

TERAPIA FOTODINÂMICA: UMA NOVA MODALIDADE TERAPÊUTICA NO TRATAMENTO DE TUMORES CUTÂNEOS

MARIA BERNADETE RIEMMA PIERRE,

Professor Adjunto, Departamento de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Av. Brigadeiro Trompowsky, s/n. 21.941.590, Rio de Janeiro- RJ- Brasil.

E-mail: bernadete.pierre@gmail.com

A radiação solar e o câncer cutâneo

A incidência de câncer cutâneo tem aumentado rapidamente em populações brancas, durante as últimas décadas, sendo a exposição excessiva ao sol a sua principal causa. A depleção da camada de ozônio resulta no aumento na radiação UV, que atinge a superfície da terra e deve contribuir para a exacerbação da incidência do câncer de pele. Este aumento associado à exposição da luz solar pode ser devido em parte à imunossupressão induzida pela radiação UV. Vários estudos concluem que há relação entre a depleção da camada de ozônio com o aumento na radiação UV na biosfera, resultando no aumento da incidência do câncer de pele.

Os tumores cutâneos (melanomas e não-melanomas) são evidenciados por lesões sólidas, consistentes e indolores (Bechelli e Curban, 1988). Os **melanomas** têm origem nas células da pele produtoras de pigmento (os melanócitos) enquanto os carcinomas ou câncer de pele **não-melanoma** são originados dos queratinócitos, células da epiderme que produzem a camada córnea. Dentre este último tipo, os mais comuns são representados pelo Carcinoma de células basais (CCB) superficial e nodular e Carcinoma de Células Escamosas, os quais ocorrem quase exclusivamente em partes do corpo expostas ao sol, sendo o risco maior em pessoas que se queimam facilmente. Os melanomas são tumores de extrema malignidade já que as metástases ocorrem rapidamente; por outro lado, os não-melanomas, não produzem metástases.

A Terapia Fotodinâmica

O aumento da incidência de tumores de pele tipo não-melanoma tem estimulado a pesquisa de novas modalidades terapêuticas. Os métodos convencionais utilizados até agora no tratamento de tumores não-melanoma superficiais incluem cirurgia (excisão), crioterapia, eletrodissecação, quimioterapia tópica e radioterapia (Martin et al., 1995).

Uma nova modalidade terapêutica para o tratamento de neoplasias malignas, a qual tem apresentado excelentes resultados, é denominada **Terapia Fotodinâmica (TFD)** e vem sendo desenvolvida nos últimos vinte anos como um novo tratamento clínico para vários tipos de câncer sólidos no homem (Peng, Q et al., 1995). Este novo tratamento vem sendo utilizado nos últimos anos nos maiores centros

de tratamento de câncer do mundo em uma grande variedade de doenças neoplásicas.

A TFD envolve a administração sistêmica de um fotossensibilizante (substância sensível à luz) localizado no tumor e sua ativação subsequente pela luz de um comprimento de onda apropriado (geralmente luz laser) para criar uma reação fotoquímica causando danos ao tumor.

Várias classes de substâncias fotossensibilizantes têm sido testadas em experimentos de TFD *in vivo* e *in vitro*: porfirinas (derivado da hematoporfirina); ftalocianinas; porfírenos; clorinas; feoforbides; precursores da porfirina (ácido 5-aminolevulínico e seus ésteres) e outros (fluoresceínas, antracenos, derivados da clorofila, fenotiazinas, azul de metileno, Rosa Bengala, rodamina 123, etc (Fritish, et al. 1998).

Na primeira etapa deste tratamento, a substância fotossensibilizante é administrada, por injeção intravenosa ou intratumoral, e, após um período que pode variar de quatro a 72 horas, ocorre o acúmulo da substância no tumor. Na segunda etapa, os tecidos contendo o fotossensibilizante são submetidos a irradiações com luz monocromática, usualmente no comprimento de onda máximo de absorção do fotossensibilizante (**FIGURA 1**).

A substância fotossensibilizante então absorve os fótons na presença de oxigênio (usualmente presente no meio), iniciando assim vários processos fotofísicos induzindo a produção de espécies reativas de oxigênio (1O_2 , *O_2 , *OH e H_2O_2) definidas como EROs, as quais atacam centros específicos dentro dos sistemas celulares, desencadeando a morte do tecido tumoral ou apoptose celular (Taylor & Brown, 2002).

Há mais de 25 anos a TFD foi proposta como um tratamento útil em oncologia, mas somente há poucos anos vem sendo utilizada mais amplamente na prática clínica. Em oncologia, esta modalidade de tratamento tem sido utilizada em vários tipos de estados pré-cancerosos como esôfago de Barret, câncer de bexiga e da cavidade oral, além de câncer de pulmão, cabeça e pescoço, próstata, degeneração macular, dentre outros (Brown et al., 2004).

A TFD tópica do câncer de pele

Em dermatologia, a TFD tem sido empregada no tratamento de várias doenças de pele pré-malignas – ceratose actínica e doença de Bowen (Dragieva et al., 2004) bem

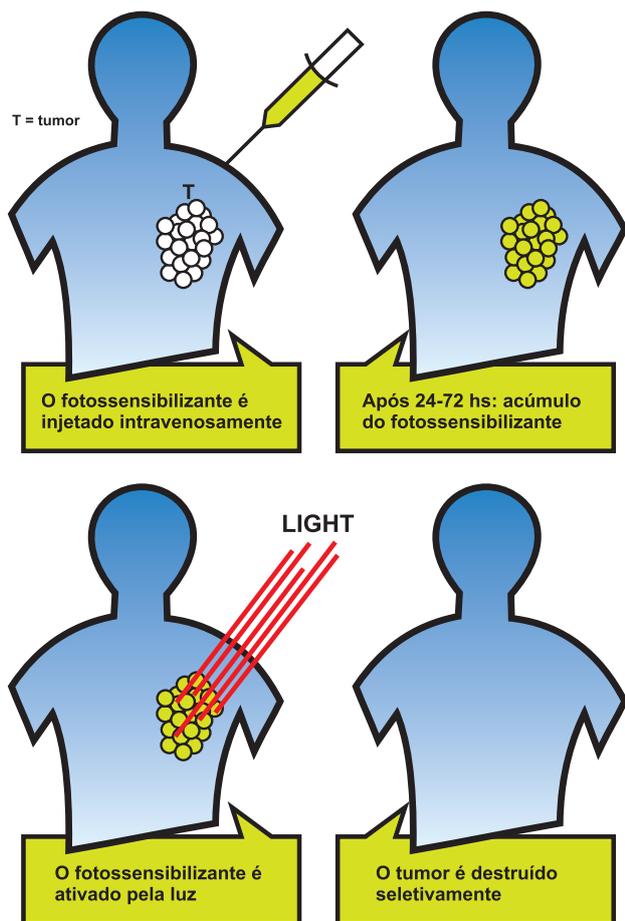


Figura 1. Esquema de tratamento da Terapia Fotodinâmica.

como em tumores de pele superficiais como Carcinoma de Células Basais (Braathen et al., 2007).

A primeira substância fotossensibilizante utilizada no tratamento do câncer associado a TFD foi o derivado da *hematoporfirina*, administrada intravenosamente. O produto comercial Photofrin II® consiste de uma mistura de porfirinas para uso injetável e representa a primeira geração de fotossensibilizantes aprovado para uso clínico (Dougherty, T. J., 1993). Porém, as reações de fotossensibilidade prolongada e generalizada da pele num período de quatro a seis semanas quando da exposição do paciente ao sol, bem como as falhas para a seletividade tumoral, limitaram o seu uso (Silva et al., 2006). Além disso, nesta TFD padrão podem ocorrer reações inflamatórias e efeitos vasculares, incluindo danos às células endoteliais, agregação das células sanguíneas, diminuição fluxo sanguíneo, etc.

Assim, um procedimento alternativo para o tratamento de tumores malignos superficiais utiliza a TFD tópica, ou seja, a aplicação dos fármacos fotossensibilizáveis no local da lesão (nesse caso, na pele) apresentando a vantagem de ser bastante seletivo comparado à administração por via intravenosa. Além disso, na administração tópica o fotossensibilizante é rapidamente excretado, evitando a fotossensibilização generalizada da pele.

O uso do ácido 5-aminolevulínico na TFD tópica do câncer de pele

Na tentativa de evitar o problema de fotossensibilização generalizada da pele, Kennedy e colaboradores (1990) foram os primeiros a descrever um novo método de TFD utilizando uma substância denominada **ácido 5-aminolevulínico (5-ALA)** mostrando resultados favoráveis no tratamento de alguns tumores cutâneos superficiais tipo não melanoma. Os resultados deste primeiro teste clínico da TFD tópica mostraram uma taxa de 90% de cura em 80 lesões tratadas com 20% (p/p) de 5-ALA em uma emulsão O/A e após um período de 3-6 horas, o local da lesão foi irradiado com uma fonte de luz apropriada.

O 5-ALA é um **pró-fármaco**, ou seja, não é um fotossensibilizante, mas um precursor de uma substância altamente fluorescente e fotodinamicamente ativa, a **Protoporfirina IX (PpIX)** a qual é formada *in vivo* na mitocôndria, sendo a precursora imediata do heme (**FIGURA 2**). Assim sendo, após a aplicação de 5-ALA, a incidência de uma fonte de luz de comprimento de onda na região do visível, induz a formação da PpIX. Naturalmente, a produção do 5-ALA na via biossintética do heme é controlada por mecanismo de "feedback" negativo, onde a presença do heme livre inibe a sua síntese (Kennedy e Pottier, 1992). Assim, quando um excesso de 5-ALA "exógeno" é aplicado topicamente e estimulado fotodinamicamente, esta inibição por "feedback" pode ser evitada, levando a produção de porfirinas endógenas, principalmente a PpIX, que se acumulam no tecido canceroso (Dickson e Pottier, 1995).

A PpIX é o fotossensibilizante que levará à apoptose celular e conseqüentemente, à morte das células cancerosas. A luz visível aplicada (faixa de 400- 640 nm) ativará a PpIX, a qual é excitada a um nível de energia mais alto. O excesso de energia é transferido para o oxigênio tecidual (o estado tripleto), o qual é então transformado para o estado singleto. O oxigênio singleto é um agente altamen-

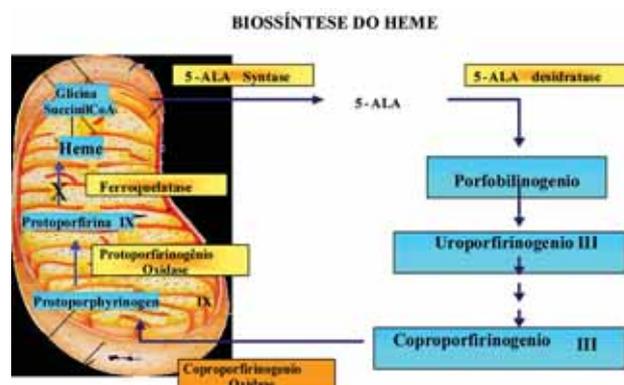


Figura 2. Representação esquemática da biossíntese do heme, a qual ocorre em todas as células nucleadas do organismo. O 5-ALA aplicado exogenamente supera o controle de *feedback* negativo do heme na formação intracelular de 5-ALA, levando ao acúmulo de PpIX.

te citotóxico de vida curta que causa a necrose do tumor (Ochsner, 1997).

Topicamente aplicado, o 5-ALA passa prontamente através da epiderme com estrato córneo anormal (tecido canceroso), mas não através da epiderme normal, permitindo a fotossensibilização altamente seletiva de tumores da pele. Isto evita o efeito generalizado de sensibilização da pele como ocorre na TFD padrão. A fotossensibilização com as porfirinas endógenas produzidas após a aplicação tópica de 5-ALA geralmente desaparece dentro de 24 horas, limitando-se apenas a uma leve inflamação no local da aplicação (silva et al., 2006). Os efeitos terapêuticos são devidos, portanto, a uma citotoxicidade direta sobre o tumor, não sendo observados danos vasculares nas biópsias após tratamento. Isto faz do 5-ALA-TFD tópico uma modalidade prática de tratamento, a qual somente poucos anos após sua introdução, é usado experimentalmente em muitos centros clínicos no mundo.

O protocolo de aplicação da TFD-5-ALA tópico segue o esquema apresentado na **FIGURA 3**.

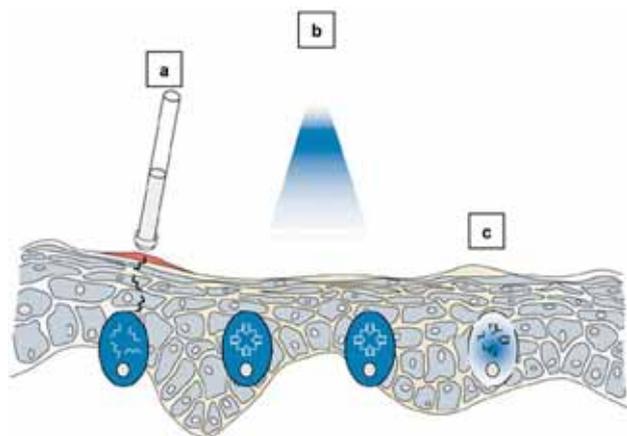


Figura 3. a) Aplicação do 5-ALA e conversão a PpIX: 5-ALA é aplicado na pele e é absorvido pelas células tumorais, sendo convertido a PpIX, um fotossensibilizante natural. **b) Exposição a luz visível:** ativa a PpIX, produzindo oxigênio singlete ($*O_2$) o qual é responsável pelos danos celulares no tecido tumoral. **c) Destruição das células alvo:** mínimos danos para os tecidos normais.

Vantagens e desafios do uso do 5-ALA na TFD do câncer de pele

Embora vários outros fotossensibilizantes que produzem PpIX tem sido usados em TFD clínica, o 5-ALA tem sido a substância mais pesquisada para este fim durante os últimos cinco anos, especialmente no tratamento de diferentes tipos de alterações cutâneas cancerosas e pré-cancerosas (**Figura 4**). Até o momento, o 5-ALA tem se mostrado eficaz no tratamento de várias doenças dermatológicas, principalmente nos estados pré-cancerosos como a ceratose solar ou actínicas, que são alterações caracterizadas por manchas



(a,b) Ceratose actínica com resposta completa após duas sessões de TFD.



(a,b) Carcinoma de células basais superficial com completa resposta após três sessões de TFD.



(a,b) Doença de Bowen com completa resposta após duas sessões de TFD.

Figura 4. Diferentes tipos de câncer cutâneo tipo não-melanoma tratados com TFD-5-ALA tópica mostrando excelentes resultados após poucas sessões de tratamento (Fonte: Baptista et al., 2006).

marrons e ásperas localizadas normalmente na face (Gold & Nestor, 2006). Essas manchas também são frequentes no colo, no antebraço e no dorso das mãos.

Por serem de origem solar, as ceratoses actínicas podem se transformar em câncer de pele, além de dar um aspecto antiestético (Fritsch, 1998). Além do sucesso obtido no tratamento de tumores de pele não-melanoma (Fink-Puches et al 1998), a TFD- 5-ALA tem sido uma terapia inovadora para o tratamento tópico de doenças não tumorais como psoríase e outras indicações que ainda estão sendo estudadas como o fotorejuvenescimento e acne vulgar (TAUB, 2004) alopecia aerata, verruga viral (Fritsch, 1998) e condiloma acuminado (Ross, 1997).

Nos EUA, a Terapia Fotodinâmica utilizando o 5-ALA é utilizada para tratar o envelhecimento solar, a acne vulgar e rosácea, o molusco contagioso, verrugas e outras dermatoses. Em todos os casos, após a aplicação observa-se um rosado na pele que desaparece no mesmo dia; nos casos de ceratoses actínicas são observadas pequenas crostas acastanhadas por alguns dias, que caem em uma semana.

No tratamento de tumores cutâneos tipo não-melanoma, a TFD-5-ALA tópica oferece muitas vantagens:

(a) Constitui uma modalidade terapêutica não invasiva, bem tolerada e poupa os tecidos ao redor do tumor, permanecendo estes intactos e funcionais (Baptista, et al., 2006).

(b) Tópicamente aplicado, o 5-ALA é captado preferencialmente pelo tecido neoplásico que apresenta estrato córneo (EC) anormal, porém sua penetração é dificultada através da epiderme normal ao redor, permitindo a fotossensibilização seletiva de tumores da pele, ou seja, evita os tecidos normais ao redor do tumor;

(c) Esta modalidade terapêutica tem sido particularmente útil para tumores grandes superficiais e para lesões em áreas anatômicas onde o desfiguramento causado pelas terapias convencionais pode apresentar sérios inconvenientes ao paciente. Assim sendo, o desenvolvimento de potentes fontes de lasers juntamente com a aplicação tópica do fotossensibilizante, faz da TFD-5-ALA tópica uma alternativa mais facilmente acessível (Morton, 2001);

(d) Estudos clínicos de TFD-ALA mostraram boa resposta clínica e excelentes resultados cosméticos, quando da aplicação tópica em queratoses solar e tumores superficiais cutâneos, incluindo carcinoma de células escamosas, doença de Bowen e carcinoma basocelular superficial (Mallik, et al., 1995; Blume & Oseroff, 2007).

(e) Curto período de fotossensibilização, podendo ser empregado no tratamento de lesões múltiplas, em sessões curtas e com uma boa aceitação pelos pacientes;

(f) Proporciona o acúmulo seletivo de PpIX, o agente fotossensibilizante responsável pela apoptose celular e destruição tumoral.

(g) Limitado risco de toxicidade um período de 24 horas, evitando assim o efeito de fotossensibilização da pele devido ao fato da PpIX e outros intermediários serem rapidamente eliminados do organismo.

Apesar das vantagens citadas, a utilização de 5-ALA na TFD ainda requer o desenvolvimento de formulações mais adequadas, devido ao fato da molécula de 5-ALA ser altamente hidrofílica, dificultando conseqüentemente, a penetração do 5-ALA através da pele intacta ou através das membranas celulares. Desse modo, são necessárias altas concentrações para induzir níveis suficientes de PpIX para propostas terapêuticas. Além disso, tumores de pele nodulares que apresentam uma espessura maior de 2-3 mm são refratários a TFD-ALA tópico pela dificuldade de penetração de 5-ALA. Este fato restringe a eficácia de tratamento onde áreas de tumores mais profundos devem ser alcançadas, limitando o tratamento às lesões localizadas superficialmente, como resultado da pobre penetração nos tecidos mais profundos (Peng, Q, 1997).

Entretanto, diversos estudos mostram que a eficácia do 5-ALA-PDT pode ser melhorada pela utilização de diferentes estratégias resumidas a seguir:

(a) uso de promotores da produção de PpIX e seu acúmulo no tecido alvo, como por exemplo a utilização de

quelantes de ferro na formulação para aumentar a produção de PPIX (Robinson, et al. 1998);

(b) modificações na molécula do 5-ALA, ou seja, o uso de derivados esterificados os quais apresentam lipofili- cidade aumentada e conseqüentemente aumento da capta- ção cutânea de 5-ALA resultando na síntese aumentada de PpIX (De Rosa et al., 2003);

(c) fontes de luz, doses, número e tempo de aplicação da TFD (Nestor et al., 2006);

(d) métodos físicos como a iontoforese (Lopez et al. 2003);

(e) O desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos apropriados que proporcionem um aumento na penetração, e conseqüentemente, na concentração de 5-ALA nos tecidos tumorais, constitui uma maneira promissora de otimizar a TFD tópica dos tumores cutâneos, como por exemplo: nanocolóides (Hürlimann et al., 1998), emulsões (Casas et al., 2001), lipossomos (Pierre et al., 2001), promotores de penetração para aumentar a fluidez dos lipídeos nas camadas do EC aumentando, assim, a permeabilidade da pele ao 5-ALA (Pierre et al., 2006), gel de fase cúbica (Turchiello et al., 2003) entre outros.

CONCLUSÕES

A TFD é uma modalidade terapêutica para o trata- mento do câncer de pele a qual combina agente fotossen- sibilizante, luz e oxigênio para a destruição do tumor. Os agentes fotossensibilizantes descritos até agora apresentam limitada afinidade para os tecidos tumorais e podem causar reações de fotossensibilidade cutânea após administração sistêmica. Entretanto, a aplicação tópica de fotossensibili- zantes, principalmente o 5-ALA para o tratamento de tumo- res cutâneos tem sido foco de intensa investigação na últi- ma década, devido às vantagens e resultados favoráveis com mínimo efeito colateral após tratamento. A eficácia clínica de 5-ALA-TFD tópica ainda pode ser melhorada de várias maneiras, sendo o desenvolvimento de novos sistemas de li- beração uma importante estratégia para o sucesso da TFD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAPTISTA, J.; MARTINEZ, C.; LEITE, L.; COCHITO, M. Our PDT experien- ce in the treatment of non-melanoma skin cancer over the last 7 years. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* v. 20 (6) p. 693-7, 2006.
- BECHELLI, L. M. and CURBAN, G. V. Tumores Cutâneos. *Compêndio de Dermatologia*, 6ª ed. Atheneu, São Paulo, 1988.
- BLUME, J. E. and OSEROFF, A. R. Aminolevulinic acid photodynamic therapy for skin cancers. *Dermatol Clin.*, v. 25 (1), p.5-14, 2007.
- BRAATHEN, L. R.; SZEIMIES, R. M.; BASSET-SEGUIN, N.; BISSONNETTE, R.; FOLEY, P.; PARISER, D.; ROELANDTS, R.; WENNBERG, A. M.; MORTON, C. A.; Guidelines on the use of photodynamic therapy for nonmelanoma skin cancer: an international consensus. *J Am Acad Dermatol.* v. 56(1) p. 125-43, 2007.

- BROWN, S. B.; BROWN, E. A.; WALKER, I. The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment. *Lancet Oncol.*, v. 5 (8) p.497-508, 2004.
- CASAS, A.; PEROTTI, C.; FUKUDA, H.; ROGERS, L.; BUTLER, A. R.; BATTLE, A. ALA and ALA hexyl ester-induced porphyrin synthesis in chemically induced skin tumours: the role of different vehicles on improving photosensitization. *Br. J. Cancer, London*, v. 85 (11) p. 1794-800, 2001.
- DE ROSA, F. S.; TEDESCO, A. C.; LOPEZ, R. F. V.; PIERRE, M. B. R.; LANGE, N.; MARCHETTI, J. M.; ROTA, J. C. G.; BENTLEY, M. V. L. In vitro skin permeation and retention of 5-aminolevulinic acid ester derivatives for photodynamic therapy. *J. Control. Rel.*; v. 89, p. 261-269, 2003.
- DICKSON, E. F. G. and POTTIER, R. H. The role of protoporphyrin IX photoproducts in photodynamic therapy. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, v. 29, p. 91-93, 1995.
- DOUGHERTY, T. J. Photodynamic Therapy. *Photochem. Photobiol.*, v. 58, p. 895-900, 1993.
- DRAGIEVA, G.; SCHARER, L.; DUMMER, R.; KEMPF, W. Photodynamic therapy-a new treatment option for epithelial malignancies of the skin., *Onkologie*. v. 27 (4) p. 407-11, 2004.
- FINK-PUCHES, R.; SOYER, H. P.; HOFER, A.; KERL, H.; WOLF P. Long-term follow-up and histological changes of superficial non-melanoma skin cancers treated with topical 5-aminolevulinic acid photodynamic therapy. *Arch. Dermatol.*, v. 134, p. 821-826, 1998.
- FRITISH, C.; GOERZ, G. and RUZICKA, T. Photodynamic Therapy in Dermatology. *Arch. Dermatol.*, Chicago, v. 34, p. 207-214, 1998.
- GOLD, M. H. and NESTOR, M. S. Current treatments of actinic keratosis. *J Drugs Dermatol.*, v. 5 (2 Suppl): 17-25, 2006.
- HURLIMANN, A. F.; HANGGI, G. and PANIZZON, R. G. Photodynamic therapy of superficial basal cell carcinomas using topical aminolevulinic acid in a nanocolloid lotion. *Dermatology*, Basel, v. 197, p. 248- 254, 1998.
- KENNEDY, J. C. and POTTIER, R. H. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J. Photochem Photobiol. B: Biology*, v. 14, p. 275-292, 1992.
- LOPEZ, R. F. V.; BENTLEY, M. V. L. B.; CHARRO, M. B. D. and GUY, R. H. Optimization of Aminolevulinic Acid (ALA) Delivery by Iontophoresis. *J. Control. Rel.*, Amsterdam, v. 88, p. 65-70, 2003.
- MALIK, Z.; KOSTENICH, G.; ROITMAN, L.; EHRENBERG, B. Topical application of 5-aminolevulinic acid, DMSO and EDTA: protoporphyrin IX accumulation in skin and tumors of mice. *J. Photochem. Photobiol.*, v. 28, p. 213-218, 1995.
- MARTIN, A.; TOPE, W. D.; GREVELINK, J. M.; STARR, J. C.; FEWKES, J. L.; FLOTTE, T. J.; DEUTSCH, T. F. AND ANDERSON, R. R. Lack of selectivity of protoporphyrin IX fluorescence for basal cell carcinoma after topical application of 5-aminolevulinic acid: implications for photodynamic treatment. *Arch. Dermatol. Res.*, v. 287, p. 665-674, 1995.
- MORTON, C. A. Topical photodynamic therapy in dermatology. *S. Afr. Med. J.*, Capetown, v. 91 (8) p. 634-7, 2001.
- NESTOR, M. S.; GOLD, M. H.; KAUVAR, A. N.; TAUB, A. F.; GERONEMUS, R. G.; RITVO, E. C.; GOLDMAN, M. P.; GILBERT, D. J.; RICHEY, D. F.; ALSTER, T. S.; ANDERSON, R. R.; BANK, D. E.; CARRUTHERS, A.; CARRUTHERS, J.; GOLDBERG, D. J.; HANKE, C. W.; LOWE, N. J.; PARISER, D. M.; RIGEL, D. S.; ROBINS, P.; SPENCER, J. M.; ZELICKSON, B. D. The use of photodynamic therapy in dermatology: results of a consensus conference. *J Drugs Dermatol.*, v. 5 (2):140-54, 2006.
- OCHSNER, M. Photophysical and photobiological process in the photodynamic therapy of tumours. *J. Photochem. Photobiol B: Biology*, v. 39, p. 1-18, 1997.
- PENG, Q.; WARLOE, T.; MOAN, J. and HEYERDAHAL, H. Distribution of 5-aminolevulinic acid induced porphyrins in noduloulcerative basal cell carcinoma. *Photochem. Photobiol.*, Oxford, v. 62, p. 906-913, 1995.
- PENG, Q. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: principles and experimental research. *Photochem. Photobiol.*, v. 65 (2) p. 235-251, 1997.
- PIERRE, M. B. R.; TEDESCO, A. C.; MARCHETTI, J. M. and BENTLEY, M. V. L. B. Stratum corneum lipid liposomes for the topical delivery of 5-aminolevulinic acid in photodynamic therapy of skin cancer: preparation and in vitro permeation study. *B. M. C. Dermatology*, v. 1, p. 5, 2001.
- PIERRE, M. B. R.; RICCI, E. JR.; TEDESCO, A. C. and BENTLEY, M. V. L. Oleic Acid as Optimizer of the Skin Delivery of 5-Aminolevulinic Acid in Photodynamic Therapy. *Pharm Res.*, v. 23 (2), p. 360-366, 2006.
- ROBINSON, D. J.; de Bruijn, H.S.; Van der Veen, N.; Stringer, M. R.; Brown, S. B.; Star, W. M. Fluorescence Photobleaching of ALA-induced protoporphyrin IX during photodynamic therapy of normal hairless mouse skin: the effect of light dose and irradiance and the resulting biological effect. *Photochem. Photobiol.*, v. 67, p. 140-149. 1998.
- ROSS, E.V.; Romero, R.; Kollias, N.; Crum, C.; Anderson, R. R. Selectivity of protoporphyrin IX fluorescence for condylomata after topical application of 5-aminolevulinic acid: implications for photodynamic treatment. *British. J. Dermatol.*, v. 137, p. 736-742, 1997.
- SILVA, J. N.; FILIPE, P.; MORLIERE, P.; MAZIERE, J. C.; FREITAS, J. P.; CIRNE DE CASTRO, J. L.; SANTUS, R. Photodynamic therapies: principles and present medical applications. *Biomed Mater Eng.*; v. 16 (4 Suppl): S147-54, 2006.
- TAUB, A. F. Photodynamic therapy in dermatology: history and horizons. *J Drugs Dermatol.* ;v.3(1 Suppl): S8-25, 2004
- TAYLOR, E. L. and BROWN, S. B. The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *J. Dermatol. Treat.*; London, v. 13, Suppl 1: S3-11, 2002.
- TURCHIELLO, R. F.; VENA, F. C. B.; MAILLARD, PH., SOUZA, C. S.; BENTLEY, M. V. L.; TEDESCO, A. C. Cubic phase gel as a drug delivery system for topical application of 5-ALA, its ester derivatives and *m*-THPC in photodynamic therapy (PDT). *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*, v. 70, p. 1-6, 2003.