod, estadísticamente significativa, respecto a los pacientes del grupo de imiquimod en monoterapia. De forma paralela, la inflamación objetivada por el dermatólogo, tanto a las dos semanas como a las 4 semanas del tratamiento con imiquimod, fue significativamente

inferior en el grupo secuencial que en el grupo en monoterapia. Así pues, el uso previo de TFD condicionó una menor inflamación en el tratamiento con imiquimod con una mejor valoración subjetiva por parte del paciente. Esto se puede justificar por el efecto terapéutico previo de la TFD. Por otro lado, cuando se interrogó al paciente al mes de terminar el tratamiento sobre la satisfacción, los valores más altos se obtuvieron en el grupo secuencial. Equiparables, no obstante, al grupo de TFD en monoterapia, pero superiores al imiquimod en monoterapia de forma significativa. Además, cuando se les preguntó a los pacientes respecto a la posibilidad de repetir el tratamiento, el 100 % de los pacientes tratados con terapia secuencial respondieron que sí frente al 87.8% y el 77.78% de los pacientes tratados con TFD e imiquimod en monoterapia respectivamente.

Por lo tanto, asumiendo de forma rigurosa los resultados, el empleo previo de TFD en los pacientes que reciben imiquimod parece no añadir un beneficio significativo en cuanto a la eficacia terapéutica respecto al uso de imiquimod en monoterapia a partir del tercer mes de control. Por el contrario, el tratamiento combinado de TFD más imiquimod sí que proporcionó una mayor satisfacción que el tratamiento único con imiquimod, con menor inflamación y mejor tolerancia al imiquimod en monoterapia y una mayor intencionalidad del paciente de repetir el tratamiento.

### 6.3. ESTUDIO HISTOLÓGICO

Los trabajos sobre imiquimod y TFD en el tratamiento de las queratosis actínicas con estudio histológico se han centrado fundamentalmente en la confirmación de la presencia o ausencia de la lesión. En aquellos trabajos donde se han medido otros parámetros histológicos, la intención habitual ha sido la comprobación o cuantificación de los efectos rejuvenecedores de estos dos tratamientos.

La comparación de nuestro estudio histológico entre las biopsias realizadas antes y después del tratamiento demostró una disminución en el grado de displasia queratinocítica y en el infiltrado inflamatorio de forma estadísticamente significativa en los 3 grupos. No se observaron, sin embargo, diferencias entre ellos. Estos hallazgos son los esperables tras el mecanismo de acción del imiquimod y de la TFD. La superioridad en la respuesta histológica observada en el grupo de imiquimod y el secuencial (mayor frecuencia en la resolución histológica de queratosis actínica tras el tratamiento) no conllevó, por tanto, una disminución global significativa en el grado de displasia de los queratinocitos.

El estudio del grosor epidérmico sí deparó diferencias entre los tratamientos. Así pues, tanto el tratamiento con imiquimod en monoterapia como con imiquimod tras TFD conllevó una disminución significativa del grosor epidérmico. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas tras el tratamiento con TFD en monoterapia. El grosor de la epidermis puede aumentar en los primeros estadios del fotoenvejecimiento y suele disminuir en estadios avanzados. Las queratosis actínicas suelen comportar un aumento en el grosor, mayor en aquellas definidas como hipertróficas, aunque también puede estar reducido en las queratosis actínicas atróficas. Por ello, algunos trabajos, hacen simplemente mención a la normalización del grosor epidérmico. A diferencia de algún trabajo como el de Park y colaboradores<sup>133</sup>, donde sí encontraron una disminución del grosor epidérmico tras la realización de la TFD, no observamos en nuestro estudio tal resultado, pudiendo argumentar que la TFD no sería tan efectiva para las queratosis actínicas hipertróficas. Por el contrario, la disminución del grosor epidérmico observada tras el tratamiento con imiquimod en monoterapia o tras TFD podría justificarse a expensas de una mayor efectividad ante aquellas queratosis actínicas más hipertróficas.

El depósito de material distrófico elastótico en la dermis es una característica de la piel fotoenvejecida<sup>148</sup>. El mecanismo causante de este daño todavía no es conocido con precisión. Parece estar relacionado al

aumento de la producción de fibras elásticas, que consisten en microfibrillas ricas en fibrilina y en elastina. La degradación de la elastina por metaloelastasas (metaloproteinasas) puede contribuir al desarrollo de la elastosis<sup>133,149</sup>. La elastosis es considerada la medida “gold-standard” para medir el fotoenvejecimiento. Sin embargo, no existe un consenso ni una escala que clasifique o categorice el grado de la elastosis. De tal forma, algunos trabajos han realizado un abordaje cuantitativo basado en el grado de tinción y en la extensión del material elastótico y en otras ocasiones se ha centrado su estudio únicamente en el grosor. Algunos autores han realizado clasificaciones más cualitativas conforme a la morfología del material elastótico. Hugues y colaboradores<sup>141</sup> definieron un grado 0 cuando no existían fibras elásticas engrosadas, grado 1 con fibras elastóticas dispersas, grado 2 con mínimas confluencias focales de fibras, grado 3 con confluencias más extensas, grado 4 con la presencia de una banda de fibras, grado 5 con bandas de fibras con un mínimo componente granular de material amorfo y grado 6 con bandas con un componente predominante de material elastótico granular. Landi y colaboradores<sup>142</sup> definieron en su trabajo sobre melanoma una escala para el daño solar crónico en 11 puntos.

La dificultad en la interpretación de estas características, así como la probable variabilidad ente diferentes observadores, dificulta enormemente la reproducción y el empleo de una escala como esta. Por nuestra parte, siguiendo como base la escala definida por Landi, hemos intentado simplificar la evaluación estableciendo 3 estadíos: estadío 1 ante la presencia de fibras elastóticas aisladas engrosadas; estadío 2 si aparecen bandas elastóticas y estadío 3 con la presencia de masas de material elastótico. Además, establecimos dos subgrupos en cada estadío (+/-) según estos hallazgos fueran o no predominantes. Además de esta clasificación, que entendemos más fácil y reproducible, realizamos la medida de su espesor desde la membrana basal epidérmica hasta su extensión más profunda en la biopsia.

Existe la opinión generalizada sobre la mejoría cosmética en los pacientes tratados mediante imiquimod o TFD. Esta mejoría se ha valorado habitualmente de forma clínica a nivel de reducción de hiperpigmentación, descamación y arrugas finas, sin una valoración de criterios histopatológicos<sup>127-129</sup>. No obstante, varios trabajos han evaluado histológicamente cambios asociados al rejuvenecimiento inducido por TFD<sup>132-135,150</sup> y por imiquimod<sup>136,138</sup>.

En cualquier caso, no existe un protocolo establecido por el cual estas terapias puedan ser utilizadas como tratamiento rejuvenecedor ni un consenso en los trabajos publicados acerca de los cambios clínicos e histológicos esperables.

En nuestro trabajo pretendimos evaluar los cambios en la elastosis tras los 3 tratamientos como parámetro más reproducible en la consideración del fotoenvejecimiento o daño solar crónico

No obtuvimos diferencias en el grado de elastosis ni en su espesor en ninguno de los 3 grupos tras el tratamiento.

Estos hallazgos contrastan con algunos trabajos descritos donde sí objetivan una disminución de la elastosis. Park y colaboradores<sup>133</sup> describieron que, empleando una escala semicuantitativa de 5 puntos, donde 0 era ausencia de elastosis y 4 el valor máximo, el valor medio descendió de 3 a 2.32 tras el tratamiento con TFD-ALA. Bagazgoitia y colaboradores<sup>134</sup> obtuvieron mediante el análisis informático de imagen digitalizada una reducción significativa del grosor de la elastosis a las 6 semanas del tratamiento con TFD-MAL. Metcalf<sup>136</sup> y colaboradores demostraron una disminución significativa de la elastosis tras tratamiento con imiquimod utilizando una escala semicuantitativa de 4 puntos, según fuera la elastosis ausente, leve, moderada o intensa.

Por el contrario, en la línea de nuestros resultados, Sanclemente y colaboradores<sup>135</sup>, no encontraron una mejoría en la elastosis siguiendo un método semicuantitativo de 4 puntos tras TFD-MAL.

La falta de mejoría cualitativa y en el grosor de la elastosis observada en los 3 grupos a estudio, en contra como explicábamos de lo descrito en algunos trabajos, podemos justificarla por varios factores. En primer lugar, la dificultad que entraña la comparación respecto a diferentes criterios y escalas para la medición de la elastosis. También hay que diferenciar los trabajos que, como el nuestro, realizaron la biopsia sobre una lesión definida de queratosis actínica donde el grado de elastosis era probablemente más intenso que la piel de alrededor, respecto a aquellos donde realizaron las biopsias sobre piel sana. Por otro lado, puede resultar lógico comprender como un tratamiento puntual, imiquimod o TFD, con un mecanismo de acción que puede prolongarse durante varios meses, no pueda en un mes revertir unos cambios degenerativos inducidos durante años. Así pues, entendemos que los cambios inflamatorios y a nivel epidérmico son más precoces, pero los fenómenos de remodelación dérmica requieren de un tiempo más prolongado.

#### 6.4. FACTORES PREDICTIVOS DE LA RESPUESTA A LOS TRATAMIENTOS

No existe en la literatura ningún trabajo que haya estudiado factores predictivos de la eficacia del tratamiento de las queratosis actínicas con imiquimod o TFD. Nosotros hemos realizado un análisis de los parámetros epidemiológicos, clínicos, histológicos e inmunohistoquímicos registrados en relación a la respuesta clínica observada con la finalidad de obtener algún factor predictivo de la respuesta para alguno de los tratamientos utilizados.

No hemos encontrado diferencias en la respuesta clínica para ninguno de los 3 grupos en función del fototipo. Probablemente un fototipo de piel más claro favorezca la aparición más temprana y severa de lesiones, pero no influye en una diferente respuesta al tratamiento.

Sin embargo, al analizar el diferente daño actínico del paciente (codificado como leve, moderado o intenso) sí observamos un diferente comportamiento clínico respecto a los 3 tratamientos. Así, pudimos ver que con un daño actínico leve, el tratamiento más eficaz resultó ser la TFD, aunque no alcanzó significación estadística sobre imiquimod. Sin embargo, la eficacia clínica de la TFD para un daño actínico moderado o severo, fue significativamente menor. Por el contrario, el imiquimod y el tratamiento secuencial de TFD seguido de imiquimod mantuvieron resultados clínicos similares a pesar de un mayor daño actínico, siendo más eficaces que la TFD en monoterapia en estos casos. En especial, la terapia combinada consiguió un eficacia superior, estadísticamente significativa, ante un daño actínico intenso en comparación a TFD en monoterapia. Estos datos pueden orientarnos en nuestra práctica clínica a la elección de la TFD, con mayor satisfacción para el paciente, en casos menos severos con un daño actínico menor, prefiriendo imiquimod o, sobre todo, tratamiento secuencial de TFD con imiquimod para los casos más severos con un mayor daño solar.

Respecto al tipo de fotoexposición, llamó la atención encontrar en el grupo tratado con imiquimod en monoterapia una eficacia significativamente menor ante una historia laboral expuesta al sol de menos de un año, siendo la eficacia superior en los casos de fotoexposición crónica laboral más prolongada. Sin embargo, los valores en la eficacia obtenidos con TFD y tratamiento secuencial no mostraron diferencias al respecto. De nuevo, podemos establecer una preferencia de uso de la TFD en los casos de una historia de fotoexposición menor y del imiquimod para fotoexposiciones más crónicas.

Sin embargo, no obtuvimos diferencias en el comportamiento frente a los tratamientos estudiados según el grado o grosor de elastosis. De nuevo, en este punto, volvimos a no registrar la elastosis como un medidor de daño solar crónico o indicativo de alteraciones celulares, que pudiera predecir una mejor o peor respuesta al tratamiento. Como se discutía previamente, la dificultad en una gradación y reproductibilidad en la valoración de la

elastosis, nos hace, a la luz de nuestros resultados, considerarla más desde un punto de vista cualitativo (indicador de daño solar crónico) que desde el punto de vista cuantitativo para poder estadificar el grado de daño solar.

El resto de parámetros histológicos, grosor epidérmico, grado de infiltrado inflamatorio, grado de displasia y presencia de telangiectasias tampoco influenció en nuestro estudio una diferente respuesta clínica.

No existen trabajos que estudien la expresión de Ki 67 o p53 en relación al grado de respuesta al tratamiento con imiquimod o TFD.

Ki67 es un marcador nuclear que se expresa en todas las fases del ciclo celular excepto en M<sub>0</sub>. Es por ello un marcador de proliferación que se expresa fisiológicamente en la capa basal de la epidermis. Su expresión está aumentada en las queratosis actínicas indicando una actividad proliferativa superior que en la piel sana no fotoexpuesta.

En nuestro estudio, hemos podido comprobar como la eficacia obtenida mediante TFD en monoterapia fue independiente del grado de expresión de ki67, mientras que en los pacientes tratados con imiquimod y terapia secuencial el resultado clínico fue mejor ante mayor expresión de ki67. De nuevo, en la línea de lo discutido frente al daño actínico y la historia de fotoexposición, parece que ante un mayor potencial proliferativo de las lesiones, el imiquimod o la terapia secuencial de TFD más imiquimod puede ser más eficaz.

La función que tiene el gen supresor p53 es la de detener el ciclo celular y activar los mecanismos de reparación del ADN en las células dañadas. En los casos de daños irreparables provoca una activación de la apoptosis celular<sup>40-43</sup>. Mutaciones en este gen hacen que éste no se active ante los estímulos pertinentes favoreciendo la carcinogénesis. La proteína p53 no se expresa en la piel sana pero sí en la piel fotoexpuesta, en las queratosis actínicas (26-50%) y en los carcinomas epidermoides cutáneos (12-64%)<sup>151-154</sup>. El patrón de tinción de p53 en las queratosis actínicas es en racimos, lo que representa pequeños grupos de células con diferentes mutaciones de p53.

La sobreexpresión de la proteína p53 puede ser explicada como una proteína inactivada resultante de las mutaciones del gen de p53 y otros mecanismos moleculares menos claros<sup>152</sup>.

Según nuestros datos, ante una mayor proporción de células p53 positivas, la eficacia de la TFD en monoterapia fue superior. Por otro lado, la eficacia del tratamiento con imiquimod o de la terapia secuencial no se modificó según el diferente grado de exposición de p53.

## 6.5. CONSIDERACIONES SOBRE EL MANEJO DE LAS QUERATOSIS ACTÍNICAS

El paciente con múltiples queratosis actínicas debe seguir controles periódicos por parte del dermatólogo. Las bajas tasas de respuesta completa y el importante porcentaje de recidivas y de nuevas lesiones para cualquiera de los tratamientos disponibles, hacen necesario un abordaje combinado, secuencial y, a veces, rotacional con las distintas opciones terapéuticas. De tal forma, desde un punto de vista de patología crónica, es necesaria una correcta información al paciente y a sus familiares sobre el tipo de patología, el riesgo de malignización, la importancia de la prevención mediante fotoprotección y de la necesidad de autoexploración y de acudir al dermatólogo periódicamente. Asimismo, resulta fundamental la explicación de los diferentes tratamientos que se planteen, de forma que entiendan las expectativas, la forma de aplicación o procedimiento clínico y sus efectos adversos, para conseguir una mejor adherencia.

Según nuestros datos, el imiquimod es un tratamiento más efectivo que la TFD pero peor valorado por los pacientes en términos de satisfacción y de intención de repetir el tratamiento. Sin embargo, su empleo secuencial tras la TFD, ha demostrado una mejor tolerancia y satisfacción respecto a la monoterapia, aunque sin una mejoría en cuanto a resultado clínico. Esto es

especialmente importante atendiendo a las consideraciones anteriores, ya que van a ser decisivos en la evolución de la patología tanto el grado de satisfacción al tratamiento y la intención de seguir controles y futuras terapias, como la respuesta clínica obtenida a corto plazo.

Aunque con tasas de respuesta inferiores al imiquimod en nuestro estudio, pensamos que la TFD es un tratamiento excelente para los pacientes con múltiples queratosis actínicas en la cara o el cuero cabelludo con una muy buena correlación entre eficacia, satisfacción y resultado estético. Más aun, cuando se pueden emplear técnicas que disminuyan el dolor de la técnica convencional como el bloqueo nervioso o el empleo de la TFD con luz de día, con mejor tolerancia para el paciente con resultados clínicos esperables similares.

Ante pacientes con un gran daño actínico, historia de fotoexposición crónica y lesiones más hiperqueratósicas o evolucionadas, puede ser una buena opción la realización de la TFD y la valoración clínica al mes. De tal forma, ante una respuesta regular o parcial, parece aconsejable la utilización de imiquimod durante 4 semanas, probablemente antes que plantear una nueva sesión de TFD u otra alternativa.

## 7. CONCLUSIONES

1- Al mes de tratamiento, la respuesta clínica obtenida con TFD más imiquimod fue significativamente mejor que el imiquimod y la TFD en monoterapia. La respuesta clínica a los 3, 6 y 12 meses obtenida con imiquimod en monoterapia se igualó a la terapia secuencial y fue significativamente mejor que la obtenida con TFD en monoterapia.

2- No se encontraron diferencias respecto a la tolerancia entre TFD e imiquimod en monoterapia. Sin embargo, la tolerancia a imiquimod fue mejor tras la realización previa de TFD. La satisfacción con el tratamiento secuencial de TFD más imiquimod fue superior que con el tratamiento con imiquimod en monoterapia.

3- Se observó una reducción del grosor epidérmico tras el tratamiento con imiquimod en monoterapia o la terapia secuencial de TFD e imiquimod, pero no tras la TFD en monoterapia. Asimismo, se observó una reducción en el infiltrado inflamatorio y en el grado de displasia queratinocítica, mientras que no se objetivaron cambios en la elastosis, tras las 3 opciones terapéuticas, sin establecerse diferencias entre ellas.

4- La TFD consigue una mejor respuesta que el imiquimod para un daño actínico clínico leve y la respuesta clínica al tratamiento con imiquimod aumenta ante una historia de mayor fotoexposición. La TFD en monoterapia obtiene una respuesta clínica superior cuanto mayor es el porcentaje de células p53 positivas, mientras que el tratamiento con imiquimod y secuencial de TFD e imiquimod obtiene una mejor respuesta clínica cuanto mayor es el porcentaje de células ki67 positivas.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Heaphy MR, Ackerman AB. The nature of solar keratosis: a critical review in historical perspective. *J Am Acad Dermatol.* 2000;43(1 Pt 1):138-150.
2. Fu W, Cockerell CJ. The actinic (solar) keratosis: a 21st-century perspective. *Arch Dermatol.* 2003;139(1):66-70.
3. Hurt MA. The nature of solar (actinic) keratosis. *Br J Dermatol.* 2007;156(2):408-409.
4. Feldman SR, Fleischer AB, McConnell RC. Most common dermatologic problems identified by internists, 1990-1994. *Arch Intern Med.* 1998;158(7):726-730.
5. Memon AA, Tomenson JA, Bothwell J, Friedmann PS. Prevalence of solar damage and actinic keratosis in a Merseyside population. *Br J Dermatol.* 2000;142(6):1154-1159.
6. Naruse K, Ueda M, Nagano T, Suzuki T, Harada S, Imaizumi K, et al. Prevalence of actinic keratosis in Japan. *J Dermatol Sci.* 1997;15(3):183-187.
7. Ishioka P, Marques SA, Hirai AT, Marques MEA, Hirata SH, Yamada S. Prevalence of precancerous skin lesions and non-melanoma skin cancer in Japanese-Brazilians in Bauru, São Paulo State, Brazil. *Cad Saude Publica.* 2009;25(5):965-971.
8. Rosen T, Lebwohl MG. Prevalence and awareness of actinic keratosis: Barriers and opportunities. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(1):S2-S9.
9. Frost CA, Green AC. Epidemiology of solar keratoses. *Br J Dermatol.* 1994;131(4):455-464.
10. Schwartz R, Bridges T, Butani A, Ehrlich A. Actinic keratosis: an occupational and environmental disorder. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2008;22(5):606-615.
11. Salasche SJ. Epidemiology of actinic keratoses and squamous cell carcinoma. *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(1 Pt 2):4-7.

12. Rigel DS, Stein Gold LF. The importance of early diagnosis and treatment of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1):S20-S27.
13. Marks R, Jolley D, Leclerc S, Foley P. The role of childhood exposure to sunlight in the development of solar keratoses and non-melanocytic skin cancer. *Med J Aust*. 1990;152(2):62-66.
14. Glogau RG. The risk of progression to invasive disease. *J Am Acad Dermatol*. 2000;42(1 Pt 2):23-24.
15. Ackerman AB. Solar Keratosis Is Squamous Cell Carcinoma. *Arch Dermatol*. 2003;139(9).
16. Ko CJ. Actinic keratosis: Facts and controversies. *Clin Dermatol*. 2010;28(3):249-253.
17. Flaxman BA. Actinic keratoses--malignant or not? *J Am Acad Dermatol*. 2001;45(3):466-7-9.
18. Marks R, Rennie G, Selwood TS. Malignant transformation of solar keratoses to squamous cell carcinoma. *Lancet (London, England)*. 1988;1(8589):795-797.
19. Gallagher RP, Rivers JK, Lee TK, Bajdik CD, McLean DI, Coldman AJ. Broad-spectrum sunscreen use and the development of new nevi in white children: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2000;283(22):2955-2960.
20. Boyd AS, Naylor M, Cameron GS, Pearse AD, Gaskell SA, Neldner KH. The effects of chronic sunscreen use on the histologic changes of dermatoheliosis. *J Am Acad Dermatol*. 1995;33(6):941-946.
21. Seité S, Colige A, Piquemal-Vivenot P, Montastier C, Fourtanier A, Lapière C, et al. A full-UV spectrum absorbing daily use cream protects human skin against biological changes occurring in photoaging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2000;16(4):147-155.
22. Berman B, Cockerell CJ, Zografos P. Pathobiology of actinic keratosis: Ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1 SUPPL.1):S10-S19.
23. Bowden GT. Prevention of non-melanoma skin cancer by targeting

- ultraviolet-B-light signalling. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(1):23-35.
24. Hawk JL, Black AK, Jaenicke KF, Barr RM, Soter NA, Mallett AI, et al. Increased concentrations of arachidonic acid, prostaglandins E2, D2, and 6-oxo-F1 alpha, and histamine in human skin following UVA irradiation. *J Invest Dermatol*. 1983;80(6):496-499.
  25. Greaves MW, Camp RD. Prostaglandins, leukotrienes, phospholipase, platelet activating factor, and cytokines: an integrated approach to inflammation of human skin. *Arch Dermatol Res*. 1988;280 Suppl:S33-41.
  26. Hruza LL, Pentland AP. Mechanisms of UV-induced inflammation. *J Invest Dermatol*. 1993;100(1):35S-41S.
  27. Berhane T, Halliday GM, Cooke B, Barnetson RSC. Inflammation is associated with progression of actinic keratoses to squamous cell carcinomas in humans. *Br J Dermatol*. 2002;146(5):810-815.
  28. Ulrich M, Stockfleth E. Field treatment of actinic keratoses - focus on COX-2-inhibitors. *Actas Dermosifiliogr*. December 2009:55-58.
  29. Filipowicz E, Adegboyega P, Sanchez RL, Gatalica Z. Expression of CD95 (Fas) in sun-exposed human skin and cutaneous carcinomas. *Cancer*. 2002;94(3):814-819.
  30. Satchell AC, Barnetson RS, Halliday GM. Increased Fas ligand expression by T cells and tumour cells in the progression of actinic keratosis to squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):42-49.
  31. Bachmann F, Buechner SA, Wernli M, Strebel S, Erb P. Ultraviolet light downregulates CD95 ligand and TRAIL receptor expression facilitating actinic keratosis and squamous cell carcinoma formation. *J Invest Dermatol*. 2001;117(1):59-66.
  32. Martin J, Duncan FJ, Keiser T, Shin S, Kusewitt DF, Oberyszyn T, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) plays a critical role in pathogenesis of ultraviolet-B (UVB) -induced nonmelanoma skin cancer (NMSC). *FASEB J*. 2009;23(3):720-730.
  33. Honda A, Abe R, Yoshihisa Y, Makino T, Matsunaga K, Nishihira J, et al. Deficient deletion of apoptotic cells by macrophage migration

- inhibitory factor (MIF) overexpression accelerates photocarcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2009;30(9):1597-1605.
34. Heise R, Vetter-Kauczok CS, Skazik C, Czaja K, Marquardt Y, Lue H, et al. Expression and function of macrophage migration inhibitory factor in the pathogenesis of UV-induced cutaneous nonmelanoma skin cancer. *Photochem Photobiol*. 88(5):1157-1164.
  35. Kripke ML, Cox PA, Alas LG, Yarosh DB. Pyrimidine dimers in DNA initiate systemic immunosuppression in UV-irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(16):7516-7520.
  36. Wolf P, Müllegger RR, Peter Soyer H, Hofer A, Smolle J, Horn M, et al. Topical Treatment with Liposomes Containing T4 Endonuclease V Protects Human Skin In Vivo from Ultraviolet-Induced Upregulation of Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ . *J Invest Dermatol*. 2000;114(1):149-156.
  37. Jang TJ. Prevalence of Foxp3 Positive T Regulatory Cells is Increased during Progression of Cutaneous Squamous Tumors. *Yonsei Med J*. 2008;49(6):942.
  38. Berman B, Cockerell CJ. Pathobiology of actinic keratosis: Ultraviolet-dependent keratinocyte proliferation. *J Am Acad Dermatol*. 2013;68(1):S10-S19.
  39. Terhorst D, Kalali BN, Ollert M, Ring J, Mempel M. The Role of Toll-Like Receptors in Host Defenses and Their Relevance to Dermatologic Diseases. *Am J Clin Dermatol*. 2010;11(1):1-10.
  40. Nelson MA, Einspahr JG, Alberts DS, Balfour CA, Wymer JA, Welch KL, et al. Analysis of the p53 gene in human precancerous actinic keratosis lesions and squamous cell cancers. *Cancer Lett*. 1994;85(1):23-29.
  41. Ziegler A, Jonason AS, Leffell DJ, Simon JA, Sharma HW, Kimmelman J, et al. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature*. 1994;372(6508):773-776.
  42. Jonason AS, Kunala S, Price GJ, Restifo RJ, Spinelli HM, Persing JA, et al. Frequent clones of p53-mutated keratinocytes in normal human skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(24):14025-14029.

43. Hodges A, Smoller BR. Immunohistochemical Comparison of P16 Expression in Actinic Keratoses and Squamous Cell Carcinomas of the Skin. *Mod Pathol.* 2002;15(11):1121-1125.
44. Braakhuis BJM, 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):1727-1730.
45. Ratushny V, Gober MD, Hick R, Ridky TW, Seykora JT. Review series From keratinocyte to cancer : the pathogenesis and modeling of cutaneous squamous cell carcinoma. *J Clin Invest.* 2012;122(2):464-472.
46. Toll A, Salgado R, Yébenes M, Martín-Ezquerro G, Gilaberte M, Baró T, et al. Epidermal growth factor receptor gene numerical aberrations are frequent events in actinic keratoses and invasive cutaneous squamous cell carcinomas. *Exp Dermatol.* 2010;19(2):151-153.
47. Sreevidya CS, Fukunaga A, Khaskhely NM, Masaki T, Ono R, Nishigori C, et al. Agents that Reverse UV-Induced Immune Suppression and Photocarcinogenesis Affect DNA Repair. *J Invest Dermatol.* 2010;130(5):1428-1437.
48. Miller RL, Meng T-C, Tomai MA. The antiviral activity of Toll-like receptor 7 and 7/8 agonists. *Drug News Perspect.* 2008;21(2):69-87.
49. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.* 1994;54(18):4855-4878.
50. Ceilley RI, Jorizzo JL. Current issues in the management of actinic keratosis. *J Am Acad Dermatol.* 2013;68(1 Suppl 1):S28-38.
51. Scurry J. Grading of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 2001;44(6):1052-1053.
52. Roewert-Huber J, Stockfleth E, Kerl H. Pathology and pathobiology of actinic (solar) keratosis - an update. *Br J Dermatol.* 2007;157:18-20.
53. Cockerell CJ. Histopathology of incipient intraepidermal squamous cell carcinoma (&quot;actinic keratosis&quot;). *J Am Acad Dermatol.* 2000;42(1 Pt 2):11-17.

54. Fu W, Cockerell CJ. The actinic (solar) keratosis: a 21st-century perspective. *Arch Dermatol.* 2003;139(1):66-70.
55. Ko CJ. Actinic keratosis: Facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2010;28(3):249-253.
56. Cockerell CJ, Wharton JR. New histopathological classification of actinic keratosis (incipient intraepidermal squamous cell carcinoma). *J Drugs Dermatol.* 4(4):462-467.
57. Jorizzo JL. Current and novel treatment options for actinic keratosis. *J Cutan Med Surg.* 2004;8 Suppl 3(S3):13-21.
58. Mittelbronn MA, Mullins DL, Ramos-Caro FA, Flowers FP. Frequency of pre-existing actinic keratosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol.* 1998;37(9):677-681.
59. Fernández-Figueras MT, Carrato C, Sáenz X, Puig L, Musulen E, Ferrándiz C, et al. Actinic keratosis with atypical basal cells (AK I) is the most common lesion associated with invasive squamous cell carcinoma of the skin. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2015;29(5):991-997.
60. Halpern AC, Hanson LJ. Awareness of, knowledge of and attitudes to nonmelanoma skin cancer (NMSC) and actinic keratosis (AK) among physicians. *Int J Dermatol.* 2004;43(9):638-642.
61. Martorell-Calatayud A, Sanmartín Jimenez O, Cruz Mojarrieta J, Guillén Barona C. Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: Defining the High-Risk Variant. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Ed.* 2013;104(5):367-379.
62. Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE, British Association of Dermatologists Therapy Guidelines and Audit Subcommittee and the British Photodermatology Group. Guidelines for topical photodynamic therapy: update. *Br J Dermatol.* 2008;159(6):1245-1266.
63. Vatve M, Ortonne J-P, Birch-Machin MA, Gupta G. Management of field change in actinic keratosis. *Br J Dermatol.* December 2007:21-24.
64. Kaufmann R, Spelman L, Weightman W, Reifenberger J, Szeimies R-M, Verhaeghe E, et al. 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):994-999.
65. Kurwa HA, Yong-Gee SA, Seed PT, Markey AC, Barlow RJ. A randomized paired comparison of photodynamic therapy and topical 5-fluorouracil in the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 1999;41(3 Pt 1):414-418.
  66. Morton C, Horn M, Leman J, Tack B, Bedane C, Tjioe M, et al. Comparison of topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy with cryotherapy or Fluorouracil for treatment of squamous cell carcinoma in situ: Results of a multicenter randomized trial. *Arch Dermatol.* 2006;142(6):729-735.
  67. Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, et al. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47(2):258-262.
  68. Gupta AK, Davey V, Mcphail H. Evaluation of the effectiveness of imiquimod and 5-fluorouracil for the treatment of actinic keratosis: Critical review and meta-analysis of efficacy studies. *J Cutan Med Surg.* 2005;9(5):209-214.
  69. Kose O, Koc E, Erbil AH, Caliskan E, Kurumlu Z. Comparison of the efficacy and tolerability of 3% diclofenac sodium gel and 5% imiquimod cream in the treatment of actinic keratosis. [file:///C:/Users/Luis/Desktop/long term ameluz y metvix.pdf](file:///C:/Users/Luis/Desktop/long%20term%20ameluz%20y%20metvix.pdf). 2008;19(3):159-163.
  70. Krawtchenko N, Roewert-Huber J, Ulrich M, Mann I, Sterry W, Stockfleth E. A randomised study of topical 5% imiquimod vs. topical 5-fluorouracil vs. cryosurgery in immunocompetent patients with actinic keratoses: a comparison of clinical and histological outcomes including 1-year follow-up. *Br J Dermatol.* December 2007:34-40.
  71. Schön M, Schön MP. The antitumoral mode of action of imiquimod and other imidazoquinolines. *Curr Med Chem.* 2007;14(6):681-687.
  72. Schön MP, Schön M. Imiquimod: mode of action. *Br J Dermatol.*

- 2007;157 Suppl:8-13.
73. Vatve M, Ortonne J-P, Birch-Machin MA, Gupta G. Management of field change in actinic keratosis. *Br J Dermatol.* 2007;157 Suppl 2:21-24.
  74. Hadley G, Derry S, Moore RA. Imiquimod for actinic keratosis: systematic review and meta-analysis. *J Invest Dermatol.* 2006;126(6):1251-1255.
  75. Gupta AK, Davey V, Mcphail H. Evaluation of the effectiveness of imiquimod and 5-fluorouracil for the treatment of actinic keratosis: Critical review and meta-analysis of efficacy studies. *J Cutan Med Surg.* 2005;9(5):209-214.
  76. Falagas ME, Angelousi AG, Peppas G. Imiquimod for the treatment of actinic keratosis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J Am Acad Dermatol.* 2006;55(3):537-538.
  77. Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, Christophers E. Successful treatment of actinic keratosis with imiquimod cream 5%: a report of six cases. *Br J Dermatol.* 2001;144(5):1050-1053.
  78. Stockfleth E, Meyer T, Benninghoff B, Salasche S, Papadopoulos L, Ulrich C, et al. A randomized, double-blind, vehicle-controlled study to assess 5% imiquimod cream for the treatment of multiple actinic keratoses. [file:///C:/Users/Luis/Desktop/long term ameluz y metvix.pdf](file:///C:/Users/Luis/Desktop/long%20term%20ameluz%20y%20metvix.pdf). 2002;138(11):1498-1502.
  79. Alomar A, Bichel J, McRae S. Vehicle-controlled, randomized, double-blind study to assess safety and efficacy of imiquimod 5% cream applied once daily 3 days per week in one or two courses of treatment of actinic keratoses on the head. *Br J Dermatol.* 2007;157(1):133-141.
  80. Krawtchenko N, Roewert-Huber J, Ulrich M, Mann I, Sterry W, Stockfleth E. A randomised study of topical 5% imiquimod vs. topical 5-fluorouracil vs. cryosurgery in immunocompetent patients with actinic keratoses: a comparison of clinical and histological outcomes including 1-year follow-up. *Br J Dermatol.* 2007;157 Suppl:34-40.
  81. Stockfleth E, Christophers E, Benninghoff B, Sterry W. Low incidence of new actinic keratoses after topical 5% imiquimod cream treatment:

- a long-term follow-up study. *Arch Dermatol.* 2004;140(12):1542.
82. Jorizzo J, Dinehart S, Matheson R, Moore JK, Ling M, Fox TL, et al. Vehicle-controlled, double-blind, randomized study of imiquimod 5% cream applied 3 days per week in one or two courses of treatment for actinic keratoses on the head. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(2):265-268.
  83. Lebwohl M, Dinehart S, Whiting D, Lee PK, Tawfik N, Jorizzo J, et al. Imiquimod 5% cream for the treatment of actinic keratosis: Results from two phase III, randomized, double-blind, parallel group, vehicle-controlled trials. [file:///C:/Users/Luis/Desktop/long term ameluz y metvix.pdf](file:///C:/Users/Luis/Desktop/long%20term%20ameluz%20y%20metvix.pdf). 2004;50(5):714-721.
  84. Hanke CW, Beer KR, Stockfleth E, Wu J, Rosen T, Levy S. Imiquimod 2.5% and 3.75% for the treatment of actinic keratoses: results of two placebo-controlled studies of daily application to the face and balding scalp for two 3-week cycles. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(4):573-581.
  85. Swanson N, Abramovits W, Berman B, Kulp J, Rigel DS, Levy S. Imiquimod 2.5% and 3.75% for the treatment of actinic keratoses: results of two placebo-controlled studies of daily application to the face and balding scalp for two 2-week cycles. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(4):582-590.
  86. Zeichner JA, Stern DWK, Uliasz A, Itenberg S, Lebwohl M. Placebo-controlled, double-blind, randomized pilot study of imiquimod 5% cream applied once per week for 6 months for the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60(1):59-62.
  87. Gilaberte Y, Serra-Guillén C, de las Heras ME, Ruiz-Rodríguez R, Fernández-Lorente M, Benvenuto-Andrade C, et al. Photodynamic therapy in dermatology. *Actas Dermosifiliogr.* 2006;97(2):83-102.
  88. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2001;74(5):656-669.
  89. Maisch T, Santarelli F, Schreml S, Babilas P, Szeimies R-M. Fluorescence induction of protoporphyrin IX by a new 5-aminolevulinic acid nanoemulsion used for photodynamic therapy in

- a full-thickness ex vivo skin model. *Exp Dermatol.* 2010;19(8):e302-5.
90. Szeimies R-M, Radny P, Sebastian M, Borrosch F, Dirschka T, Krähn-Senftleben G, et al. Photodynamic therapy with BF-200 ALA for the treatment of actinic keratosis: results of a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *Br J Dermatol.* 2010;163(2):386-394.
  91. Reinhold U, Dirschka T, Ostendorf R, Aschoff R, Berking C, Philipp-Dormston WG, et al. A randomized, double-blind, phase III, multicentre study to evaluate the safety and efficacy of BF-200 ALA (Ameluz<sup>®</sup>) vs. placebo in the field-directed treatment of mild-to-moderate actinic keratosis with photodynamic therapy (PDT) when using the BF-RhodoLED<sup>®</sup> lamp. *Br J Dermatol.* 2016;175(4):696-705.
  92. Dirschka T, Radny P, Dominicus R, Mensing H, Brüning H, Jenne L, et al. Photodynamic therapy with BF-200 ALA for the treatment of actinic keratosis: results of a multicentre, randomized, observer-blind phase III study in comparison with a registered methyl-5-aminolaevulinate cream and placebo. *Br J Dermatol.* 2012;166(1):137-146.
  93. Dirschka T, Radny P, Dominicus R, Mensing H, Brüning H, Jenne L, et al. Long-term (6 and 12 months) follow-up of two prospective, randomized, controlled phase III trials of photodynamic therapy with BF-200 ALA and methyl aminolaevulinate for the treatment of actinic keratosis. *Br J Dermatol.* 2013;168(4):825-836.
  94. Hauschild A, Popp G, Stockfleth E, Meyer K-G, Imberger D, Mohr P, et al. Effective photodynamic therapy of actinic keratoses on the head and face with a novel, self-adhesive 5-aminolaevulinic acid patch. *Exp Dermatol.* 2009;18(2):116-121.
  95. Fauteck J-D, Ackermann G, Birkel M, Breuer M, Moor ACE, Ebeling A, et al. Fluorescence characteristics and pharmacokinetic properties of a novel self-adhesive 5-ALA patch for photodynamic therapy of actinic keratoses. *Arch Dermatol Res.* 2008;300(2):53-60.
  96. Sotiriou E, Apalla Z, Chovarda E, Goussi C, Trigoni A, Ioannides D. Single vs. fractionated photodynamic therapy for face and scalp actinic keratoses: a randomized, intraindividual comparison trial with

- 12-month follow-up. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2012;26(1):36-40.
97. Rhodes LE, de Rie M, Enström Y, Groves R, Morken T, Goulden V, 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(1):17-23.
  98. Tarstedt M, Rosdahl I, Berne B, Svanberg K, Wennberg A-M. A randomized multicenter study to compare two treatment regimens of topical methyl aminolevulinate (Metvix)-PDT in actinic keratosis of the face and scalp. *Acta Derm Venereol.* 2005;85(5):424-428.
  99. Moloney FJ, Collins P. Randomized, double-blind, prospective study to compare topical 5-aminolaevulinic acid methylester with topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy for extensive scalp actinic keratosis. *Br J Dermatol.* 2007;157(1):87-91.
  100. Morton C, Campbell S, Gupta G, Keohane S, Lear J, Zaki I, et al. 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(5):1029-1036.
  101. Piacquadio DJ, Chen DM, Farber HF, Fowler JF, Glazer SD, Goodman JJ, et al. Photodynamic therapy with aminolevulinic acid topical solution and visible blue light in the treatment of multiple actinic keratoses of the face and scalp: investigator-blinded, phase 3, multicenter trials. *Arch Dermatol.* 2004;140(1):41-46.
  102. Morton C, Campbell S, Gupta G, Keohane S, Lear J, Zaki I, et al. 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(5):1029-1036.
  103. Bissonnette R, Bolduc C, Maari C, Nigen S. Short incubation photodynamic therapy with methylaminolevulinate and no occlusion for the treatment of actinic keratoses. *J Am Acad Dermatol.* 2012;67(6):1386-1387.
  104. Kaufmann R, Spelman L, Weightman W, Reifenberger J, Szeimies R-M,

- Verhaeghe E, et al.. 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):994-999.
105. Sotiriou E, Apalla Z, Maliamani F, Zapparas N, Panagiotidou D, Ioannides D. Intraindividual, right-left comparison of topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy vs. 5% imiquimod cream for actinic keratoses on the upper extremities. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2009;23(9):1061-1065.
  106. Ericson MB, Sandberg C, Stenquist B, Gudmundson F, Karlsson M, Ros A-M, et al. Photodynamic therapy of actinic keratosis at varying fluence rates: assessment of photobleaching, pain and primary clinical outcome. *Br J Dermatol.* 2004;151(6):1204-1212.
  107. Grapengiesser S, Ericson M, Gudmundsson F, Larkö O, Rosén A, Wennberg A-M. Pain caused by photodynamic therapy of skin cancer. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27(6):493-497.
  108. Sandberg C, Stenquist B, Rosdahl I, Ros A-M, Synnerstad I, Karlsson M, et al. Important factors for pain during photodynamic therapy for actinic keratosis. *Acta Derm Venereol.* 2006;86(5):404-408.
  109. Serra-Guillen C, Hueso L, Nagore E, Vila M, Llombart B, Requena Caballero C, et al. Comparative study between cold air analgesia and supraorbital and supratrochlear nerve block for the management of pain during photodynamic therapy for actinic keratoses of the frontotemporal zone. *Br J Dermatol.* 2009;161(2):353-356.
  110. Babilas P, Knobler R, Hummel S, Gottschaller C, Maisch T, Koller M, et al. Variable pulsed light is less painful than light-emitting diodes for topical photodynamic therapy of actinic keratosis: a prospective randomized controlled trial. *Br J Dermatol.* 2007;157(1):111-117.
  111. von Felbert V, Hoffmann G, Hoff-Lesch S, Abuzahra F, Renn CN, Braathen LR, et al. Photodynamic therapy of multiple actinic keratoses: reduced pain through use of visible light plus water-filtered infrared A compared with light from light-emitting diodes. *Br J Dermatol.* 2010;163(3):607-615.
  112. Hadley J, Tristani-Firouzi P, Hull C, Florell S, Cotter M, Hadley M.

- Results of an investigator-initiated single-blind split-face comparison of photodynamic therapy and 5% imiquimod cream for the treatment of actinic keratoses. *Dermatologic Surg.* 2012;38(5):722-727.
113. Tanaka N, Ohata C, Ishii N, Imamura K, Ueda A, Furumura M, et al. Comparative study for the effect of photodynamic therapy, imiquimod immunotherapy and combination of both therapies on 40 lesions of actinic keratosis in Japanese patients. *J Dermatol.* 2013;40(12):962-967.
  114. Sotiriou E, Apalla Z, Vrani F, Lallas A, Chovarda E, Ioannides D. Photodynamic therapy vs. imiquimod 5% cream as skin cancer preventive strategies in patients with field changes: A randomized intraindividual comparison study. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2015;29(2):325-329.
  115. Mastrolonardo M. Topical diclofenac 3% gel plus cryotherapy for treatment of multiple and recurrent actinic keratoses. *Clin Exp Dermatol.* 2009;34(1):33-35.
  116. Berman B, Goldenberg G, Hanke CW, Tyring SK, Werschler WP, Knudsen KM, et al. Efficacy and safety of ingenol mebutate 0.015% gel after cryosurgery of actinic keratosis: 12-month results. *J Drugs Dermatol.* 2014;13(6):741-747.
  117. Martin G. Prospective, case-based assessment of sequential therapy with topical Fluorouracil cream 0.5% and ALA-PDT for the treatment of actinic keratosis. *J Drugs Dermatol.* 2011;10(4):372-378.
  118. Gilbert DJ. Treatment of actinic keratoses with sequential combination of 5-fluorouracil and photodynamic therapy. *J Drugs Dermatol.* 4(2):161-163.
  119. Kaminska ECN, Tsoukas MM. Combining field therapies for actinic keratoses: novel approaches that intensify photodynamic therapy. *Skinmed.* 11(1):54-58.
  120. Pei S, Kaminska ECN, Tsoukas MM. Treatment of Actinic Keratoses. *Dermatologic Surg.* 2017;43(9):1170-1175.
  121. Price NM. The treatment of actinic keratoses with a combination of 5-fluorouracil and imiquimod creams. *J Drugs Dermatol.* 2007;6(8):778-

- 781.
122. Van der Geer S, Krekels GAM. Treatment of actinic keratoses on the dorsum of the hands: ALA-PDT versus diclofenac 3% gel followed by ALA-PDT. A placebo-controlled, double-blind, pilot study. *J Dermatolog Treat.* 2009;20(5):259-265.
  123. Berman B, Nestor MS, Newburger J, Park H, Swenson N. Treatment of facial actinic keratoses with aminolevulinic acid photodynamic therapy (ALA-PDT) or ingenol mebutate 0.015% gel with and without prior treatment with ALA-PDT. *J Drugs Dermatol.* 2014;13(11):1353-1356.
  124. Shaffelburg M. Treatment of actinic keratoses with sequential use of photodynamic therapy; and imiquimod 5% cream. *J Drugs Dermatol.* 2009;8(1):35-39.
  125. Sotiriou E, Lallas A, Goussi C, Apalla Z, Trigoni A, Chovarda E, et al. Sequential use of photodynamic therapy and imiquimod 5% cream for the treatment of actinic cheilitis: A 12-month follow-up study. *Br J Dermatol.* 2011;165(4):888-892.
  126. Held L, Eigentler TK, Leiter U, Garbe C, Berneburg MJ. Effective combination of photodynamic therapy and imiquimod 5% cream in the treatment of actinic keratoses: Three cases. *Biomed Res Int.* 2013;2013.
  127. Zane C, Capezzer R, Sala R, Venturini M, Calzavara-Pinton P. Clinical and echographic analysis of photodynamic therapy using methylaminolevulinate as sensitizer in the treatment of photodamaged facial skin. *Lasers Surg Med.* 2007;39(3):203-209.
  128. Touma D, Yaar M, Whitehead S, Konnikov N, Gilchrest BA. A Trial of Short Incubation, Broad-Area Photodynamic Therapy for Facial Actinic Keratoses and Diffuse Photodamage. *Arch Dermatol.* 2004;140(1):33-40.
  129. Goldman M, Atkin D. ALA/PDT in the treatment of actinic keratosis: spot versus confluent therapy. *J Cosmet Laser Ther.* 2003;5(2):107-110.
  130. Marmur ES, Phelps R, Goldberg DJ. Ultrastructural changes seen after

- ALA-IPL photorejuvenation: a pilot study. *J Cosmet Laser Ther.* 2005;7(1):21-24.
131. Orringer JS, Hammerberg C, Hamilton T, Johnson TM, Kang S, Sachs DL, et al. Molecular effects of photodynamic therapy for photoaging. *Arch Dermatol.* 2008;144(10):1296-1302.
132. Issa MCA, Piñeiro-Maceira J, Vieira MTC, Olej B, Mandarim-De-Lacerda CA, Luiz RR, et al. Photorejuvenation with topical methyl aminolevulinate and red light: A randomized, prospective, clinical, histopathologic, and morphometric study. *Dermatologic Surg.* 2010;36(1):39-48.
133. Park MY, Sohn S, Lee ES, Kim YC. Photorejuvenation induced by 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy in patients with actinic keratosis: A histologic analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2010;62(1):85-95.
134. Bagazgoitia L, Cuevas Santos J, Juaranz Ú, Jaén P. Photodynamic therapy reduces the histological features of actinic damage and the expression of early oncogenic markers. *Br J Dermatol.* 2011;165(1):144-151.
135. Sanclemente G, Correa LA, Garcia JJ, Barrera M, Villa JF, Garcia HI. Methyl aminolevulinate plus red light vs . placebo plus red light in the treatment of photodamaged facial skin : histopathological findings. 2012:379-386.
136. Metcalf S, Crowson AN, Naylor M, Haque R, Cornelison R. Imiquimod as an antiaging agent. *J Am Acad Dermatol.* 2007;56(3):422-425.
137. Naylor MF, Crowson N, Kuwahara R, Teague K, Garcia C, Mackinnis C, et al. Treatment of lentigo maligna with topical imiquimod. *Br J Dermatol.* 2003;149 Suppl 66:66-70.
138. Smith K, Hamza S, Germain M, Skelton H. Does imiquimod histologically rejuvenate ultraviolet radiation-damaged skin? *Dermatologic Surg.* 2007;33(12):1419-1428.
139. Uitto J. The role of elastin and collagen in cutaneous aging: intrinsic aging versus photoexposure. *J Drugs Dermatol.* 2008;7(2 Suppl):s12-6.

140. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol*. 2002;138(11):1462-1470.
141. Hughes MC, Bredoux C, Salas F, Lombard D, Strutton GM, Fourtanier A, et al. Comparison of histological measures of skin photoaging. *Dermatology*. 2011;223(2):140-151.
142. Landi MT, Bauer J, Pfeiffer RM, Elder DE, Hulley B, Minghetti P, et al. MC1R Germline Variants Confer Risk for BRAF-Mutant Melanoma. *Science (80- )*. 2006;313(5786):521-522.
143. Serra-Guillén C, Nagore E, Hueso L, Traves V, Messeguer F, Sanmartín O, et al. A randomized pilot comparative study of topical methyl aminolevulinate photodynamic therapy versus imiquimod 5% versus sequential application of both therapies in immunocompetent patients with actinic keratosis: Clinical and histologic outcomes. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(4):131-137.
144. Serra-Guillen C, Nagore E, Hueso L, Llombart B, Requena C, Sanmartín O, et al. A randomized comparative study of tolerance and satisfaction in the treatment of actinic keratosis of the face and scalp between 5% imiquimod cream and photodynamic therapy with methyl aminolaevulinate. *Br J Dermatol*. 2011;164(2):429-433.
145. Szeimies RM, Karrer S, Radakovic-Fijan S, Tanew A, Calzavara-Pinton PG, Zane C, et al. Photodynamic therapy using topical methyl 5-aminolevulinate compared with cryotherapy for actinic keratosis: A prospective, randomized study. *J Am Acad Dermatol*. 2002;47(2):258-262.
146. Gupta AK, Paquet M. Network meta-analysis of the outcome “participant complete clearance” in nonimmunosuppressed participants of eight interventions for actinic keratosis: A follow-up on a Cochrane review. *Br J Dermatol*. 2013;169(2).
147. Vegter S, Tolley K. A Network Meta-Analysis of the Relative Efficacy of Treatments for Actinic Keratosis of the Face or Scalp in Europe. Postma M, ed. *PLoS One*. 2014;9(6):e96829.
148. Montagna W, Kirchner S, Carlisle K. Histology of sun-damaged human skin. *J Am Acad Dermatol*. 1989;21(5 Pt 1):907-918.

149. Chung JH, Seo JY, Lee MK, Eun HC, Lee JH, Kang S, et al. Ultraviolet modulation of human macrophage metalloelastase in human skin in vivo. *J Invest Dermatol.* 2002;119(2):507-512.
150. Le Pillouer-Prost A, Cartier H. Photodynamic Photorejuvenation: A Review. *Dermatol Surg.* 2016;42(1):21-30.
151. Skin N, Carpenter PM, Linden KG, McLaren CE, Li K, Arain S, et al. Nuclear Morphometry and Molecular Biomarkers of Actinic Nuclear Morphometry and Molecular Biomarkers of Actinic. *Analysis.* 2004;13(December):1996-2002.
152. Stratigos AJ, Kapranos N, Petrakou E, Anastasiadou A, Pagouni A, Christofidou E, et al. Immunophenotypic analysis of the p53 gene in non-melanoma skin cancer and correlation with apoptosis and cell proliferation. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2005;19(2):180-186.
153. Talghini S, Halimi M, Baybordi H. Expression of P27, Ki67 and P53 in squamous cell carcinoma, actinic keratosis and Bowen disease. *Pakistan J Biol Sci PJBS.* 2009;12(12):929-933.
154. Kim KH, Park EJ, Seo YJ, Cho HS, Kim CW, Kim KJ, et al. Immunohistochemical study of cyclooxygenase-2 and p53 expression in skin tumors. *J Dermatol.* 2006;33(5):319-325.



## 9. MATERIAL SUPLEMENTARIO