

Terapia fotodinâmica no Brasil: 10 anos de história

Photodynamic therapy in Brazil: 10 years of history

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201683102>

RESUMO

A Terapia Fotodinâmica convencional, aprovada no Brasil desde 2006 para câncer de pele não melanoma, é um tratamento consagrado em todo mundo. A evolução da TFD, nos últimos 10 anos, inclui seu uso em outras indicações, sua associação às técnicas que promovem aumento da permeação do fotossensibilizante e o uso da luz do dia, em substituição à luz artificial. Esta nova modalidade, que utiliza a luz do dia, foi aprovada no Brasil em 2014 para tratamento de ceratose actínica e campo de cancerização, e apresenta a vantagem de manter a eficácia da Terapia Fotodinâmica convencional sem seus efeitos colaterais.

Palavras-chave: terapia fotodinâmica; luz; câncer da pele; ceratose actínica

ABSTRACT

Conventional Photodynamic Therapy (c-PDT), approved in Brazil since 2006 for non-melanoma skin cancer, is a well-established treatment worldwide. The evolution of PDT, in the last 10 years, includes its use in other indications, its association with techniques that promote increased photosensitizer permeation and use of daylight instead of artificial light. This new method, which uses daylight, was approved in Brazil in 2014 for the treatment of actinic keratosis and field cancerization, with the benefit of maintaining c-PDT's efficacy without adverse events.

Keywords: photochemotherapy; light; skin neoplasms; keratosis, actinic

INTRODUÇÃO

A Terapia Fotodinâmica (TFD) tópica é definida como uma reação fotoquímica utilizada para causar destruição seletiva de um tecido, através da formação de oxigênio *singlet* e de outras espécies reativas de oxigênio, que se acumulam nas células malignas e pré-malignas, produzindo efeito citotóxico. Para que ocorra essa reação, são necessários um fotossensibilizante no tecido alvo, uma fonte de luz específica para excitação do fotossensibilizante e a presença de oxigênio.^{1,2} Os fotossensibilizantes tópicos mais utilizados são o ácido aminolenulínico (ALA) e o metilaminolevulinato (MAL) (Figura 1). Ambos são pró-drogas, e precisam ser transformados via enzimática dentro da célula em protoporfirina IX (PpIX), que é o fotossensibilizante endógeno. Para o procedimento, uma leve curetagem deve ser realizada antes da aplicação do fotossensibilizante (ALA ou MAL), que permanecerá na pele sob oclusão, antes da exposição à luz (Figura 2). Entre as fontes de luz utilizadas na Terapia Fotodinâmica convencional (TFD-c), estão disponíveis as lâmpadas de amplo espectro, diodos emissores de luz (*Light Emitting Diodes* - LED), a Luz Intensa Pulsada (LIP) e os *lasers*.³⁻⁵

Artigo de revisão

Autores:

Maria Claudia Almeida Issa¹
Mariana Boechat²
Aline Cairo Fassini³

¹ Professora adjunta da disciplina de dermatologia na Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

² Mestranda em dermatologia na Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

³ Residente de dermatologia na Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

Correspondência para:

Maria Cláudia Almeida Issa
Praia de Icaraí, 139 – 702, Icaraí
24230-001 - Niterói – Rio de Janeiro
E-mail: dr.mariaissa@gmail.com

Data de recebimento: 17/08/2016

Data de aprovação: 01/09/2016

Conflito de Interesse: A Galderma Indústria Farmacêutica fez a doação dos medicamentos (Metvix®) para o estudo, sem nenhuma remuneração para os pesquisadores ou pacientes.

Suporte financeiro: Nenhum

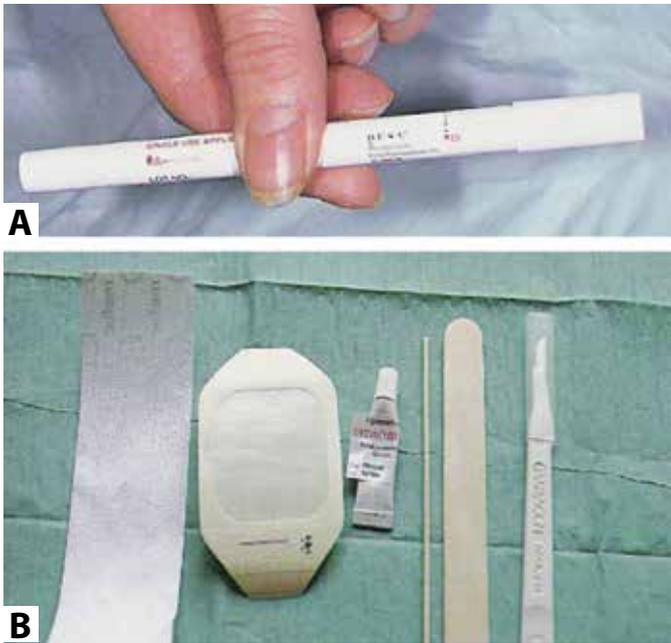


FIGURA 1: A - LEVULAN KERASTICK® DUSA; B METVIX® GALDERMA



FIGURA 2: preparo da pele para TFD convencional

A TFD-c tem sua indicação precisa para tratamento do câncer de pele não melanoma (em inglês, NMSC) e está aprovada para ceratose actínica (CA), carcinoma basocelular superficial (CBC) de baixo risco e doença de Bowen.⁶⁻⁸ Entre as indicações *off label*,

destaca-se o tratamento do fotoenvelhecimento que foi baseado nos achados de melhora global da qualidade da pele (rugos, textura e pigmentação) durante o tratamento do campo de cancerização.⁹⁻¹⁵

Uma nova técnica que utiliza a fração de luz visível da radiação solar é chamada, em inglês, de Daylight Photodynamic Therapy (DLPDT). Diversos estudos relatam que a DLPDT tem a mesma eficácia que a TFD-c no tratamento de lesões de CA e campo de cancerização, entretanto com menos efeitos colaterais. Esta nova terapia não está indicada para tratamento de carcinomas.¹⁶⁻²³

Mais recentemente, métodos ablativos fracionados (radiofrequência ablativa e laser de Erbium ou CO₂) e microagulhamento vêm sendo usados para a aplicação transepidermica de medicamento, em inglês *transepidermal drug delivery* (TED).²⁴⁻⁴² O uso da TED é relatada para tratamento de diferentes dermatoses, e a associação com a TFD, com o objetivo de aumentar a penetração de ALA ou MAL, parece potencializar os resultados da TFD-c ou até mesmo da TFD com a luz do dia.

HISTÓRICO

Em 1999, o *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o ácido 5-aminolevulínico - ALA (Levulan Kerastick®, DUSA Pharmaceuticals, Massachusetts, EUA) para ceratoses actínicas múltiplas. Em 2002, o derivado esterificado do ALA, o metilaminolevulinato -MAL (Metvix®, Galderma, Paris, França) foi aprovado na Europa para ceratoses actínicas e carcinoma basocelular. O MAL foi posteriormente aprovado nos USA em 2004 para ceratoses actínicas. Em 2006, o MAL teve sua aprovação amplamente difundida no mundo. Nesta época, foi aprovado no Brasil para ceratoses actínicas e carcinoma basocelular. Somente em 2008, o Levulan chegou ao Brasil, tendo sido distribuído por um curto período. Em 2009, o MAL também foi aprovado para doença de Bowen no nosso país. A inovação da técnica com utilização da luz do dia para ativação do MAL foi aprovada no Brasil em 2014 e na Europa em 2015.

Terapia Fotodinâmica Convencional no tratamento do Câncer de Pele Não Melanoma

A CA apresenta alterações moleculares e genéticas semelhantes às lesões do carcinoma espinocelular (CEC), sendo considerada, por alguns autores, um carcinoma *in situ*. Outros a consideram uma lesão pré-maligna, com um índice de transformação anual em CEC entre 0,25% a 16% ao longo de 10 a 25 anos.^{43,44} Entre os tratamentos utilizados para CA estão a criocirurgia, a eletrocoagulação, os medicamentos tópicos, a excisão cirúrgica e a TFD. Em geral, a utilização da TFD tópica para tratamento das CA apresenta índice de cura entre 73% a 100%. A TFD tem eficácia semelhante ou superior aos tratamentos convencionais, além de ser um método de fácil aplicação e rápido, com curto tempo de recuperação e excelente resultado cosmético.⁴⁵⁻⁴⁷ Em um estudo realizado por Freeman e cols,⁴⁸ a MAL-TFD foi estatisticamente mais eficaz que um único ciclo de congelamento/ descongelamento com spray de nitrogênio líquido.

Dragieva e colaboradores⁴⁹ avaliaram a eficácia da TFD com MAL em pacientes transplantados. O estudo duplo cego

com 2 sessões de MAL-TFD ou placebo, com intervalo de 1 semana, foi realizado em 17 pacientes com número total de 129 lesões de CA. O estudo concluiu que o tratamento com MAL-TFD é seguro e eficaz no tratamento de CA em pacientes transplantados, podendo reduzir o risco de transformação para carcinoma escamoso invasivo.

O carcinoma basocelular (CBC) é o tumor maligno cutâneo mais comum (70%) na idade adulta. Seu tratamento deve ser escolhido de acordo com o tipo clínico, histológico, tamanho e localização do tumor. Entre as opções terapêuticas, estão a excisão cirúrgica (padrão ouro), eletrocoagulação e curetagem, a crioterapia, os imunomoduladores, os agentes citotóxicos e a radioterapia. Embora, um melhor resultado seja descrito com MAL, possivelmente pela maior lipofilia, maior seletividade e capacidade de penetração,⁵⁰ as características clínicas, histopatológicas e a agressividade do tumor são fatores importantes para a indicação correta da TFD. Dados estatísticos baseados em estudos multicêntricos, com grande número de pacientes e com duração de 5 anos de acompanhamento, revelam que a TFD com MAL-luz vermelha alcança uma taxa de cura de aproximadamente 95% no tratamento de CBC superficial, e de 73% a 94% para CBC nodular, na avaliação após 3 meses. A taxa de recidiva para CBC superficial é de aproximadamente 22%, semelhante aos tratamentos convencionais, como a crioterapia que apresenta taxa de recidiva em torno de 19%. Para CBC nodular, a longo prazo, a taxa de recidiva encontra-se próxima a 14%, comparada à recidiva de apenas 4% da cirurgia.^{46,51}

Com relação à doença de Bowen, estudos comparativos entre MAL-TFD, crioterapia e 5-fluorouracil (5-FU) mostraram resultado cosmético superior com MAL-TFD, e taxas de cura após 24 meses de 68% para MAL-TFD, de 60% para crioterapia, e de 59% para 5-FU. A TFD-c está bem indicada para tratamento das lesões de grande diâmetro e localizadas nos membros inferiores, as quais apresentam grande dificuldade na cicatrização pós-procedimento cirúrgico ou crioterapia.⁵¹

Terapia Fotodinâmica convencional: indicações *off-label*

A exposição à radiação ultravioleta é a principal causa de distúrbios cutâneos como queimadura solar, fotodano e câncer de pele. Os sinais visíveis da pele fotodanificada são caracterizados por rugas, textura áspera da pele, alteração de pigmentação, telangiectasias e, em alguns casos, as CA e carcinomas (CBC e CEC).^{14,15,52} Tecnologias à base de luz (LED, LIP e Laser) de forma isolada, sem fotossensibilizante, atuam sobre as alterações pigmentares e vasculares, além de induzirem a síntese de colágeno na pele fotodanificada. Entretanto, somente a TFD, associando luz e fotossensibilizante, trata também as CA.^{11,53,54}

Além da melhora clínica da pele fotodanificada, amplamente relatada na literatura, alguns autores descreveram modificações histológicas e imuno-histoquímicas induzidas pela TFD-c, tais como: melhor organização das fibras elásticas, aumento da densidade das fibras colágenas, aumento de metaloproteínas.^{14,15,55}

Outras indicações *off label* incluem o tratamento de acne inflamatória, verrugas virais, leishmaniose, necrobiose lipoídica,

granuloma anular, micose fungóide e doença de Paget extra-mamária.^{24,25} Para todas essas indicações, os mecanismos de ação são muito pouco esclarecidos e os resultados variáveis. Portanto a TFD não deve ser considerada a primeira escolha, e deve ser indicada em casos precisos.

Aplicação Transepidérmica de Medicamento Associada à Terapia Fotodinâmica Convencional

TED é uma nova modalidade terapêutica em Dermatologia utilizada para aumentar a penetração de medicamentos através das camadas mais superficiais da pele. Na literatura, técnicas antigas e com mecanismos pouco esclarecidos são citadas com o objetivo de transpor essa barreira cutânea em diferentes profundidades, incluindo iontoforese, eletroporação e ondas fotomecânicas.⁽³⁷⁻⁴²⁾ O uso de ultrassom (US) para administração transepidérmica de diferentes moléculas, como insulina, manitol, glicose, heparina, morfina, cafeína e lidocaína⁵⁶, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, foi descrito na literatura.^{57,58} Estudos mais recentes sobre TED relatam o uso de métodos ablativos para a permeação de medicamento no tratamento de diversas doenças dermatológicas, como ceratose actínica, cicatrizes hipertróficas, estrias e alopecia areata.^{59,60}

Através de métodos ablativos fracionados (radiofrequência ablativa, laser de Erbium e CO₂) e de microagulhamento (Figura 3), micro-perfurações permeiam os medicamentos aplicados topicamente na superfície da pele, ultrapassando sua principal barreira cutânea, o estrato córneo.²⁴⁻³¹ Fukui e cols²⁵ relataram a associação de laser de CO₂ fracionado à TFD-c para tratamento de câncer de pele não melanoma, doença de Paget extra-mamária e poroceratose. Kassuga e Issa⁶¹ relataram os efeitos clínicos da TFD-c isolada comparada à associação de TFD com RF ablativa fracionada. Revelaram que, mesmo reduzindo o tempo de incubação do agente fotossensibilizante (MAL) de 3 horas para 1 hora, essa associação foi mais eficaz na redução do número de lesões de CA nos antebraços do que a TFD isolada. Além da melhora das CA, houve melhora da textura e pigmentação de toda área tratada, com melhor rejuvenescimento do lado tratado por radiofrequência (RF) associada à TFD.

A técnica de microagulhamento para TED associado à TFD também vem sendo relatada. No mercado, estão disponíveis algumas marcas de *roller* para microagulhamento por rolagem na superfície cutânea, bem como as canetas motorizadas com agulhas descartáveis para agulhamento tipo carimbo. Torenzan e cols³⁶ compararam a TFD-c com a TFD associada ao uso de microagulhas. Não foi evidenciado aumento da eficácia da TFD associada ao microagulhamento com relação ao número de CAs. Entretanto, esta associação proporcionou melhora na qualidade global da pele, com diminuição da hiperpigmentação e da flacidez, além de reduzir rugas profundas.

Terapia Fotodinâmica com a Luz do Dia

A TFD com a luz do dia vem sendo estudada na Europa e Austrália nos últimos anos, e foi aprovada no Brasil em 2014, com o objetivo de diminuir efeitos colaterais e o tempo de preparo da TFD-c, mantendo sua eficácia no tratamento de CA

e campo de cancerização. Não existem estudos que indiquem o uso de DLPDT para carcinomas.¹⁸⁻²³

Para a realização da TFD com luz do dia, toda a pele exposta deve ser coberta por protetor solar químico puro, sem bloqueadores físicos. Desta forma, será permitida apenas ação da luz visível sobre a pele, mantendo-se a proteção contra a irradiação ultravioleta.¹⁸ Após aproximadamente 15 minutos, procede-se à curetagem superficial com uma cureta dermatológica. Em caso de discreto sangramento, deve-se realizar compressão com gaze antes da aplicação do fotossensibilizante MAL, que não deve ser ocluído. O paciente deve ser exposto à luz do dia em até 30 minutos. Essa exposição deve ser realizada por um período de 2 horas (Figura 4). Para o tratamento de toda face, a quantidade de 1g de MAL (meio tubo) é o suficiente em cada sessão.

A TFD com luz do dia não deve ser realizada em dia de chuva ou em dias com nuvens escuras que possam atrapalhar a claridade da luz. Entretanto, pode ser realizada em outra condição climática, como com a presença de nuvens claras. Em países de clima frio, a temperatura deve ser adequada ao conforto do paciente e não deve ser menor que 10° C, para que não haja interferência na produção da PpIX durante o período de exposição solar. Eficácias semelhantes foram alcançadas a despeito de tempo nublado ou ensolarado em estudos que avaliaram o tratamento de ceratoses actínicas, em diferentes países, com diferentes latitudes e altitudes, incluindo o Brasil.¹⁸⁻²⁰ No Brasil, a média de luminosidade emitida em todos os meses do ano e em todas as regiões, do Norte ao Sul, foi semelhante à luminosidade dos estudos australianos, o que nos dá a informação de que a DLPDT terá a mesma eficácia em todo território nacional.

A TFD com luz do dia proporciona uma excelente tolerabilidade do paciente, o qual relata mínima dor ou ausência da dor durante o procedimento. Este fato pode ser explicado pelo fato de que, na TFD-c, existe uma grande formação de PpIX durante a oclusão do MAL na área tratada durante 3 horas antes da exposição à luz LED, com subsequente grande excitação da PpIX e produção de radicais livres. Em contrapartida, na TFD com luz do dia, o tempo de incubação do MAL é de no máximo

30 minutos, sem oclusão, antes da exposição à luz do dia. Desta forma, ocorre excitação e degradação da PpIX durante toda exposição à luz, com produção gradual da resposta fotoquímica neste período e consequente redução da intensidade da resposta inflamatória (dor, eritema e edema).¹⁹⁻²²

Aplicação transepidérmica de medicamento associada à Terapia Fotodinâmica com a Luz do Dia

A resposta clínica da CA e do campo de cancerização à DLPDT é semelhante a resposta clínica à TFD-c com luz artificial.^{20,21} Entretanto, a melhora dos outros aspectos da pele fotodanificada, como rugas, pigmentação e flacidez, parecem ser menos evidentes quando comparados à TFD-c. Este fato, provavelmente, se deve à menor resposta inflamatória induzida pela luz visível do espectro de radiação solar sobre a protoporfirina IX, formada simultaneamente ao período de exposição à luz do dia.

Baseado nos estudos sobre TED associado à TFD-c,^{36,61} acreditamos que a associação TED com TFD e luz do dia também possa trazer benefícios ao tratamento global da pele fotodanificada, com melhora não apenas das lesões de ceratose actínica, mas também da textura, rugas e pigmentação da pele. Casos pilotos, realizados por nós, mostram esta nova possibilidade terapêutica, associando a TFD com luz do dia a técnicas de TED no rejuvenescimento global da pele (ver artigo X publicado nesta revista).

CONCLUSÃO

A TFD tópica é uma ferramenta muito útil para a Dermatologia em todo o mundo, e está aprovada no Brasil desde 2006 para tratamento do câncer de pele não melanoma. Neste período, a técnica sofreu inovações e novas indicações que são baseadas em estudos internacionais e nacionais. Atualmente, uma nova modalidade de TFD que usa a luz do dia também está aprovada em nosso país, trazendo benefícios, como o tratamento de grande área, de forma prática e eficaz, com tempo curto de recuperação e sem efeitos colaterais. A associação de técnicas para aumentar a permeação do fotossensibilizante é um assunto muito recente e parece complementar os benefícios da TFD-c e da TFD com a luz do dia. ●

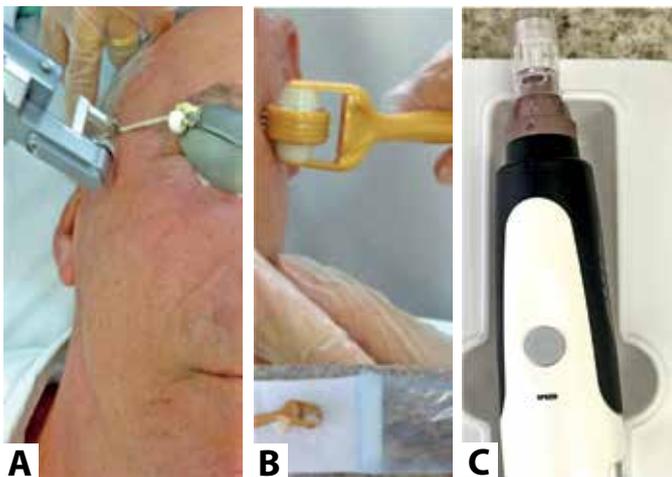


FIGURA 3: Métodos para aplicação transepidérmica de medicamento (MAL); **A** - Laser de CO2 fracionado; **B** - Microagulhamento com roller **C** - Microagulhamento com caneta

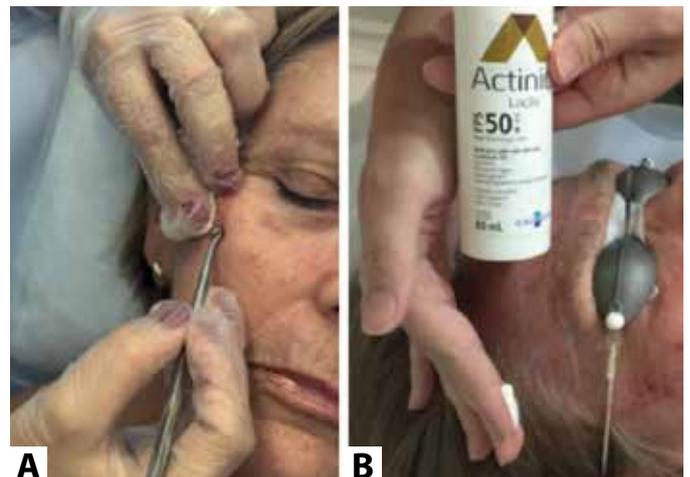


FIGURA 4: Preparo da pele para Terapia Fotodinâmica com Luz do Dia: **A** - Curetagem superficial da lesão (ceratose actínica); **B** - Aplicação de filtro solar químico puro

REFERÊNCIAS

1. Kalka K, Merk H, Mukhtar H. Photodynamic Therapy In Dermatology. *J Am Dermatol* 2000; 42 (3): 389-413.
2. Allison RR, Mota HC, Sibata CH. Clinical PD/PDT in North America. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2004;1(4):263-77.
3. Kurwa HA, Barlow RJ. The role of photodynamic therapy in dermatology. *Clin Exp Dermatol*. 1999; 24(3): 143-8.
4. Morton CA. Photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer— and more?. *Arch Dermatol*. 2004;140(1):116-20.
5. Issa MCA, Manela-Azulay M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *An Bras Dermatol*. 2010;85(4):501-11.
6. Varma S, Wilson H, Kurwa HA, Gambles B, Charman C, Pearse AD, et al. Bowen's disease, solar keratoses and superficial basal cell carcinomas treated by photodynamic therapy using a large field incoherent light source. *Br J Dermatol*. 2001; 144(3): 567-74.
7. Peng Q, Soler AM, Warloe T, Nesland JM, Giercksky KE. Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinic acid. *J Photochem Photobiol B: Biol*. 2001; 62(3): 140-5.
8. Soler AM, Warloe T, Berner A, Giercksky KE. A follow-up study of recurrence and cosmesis in completely responding superficial and nodular basal cell carcinomas treated with methyl-5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy alone and with prior curettage. *Br J Dermatol*. 2001; 145(3): 467-71.
9. Raulin C, Greve B, Grema H. IPL technology: A review. *Lasers Surg Med*. 2003;32(2):78-87.
10. Avram DK, Goldman MP. Effectiveness and safety of ALA-IPL in treating actinic keratoses and photodamage. *J Drugs Dermatol*. 2004; 3(1 Suppl):S36-39.
11. Nestor MS. Combination therapy in clinical and cosmetic dermatology: the marriage of device and drug. *J Drugs Dermatol*. 2004; 3(5 Suppl):S4-11
12. Touma DJ, Gilchrist BA. Topical photodynamic therapy: a new tool in cosmetic dermatology. *Semin Cutan Med Surg*. 2003; 22(2):124-130.
13. Gold MH, Bradshaw VL, Boring MM, Bridges TM, Biron JA. Split-face comparison of photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light versus intense pulsed light alone for photodamage. *Dermatol Surg*. 2006; 32(6):795-801; discussion 801-793.
14. Almeida Issa MC, Piñeiro-Maceira J, Farias RE, Pureza M, Raggio Luiz R, Manela-Azulay M. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinases in photodamaged skin by photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2009; 161 (3): 647-53.
15. Issa MCA, Piñeiro-Maceira J, Vieira MTC, Olej B, Mandarim-de-Lacerda CA, Luiz RR, et al. Photorejuvenation with Topical Methyl Aminolevulinic acid and Red Light: A Randomized, Prospective, Clinical, Histopathologic, and Morphometric Study. *Dermatol Surg*. 2010;36(1):39-48.
16. Braathen LR. Daylight Photodynamic Therapy in Private Practice in Switzerland: Gain Without Pain. *Acta Derm Venereol*. 2012; 92(6):652-3.
17. Wiegell SR, Wulf HC, Szeimies RM, Basset-Seguín N, Bissonnette R, Gertschen MJ, et al. Daylight photodynamic therapy for actinic keratosis: an international consensus: International Society for Photodynamic Therapy in Dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012; 26(6): 673-9.
18. Morton CA, Wulf HC, Szeimies RM. Practical approach to the use of daylight photodynamic therapy with topical methyl aminolevulinic acid for actinic keratosis: a European consensus. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(9):1718-23.
19. Rubel DM, Spelman L, Murrell DF, See JA, Hewitt D, Foley P, et al. Daylight PDT with methyl aminolevulinic acid cream as a convenient, similarly effective, nearly painless alternative to conventional PDT in actinic keratosis treatment: a randomized controlled trial. *Br J Dermatol*. 2014; 171(5): 1164-71.
20. Lacour J. Results of 2 randomised, controlled, phase III studies with Daylight- PDT in Australia and Europe. *Euro-PDT 14th Annual Congress; April 4th-5th, 2014; Nice, France*.
21. Wiegell SR, Haedersdal M, Philipsen PA, Eriksen P, Enk CD, Wulf HC. Continuous activation of PpIX by daylight is as effective as and less painful than conventional photodynamic therapy for actinic keratoses – a randomized, controlled study. *Br J Dermatol* 2008; 158(4): 740-6.
22. Wiegell SR, Haedersdal M, Eriksen P, Wulf HC. Photodynamic therapy of actinic keratoses with 8% and 16% methyl aminolevulinic acid and home-based daylight exposure: a double-blinded randomized clinical trial. *Br J Dermatol* 2009; 160(6):1308-14.
23. Wiegell SR, Fabricius S, Stender IM, Berne B, Kroon S, Andersen BL, et al. A randomized, multicenter study of directed daylight exposure times of 1½ vs. 2½ h in daylight-mediated photodynamic therapy with methyl aminolevulinic acid in patients with multiple thin actinic keratoses of the face and scalp. *Br J Dermatol* 2011; 164(5):1083-90.
24. Yoo KH, Kim BJ, Kim MN. Enhanced efficacy of photodynamic therapy with methyl 5-aminolevulinic acid in recalcitrant periungual warts after ablative carbon dioxide fractional laser: a pilot study. *Dermatol Surg* 2009; 35(12):1927-32.
25. Fukui T, Watanabe D, Tamada Y, Matsumoto Y. Photodynamic therapy following carbon dioxide laser enhances efficacy in the treatment of extramammary Paget's disease. *Acta Derm Venereol* 2009;89(2):150-4.
26. Letada PR, Shumaker PR, Ueberlhoer NS. Demonstration of protoporphyrin IX (PpIX) localized to areas of palmar skin injected with 5 aminolevulinic acid (ALA) and pre-treated with a fractionated CO2 laser prior to topically applied ALA. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2010;7(2):120-2.
27. Haedersdal M, Sakamoto FH, Farinelli WA, Doukas AG, Tam J, Anderson RR. Fractional CO2 laser-assisted drug delivery. *Laser Surg Med*. 2010;42(2):113-22.
28. Shen SC, Lee WR, Fang YP, Hu CH, Fang JY. In vitro percutaneous absorption and in vivo protoporphyrin IX accumulation in skin and tumors after topical 5-aminolevulinic acid application with enhancement using an Erbium:YAG laser. *J Pharm Sci*. 2006; 95(4):929-38.
29. Stumpp OF, Welch AJ, Milner TE, Neev J. Enhancement of transepidermal skin clearing agent delivery using a 980 nm diode laser. *Lasers Surg Med*. 2005;37(4):278-85.
30. Fang JY, Lee WR, Shen SC, Fang YP, Hu CH. Enhancement of topical 5-aminolevulinic acid delivery by Erbium:YAG laser and microdermabrasion: a comparison of iontophoresis and electroporation. *Br J Dermatol*. 2004 ;151(1): 132-40.
31. Wang KF, Fang JY, Hu CH, Lee WR. Erbium:YAG laser pretreatment accelerates the response of Bowen's disease treated by topical 5-fluorouracil. *Dermatol Surg*. 2004; 30(3): 441-5.
32. McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR. Microfabricated microneedles for gene and drug delivery. *Annu Rev Biomed Eng*. 2000; 2: 289-313.
33. Henry S, McAllister DV, Allen MG, Prausnitz MR. Microfabricated microneedles: a novel approach to transdermal drug delivery. *J Pharm Sci*. 1998; 87(8): 922-5.

34. Donnelly RF, Morrow DI, McCarron PA, Woolfson AD, Morrissey A, Juzenas P, et al. Microneedle-mediated intradermal delivery of 5-aminolevulinic acid: potential for enhanced topical photodynamic therapy. *J Control Release*. 2008;129(3):154-62.
35. Mikolajewska P1, Donnelly RF, Garland MJ, Morrow DI, Singh TR, Iani V, et al. Microneedle pre-treatment of human skin improves 5-aminolevulinic acid (ALA)- and 5-aminolevulinic acid methyl ester (MAL)-induced PpIX production for topical photodynamic therapy without increase in pain or erythema. *Pharm Res*. 2010;27(10):2213-20.
36. Torezan L, Chaves Y, Niwa A, Sanches JA Jr, Festa-Neto C, Szeimies RM. A pilot split-face study comparing conventional methyl aminolevulinic acid (ALA)-photodynamic therapy (PDT) with microneedling-assisted PDT on actinically damaged skin. *Dermatol Surg*. 2013;39(8):1197-201.
37. Curdy C, Kalia YN, Guy RH. Non-invasive assessment of the effects of iontophoresis on human skin in vivo. *J Pharm Pharmacol*. 2001;53:769-77.
38. Li GL, van der Geest R, Chanet L, van Zanten E, Danhof M, Bouwstra JA. In vitro iontophoresis of R-apomorphine across human stratum corneum. Structure-transport relationship of penetration enhancement. *J Control Release*. 2002;84(1-2):49-57.
39. Prausnitz MR. A practical assessment of transdermal drug delivery by skin electroporation. *Adv Drug Delivery Rev*. 1999;35(1):61-76.
40. Vanbever R, Preat V. In vivo efficacy and safety of electroporation. *Adv Drug Deliv Rev*. 1999;35(1):77-88.
41. Lee S, Kollias N, McAuliffe DJ, Flotte TJ, Doukas AG. Topical drug delivery in humans with a single photomechanical wave. *Pharm Res*. 1999;16(11):1717-21.
42. Lee S, McAuliffe DJ, Kollias N, Flotte TJ, Doukas AG. Permeabilization and recovery of the stratum corneum in vivo: the synergy of photomechanical waves and sodium lauryl sulfate. *Lasers Surg Med*. 2001;29(2):145-50.
43. Malveyh, J. A new vision of actinic keratosis beyond visible clinical lesions. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29 Suppl 1:3-8.
44. Erlendsson AM, Egekvist H, Lorentzen HF, Philipsen PA., Stausbøl-Grøn B., Stender IM, et al. Actinic keratosis: a cross-sectional study of disease characteristics and treatment patterns in Danish dermatology clinics. *International Journal of Dermatology*, 55(3): 309–16.
45. 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.
46. Braathen LR, Szeimies RM, Basset-Seguín N, Bissonnette R, Foley P, Parisser D, et al. Guidelines on the use of photodynamic therapy for non-melanoma skin cancer: An international consensus. *J Am Acad Dermatol*. 2007;56(1):125–43.
47. Fink-Puches R, Soyer HP, Hofer A, Kerl H, Wolf P. Long-term follow-up and histological changes of superficial nonmelanoma skin cancers treated with topical delta-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Arch Dermatol*. 1998;134(7):821-6.
48. Freeman M, Vinciullo C, Francis D, Spelman L, Nguyen R, Fergin P, et al. A comparison of photodynamic therapy using topical methyl aminolevulinic acid (Metvix) with single cycle cryotherapy in patients with actinic keratosis: a prospective, randomized study. *J Dermatolog Treat*. 2003;14(2):99-106.
49. Dragieva G, Prinz BM, Hafner J, Dummer R, Burg G, Binswanger U, et al. A randomized controlled clinical trial of topical photodynamic therapy with methyl aminolevulinic acid in the treatment of actinic keratoses in transplant recipients. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):196-200.
50. Szeimies RM. Methyl aminolevulinic acid-photodynamic therapy for basal cell carcinoma. *Dermatol Clin*. 2007;25(1):89-94.
51. Lehmann P. Methyl aminolevulinic acid-photodynamic therapy: a review of clinical trials in the treatment of actinic keratoses and nonmelanoma skin cancer. *Br J Dermatol*. 2007;156(5):793-801.
52. Cesarini JP, Michel L, Maurette JM, Adhoute H, Bejot M. Immediate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2003;19(4):182-9.
53. Ruiz-Rodriguez R, Sanz-Sanchez T, Cordoba S. Photodynamic photorejuvenation. *Dermatol Surg*. 2002;28(8):742-744; discussion 744.
54. Alster TS, Tanzi EL, Welsh EC. Photorejuvenation of facial skin with topical 20% 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light treatment: a split-face comparison study. *J Drugs Dermatol*. 2005;4(1):35-38.
55. Szeimies RM, Torezan L, Niwa A, Valente N, Unger P, Kohl E, et al. Clinical, histopathological and immunohistochemical assessment of human skin field cancerization before and after photodynamic therapy. *Br J Dermatol*. 2012;167(1):150-9.
56. Lavon I, Kost J. Ultrasound and transdermal drug delivery. *Drug Discov Today* 2004;9(15):670-6.
57. Tachibana K, Tachibana S. Transdermal delivery of insulin by ultrasonic vibration. *J Pharm Pharmacol* 1991;43(4):270-1.
58. Sintov AC, Krymberk I, Daniel D, Hannan T, Sohn Z, Levin G. Radiofrequency-driven skin microchanneling as a new way for electrically assisted transdermal delivery of hydrophilic drugs. *J Control Release* 2003;89(2):311-20.
59. Issa MCA, Kassuga LEBP, Chevrand NS, Pires, MTF. Topical delivery of triamcinolone via skin pretreated with ablative radiofrequency: a new method in hypertrophic scar treatment. *Int J Dermatol*. 2012. 52(3): 367-70.
60. Issa MC, Pires M, Silveira P, Xavier de Brito E, Sasajima C. Transepidermal drug delivery: a new treatment option for areata alopecia? *J Cosmet Laser Ther*. 2015;17(1):37-40.
61. Kassuga LEBP, Issa MCA, Chevrand NS. Aplicação transepidérmica de medicamento associado a terapia fotodinâmica no tratamento de ceratoses actínicas. *Surg Cosmet Dermatol*. 2012;4(1):89-92.