



Universidad
de Alcalá

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**LÁSER Y TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL
TRATAMIENTO DEL ACNÉ.**

TESIS DOCTORAL

Irene García Morales

Madrid, 2009



Universidad
de Alcalá

Tesis para optar al grado de Doctora en Medicina y Cirugía

Doctoranda

Irene García Morales

Directores

Profesor Don Pedro Jaén Olasolo

Profesor Don Antonio Harto Castaño

Profesor Don Francisco M. Camacho Martínez

Madrid, 2009

A Antonio e "Irenita".

A mis padres y hermanos.

Agradecimientos

Al Prof. Pedro Jaén, por haberme dado la oportunidad de realizar este estudio, “adoptándome” en su Servicio de Dermatología y sintiéndome un miembro más de su equipo.

Al Prof. Antonio Harto, mi inseparable “maestro de compañía”, por la paciencia y apoyo en la tarea de recopilar y tratar a los pacientes, así como por sus enseñanzas sobre técnicas de imagen y fotografía para el diagnóstico.

Al Prof. Francisco Camacho, al que siempre me sentiré orgullosa de nombrarle “mi Jefe”, por haberme guiado durante mis años de residencia en Dermatología y por su apoyo, a pesar de la distancia, en la dirección de esta tesis.

Al Dr. Juan Polo, Prof. Titular de Bioestadística, por su colaboración en el estudio estadístico, ayudándome de forma incondicional y animándome en mi trabajo.

A los pacientes que han participado en el estudio, sin cuya cooperación no sería posible la investigación en nuevas terapéuticas.

A Antonio, mi esposo, por su apoyo y ánimo en la terminación de este proyecto, alentándome en no abandonar en los momentos difíciles, Por haberme ayudado en los problemas informáticos y en la presentación del estudio.

A “nuestra Irenita” que, ya dentro de mi, me ha acompañado en el esfuerzo de este trabajo.

A mis padres y hermanos que siempre me han animado en todos los retos a lo largo de mi carrera.

Al Laboratorio Galderma que, de forma desinteresada, ha cooperado en este estudio, facilitando la administración del fármaco y aportando bibliografía.

Producción científica

Los resultados preliminares del presente estudio han sido objeto de comunicación en las siguientes publicaciones:

- García-Morales I, Harto A. Terapia Fotodinámica en el acné vulgar. Terapia Fotodinámica. Capítulo 7. *Edi Complet*, 2007.
- Fernández-Guarino M, García-Morales I, Harto A. Photodynamic therapy: new indications. *Actas Dermosifiliogr* 2007; 98: 377-395.

I. INTRODUCCIÓN (1),

1- CONCEPTOS GENERALES (2),

1.1 TERAPIA CONVENCIONAL DEL ACNÉ VULGAR (3),

1.2 INICIOS DE LAS TERAPIAS FÍSICAS Y FUENTES DE LUZ, LÁSER Y TERAPIA FOTODINÁMICA (7),

2- PRINCIPIOS FOTOBIOLOGÍOS EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ (13),

3- FUENTES DE LUZ Y LÁSER EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ (22),

4- TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ (33),

4.1 HISTORIA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA (33)

4.2 MECANISMOS DE ACCIÓN EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

PRINCIPIOS FOTOFÍSICOS Y FOTOQUÍMICOS (41)

4.3 FOTOSENSIBILIZADORES EN DERMATOLOGÍA (49)

4.4 METABOLISMO DEL ALA (55)

4.5 FARMACODINÁMICA DEL ALA (56)

4.6 FUENTES DE LUZ UTILIZADAS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA (60)

4.7 INDICACIONES DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA (63)

4.8 SEGURIDAD Y TOLERABILIDAD DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA (66)

4.9 TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ (71)

II. MATERIAL Y MÉTODO (96),

1- OBJETIVOS (97)

2- MATERIAL Y MÉTODO (99)

2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO (99)

2.2 METODOLOGÍA (101)

2.2.a- ÁMBITO DE ESTUDIO (101)

2.2.b- VALORACIÓN PRE-TRATAMIENTO (101)

2.2.c- REALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO (102)

2.2.d- PERIODO POST-TRATAMIENTO (104)

2.2.e- MEDIOS TÉCNICOS (106)

2.2.f- ASPECTOS ÉTICOS (107)

2.3 DISEÑO DEL ESTUDIO (107)

2.3.a- ESTUDIO DESCRIPTIVO (108)

2.3.b- ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS RESULTADOS
OBTENIDOS (112)

III. RESULTADOS (114),

1- ESTUDIO DESCRIPTIVO (115)

- 1.1 INFORMACIÓN DEMOGRÁFICA Y EPIDEMIOLÓGICA (115)
- 1.2 CARACTERÍSTICAS SOBRE EL TIPO DE LESIÓN DE ACNÉ (116)
- 1.3 GRADUACIÓN DEL DOLOR DURANTE EL TRATAMIENTO (118)
- 1.4 GRADO DE ERITEMA DESPUÉS DEL TRATAMIENTO (118)
- 1.5 GRADO DE SATISFACCIÓN SUBJETIVA DEL PACIENTE (118)
- 1.6 NÚMERO DE SESIONES DE TRATAMIENTO RECIBIDAS (118)
- 1.7 EFECTOS ADVERSOS (119)

2- RESULTADOS DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA APLICACIÓN DEL LÁSER DE COLORANTE PULSADO Y LA TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ (119)

- 2.1 ESTUDIO DE LAS LESIONES TOTALES (119)
- 2.2 ESTUDIO DE LAS LESIONES INFLAMATORIAS (124)
- 2.3 ESTUDIO DE LAS LESIONES NO INFLAMATORIAS (129)

3- EVALUACIÓN ECONÓMICA Y OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO EMPLEADO POR EL ESPECIALISTA (132)

IV. DISCUSIÓN (136),

1- DEFENSA Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO (137)

2- DISCUSIÓN (143)

V. CONCLUSIONES (159)

VI. ABSTRACT (161),

LASER AND PHOTODYNAMIC THERAPY FOR TREATMENT OF THE ACNE.

VII. ANEXOS (165)

VIII. BIBLIOGRAFÍA (170)

Figura 1: Espectro de absorción de las porfirinas.

Figura 2: Variaciones del pH intracelular en relación a dosis de UVA.

Figura 3: Elementos participantes de la reacción fotodinámica.

Figura 4: Tipos de reacciones foto-oxidativas.

Figura 5: Esquema modificado de Jablonski.

Figura 6: Vía de síntesis del hemo.

Figura 7: Acúmulo preferencial de ALA en glándulas sebáceas y reacción fotodinámica.

Figura 8: Fluorescencia rojo-anaranjada de los folículos pilosebáceos con luz de Wood.

Figura 9: Apósitos oclusivos durante el periodo de incubación del MAL.

Figura 10: Fotoactivación de porfirinas en lesiones inflamatorias de acné.

Figura 11: Fluorescencia rojo-coral de lesiones inflamatorias después de una hora de incubación del MAL.

Figura 12: Iconografías con luz normal y luz UV.

Figura 13: Proceso de aplicación del tratamiento.

Figura 14: Distribución por sexo de la población de estudio.

Figura 15: Reducción significativa de las lesiones totales de acné después de 3 sesiones de tratamiento.

Figura 16: Respuesta clínica favorable a la TFD de acné leve-moderado de cara.

Figura 17: Mejoría clínica después de 6 sesiones de TFD.

Figura 18: Reducción de lesiones inflamatorias y no inflamatorias después de 6 sesiones de TFD.

Figura 19: Reducción de lesiones totales después de 6 sesiones de TFD.

Figura 20: Respuesta clínica favorable a la TFD de acné moderado-grave de espalda.

Figura 21: Ausencia de respuesta clínica a la TFD en acné grave de espalda.

Figura 22: Reducción de lesiones inflamatorias en hemicara tratada con TFD respecto al área con aplicación aislada de PDL.

Figura 23: Ausencia de respuesta clínica a la TFD.

Figura 24: Iconografía de lesiones inflamatorias con luz normal y UV.

Figura 25: Respuesta clínica excelente en la 4ª sesión de TFD.

Figura 26: Hemicara derecha de paciente con disminución discreta de lesiones después de 6 sesiones de láser de colorante pulsado.

Figura 27: Hemicara izquierda con buenos resultados después de 6 sesiones de TFD.

Figura 28: Desaparición de las lesiones inflamatorias de acné después de 4 sesiones de TFD.

Figura 29: Respuesta clínica favorable después de 6 sesiones de TFD.

Figura 30: Respuesta clínica favorable después de 6 sesiones de TFD.

Figura 31: Fluorescencia rojo-anaranjada en piel lesional.

Figura 32: Desaparición de la fluorescencia después de 6 sesiones de TFD.

Figura 33: Fluorescencia en mitad de área de tratamiento después de incubación de MAL durante una hora.

Figura 34: Erupción acneiforme después de la primera sesión de TFD.

Lista de tablas y gráficos

Tabla 1. Esquema terapéutico de Van de Kerkhof.

Tabla 2. Retinoides tópicos.

Tabla 3. Antibióticos empleados por vía oral en el acné.

Tabla 4. Estudios sobre el empleo de luz azul en el tratamiento del acné.

Tabla 5. Estudios del empleo del láser KTP en el acné.

Tabla 6. Estudios con láser de colorante pulsado en el acné.

Tabla 7. Estudios del empleo de láser de diodo en el acné.

Tabla 8. Estudios del empleo del láser de Er:Glass en el acné.

Tabla 9. Fotosensibilizantes empleados de forma clínica y experimental en TFD.

Tabla 10. Fuentes de luz no coherente.

Tabla 11. Nuevas prometedoras indicaciones de la TFD.

Tabla 12. Indicaciones clínicas de la TFD en dermatología y análisis de evidencia.

Tabla 13. Fuentes de luz empleadas en el tratamiento del acné.

Tabla 14. Estudios sobre terapia fotodinámica en el acné.

Tabla 15. Estudios de lesiones totales antes y después de láser y TFD.

Tabla 16. Estudio de las lesiones inflamatorias con láser y TFD.

Tabla 17. Estudio de las lesiones no inflamatorias con láser y TFD.

Gráfica 1. Representación gráfica del número de lesiones totales al inicio y al final de la aplicación del láser.

Gráfica 2. Representación gráfica del número de lesiones totales antes y después de la terapia fotodinámica.

Gráfica 3. Representación gráfica de los niveles de reducción del número de lesiones totales después del láser y de la TFD.

Gráfica 4. Representación gráfica de los niveles de disminución de lesiones inflamatorias después de la aplicación aislada de láser.

Gráfica 5. Representación gráfica de los niveles de reducción de lesiones inflamatorias después de la TFD.

Gráfica 6. Representación gráfica de las diferencias en los niveles de disminución de las lesiones inflamatorias entre el láser y la TFD.

Gráfica 7. Representación gráfica de los niveles de disminución de las lesiones no inflamatorias después del láser.

Gráfica 8. Representación gráfica de los niveles de disminución de las lesiones no inflamatorias después de la TFD.

Gráfica 9. Representación gráfica de las diferencias en los niveles de reducción de las lesiones no inflamatorias después del láser y de la TFD.

P. acnes: *Propionibacterium Acnes*.

Ab: antibióticos.

CBC: carcinoma basocelular.

ALA: ácido 5-aminolevulínico.

MAL: metilaminolevulinato.

TCA: ácido tricloroacético.

TFD: terapia fotodinámica.

PpIX: protoporfirina IX.

KTP: láser de potasio titanil fosfato.

PDL: láser de colorante pulsado (*pulsed dye laser*).

LP PDL: láser de colorante pulsado de pulso largo (*long pulse PDL*).

IPL: luz pulsada intensa.

LEDs: luz emitida por diodos.

HpD: hematoporfirina.

ROS: radicales libres de oxígeno.

$^1\text{O}_2$: singlete de oxígeno.

$^3\text{O}_2$: triplete de oxígeno.

S_0 : estado basal del singlete de oxígeno.

S_1 : estado intermedio de singlete.

T_1 : estado de triplete.

HSP: proteína “ *heat shock* ”.

CP: coproporfirina.

PBG: porfobilinógeno.

UROP I: uroporfirinógeno I.

UROP III: uroporfirinógeno III.

HAL: hexil-hidrocloride-aminolevulinato.

ILI: inyección intralesional.

I. INTRODUCCIÓN

1. CONCEPTOS GENERALES

El tratamiento del acné vulgar es un problema común en la práctica general del dermatólogo. Aunque no suponga una enfermedad grave, puede llegar a ser una condición importante con capacidad para mermar la calidad de vida de los pacientes, al poder derivar no sólo en secuelas físicas, sino también psicológicas. Epidemiológicamente, afecta a un 85% de jóvenes.

El acné vulgar es una enfermedad multifactorial poligénica de las unidades pilosebáceas, que conduce a la formación tanto de lesiones no inflamatorias (comedones) como inflamatorias (pápulas, pústulas, nódulos y quistes)(1,2). En su patogenia están implicados varios factores: aumento del tamaño de la glándula sebácea e hiperqueratinización de la porción distal del folículo, lo que conduce a la aparición del comedón; aumento de la producción de sebo, principalmente determinada por los andrógenos; proliferación del *Propionibacterium Acnes* (*P. acnes*); liberación de mediadores implicados en la aparición de inflamación. La terapéutica ideal sería aquella que pudiera actuar de forma global sobre todos estos mecanismos patogénicos.

La elección del tipo de tratamiento va a depender de varios factores:

- antecedentes del paciente,
- gravedad del acné,
- tipo de lesiones,
- presencia de cicatrices,
- impacto psicológico y social de la enfermedad en el paciente.

La ausencia de respuesta, las contraindicaciones y los efectos adversos de los tratamientos habituales, han llevado a la necesidad de investigar tratamientos alternativos para el acné. Las pasadas décadas han supuesto un gran avance en el desarrollo de nuevas modalidades terapéuticas en el campo de las fuentes de luz, láser y terapia fotodinámica en el tratamiento del acné.

1.1 TERAPIA CONVENCIONAL DEL ACNÉ.

En los distintos estudios publicados acerca de guías prácticas generales en el manejo del acné, el factor común que establecen es la importancia previa de valorar el tipo y gravedad de las lesiones que presenta el paciente y, en función de ello, instaurar el tratamiento adecuado para cada situación.

Van de Kerkhof y cols. establecieron el siguiente esquema terapéutico, distinguiendo 4 tipos de acné (Tabla 1) (3) :

Tabla 1. Esquema terapéutico de Van de Kerkhof.

<p>(I) Acné con escasos comedones 1ª Paso: tratamiento comedolítico. - 1ª elección: ADAPALENO. - Alternativas: tretinoína, ácido salicílico, ácido azelaico. 2º Paso: isotretinoína oral.</p>
<p>(II) Acné pápulo-pustuloso 1º Paso: PERÓXIDO DE BENZOILO. 2º Paso: - P. de Benzoilo + Antibióticos (Ab) tópicos (durante un máximo de 6 meses), indicado en acné inflamatorio. - P. de Benzoilo + retinoides tópicos, en acné parcialmente comedoniano. 3º Paso: antibióticos (6 meses) + P Benzoilo (acné inflamatorio) + retinoide tópico (componente comedoniano). 4º Paso: isotretinoína oral.</p>
<p>(III) Acné nódulo-quístico 1º Paso: derivados de las tetraciclinas. 2º Paso: isotretinoína oral.</p>
<p>(IV) Acné con cicatrices 1º Paso: cicatrices superficiales: láser no ablativo, <i>peeling</i> superficial. 2º Paso: cicatrices profundas: <i>peeling</i> medio-profundo, <i>resurfacing</i> con láser de CO₂ o erbio, dermabrasión.</p>

En este esquema terapéutico distinguimos 3 tipos básicos de tratamiento:

- TÓPICO.
- SISTÉMICO.
- FÍSICO.

a.-) TRATAMIENTO TÓPICO (1,2):

- RETINOIDES: Eliminan los comedones maduros y evitan la aparición de nuevos. Además, asocian una acción antiinflamatoria (Tabla 2).

Tabla 2. Retinoides tópicos.

TRETINOÍNA (crema 0,25-0,5-1%; gel 0,25-1%; solución 0,5%)	-Intensa acción comedolítica al inhibir la queratinización y propiedades antiinflamatorias. -Efectos adversos: dermatitis irritativa, fotosensibilidad.
ADAPALENO (gel o crema 0,1%)	-Eficacia similar a la tretinoína 0,25%. -Menor potencial de irritación y mayor estabilidad con la luz y el oxígeno.
ISOTRETINOÍNA (gel 0,5%)	Igual eficacia que la tretinoína, con menor irritación local.
TAZAROTENO	Mayor eficacia que la tretinoína pero menos tolerable.

- ÁCIDO AZELAICO (crema 20%): Efecto comedolítico y antimicrobiano. Suele emplearse como tratamiento de 2ª línea, sobre todo durante los meses de verano.

- α y β HIDROXIÁCIDOS (ÁCIDOS SALICÍLICOS 1-5%): Presentan propiedades queratolíticas y antiinflamatorias. Pueden emplearse de forma complementaria a los retinoides tópicos.

- ANTIBIÓTICOS: Disminuyen la población de *P. acnes* de la superficie cutánea y del interior de los folículos, pero no asocian propiedades anti-inflamatorias. Los más empleados son la tetraciclina, eritromicina y

clindamicina, que suelen presentarse en forma de crema o loción, en concentraciones del 1-4%. Se ha demostrado que la eritromicina y la clindamicina son igualmente eficaces en el acné moderado de cara. Es importante saber que se ha producido un aumento de las resistencias bacterianas a estos antibióticos tópicos que, en el caso de la eritromicina, se puede reducir al asociarla con zinc o peróxido de benzoilo.

b.-) TRATAMIENTO SISTÉMICO:

- ANTIBIÓTICOS ORALES (1,2): Actúan sobre el *P. acnes* inhibiendo su crecimiento y, además, en los casos de la eritromicina y tetraciclina asocian propiedades antiinflamatorias (Tabla 3). Suelen emplearse en pautas de 6 a 8 semanas, con un máximo de 4-6 meses. Deben combinarse con agentes tópicos tales como los retinoides, sobre todo en los casos de acné con componente comedoniano; y si los Ab orales se administran más allá de 2 meses, deben combinarse con peróxido de benzoilo, el cual disminuye las resistencias bacterianas. Estas resistencias son más frecuentes con el empleo de eritromicina, en primer lugar, seguida de la tetraciclina; y es rara con minociclina.

Tabla 3. Antibióticos empleados por vía oral en el acné.

ANTIBIÓTICOS ORALES DE 1ª LÍNEA	<ul style="list-style-type: none"> - Ciclinas (Oxitetraciclina o Tetraciclina). - Eritromicina.
ANTIBIÓTICOS ORALES DE 2ª LÍNEA	Tetraciclinas de 2ª generación: <ul style="list-style-type: none"> - Doxiciclina. - Minociclina.
ANTIBIÓTICOS ORALES DE 3ª LÍNEA	<ul style="list-style-type: none"> - Trimetoprim-Sulfametoxazol.

Los efectos adversos que se han descrito asociados al empleo de la antibioterapia oral son diversos:

- Alteraciones gastrointestinales, candidosis vaginales, rash cutáneo alérgico.
- Foliculitis por Gram negativos, generalmente en áreas perioral y perinasal como complicación de tratamientos a largo plazo de Ab tópicos y sistémicos.
- El grupo de las ciclinas puede asociar, de forma particular, hipertensión intracraneal, fotosensibilidad, onicólisis, pigmentación dentaria, depósito óseo, teratogenia. Además, asociado al trimetoprim, raramente, se han descrito casos de hepato o nefrotoxicidad.
- El trimetoprim, al inhibir a la dihidrofolato reductasa, puede raramente inducir la aparición de anemia, leucopenia o trombopenia megaloblásticas.
- La minociclina puede inducir alteraciones vestibulares, pigmentación cutánea, vasculitis, síndrome lupus-like, síndrome de hipersensibilidad con afección hepática, renal o pulmonar.
- Un informe reciente indica que el empleo prolongado de antibióticos sistémicos en las mujeres, puede asociarse a una mayor incidencia de cáncer de mama y de infecciones del tracto respiratorio (4,5).
- TERAPIA HORMONAL (1,2): Consiste en el empleo de antiandrógenos (acetato de ciproterona, espironolactona y flutamida) y agentes que inhiben la producción de andrógenos por los ovarios (contraceptivos orales) y glándulas suprarrenales (glucocorticoides a dosis bajas, en la hiperplasia adrenal congénita). Sus indicaciones suelen ser mujeres con hiperandrogenismo

ovárico o suprarrenal, hirsutismo, FAGA, secreción sebácea importante, acné con inicio o empeoramiento en la adolescencia, brotes premenstruales, acné en áreas mentonianas.

- ISOTRETINOÍNA (ácido 13-cis-retinoico) (1): Actúa de forma global en los factores principales implicados en la patogenia del acné como son la producción de sebo, la comedogénesis y la colonización por el *P. acnes*. Además, posee acción antiinflamatoria. Aunque su indicación principal es el acné grave, el empleo de este fármaco se ha extendido a formas más leves, sobre todo, en pacientes que asocian alteraciones psicológicas derivadas de su acné, seborrea excesiva, cicatrices importantes o foliculitis por Gram negativos. Es importante el conocimiento de sus efectos adversos, principalmente, teratogenicidad, alteraciones mucocutáneas, músculoesqueléticas, oftálmicas, neurológicas, gastrointestinales, dislipemias.

c.-TERAPIAS FÍSICAS (6): Se han empleado, generalmente, como complemento de los tratamientos médicos e incluyen desde los métodos físicos antiguos como la extracción de comedones, inyección intralesional de corticoides, *peelings* químicos y crioterapia; hasta el desarrollo, prácticamente reciente, de terapias con luz, láser, radiofrecuencia o fuentes de calor y, más actualmente, el empleo de la terapia fotodinámica.

1.2 INICIOS DE LAS TERAPIAS FÍSICAS Y FUENTES DE LUZ, LÁSER Y TERAPIA FOTODINÁMICA.

Procedimientos terapéuticos físicos tales como la extracción de comedones y la inyección intralesional de corticoides, han sido utilizados desde hace muchos años como terapias adyuvantes del acné (6). Las inyecciones de

corticoides aplanan la mayoría de los nódulos de acné en 48-72 horas, siendo útil en acné nódulo-quístico. Se suelen usar preparaciones de acetónido de triamcinolona en 10 mg/ml diluidos en suero estéril a 5-3,3 mg / ml. Los corticoides deben ser inyectados en las concentraciones mínimas posibles y se requieren visitas frecuentes, por lo que su eficacia se limita más a lesiones aisladas quísticas rebeldes(6).

Estudios de series de casos sobre el tratamiento del acné y cicatrices mediante el empleo de crioterapia fueron introducidos por Karp y cols. (7), en 1939. Emplearon una mezcla sólida de dióxido de carbono, acetona y sulfuro precipitado, aplicando esta pasta amarilla durante 20 minutos, obteniendo, varios días después, una exfoliación epidérmica leve. Dobes y Keil (8) describieron una modificación de la técnica, mezclando mayor cantidad de acetona y aplicando la pasta una vez semanalmente. Obtuvieron mejoría en acné inflamatorio y escasa respuesta en acné comedoniano. Posteriormente, se realizaron estudios mediante el empleo de nitrógeno líquido, consiguiendo mejores resultados en lesiones quísticas superficiales más que en profundas, pero los tratamientos resultaban dolorosos (6). Aunque algunos dermatólogos siguen empleando la crioterapia en casos aislados, esta técnica ha sido declinada por la mayoría de los dermatólogos actuales.

La microdermoabrasión fue inicialmente empleada como tratamiento de cicatrices de acné y, posteriormente, se hizo popular su uso en el envejecimiento y pigmentaciones de la piel. Actúa como un *peeling* físico superficial que puede ser utilizado como una técnica adyuvante, aunque su papel en el tratamiento del acné activo no ha sido aún descrito. Su utilidad actual fundamental es la de aumentar la absorción de medicaciones

administradas tópicamente; por ejemplo, antes de la aplicación del ácido 5-aminolevulínico (ALA) en la terapia fotodinámica o bien para aumentar la penetración de la luz.

Diferentes tipos de *peelings* químicos han sido empleados en condiciones asociadas con queratinización anormal. Los más empleados son los de glicólico 30-60%, salicílico 30%, la solución de Jessner y TCA 30-50%, aunque de este último no hay publicaciones en la literatura sobre su uso en el acné. A pesar de que nunca van a reemplazar a las medicaciones tópicas o sistémicas, los *peelings* químicos pueden ser considerados métodos adyuvantes eficaces en la mejora del tratamiento del acné.

El uso de la luz, el calor y la bioestimulación tienen una larga historia tanto en la medicina oriental como occidental. Se ha descrito que la exposición solar tiene efectos beneficiosos en más del 70% de pacientes con acné (9). Aunque una de las posibles explicaciones sobre los beneficios del sol es el efecto de camuflaje que produce el eritema y bronceado de la piel, parece que la luz del sol puede tener efectos biológicos en las unidades pilosebáceas. De esta forma, parece inducir una acción antiinflamatoria, posiblemente, por su efecto sobre las células de Langerhans foliculares. Se han realizado varios estudios en el intento de identificar cuáles son las longitudes de onda de la luz solar que contribuyen a la mejora del acné (luz UV, luz visible o combinación de ambos), pero aún no se ha aclarado. Además, hay que tener en cuenta que aunque la radiación UVA/UVB tenga efectos beneficiosos en el acné, es potencialmente cancerígena.

Las terapias basadas en fuentes de luz y láser han emergido en las últimas décadas como una modalidad terapéutica alternativa o adyuvante del acné.

Diferentes tipos de fuentes de luz fueron introducidas en los inicios de la fototerapia del acné, hace un siglo. Estas fuentes incluían lámparas fluorescentes, halógenas, de xenon, de tungsteno y, recientemente, el láser. La inactivación de bacterias inducida por una fuente de luz, mediante reacción fotodinámica, fue explorada primero por von Tappeiner y Jodlbaurin, en 1904. En 1924, Passow y Rimpau encontraron un porcentaje más alto de inactivación fotodinámica en bacterias Gram positivas frente a las Gram negativas (10). Las primeras fuentes de luz para el tratamiento del acné, eran lámparas convencionales en las que la potencia era definida por el uso de filtros. El inconveniente era la dificultad en el cálculo de la dosis lumínica a emitir.

La fototerapia del acné por luz visible de alta intensidad fue descrita por Meffert y cols. (11), en 1990, pero ellos usaron una fuente de luz que emitía no sólo luz visible, sino también UVA en un 15-20% de la dosis total de irradiación. Posteriormente, en 1997, Sigurdsson (12) empleó una Philips HPM-10,400 W combinado con un filtro de UVILEX 390 nm que filtraba la mayoría, aunque no todos, los rayos dañinos del UVA. El espectro de esta lámpara tenía un pico máximo a 420 nm y dos picos más pequeños a 405 y 435 nm. Estos aparatos emitían 20 J/ cm² de luz azul/violeta, 0,5 J/ cm² de UVA y 5 J/ cm² de luz verde.

Más recientemente, se introdujo una fuente de luz azul (CureLight) que emitía a alta intensidad (400 W), con doble filtro de UV y picos de emisión de 407-420 nm. El sistema Clear-Touch fue también desarrollado, con un espectro ancho, de 430-1200 nm, usando luz amarilla y verde, que permite mayor penetración cutánea, aunque con espectro de excitación más bajo de porfirinas. Estas dos fuentes de luz, CureLight y Clear-Touch, tienen como diana al *Propionibacterium Acnes* (13). Uno de los principales inconvenientes

que se observó en el empleo de la fuente de luz azul, fue la escasa penetración de los fotones en la epidermis. De esta forma, comenzaron a desarrollarse fuentes de luz roja que, aunque presentaban menos eficacia en la fotoinactivación, penetraban en mayor profundidad en la piel, además, de inducir efectos antiinflamatorios por estimular la liberación de citocinas desde los macrófagos. Papageorgiou y cols. (14), en 2000, obtuvieron mejores resultados cuando emplearon la combinación de la luz azul y la luz roja, frente a la luz azul aislada.

Posteriormente, se desarrollaron fuentes en el intento de actuar sobre las glándulas sebáceas como diana de acción. Paithankar (15) empleó un láser de diodo, de 1450 nm, comprobando que alteraba la glándula sebácea térmicamente, ya que la energía láser era absorbida por el agua de la dermis papilar superior, donde residen las glándulas. El calor de la energía produce una lesión térmica y se altera la estructura de las glándulas sebáceas. Otro láser infrarrojo que fue estudiado es el láser de Erbium:Glass, de 1540 nm, que inicialmente, fue empleado en el fotorrejuvenecimiento, al actuar sobre las fibras colágenas y, posteriormente, se comprobó su acción sobre las glándulas sebáceas, como describieron Boineau y Kassir (16).

El láser de colorante pulsado, de 585-595 nm, al presentar un pico de absorción por la oxihemoglobina, se comenzó a emplear para actuar sobre el componente inflamatorio del acné. Además, actúan sobre el *P. acnes*, ya que la luz amarilla coherente que emite, induce la activación de las porfirinas y se produce el efecto citotóxico. Los primeros estudios fueron realizados por Seaton y cols. con láser de 585 nm, obteniendo mejoría clínica del acné (17).

De esta forma, en los últimos 5 años, importantes avances tecnológicos han sido introducidos en el campo de la terapia con luz del acné: uso de tecnología con onda pulsada continua; capacidad de depositar energía calórica sobre las lesiones de acné desde una fuente exógena no óptica; optimización de parámetros sobre longitud de onda, ancho de pulso y tamaño de *spot* (10).

Las fuentes de luz y láser pueden emitir luz tanto de forma continua como en pulsos, y la interacción con los tejidos va a ser diferente en uno y otro modo. Los sistemas que emiten de forma continua liberan una energía constante, aunque el pico de poder es bajo. En contraste, en la onda pulsada, la duración de exposición tisular es corta, pero el pico de poder es alto. No obstante, aunque el pico de intensidad es distinto, la energía total liberada a los tejidos, con ambos modos de onda, es la misma en un intervalo de tiempo dado.

En cuanto a la energía calórica, la temperatura juega un papel fundamental en las reacciones biológicas. A mayor temperatura, mayor velocidad de la reacción. El sistema Clear-Touch permite el depósito, por conducción, de calor desde una fuente exógena no óptica. Se ha especulado que la energía calórica, además de tener un papel como catalizador en la inactivación del *P. acnes*, puede favorecer la apertura de los poros foliculares obstruidos. Ello puede aumentar la liberación de neutrófilos, células mononucleares, ácidos grasos libres, hialuronidasa y otras proteasas, así como también la liberación del propio *P. acnes*. Kjeldstad (18), en 1984, también estudió el papel del calor empleando un fuente de luz cercana al UV (330-410 nm) y encontró que la fotoinactivación del *P. acnes* aumentaba exponencialmente conforme la temperatura aumentaba a intervalos de 10°C, 20°C y 37°C. En contraste, el

descenso de la temperatura, durante la iluminación, aumentaba la capacidad para formar colonias de *P. acnes*.

En las últimas décadas una de las terapéuticas más estudiadas en el acné ha sido la terapia fotodinámica (TFD), la cual tiene como diana no sólo al *P. acnes*, sino también a la propia glándula sebácea. Se basa en el empleo de un fotosensibilizador, en presencia de moléculas de oxígeno y una fuente de luz. La explicación de su uso en el acné se basa en el conocimiento de que el *P. acnes* contiene porfirinas endógenas fluorescentes con la luz UV. En 1990, Divaris y cols. (19) realizaron un estudio en ratón albino en el que demostraron que el ácido aminolevulínico era metabolizado a protoporfirina IX (PpIX), en las unidades pilosebáceas, a través de la vía de la síntesis del hemo. La acumulación de PpIX fue más marcada en las glándulas sebáceas y menos evidente en los folículos pilosos y epidermis. La irradiación con luz de longitud de onda óptima, resultó en la destrucción de las glándulas sebáceas y el daño de los folículos pilosos y la epidermis. Después de la recuperación, se observó un descenso en el número de unidades pilosebáceas, pero la estructura normal fue conservada (9). Los primeros ensayos clínicos sobre el empleo de la TFD en el tratamiento del acné, fueron con fuentes de luz no coherente y, en los últimos años, se ha desarrollado el empleo del láser para la activación de la reacción fotodinámica.

2. PRINCIPIOS FOTOBIOLOGICOS EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ.

Los procesos fotobiológicos comienzan con la absorción de la energía lumínica por cromóforos selectivos. Cada cromóforo tiene un espectro de

absorción específico y, después de esa absorción, el cromóforo es transformado desde su estado estable a un estado excitado. Esta condición inestable induce una reacción química y la aparición de un fotoproducto. La piel del humano contiene cromóforos, que son fotodinámicamente activos, y sustancias fotoinestables (10).

El empleo de la luz en el tratamiento del acné comienza por la comprensión de su patofisiología. El folículo sebáceo es el lugar de desarrollo de las lesiones. La porción superior, el acroinfundíbulo, tiene una anatomía y queratinización similares a la de la epidermis adyacente. Plewig y Kligman (20) establecieron que el infrainfundíbulo es el sitio inicial de la comedogénesis, resultado de un aumento de la proliferación y acumulación de queratinocitos y sebo. Es en el infrainfundíbulo donde las distintas especies de *Propionibacterium* actúan sobre los triglicéridos y liberan citocinas. Concretamente, el *P. acnes*, bacteria microaerófila Gram positiva, es la implicada en la patofisiología del acné y es responsable de la mayor parte de la fluorescencia rojo-anaranjada que observamos en la cara cuando aplicamos una luz de 635 nm o una luz de Wood, sobre todo, a nivel de los orificios foliculares cutáneos ricos en sebo localizados a nivel de la nariz. La fuente de esta fluorescencia era desconocida hasta que Cornelius y Ludwig demostraron la producción de coproporfirina III por el *P. acnes*. Como parte de su proceso metabólico normal, el *P. acnes* produce porfirinas, principalmente, protoporfirina, coproporfirina III y uroporfirina, que son sustancias fotosensibilizadoras. Los fotosensibilizadores son moléculas que tienen la propiedad de absorber energía lumínica y usarla para iniciar reacciones químicas en las células. Cada fotosensibilizante tiene su propia longitud de

onda de absorción (generalmente, varias) y una longitud de onda de emisión. La excitación de las porfirinas por la absorción de la luz, induce la formación de singletes de oxígeno y radicales reactivos (10,18,21).

Otro factor patogénico importante en la aparición del acné es el hiperfuncionamiento de la glándula sebácea, la cual se encuentra aumentada de tamaño. El daño térmico de la glándula sebácea agrandada interrumpe la producción de sebo o, al menos, elimina la sobreproducción de sebo, el cual es el medio para el crecimiento bacteriano. El efecto terapéutico del calor inducido por una fuente de luz puede extenderse hacia una destrucción térmica de la bacteria. Todo ello está basado en el principio de fototermólisis selectiva según el cual un cromóforo localizado en la diana absorbe selectivamente un pulso láser monocromático de una longitud de onda apropiada. La absorción de la luz conduce a un calentamiento localizado de la lesión y su necrosis selectiva. La fototermólisis selectiva de las glándulas sebáceas depende de un cromóforo natural con afinidad por el sebo, específicamente los carotenoides, endógenos o administrados exógenamente, irradiados por un láser con una longitud de onda dentro del rango de absorción de 425-550 nm (22). A todo ello se asocia el aumento de la inflamación en las zonas con lesiones de acné, no sólo derivada de la hipervascularización existente sino, también, porque diferentes factores, entre ellos la propia bacteria, inducen la liberación de mediadores de la inflamación.

Resumidos los aspectos básicos de la patofisiología del acné, es posible comprender que estos mecanismos puedan ser interrumpidos fotoquímicamente y/o térmicamente y/o fotoinmunológicamente. Se fundamenta en dos principios básicos: la fototermólisis selectiva y el

calentamiento general del agua (23). En el acné no existe un cromóforo único, distinguiéndose, básicamente, las siguientes dianas sobre las que actuar (24):

- *Propionibacterium acnes*.
- Glándula sebácea.
- Hipervascularización de las zonas inflamadas.

La producción de porfirinas endógenas por el *P. acnes* se aumenta con la exposición a una fuente de luz o con la administración de porfirinas exógenas. Las porfirinas contienen la estructura porfina de 4 anillos pirrólicos unidos por puentes metanos en una configuración cíclica. En el espectro visible de absorción de las porfirinas, los altamente conjugados macrociclos aromáticos demuestran una absorción intensa en la cercanía de los 400 nm.

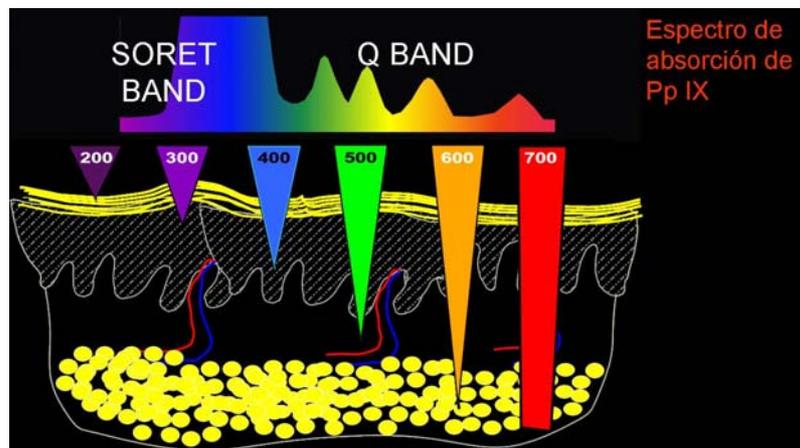


Figura 1. Espectro de absorción de las porfirinas.

(Imagen tomada de "Terapia Fotodinámica"; Capítulo 1. Principios de la Terapia Fotodinámica, Yolanda Gilaberte)

Se distinguen dos zonas principales (10,13) (Figura 1):

- Banda "Soret": rango de intensa absorción por las porfirinas comprendido entre los 400-420 nm, en la zona de la luz azul y UV. El pico máximo de absorción se localiza a 415 nm.

- Banda "Q": espectro débil de absorción, localizado a longitudes de ondas más altas de 450-700 nm. Aunque en este rango, se pueden encontrar 4 picos más débiles de absorción de las porfirinas, entre 500-635 nm.

La eficacia de la fotoinactivación del *P. acnes* está determinada por el porcentaje de producción de moléculas de porfirinas excitadas. Con el objetivo de alcanzar la máxima eficacia, hay una serie de parámetros en este complejo proceso fotobiológico que pueden ser tecnológicamente optimizados y, de ellos, va a depender la fotoinactivación de la bacteria (10):

- Concentración de porfirinas, lo cual dependerá del tipo de lesiones de acné: a mayor porcentaje de producción de porfirinas, mayor fotoinactivación del *P. acnes*.
- Concentración de fotones.
- Temperatura a la cual se produce la reacción química. Según la ecuación de Arrhenious, a más alta temperatura, más rápida es la reacción.
- Longitud de onda de los fotones.

No obstante, la mayoría de los láseres y fuentes de luz están limitados por algunos de estos factores y ello puede alterar la eficacia de la fotoinactivación del *P. acnes*. De todos estos parámetros, la longitud de onda de la fuente de luz es el factor más importante a tener en cuenta. Por ello, es interesante conocer el comportamiento de la luz en la piel, ya que puede sufrir un proceso de absorción o de dispersión. La profundidad de penetración óptica se define como la profundidad a la cual la luz es atenuada al 37% de su intensidad inicial. Se predice que la luz roja es atenuada en un 20% de su fluencia en la

superficie, mientras que la luz azul tiende a caer a casi 0 de intensidad. De esta forma, aunque la luz azul es 40 veces más potente en producir excitación de las porfirinas, tan poca cantidad de luz azul es capaz de alcanzar a las glándulas sebáceas, que la luz roja parece predecir un efecto fotodinámico más intenso. Dada la naturaleza exponencial de la atenuación de la luz en los tejidos, se podría eliminar el papel de la luz azul en la profundidad de la piel, sin embargo, una pequeña dosis de estos fotones “ultrapotentes”, puede tener un efecto biológico (23).

Las investigaciones realizadas *in vitro* han demostrado que la viabilidad del *P. acnes* se relaciona inversamente a la intensidad de la luz: la sensibilidad de la bacteria es más alta para longitudes de ondas más cortas (320 nm), y disminuye con el aumento de la longitud de onda (más allá de 380 nm) (18,25). Kjeldstad y Johnsson (18) determinaron las curvas de supervivencia para dos longitudes de ondas, de 320 nm y 415 nm:

- La radiación con longitud de onda de 320 nm daba, aproximadamente, la misma curva de supervivencia independiente del contenido de porfirinas en las células.
- Por el contrario, con la longitud de 415 nm, causaba bastante diferencia en las curvas de supervivencia, dependiendo de la cantidad de porfirinas endógenas. Un aumento en el contenido de porfirinas hacía a las células más sensibles a la luz de 415 nm, mientras que la sensibilidad sobre los 320 nm, no variaba marcadamente con los mismos cambios en el contenido de las porfirinas.

Por otro lado, se ha demostrado que el efecto de la luz UV en los linfocitos es dosis-dependiente: cuando se usan densidades altas, la luz UV es

linfotóxica y puede disminuir la inflamación; usando densidades bajas, la luz UV puede aumentar las reacciones inflamatorias. Que el resultado final sea aclaramiento o rebrote de las lesiones de acné, va a depender de la naturaleza de las lesiones y del balance entre las contribuciones de cada densidad UV en el proceso fotobiológico (10).

La concentración de porfirinas es otro de los parámetros que influye en la fotoinactivación del *P. acnes* en una relación directa. Se ha demostrado que el fotosensibilizante ácido 5-aminolevulínico (ALA) es metabolizado a protoporfirina IX (PpIX), en las unidades pilosebáceas mediante la vía de síntesis del hemo (23,26). La administración exógena de ALA induce una mayor producción de porfirinas por el *P. acnes*, siendo así mayor la concentración de PpIX y ello conduce a una mayor fotoinactivación de la bacteria. El cúmulo de porfirinas es más intenso en la glándula sebácea y menor en el folículo piloso. La irradiación con una longitud de onda óptima resulta en la destrucción de la glándula sebácea y el daño del folículo piloso y la epidermis. Se produce un descenso en el número de unidades pilosebáceas pero se mantiene la estructura de las mismas (9).

Futsaether y cols. (25) estudiaron los cambios que se producían en el pH intracelular del *P. acnes* cuando era irradiado por luz azul y luz UV. Observaron que tanto el pH intracelular como el gradiente de pH aumentaba después de la irradiación y que, a las 3 horas posteriores a la aplicación de la luz, el pH intracelular, disminuía a su valor pre-irradiación. El gradiente de pH, sin embargo, se mantenía en un nivel más alto que al inicio de la luz, debido a un descenso en el pH externo. Por tanto, los cambios de pH inducidos después de la irradiación parecían ser parcialmente reversibles. Los cambios de pH

intracelular son dependientes de la supervivencia celular después de la irradiación (Figura 2):

- Dosis subletales de irradiación resultan en un aumento del pH intracelular, por encima de 0,4 unidades. Este aumento parece reversible.
- Dosis letales inducen un descenso del pH intracelular y se aproxima al pH externo.

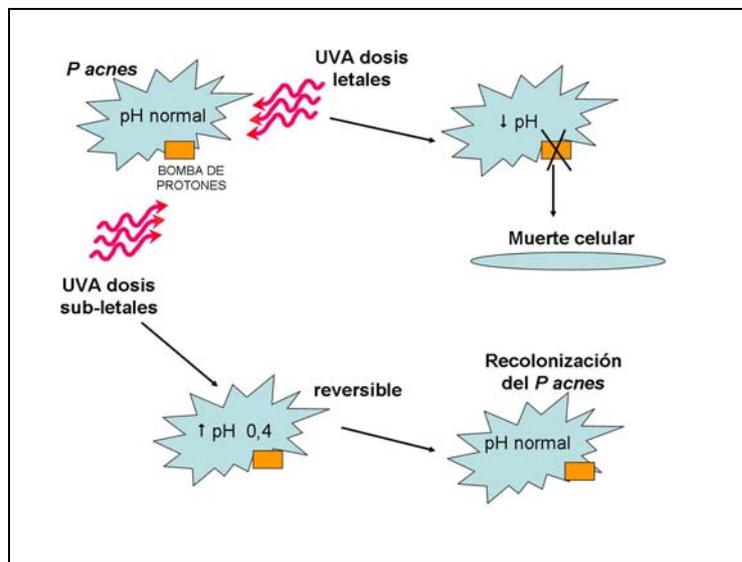


Figura 2. Variaciones del pH intracelular en relación a dosis de UVA.

Estos cambios de pH se producen de la misma forma tanto con luz azul (415 nm) como con luz UVA (360 nm), a pesar de que ambos tipos de luz presentan distintos mecanismos de inactivación de la bacteria. En el caso de la luz azul, Futsaether y Kjeldstad (25), propusieron que la fotoinactivación se producía por sensibilidad de las porfirinas vía de formación de singletes de oxígeno. Sin embargo, la inactivación con luz UVA parece afectar a mecanismos oxígeno-dependientes diferentes a los del singlete de oxígeno.

Los cambios de pH inducidos por la irradiación pueden ser el resultado de un daño de membrana. Dado que las fluencias subletales resultan en un aumento del pH intracelular y las fluencias letales en una disminución, es posible que dos mecanismos puedan ser los responsables de los cambios del pH (25):

- En el caso de las fluencias subletales parece estar implicada la actividad de bombeo aumentada, induciendo un aumento del gradiente de pH a través de la membrana. Se piensa que la homeostasis del pH en la bacteria es controlada por una acción coordinada de un número de sistemas de transporte catiónicos alcalino. Es posible que la luz azul o la UVA induzcan una modificación de uno o más de estos sistemas de transporte, lo que puede llevar a una disrupción de la homeostasis caracterizada por el aumento del pH intracelular, quizás como resultado de la extrusión de protones.
- Las fluencias letales resultan en un descenso en el gradiente de pH a través de la membrana celular, lo cual puede ser el resultado de la afluencia de protones debido a un aumento de la permeabilidad pasiva de membrana por un daño del canal iónico; o como resultado de la peroxidación lipídica o lisis de membrana.

Las especies de oxígeno reactivo generadas por la irradiación UV tienen la posibilidad de inducir “foto-lesión” cutánea como peroxidación lipídica, reacción “sunburn”, fototoxicidad y fotoalergia. Dentro de las especies de oxígeno reactivo, el singlete de oxígeno, un intermediario altamente reactivo y tóxico, es considerado la mayor especie mediadora de reacción fotoquímica en procesos biológicos y químicos. Arakane y cols. (27) realizaron un estudio en 1996 en el

que demostraron la generación de singletes de oxígeno a partir de las porfirinas del *P. acnes*, mediante la emisión de un espectro cercano al infrarrojo (1268 nm). Comprobaron que la coproporfirina del *P. acnes* es un potente generador de singletes de oxígeno en la superficie cutánea bajo la irradiación UV, al compararlo con la producción de singletes de oxígeno por otros fotosensibilizadores como la protoporfirina, hematoporfirina, riboflavina, eosina y 8-MOP. Observaron que, al igual que la coproporfirina, la protoporfirina y la hematoporfirina eran potentes fotosensibilizadores. El espectro de emisión de la fluorescencia fue observado con un máximo de emisión a 623 nm, después de la excitación con luz de 400 nm (18,27).

3. FUENTES DE LUZ Y LÁSER EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ.

Se han realizados diferentes estudios en el intento de identificar la fuente de luz con la longitud de onda más adecuada para actuar sobre los mecanismos patogénicos del acné.

a.- RADIACIÓN UVA/UVB:

La rápida atenuación que sufre la radiación UVA como resultado de su dispersión, hace que la exposición aislada al UVA sólo afecte a la epidermis y tercio superior del infrainfundíbulo. Su acción conduce a un aumento del recambio celular epidérmico y a un efecto descamativo medio. El *P. acnes* localizado superficialmente también parece ser susceptible a un efecto bactericida, tanto fotodinámico como no fotodinámico. El cromóforo exacto es desconocido (23). La radiación UV parece tener efectos antiinflamatorios al

inducir cambios en las citocinas comedonias (IL-10 y antagonista del receptor de la IL-1). Aunque estudios *in vitro* han demostrado la capacidad del UVB de destruir al *P. acnes*, este hecho parece tener poco significado clínico dado a que, debido a su escasa capacidad de penetración en la piel hace que sólo dosis altas, que pueden inducir quemadura, serían eficaces en la mejora del acné. En resumen, la eficacia de la radiación UV en estudios *in vitro* no ha podido ser apoyada por mejoría clínica en estudios *in vivo*. Se han demostrado efectos beneficiosos mínimos que no son suficientes para apoyar su uso terapéutico dado el potencial de carcinogenicidad de esta radiación (9).

b.- LUZ AZUL Y VIOLETA:

La fototerapia con luz visible ha demostrado ser eficaz en el acné y tiene la ventaja de evitar los riesgos potenciales de la radiación UV. Penetra más profundamente (90-150 μm) que la luz UVA pero la mayor parte del rango de su longitud de onda se confina en la epidermis por lo que, aunque apliquemos un fotosensibilizador externo como el ALA, es poco probable que cantidades significativas de luz alcancen zonas profundas de las glándulas sebáceas. De esta forma, la luz activa la protoporfirina IX en epidermis y acroinfundíbulo. Además, parece tener un efecto exfoliativo (23).

Meffert y cols. (28), en 1987, describieron la mejoría del acné y seborrea con luz azul y demostraron un descenso significativo en la concentración de las porfirinas. Posteriores estudios realizados por Scherf, en 1988, demostraron eficacia terapéutica al emplear luz azul combinado con luz UVA. En 1997, Sigurdsson (12) describió la eficacia clínica de la luz visible en el tratamiento del acné, encontrando mayor efecto en las lesiones inflamatorias y menos marcado en los comedones. Además midió el espectro de emisión de las

distintas fuentes de luz usadas, estableciendo que la luz UVA presentaba un pico a 380 nm, la luz violeta a 405-420 nm y la luz verde a 395 nm (Tabla 4).

Tabla 4. Estudios sobre el empleo de luz azul en el tratamiento del acné (9,13,23).

<p>Meffert (11,28)</p>	<p>- Estudio, en 1987, con 17 pacientes con acné en cara y espalda. Lámpara halógena con emisión de luz visible a 22 KJ/cm². Demuestran mejoría clínica del acné.</p> <p>- Estudio, en 1990, con lámpara de luz azul (30% de luz verde y 15-20% de luz UVA) con dosis acumulativa de 325 J/cm². Demuestran disminución de la concentración de porfirinas, con disminución de la fluorescencia pilosebácea.</p>
<p>Scherf (29)</p>	<p>Empleo de luz azul y luz UVA, empleando una dosis del “espectro total” de: 5 J/cm² UVA, 16 J/cm² luz azul/violeta y 9 J/cm² luz verde; luz violeta de: 0,5 UVA, 20 J/cm² luz violeta/azul y 5 J/cm² luz verde; y luz verde sin UVA, 0,5 J/cm² luz violeta/azul y 50 J/cm² luz verde.</p>
<p>Sigurdsson (12)</p>	<p>Demostró reducción significativa de la gravedad del acné en un 20% con luz verde y en un 35% con luz violeta.</p> <p>El efecto principal fue sobre las lesiones inflamatorias más que en comedones.</p> <p>Se demuestra que la luz visible es suficiente para el tratamiento del acné, siendo igualmente eficaz a la luz UVA.</p>
<p>Shalita (30)</p>	<p>Tratamiento de 35 pacientes. Empleo de la luz azul ClearLight™ (420 nm) con 10 minutos de exposición, 2 veces a la semana, durante 4 semanas. Energía de 55 mW/cm².</p> <p>El 80% de los pacientes demostraron mejoría significativa, con disminución del 70% de las lesiones inflamatorias.</p>
<p>Elman (31)</p>	<p>Realizó ensayos en los que 23 pacientes fueron tratados con luz azul ClearLight™ (420 nm), 2 veces por semana, durante 4 semanas con exposiciones de 8-15 minutos.</p> <p>Disminución del 66% y 68% a los 8 y 15 minutos, respectivamente.</p>

Kawada (32)	Tratamiento de 30 pacientes con luz azul ClearLight™, consiguiendo una disminución del 64% de lesiones inflamatorias. Además, de muestra una disminución del recuento de colonias de <i>P. acnes</i> .
Omi (33)	Utiliza también la misma fuente de luz azul pero no consigue, como Kawada, demostrar los cambios en el recuento bacteriano mediante el empleo de PCR después de la terapia. Sin embargo, sí demuestra daños en el <i>P. acnes</i> a nivel ultraestructural.
Tzung (34)	Consiguieron mejoría del acné inflamatorio, con reducción del 60% de lesiones pápulo-pustulosas con 4 tratamientos bisemanales. Sin embargo, el acné nódulo-quístico empeoró en un 20% de los pacientes.
Gold (35)	Utilizó una fuente de luz azul BLU-U, DUSA Pharmaceuticals, consiguiendo una reducción del 24% de lesiones inflamatorias, e comparación con la disminución del 14% que induce la aplicación de solución de clindamicina al 1%.

c.- COMBINACIÓN DE LUZ AZUL Y LUZ ROJA:

Se asocia la sensibilidad mayor para la fotoactivación de las porfirinas por la luz azul, con la mayor capacidad de penetrar en profundidad en los tejidos de la luz roja. Además, la luz roja tiene propiedades antiinflamatorias al influir en la liberación de citocinas desde los macrófagos. Este hecho se ha comprobado en estudios sobre curación de heridas en los que se ha visto que la irradiación láser a baja energía tiene un efecto estimulador sobre las células, mientras que la radiación a alta energía tiene un efecto inhibitor. Los macrófagos expuestos a una longitud de onda de 660 nm liberan citocinas, lo cual estimula la proliferación de fibroblastos y la producción de factores de crecimiento influyendo en el proceso inflamatorio, de curación y reparación de heridas. También se ha demostrado que la permeabilidad de la membrana celular a los

iones calcio puede ser afectada por láser de longitud de onda en el espectro rojo (9).

Papageorgiou (14) realizó un estudio comparando la combinación de luz azul y roja con la aplicación aislada de luz azul o luz blanca o peróxido de benzoilo al 5%, en un total de 140 pacientes. La dosis acumulativa de la irradiación durante 15 minutos fue de 320 J/cm² de luz azul y de 202 J/cm² de luz roja. Se consiguió una disminución del 76% de lesiones inflamatorias en las zonas tratadas con la asociación de luz roja y luz azul, que fue significativa respecto a la luz azul aislada o a la aplicación de peróxido de benzoilo. La mejoría en los comedones fue del 58%. Los autores propusieron que ambas fuentes de luz podrían actuar sinérgicamente, al combinar mecanismos de acción antibacterianos y antiinflamatorios.

d.- *FUENTES DE LUZ COHERENTE:*

El láser emite de forma mínimamente divergente una luz coherente sobre una pequeña área de tejido para proporcionar una irradiación muy alta. El empleo del láser como fuente de luz coherente, permite focalizar la energía hacia las zonas sobre las que realmente se quiere actuar, con mínima divergencia de la energía, a diferencia de lo que ocurre con las luces no coherentes. De esta forma, se puede irradiar con alta energía sobre un foco pequeño de piel.

Generalmente, se persiguen enfoques de poca energía, con dosis de luz suficientes para tratar el acné activo con las mínimas molestias y menos efectos indeseables posibles para el paciente. En estudios con láser de colorante pulsado, luz pulsada intensa o láser de potasio titanil fosfato (KTP),

usando fluencias bajas de energía, se han conseguido estos objetivos (puntualizando que la luz pulsada intensa no es una fuente de luz láser) (24).

El *P. acnes* inducen en los queratinocitos la producción de mediadores proinflamatorios (IL-1 α , TNF- α y GM-CSF). Además tienen actividad mitogénica sobre las células T, las cuales son activadas induciendo la liberación de citocinas inmunológicas, influyendo así en el proceso de inflamación y comedogénesis del acné. La detención fotoinmunológica del acné se ha observado en últimos estudios en los que se ha demostrado, *in vivo*, que el láser induce la liberación de moléculas antiinflamatorias (24).

Fuentes de luz láser que tienen como diana al *P. acnes*:

1.- Láser KTP de longitud de onda de 532 nm (luz verde). Se ha empleado, fundamentalmente, en lesiones vasculares y pigmentadas superficiales ya que su cromóforo es la oxihemoglobina y, también, la melanina. En el acné actúa a través de la fotoactivación de las porfirinas bacterianas y, potencialmente, aunque de forma limitada, induce daño térmico colateral no específico de las glándulas sebáceas debido a su capacidad de penetración dérmica de 1-2 mm (13,26) (Tabla 5).

Tabla 5. Estudios del empleo del láser KTP en el acné.

Bowes	<ul style="list-style-type: none"> -11 pacientes. Láser Aura™ (Laserscope): 4 mm de spot, 7-9 J/cm² de fluencia, 20 msg de pulso y 3-5 Hz. - 2 sesiones semanales durante dos semanas. 6-10 pases. - Mejoría del 36% en área tratada frente al 2% en zona control. Disminución de la producción de sebo en el 28% de los casos, pero poco efecto en el número de <i>P. acnes</i>.
Lee	<ul style="list-style-type: none"> - Láser Aura™ (Laserscope). - 25 pacientes tratados con láser KTP aislado; 25 pacientes con láser KTP seguido de tratamiento y limpiadores tópicos; 125 pacientes con tratamiento láser y tópico concomitante. - 80-90% de mejoría tanto en pacientes que recibieron el láser KTP y posteriormente el tratamiento tópico, como en los que se realizaron ambos tratamientos de forma simultánea. Los pacientes que recibieron sólo el láser tuvieron menos porcentaje de aclaramiento y recidivas más frecuentes. - El láser aislado induce una respuesta más limitada y se beneficia de la terapia combinada.

2.- Láser de colorante pulsado (PDL, *pulsed dye laser*) de 585-595 nm (luz amarilla). El cromóforo es la oxihemoglobina por lo que es, particularmente, adecuado para la fototermólisis selectiva del componente vascular dilatado de la inflamación asociada al acné, reduciendo así la apariencia roja de las lesiones. La luz amarilla de este láser induce la activación de las porfirinas y se produce el efecto fototóxico. Además, parece inducir la liberación de moléculas antiinflamatorias, basándose entre otros aspectos, en que la emisión de baja energía láser tiene efecto estimulador en las células, concretamente en las células T (36). Parece ser que este láser elimina las bacterias no sólo de forma directa, sino también mediante la estimulación del sistema inmune. Por otro lado, las fluencias bajas inducen también la producción de procolágeno secundario al calentamiento de la dermis perivascular, lo que puede ser de utilidad en la mejora de las cicatrices de acné. Además, parece disminuir la comedogénesis y la maduración de la pared folicular. El uso de láser de colorante pulsado se ha relacionado con escasos efectos adversos (24,36) (Tabla 6). En últimos estudios sobre los mecanismos moleculares implicados en el tratamiento del acné con láser, se ha observado un aumento en los niveles del factor de crecimiento TGF- β 1 a las 24 horas de la aplicación de láser de colorante pulsado de 585 nm (NliteV [®]). El TGF- β 1 se conoce por ser un potente estimulador de la neocolagenosis, jugando un papel central en la iniciación de la curación de heridas. Además, es una citocina inmunosupresora fundamental que promueve la resolución del proceso de la inflamación. Después de fluencias bajas con el láser PDL se demuestra una sobre-regulación en la TGF- β 1 lo que lleva a una disminución de la inflamación como resultado de la acción de las citocinas y de la alteración de la función de las

células T. Por otro lado, el TGF- β 1 es el inhibidor más potente conocido de la proliferación de los queratinocitos (17,37).

El problema de las fuentes de luz y láser que tienen como diana a *P. acnes* es que, generalmente, la mejoría que inducen en el acné es de corta duración y requiere tratamientos de mantenimiento. Ello es debido a que la bacteria regenera rápidamente.

Tabla 6. Estudios con láser de colorante pulsado en el acné.

Seaton (17)	<ul style="list-style-type: none"> - 41 pacientes. Recibieron un tratamiento único con PDL de 585 nm (NLite System™): 5mm de spot, 1,5-3 J/cm² de fluencia y 350 μsg de pulso. - Disminución del 49% del número de lesiones inflamatorias en el lado tratado frente al 10% en el área control. - Postulan que el láser puede inducir la destrucción directa de la bacteria, además de alterar la respuesta inmunológica a la misma.
Orringer (38)	<ul style="list-style-type: none"> - 26 pacientes. Tratamiento con PDL de 585 nm (NLite System™). - Sólo se demuestra discreta mejoría que no es estadísticamente significativa. No obstante, en este estudio el número de pulsos fue menor que el empleado por Seaton.
Alam (39)	<ul style="list-style-type: none"> 25 pacientes. Láser PDL de 595 nm: 7mm de spot, 8-9 J/cm² de fluencia, 6 msg de pulso. Consigue un aclaramiento significativo de las lesiones de acné.
Webster (40)	<ul style="list-style-type: none"> - En su estudio indicó que el PDL producía mejoría del acné pero no dejaba “libres de enfermedad” a los pacientes. Además, comparaba la mejoría obtenida con la que se podía conseguir con el peróxido de benzoilo. - Sugirió que el láser podría alterar el ambiente comedoniano o la maduración de la pared folicular. - Demostraron que bajas fluencias producían un calentamiento de la microvasculatura pero desconocían qué papel podría tener en el tratamiento del acné.
Harto (24)	<ul style="list-style-type: none"> - 30 pacientes recibieron 3 sesiones de tratamiento, con intervalo de 4 semanas entre ellas, con láser PDL de 585 nm (NLite EUPhotonics), con fluencias subpurpúricas de 2,5 J/cm². - Reducción del 27% de lesiones no inflamatorias y del 57% de lesiones inflamatorias. Reducción global del número de lesiones de acné estadísticamente significativa.

Fuentes de luz láser que tienen como diana a la glándula sebácea:

1.- Láser cercano al infrarrojo, de 1064 nm. Presenta el espectro de absorción de la hemoglobina y parte de la melanina. Con el empleo de un tren de pulsos y fluencias más altas también consigue calentar el agua y de esta forma, el daño de los tejidos puede extenderse varios milímetros hacia la dermis dañando así a las glándulas sebáceas que se localizan en el marco de un tejido con contenido en agua calentado (23).

2.- Láser del infrarrojo medio, de 1320-1540 nm. Estas fuentes de láser fueron, inicialmente, desarrolladas para el rejuvenecimiento cutáneo facial no ablativo y, actualmente, se han convertido en uno de los tratamientos más novedosos del acné dada la profundidad de penetración que alcanzan en la dermis. La diana de estos tipos de láser es el agua, el cual es el cromóforo dominante de las glándulas sebáceas. No hay selectividad del sebo sobre el agua en este rango de longitud de onda de 1320 a 1540 nm, por lo que las glándulas sebáceas son dañadas sólo por estar localizadas dentro de un volumen de tejido acuoso calentado. Estos láseres pueden producir calentamiento de diferentes bloques de superficie cutánea dependiendo del tipo de enfriamiento, de la longitud de onda, la fluencia y la duración de pulso empleados. La luz láser produce, selectivamente, una zona de lesión en la capa dérmica, lo suficiente como para frenar la sobreproducción de sebo (23).

- Láser de diodo de 1450 nm con sistema de criógeno (SmoothbeamTM, Candela). Funciona en base al concepto de termólisis de los sebocitos a la vez que preserva la epidermis (Tabla 7). Histológicamente, se observa una necrosis de las glándulas sebáceas y daño térmico circundante (13,26).

Tabla 7. Estudios del empleo de láser de diodo en el acné.

Paithankar (15)	<ul style="list-style-type: none"> - Demostración histológica del daño térmico de la dermis con preservación de la epidermis después de la irradiación de la piel <i>ex vivo</i>. - Utilización de piel de oreja de conejo, como modelo <i>in vivo</i>, para demostrar las alteraciones histológicas de las glándulas sebáceas de la dermis en los días 1 y 3 después del empleo del láser, con recuperación posterior al 7º día. - Ensayo humano en 15 pacientes en los que emplearon fluencias de 18 J/cm² con disminución significativa del número de lesiones a los 6 meses después de 4 sesiones con intervalos de 3 semanas. La biopsia inmediata al tratamiento de las glándulas demostraba una coagulación térmica de los folículos y lóbulos sebáceos sin alteración de la epidermis suprayacente. Las biopsias a los 2 y 6 meses posteriores indicaban ausencia de alteración de las estructuras ductales y glandulares sebáceas.
Mazer (41)	<ul style="list-style-type: none"> - 61 pacientes fueron tratadas con 4 sesiones mensuales a 14 J/cm². - 45 pacientes completaron el tratamiento: 26 pacientes experimentaron una mejoría del 65% al mes del tratamiento; 5 pacientes necesitaron nuevas sesiones a los 6 meses.
Friedman (42)	<ul style="list-style-type: none"> - Obtuvo un 83% de disminución en el número de lesiones inflamatorias de acné en cara después de 3 sesiones de tratamiento a intervalos de 4-6 semanas, aunque la mayoría de pacientes mantuvieron un tratamiento tópico u oral asociado. - Los parámetros usados fueron 6 mm; 11-14 J/cm²; 40 msg.
Glaich (43)	<ul style="list-style-type: none"> -15 pacientes recibieron la combinación de: 1º láser de colorante pulsado de 595 nm (10 mm; 6,5-7,5 J/cm²; 6-10 msg) y 2º láser de diodo de 1450 nm (6 mm; 10-14 J/cm²; 30/40 DCD). - Se consigue una disminución del número de lesiones del 52%, 63% y 84% después de uno, dos y tres tratamientos, respectivamente. - Efecto sinérgico entre la diana de la glándula del láser diodo y la diana de la bacteria del PDL.

- Láser de Erbium (Erbium: Glass), de 1540 nm (AramisTM, Quantel Medical). Inicialmente, fue empleado para el tratamiento de arrugas ya que induce la formación de nuevas fibras de colágeno (Tabla 8).

- Láser de Nd:YAG de 1320 nm (láser de neodimium:yttrium aluminum garnet; CoolTouch CT3TM). Chernoff realizó un estudio en 50 pacientes que recibieron 6 tratamientos semanales, utilizando fluencia de 18 J/cm² y 30 msg

de pulso. Se obtuvo una mejoría clínica del 72% y 80%, valorada por el médico y el paciente, respectivamente (26).

Tabla 8. Estudios del empleo de láser de Er:Glass en el acné.

Boineau (16)	- 25 pacientes fueron tratados con parámetros de 10 J/cm ² de fluencia; 3 msg de pulso; tren de 5-6 pulsos; 2 Hz. - Disminución del 78% del número de lesiones a los 3 meses de seguimiento.
Kassir (44)	- 20 pacientes recibieron 4 tratamientos bisemanales a 8-12 J/cm ² y 3-6 de tren de pulso. - Disminución del 82% del número de lesiones de acné.

El tratamiento fotoquímico del acné sin fotosensibilizante externo, se basa en la fotoinactivación del *P. acnes* a través de las porfirinas endógenas. Mediante el empleo de una luz visible con una longitud de onda determinada, las porfirinas intercelulares destruyen a la bacteria a través del daño de membrana. El efecto fotodinámico resulta de la formación de singletes de oxígeno. Sin embargo, la efectividad de la muerte bacteriana es baja con las porfirinas endógenas y son necesarias iluminaciones consecutivas, *in vitro*, para disminuir la viabilidad en 4-5 veces más intensidad.

El empleo de ALA, una prodroga que produce PpIX, hace que el *P. acnes* produzca más porfirinas que en condiciones naturales, de forma que la bacteria es inactivada en un grado mayor que sin el empleo de ALA. Por otro lado, la glándula sebácea es estéril por lo que el daño fotoquímico de la glándula requiere la aplicación de porfirinas exógenas. Es por ello que una fuente de luz aislada puede resultar en destrucción del *P. acnes* pero no causa daño en la glándula sebácea.

4. TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ.

4.1 HISTORIA DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

La captación selectiva de un fotosensibilizante por un tejido neoplásico y la destrucción de este tejido por la aplicación de una irradiación subsiguiente, principio básico de la terapia fotodinámica (TFD), no es una idea nueva. La utilización de diversos productos vegetales con el objeto de mejorar los resultados de la fototerapia data del 1400 a. C y es descrita en un libro indio sagrado, *Atharva Veda*.

En 1900, Oscar Raab y cols. describieron la captación de algunos colorantes, como el naranja de acridina, para sensibilizar microorganismos, como el paramecio, para su destrucción por una exposición posterior a una fuente de luz. Además, descubrieron que esta reacción necesitaba de la presencia de oxígeno y Von Tappeiner, director del Instituto de Farmacología de la Universidad de Munich, le dio el nombre de “acción fotodinámica” o “efecto fotodinámico” (45,46).

En 1905, Von Tappeiner y Jodblauer fueron los primeros en aplicar la TFD para el tratamiento del cáncer de piel. Además, esta acción fotodinámica comenzó a estudiarse para el tratamiento de otras enfermedades cutáneas como condilomata lata, lupus vulgar, herpes simples, molluscum contagioso, pitiriasis versicolor, psoriasis. Al inicio se usaba la eosina como fotosensibilizador y la irradiación empleada era la fuente de luz blanca .

En el intento de optimizar y estandarizar la TFD, en los años posteriores, fueron ensayadas varias sustancias fotosensibilizantes, principalmente, las porfirinas. Los primeros experimentos fueron realizados, en 1911, con la hematoporfirina y, desde entonces, las porfirinas se mantuvieron como las

sustancias más eficaces y más estudiadas en la TFD. Hausman describió la capacidad de la hematoporfirina, activada por la luz, de fotosensibilizar a ratones y conejillos de indias. En 1913, Meyer-Betz demostró que la hematoporfirina podía producir fotosensibilidad en humanos, al inyectarse a sí mismo este compuesto y notar inflamación y dolor en las zonas de su cuerpo expuestas a la luz (47).

Policard, en 1924, fue el primero en utilizar la hematoporfirina para el diagnóstico de tumores, observando que esta porfirina causaba una fluorescencia rojo brillante en los tejidos tumorales cuando eran iluminados con luz ultravioleta. En 1942, Auler y Banzer demostraron que los tumores fluorescentes estaban necróticos, lo cual supuso la primera demostración de la acción fotodinámica de la hematoporfirina. En 1948, Figge confirmó la afinidad de la hematoporfirina por los tejidos neoplásicos mediante el estudio de sarcomas y carcinoma de mama. Posteriormente, a principios de los 60, en la Clínica Mayo, Lipson y Schwartz demostraron que la administración intravenosa de hematoporfirina en pacientes con cáncer, conducía a su acumulación preferencial en los tejidos tumorales. Lipson presentó, entonces, al derivado de la hematoporfirina (HpD) como una mezcla de 10 derivados de porfirinas (ésteres de dihematoporfirina) útil para la identificación y localización de carcinomas humanos (45). Desde los años 80, los HpD se mantuvieron como los fotosensibilizadores más importantes en TFD, siendo el porfímero de sodio (Photofrin) el primer fotosensibilizador que obtuvo el permiso gubernamental para su uso en TFD clínica. El primer registro se obtuvo en Canadá, en 1993, para el tratamiento del cáncer de vejiga y, posteriormente, recibió aprobaciones en Europa y Japón para la TFD de cáncer

de pulmón, esófago, gástrico y cervical. En 1995, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobó el empleo de Photofrin en el tratamiento del cáncer esofágico avanzado y de estadios tempranos del cáncer de pulmón.

El problema de estos fotosensibilizadores era que la acumulación cutánea estaba asociada a un lento aclaramiento de la piel, lo que llevaba a una fotosensibilidad a largo plazo que requería fotoprotección durante las 4-6 semanas posteriores a la realización de la TFD. En el intento de evitar este efecto adverso los investigadores comienzan a estudiar formulaciones tópicas de porfirinas (McCullough, 1983; Pres, 1989; Santoro, 1990; Steiner, 1995). Sin embargo, estos estudios demostraban aún una fuerte fotosensibilidad cutánea.

Uno de los fotosensibilizadores estudiados fueron las Porfinas (Porphines), porfirinas sintéticas con alta potencia para fotosensibilizar tejidos tumorales y sanos. Santoro (48), en 1990, evaluó ampliamente el empleo de TPPS4 (tetra-sodio-meso-tetrafenilporfina-sulfonato) para el tratamiento tópico de tumores cutáneos. Este compuesto hidrofílico se activaba a 630 nm y se localizaba preferentemente en el estroma tumoral. Su administración sistémica tenía como limitación que producía neurotoxicidad.

En 1990, Moan establece las características deseadas de un fotosensibilizador ideal (49,50):

- pureza química,
- acumulación específica en el tejido neoplásico,
- intervalo corto de tiempo entre la administración de la droga y su acumulación máxima en el tumor,
- vida media corta y rápido aclaramiento del tejido sano,

- activación a longitud de onda con óptima penetración tisular,
- alta capacidad de producción de singletes de oxígeno,
- carecer de toxicidad en ausencia de luz.

Diferentes fotosensibilizadores han sido estudiados para su empleo en la TFD, siendo los derivados de la hematoporfirinas, el ácido 5-aminolevulínico y el metil 5-aminolevulinato, los que se emplean en indicaciones dermatológicas (Tabla 9):

1.- Ftalocianinas (Phthalocyanines, PCs): poseen alta capacidad para producir tripletes y singletes de oxígeno y demuestran toxicidad insignificante en ausencia de luz, alcanzando alta concentración en el tejido tumoral a las 1-3 horas después de su administración intravenosa. Presentan un pico máximo de absorción a 650-700 nm, permitiendo una penetración más profunda en los tejidos. Alcanzan bajos niveles de acumulación en piel normal y tienen una rápida eliminación, resultando en mínima fotosensibilidad cutánea. La Ftalocianina-4 es un fotosensibilizador hidrofóbico y una de las ftalocianinas más prometedoras cuyas posibles indicaciones podrían ser lesiones cutáneas y subcutáneas de diversos grupos de tumores sólidos (51).

2.- Derivados de Clorina (Chlorine): son un grupo heterogéneo de porfirinas, derivados clorofílicos, que presentan un coeficiente de extinción alto a 650 nm. Son más efectivas que los HpD *in vivo* e *in vitro*. Tienen alta eficacia de producción de singletes de oxígeno y un pico de absorción de luz 10 veces superior a los HpD y porfirinas. Diferentes agentes se han empleado con éxito en la terapia de varios carcinomas cutáneos (51):

- Derivados de la benzoporfirina (Derivado anillo monoácido A de Benzoporfirinas, BPD-MA): compuesto lipofílico con máxima fotoactivación a

690 nm usado, principalmente, en epiteloma basocelular y espinocelular. Su nombre comercial es el Verteporfin[®] y gracias a su rápido aclaramiento, la fotosensibilidad cutánea dura sólo pocos días.

- N-Aspartyl-chlorine e6 (Npe6): fotosensibilizante sistémico altamente soluble en agua con un pico de absorción a 664 nm. Penetra en las células por endocitosis y se acumula, preferentemente, en los lisosomas. La eficacia fotodinámica óptima se alcanza cuando la luz es aplicada 4-8 horas después de la inyección de Npe6. Se ha empleado en la TFD de tumores cutáneos y subcutáneos tales como el adenocarcinoma recidivante de mama, el epiteloma basocelular y espinocelular. La fotosensibilidad cutánea leve es el único efecto adverso descrito.

- Tin etiopurpurin (SnET₂): análogo sintético clorina con máxima excitación a 660-664 nm. El tiempo óptimo de irradiación es a las 24-72 horas después de la infusión y se elimina de la piel a los pocos días después del tratamiento, causando fotosensibilidad leve. Su nombre comercial es el Purlytin[®] y se ha empleado en el tratamiento del epiteloma basocelular, enfermedad de Bowen, metástasis cutánea de cáncer de mama y sarcoma de Kaposi asociado a VIH.

- Meso-tetra-hidroxifenil-clorina (Meso-tetra (hydroxyphenyl)- chlorine; m-THPC): fotosensibilizador extremadamente potente con una actividad fotodinámica 200 veces mayor que el Photofrin. Es 100 veces más fototóxico a 652 nm y 10 veces más a 514 nm. Tiene mejor selectividad por carcinomas iniciales, con duración corta de fotosensibilidad cutánea. Su nombre comercial es Forcan[®].

3.- Texafirinas (Lutetium Texaphyrin; Lu-Tex): son compuestos sintéticos solubles de agua con tendencia a localizarse en lesiones malignas y placas

ateromatosas. Lu-TeX es un colorante fluorescente que absorbe fuertemente a 732 nm. Se administra sistémicamente y se acumula rápidamente en el tejido neoplásico, permitiendo la irradiación rápida a las 2-4 horas de su administración. En estudios preliminares, se ha demostrado mejor eficacia en el tratamiento del cáncer de mama que en el epiteloma espinocelular invasivo, sarcoma de Kaposi, melanoma y epiteloma basocelular. Experimentalmente, se ha demostrado la destrucción de metástasis subcutáneas de melanoma sin daño significativo del tejido circundante. Carece de alta fototoxicidad. Tienen la capacidad de formar complejos metálicos estables, propiedad de la que carecen las porfirinas y que les hace tener una posición prometedora en medicina por varios propósitos: contraste para RNM, prevención de reestenosis de enfermedad arteriosclerótica, prevención de degeneración macular.

4.- Derivados de hematoporfirinas: son efectivos en el tratamiento de algunos tumores cutáneos, aunque tiene el inconveniente de inducir fotosensibilidad cutánea de 4 a 6 semanas de duración, de ahí que su papel sea limitado en Dermatología.

- Fotofrin®: es un derivado purificado de la hematoporfirina y fue el primer fotosensibilizante aprobado para la TFD. Presenta un coeficiente de absorción lumínica débil, que cae a los 630 nm, por debajo de la longitud de onda adecuada para lograr una máxima penetración en los tejidos.

- Photoheme y Photosan: derivados de Fotofrin®.

5.- Otros fotosensibilizadores:

- Porfícenos (Porphycenes): isómeros sintéticos de porfinas, generadores eficaces de singletes de oxígeno con un pico máximo de absorción a 630 nm, 10 veces mayor que los HpD.

- HPPH-23: útil en el epiteloma espinocelular del plano nasal y piel facial de gatos. Presenta aclaramiento rápido en la piel y un pico de absorción a 665 nm.

- Bacterioclorinas, antraquinonas, hipericina y rodamina 123.

Tabla 9. Fotosensibilizantes empleados de forma clínica y experimental en TFD.

Ftalocianinas	Cloroaluminumtetrasulfophtalocianina Cinc II phtalocianina Silicona naphtalocianina Aluminum sulfonado phtalocianina
Derivados de Clorina	Monoaspartilclorina e ₆ (MACE) Diaspartir clorina e ₆ (DACE) N-aspartil-clorina e ₆ (Npe6) Anadil-clorin e ₆ sodium, bacterioclorina a Clorin e ₆ monoetileno ácido diamino-monohidroclicó Derivado anillo monoácido A de Benzoporfirina (BPD-MA; Verteporfin®) Tin etiopurpurin Meso-tetra (hidroxifenil)-clorina (Termoporfina, m-THPC; Foscan®)
Porfícenos	9-Acetoxi-2,7,12,17-tetra-N-propilporfíceno 2-Hidroxietil-7,12,17- tris (metoxietil) porfíceno 23-Carboxi-24-metoxicarbonilbenzol[2,3]-7,12,17-tris (metoxietil) porfíceno Bis-hidroxietil-7,12-di-N-propilporfíceno
Porfirinas	Derivado de la hematoporfirina: Fotofrin® y sus derivados denominados Photoheme y Photosan Dihematoporfirin éster/éter Porfímero sódico Tetrasodio-meso-tetrafenilporfirinsulfonato Metalotetra-azaporfirina 5,20-bis(4-sulfofenil)-10,15-bis(2-metoxi-4-sulfofenil)-21-tioporfirina(21-tioporfirina)
Precursores de porfirinas	Ácido 5-aminolevulínico Ácido 5-aminolevulínico-metil,-propil,-etiléster
Feoforbides	Feoforbide a, bacteriofeoforbide
Otros	Fluoresceínas (fluorescencia sódica, tetrabromfluoresceína-eosina); Antracenos (antraquinona, acridina naranja, amarilla); Hipericina; Furocumarinas (5-, 8- metoxipsolarenos); Derivados de clorofila; Purpurinas (metalopurpurina, tin-etiopurpurina SnET2); Fenotiazinas; Azul, violeta o verde de metileno; Hipocrelina; Rosa de bengala; Tetraclorosalicilinalida, Verding; Rhodamina 123, Lutetium texafirinas (Lu-Tex).

Las sustancias administradas tópicamente comenzaron a demostrar un gran interés debido a que evitaban la fotosensibilización generalizada que se producía con los fotosensibilizadores administrados sistémicamente. En 1990, un grupo de investigación australiano, Kennedy y cols. (52), fueron los primeros en aportar la idea de realizar una “fotosensibilización endógena” del tejido tumoral, para lo cual, emplearon la aplicación tópica de una prodroga “no fotosensibilizante”, llamada δ -aminolevulínico. Este importante precursor de porfirinas conducía a un aumento en la producción de porfirinas preferentemente en tejidos neoplásicos y rápidamente proliferativos. En 1987, Malik y Lugaci habían demostrado la fotosensibilización *in vitro* inducida por ALA. Posteriormente, en 1990, Kennedy, Portier y Pross introdujeron el uso de la TFD con ALA para el tratamiento de varias enfermedades cutáneas malignas como el carcinoma basocelular (53).

Debido a la baja lipofilia del ALA, la difusión a través de las membranas celulares es baja lo que hace que sea necesario aplicar una gran cantidad de ALA para asegurar una acumulación suficiente en el tejido enfermo. Fritsch y cols. (54) estudiaron la posibilidad de crear derivados del ALA (pro-fármacos) de más alta lipofilia que, posteriormente, eran hidrolizados enzimáticamente hacia el ALA. Compararon la acumulación de porfirinas secundarias a la aplicación tópica de ALA con la acumulación secundaria a su éster metilo (metilaminolevulinato). Observaron que, tanto con el ALA como con el metilaminolevulinato, los niveles de porfirinas eran más altos en queratosis actínicas que en tejidos cutáneos normales adyacentes, siendo el metilaminolevulinato un sensibilizante más específico de células queratósicas que el ALA.

En 1999, la FDA aprobó el ácido 5-aminolevulínico al 20% (ALA; Levulan[®] Kerastick[™]) para el tratamiento de las queratosis actínicas múltiples del cuero cabelludo y cabeza. Diferentes grupos de investigación han confirmado la eficacia de la TFD con ALA tópica en el tratamiento de tumores cutáneos superficiales y, en los últimos años, se han descrito también artículos sobre el uso exitoso de la administración sistémica de ALA como tratamiento curativo o paliativo del carcinoma bronquial, del tracto gastrointestinal y de vejiga. En el 2001, fue aprobado en Europa el empleo de la TFD con metil éster del ALA, metil aminolevulinato al 16% (MAL; Metvix[®] Galderma) para el tratamiento de las queratosis actínicas y del epiteloma basocelular nodular y superficial. Recientemente, fue aprobado su uso en la enfermedad de Bowen (55).

4.2 MECANISMOS DE ACCIÓN EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

PRINCIPIOS FOTOFÍSICOS Y FOTOQUÍMICOS.

La terapia fotodinámica consiste en la administración de un fotosensibilizante, el cual se acumula selectivamente en determinadas células o tejidos, de forma que al ser iluminados, en presencia de oxígeno, con una luz de adecuada longitud de onda y en dosis suficiente, se produce como resultado la fotooxidación de materiales biológicos y la subsiguiente muerte celular. De esta forma, la reacción fotodinámica inducida por los metabolitos de porfirinas acumulados, principalmente PpIX, se produce cuando los tejidos tratados con ALA son expuestos a una fuente de luz con energía y longitud de onda adecuados, siendo un proceso citotóxico dependiente de la presencia de oxígeno. En resumen, son necesarios 3 elementos para que se produzca la reacción fotodinámica (Figura 3):

- una molécula fotosensible;
- luz visible;
- oxígeno.

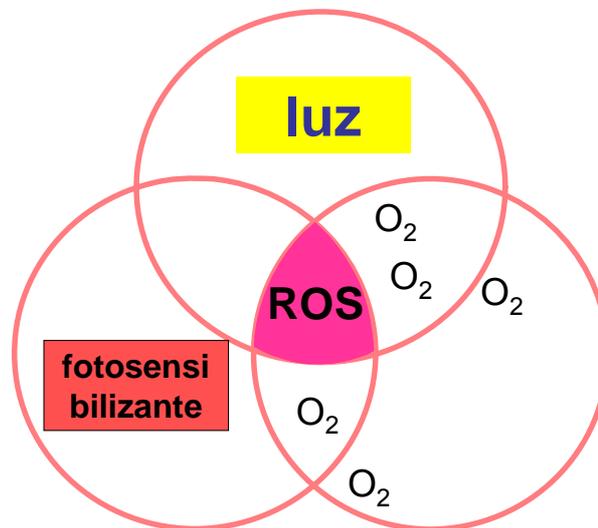


Figura 3. Elementos participantes de la reacción fotodinámica.

El escalón inicial de la reacción fotodinámica es la absorción de los fotones de luz por el sensibilizador causando un cambio de la molécula desde su estado basal a un estado excitado de singlete, extremadamente inestable, con una vida media de 10^{-6} a 10^{-9} segundos. El fotosensibilizador excitado experimenta un cruce intersistema hacia el estado de triplete, por la conversión del giro de un electrón. La interacción del triplete sensibilizante con las moléculas circundantes resulta en dos tipos de reacciones fotooxidativas (45) (Figura 4):

- Tipo I: implica la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno produciendo formas radicales del fotosensibilizador. Además, estos intermediarios pueden reaccionar con el oxígeno y formar radicales

peróxidos, iones superóxidos e hidroxilos (radicales libres de oxígeno, ROS), los cuales inician una reacción en cadena de radicales libres.

- Tipo II: reacción mediada por un proceso de transferencia de energía al oxígeno, conduciendo a la formación de singletes de oxígeno (1O_2) y al retorno del fotosensibilizador a su estado basal.

Ambas reacciones ocurren simultáneamente y en competición, sin embargo, parece que el oxígeno singlete es el mayor responsable del daño tisular producido durante la TFD.



Figura 4. Tipos de reacciones foto-oxidativas.

Todo ello se puede comprender mejor con el esquema modificado de Jablonski (Figura 5) en el que se distinguen varios pasos:

-Paso 1: la molécula fotosensible en estado basal de singlete (S_0) es excitada al ser iluminada, pasando entonces a un estado intermedio inestable de corta duración (S_1).

-Paso 2 : la molécula inestable vuelve a su estado basal sin emisión de fluorescencia por conversión interna.

-Paso 3: la molécula inestable vuelve a su estado basal emitiendo fluorescencia.

-Paso 4: si es una buena molécula fotosensibilizante, una vez excitada, pasa a un estado de triplete (T_1).

-Paso 5: el triplete puede volver al estado basal de singlete (S_0) emitiendo fosforescencia o mediante conversión interna, sin fosforescencia.

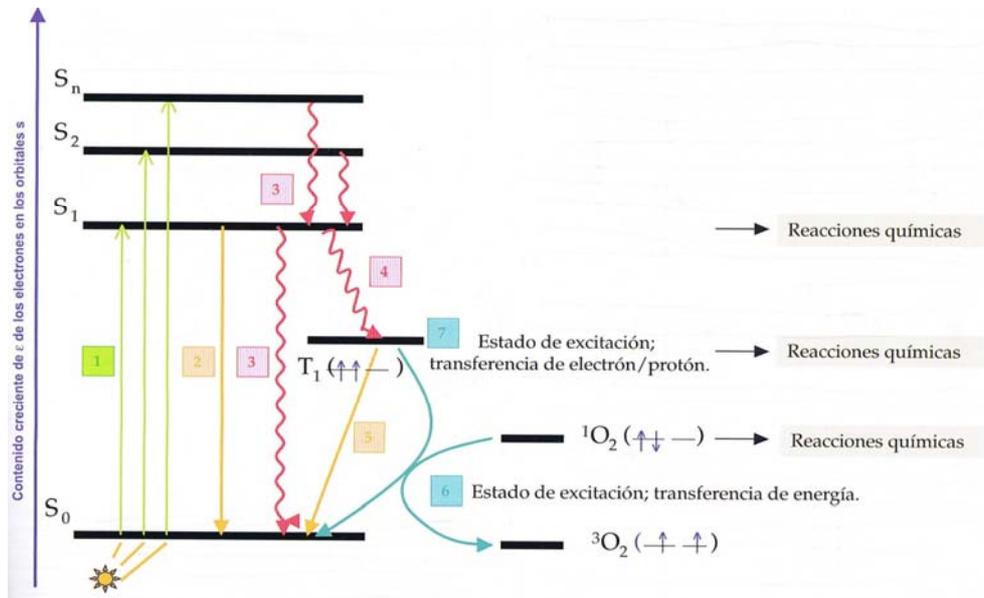


Figura 5. Esquema modificado de Jablonski.

(Imagen tomada de "Terapia Fotodinámica; Capítulo 2. Mecanismo de acción. Elección del fotosensibilizante y la fuente de luz. Isabel Aldanondo).

-Paso 6: si el cromóforo se encuentra en un medio oxigenado, puede sufrir un proceso fotoquímico de tipo II que supone una transferencia de energía entre el fotosensibilizante excitado en forma de triplete y la forma estable de triplete del oxígeno (3O_2). Esta transferencia genera un singlete de oxígeno (1O_2) que constituye una molécula excitada, altamente reactiva y muy polar, considerada un agente citotóxico. Se establece que los procesos fotoquímicos tipo II son los que predominan en la TFD.

-Paso 7: en presencia de oxígeno, pueden tener lugar procesos fotoquímicos tipo I en los que se produce una transferencia de un electrón o

hidrógeno, de forma que el fotosensibilizante en estado de triplete interacciona con sustratos biológicos dando lugar a la formación de radicales e iones radicales, los cuales al reaccionar con moléculas de oxígeno generan especies citotóxicas como el anión superóxido. Estos procesos pueden tener un papel importante en la TFD cuando se realiza con bajas concentraciones de oxígeno.

En 1993, Pass y cols. (56) demostraron que los singletes de oxígeno generados por el mecanismo tipo II parecían jugar un papel central en la citotoxicidad fotodinámica debido a la interacción altamente eficaz de especies de oxígeno reactivo con distintas biomoléculas. Se establece, por tanto, que la vía principal a través de la cual la TFD ejerce su acción citodestructora es por la generación de $^1\text{O}_2$. La vida media corta de este singlete de oxígeno ($< 0,04$ msg) hace que su rango de difusión se limite a 45 nm en el medio celular, por lo que no puede difundir más allá de la longitud de una sola célula y la destrucción sólo se limita a las estructuras intracelulares a las que puede acceder (50,57). Microscópicamente y bioquímicamente, pueden ser detectados cambios en las membranas celulares y organelas como acontecimientos tempranos que ocurren en la TFD, ya que el oxígeno singlete es una molécula muy reactiva que rápidamente reacciona con muchas biomoléculas, especialmente en las membranas celulares: lípidos insaturados, colesterol y algunos aminoácidos como el triptófano, la histidina y la metionina (56).

La peroxidación lipídica y el entrecruzamiento (“cross-linking”) de proteínas afectan a la depolarización e inactivan a las enzimas de membrana. La permeabilidad de membrana aumentada inhibe el transporte de aminoácidos y nucleósidos. La formación de burbujas y estructuras balonizadas (“blebs”)

protuyendo desde la membrana plasmática, seguida de la lisis celular, ocurren en las horas posteriores al inicio de la TFD.

El daño nuclear no parece ser un factor importante de la citotoxicidad mediada por la TFD por lo que incluye un potencial bajo en inducir mutaciones y carcinogénesis (58). Ello se debe a que los radicales generados en la TFD son de vida media muy corta, teniendo un radio de acción de $0,01\mu\text{m}$, lo que hace que su potencial mutagénico por daño del ADN sea muy bajo (59). Además, estudios en animales han demostrado que la TFD con ALA o MAL, administrada periódicamente, es capaz de prevenir la aparición de queratosis actínica y carcinomas espino y basocelulares inducidos por la exposición crónica a radiación ultravioleta (60,61).

Como respuesta a la fotosensibilización, se produce una activación de los genes codificados para algunas proteínas de estrés tales como proteína "heat shock" (HSP), hemo-oxigenasa y proteínas reguladas por glucosa (GRPs). Estas proteínas están presentes a niveles bajos en las células normales (62). Además, se produce una inducción transitoria de genes de respuesta temprana (c-fos, c-jun, c-myc) (63). Se induce un aumento de la fosforilación de MAPK (p38 mitógeno-activada proteincinasa), al igual que ocurre con el estrés inducido por la irradiación ultravioleta o por la exposición a peróxido de hidrógeno (45).

Durante la TFD, se produce la fotodestrucción del fotosensibilizante durante la exposición a la luz y este proceso se denomina fotoblanqueamiento. A su vez, este fotoblanqueamiento es un mecanismo de interrupción de la reacción fotodinámica, lo cual es importante para restringir el daño tisular que se

produce al tejido tumoral y para eliminar la fotosensibilidad cutánea residual después del tratamiento.

En cuanto a la forma de inducción de muerte celular, parece que los fotosensibilizantes que se localizan en la mitocondria inducen apoptosis, mientras que los que se localizan en la membrana plasmática causan necrosis. En el caso del MAL, la vía principal de muerte celular es la apoptosis (64). En el caso del ALA, la producción endógena de PpIX se concentra en la mitocondria, produciendo sus efectos fotodinámicos primarios en ese sistema mitocondrial, induciendo la inactivación de las enzimas unidas a la membrana mitocondrial, lo que conlleva a la ruptura de la cadena respiratoria celular. Además, se produce un aumento de la concentración de calcio (Ca^{2+}) intracelular y una disminución de la concentración de ATP (64,65).

Nakaseko y cols. estudiaron las variaciones histopatológicas que se producían después de la TFD con ALA y láser excimer de 630 nm, observando los siguientes hallazgos (66):

- 1 hora después de la TFD: presencia de células con citoplasma eosinófilo y núcleos marcadamente teñidos, en la capa basal de la epidermis. Algunas células tumorales con vacuolización. Dermis superior con escaso infiltrado de linfocitos y neutrófilos.
- 3 horas después de la sesión: los mismos hallazgos descritos anteriormente pero más marcados.
- 1-3 días después del tratamiento: necrosis de todas las capas de la epidermis en el área tumoral.
- 7 días del inicio del tratamiento: desaparición de las células tumorales de la epidermis con engrosamiento degenerativo de la misma.

Tsai y cols. emplearon la microscopía confocal para demostrar los acontecimientos celulares que se producían después de la TFD y describieron la aparición de disfunciones mitocondriales que llevaban a un aumento de la adhesión celular y a la reorganización de los componentes del citoesqueleto (67).

Además del daño directo sobre las células neoplásicas, las lesiones vasculares juegan un papel importante en la destrucción tumoral mediada por la TFD. Los radicales de oxígeno, generados en el proceso fotodinámico, disminuyen la función barrera de las células endoteliales. La constricción de los vasos arteriolares, la formación de trombos en las vénulas y el éstasis del flujo sanguíneo, producen la muerte indirecta de las células tumorales debido a la privación nutricional a largo plazo. No obstante, este efecto es absolutamente dependiente del fotosensibilizante empleado, de forma que ocurre principalmente con los que se administran por vía intravenosa. Con el Photofrin® se aumenta la formación del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), dando lugar a vasoconstricción, formación de trombos y destrucción tumoral por necrosis. Las Ftalocianinas inducen la salida del contenido de los vasos. Y con el ALA se produce un éstasis sanguíneo en el tumor, durante e inmediatamente después del tratamiento.

El tratamiento fotodinámico de tumores sólidos pone en marcha una serie de efectos “anti-tumorales” consistentes en una actividad *anti-tumoral* de las células inflamatorias y la reacción inmune específica frente al tumor. La degradación de los fosfolípidos de membrana resulta en la liberación de varios mediadores inflamatorios y se produce la activación de proteínas de fase aguda, proteinasas, peroxidasas, sustancias vasoactivas, factores del

complemento y citocinas. De esta forma, se ha demostrado la producción de IL-6, IL-1 β , IL-2, TNF- α y G-CSF (58). Todo ello resulta en la acumulación de células efectoras inmunes tales como neutrófilos y macrófagos, los cuales al liberar ROS y enzimas lisosomales, inducen daño en los vasos y destruyen las células tumorales. Posteriormente, se produce la llegada de los mastocitos, potentes mediadores de la respuesta inflamatoria. Más tarde, aparecen los monocitos y macrófagos que eliminan los restos de células tumorales, procesan los antígenos específicos de tumor y los presentan a las moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad.

En resumen, la TFD destruye las células tumorales mediante 3 mecanismos:

- Destrucción celular directa a través de singletes de oxígeno.
- Daño a los vasos sanguíneos.
- Inflamación y activación de una respuesta inmunitaria.

4.3 FOTSENSIBILIZADORES EN DERMATOLOGÍA.

El fotosensibilizador ideal es aquel que reúne las siguientes características (68,69):

- sustancia químicamente pura, de composición específica conocida y con síntesis reproducible;
- síntesis a partir de precursores fácilmente disponibles, estable, soluble en fluidos corporales, fácil de formular;
- ser mínimamente tóxico, con ausencia de toxicidad en la oscuridad. Citotoxicidad sólo en presencia de luz;

- ser captado con mayor rapidez por el tejido anómalo que por el tejido sano;
- distribución homogénea en el tejido diana;
- alta lipofilia para difundir a través de las membranas biológicas;
- espacio de tiempo lo más breve posible entre su administración y la acumulación máxima en los tejidos diana;
- ser eliminado antes por el tejido sano al poseer vida media corta con rápida eliminación;
- ser activado por longitudes de onda que penetran en el tejido objetivo;
- ser capaz de producir grandes cantidades de producto citotóxico, al poseer alto rendimiento en la producción de singlete de oxígeno o de especies reactivas de oxígeno para destruir células patológicas.

La localización y biodistribución del fotosensibilizante en los tejidos dependen de varios factores como la lipofilia, el pH, el drenaje linfático y la unión a proteínas. Además, existen otros posibles mecanismos que contribuyan a su mayor concentración en el tumor como son la agregación, la carga molecular y el potencial de membrana de las células tumorales. Los fotosensibilizadores parecen localizarse en los vasos sanguíneos, los lisosomas, las mitocondrias, las membranas plasmáticas y los núcleos de las células tumorales. En el caso de las porfirinas su acumulación preferencial en los tejidos tumorales con respecto a los tejidos sanos parece deberse a varios mecanismos como las diferencias en los mecanismos de captación celular, la actividad de las enzimas que participan en la síntesis del grupo hemo, la disponibilidad de hierro, las propiedades del estrato córneo y la distinta penetración y distribución tisular. Los estudios de fluorescencia demuestran

que la penetración del ALA disminuye con el grosor cutáneo y aumenta en la presencia de piel fotodañada, queratosis actínica, psoriasis, epitelomas u otras alteraciones cutáneas. Una vez dentro, el ALA difunde de la epidermis a la dermis, donde se capta poca cantidad de fluorescencia por la PpIX. De esta forma, se puede actuar sobre el tejido tumoral sin dañar seriamente la dermis, lo cual evita la cicatrización. El tiempo estimado en el que el ALA tarda en difundir entre 2,5-3 mm es de 3-15 horas (47). Las porfirinas que se producen después de la administración de ALA, son más abundantes en las células de crecimiento rápido, como las células tumorales. Se piensa que la diferencia en la velocidad de eliminación del fotosensibilizador se deba al mayor número y permeabilidad de los vasos sanguíneos y a un drenaje linfático más lento de las células neoplásicas que se dividen rápidamente (70).

La TFD actúa sobre dos dianas: las células y su aporte vascular. Además, parece, también, tener efecto al inducir inflamación y reacciones inmunes tumor específicas. En general, se piensa que los fotosensibilizantes hidrosolubles tienen mayor afinidad por la vasculatura, mientras que los lipofílicos actúan directamente sobre las células tumorales. A nivel celular, las estructuras intracelulares más susceptibles de ser atacadas son las mitocondrias, los lisosomas, la membrana plasmática, los microtúbulos, el aparato mitótico y el núcleo (71). Los fotosensibilizantes lipofílicos tienden a acumularse en las membranas celulares, produciendo la destrucción tanto de la membrana citoplásmica como de la mitocondrial. La muerte celular se producirá por un mecanismo de apoptosis o de necrosis celular en función de la diana destruida. En el caso de las queratosis actínicas parece producirse por un mecanismo de apoptosis (47).

En Dermatología, las sustancias fotosensibilizadoras principalmente empleadas por vía tópica son el ácido 5-aminolevulínico (ALA) y el metilaminolevulinato (MAL). No son fotosensibles en sí mismo sino prodrogas que, aplicadas sobre la piel, penetran hasta el tejido diana donde, por la vía de biosíntesis del hemo se transforman en protoporfirina IX (PpIX), que es el verdadero compuesto fotosensible (72).

a.- Ácido 5-aminolevulínico (ALA):

El ALA es un ácido 5-amino-4-oxopentanoico, cuya fórmula molecular es $C_5H_{10}ClNO_3$, con un peso molecular de 167,61 g/mol. Es el precursor natural de la PpIX fotosensible, de forma que la administración exógena de ALA induce la formación endógena de la PpIX, que es un fotosensibilizante natural. La molécula de ALA consiste en un polvo blanco o cristal sensible a la luz, soluble en pomadas hidrofílicas, aunque la penetración cutánea es mayor en vehículos lipofílicos. Químicamente, es un ácido orgánico pequeño cuyo grupo funcional es el carboxil polar $-COO^- H^+$, el cual no es capaz de penetrar pasivamente la capa lipídica de la membrana celular, por lo que no puede entrar en las células por difusión. La penetración celular se hace de forma activa mediante un sistema de transporte ATP-dependiente por saturación cinética (45).

En general, la eficacia de la penetración del ALA en la piel está influida por el grosor de la misma. Penetra más fácilmente en piel con anomalías benignas que en piel sana. Se estima que el ALA requiere entre 3-15 horas para penetrar 2,5-3 mm en varios tipos de tejido; sin embargo, en las queratosis actínicas es capaz de hacerlo en sólo 60 minutos.

La FDA anunció la aprobación del ALA en diciembre de 1999. El hidrocloreto del ALA al 20% es fabricado por DUSA Pharmaceuticals (Inc of Valhalla, NY)

bajo el nombre comercial de Levulan[®] Kerastick[™]. La comercialización del Levulan[®] fue planeada a estar disponible en el mercado internacional, en el 2002, en combinación con la irradiación de luz azul, para el tratamiento de queratosis actínicas en cara y cuero cabelludo. Ha habido intentos para que la FDA registre el uso del producto en combinación con otras fuentes de luz. La compañía alemana Medan GMBH (Wedel) está ofreciendo un producto ALA para el diagnóstico del cáncer de vejiga y cáncer cerebral. Además, están en procesos distintos estudios para ser aprobado el empleo del ALA en enfermedades cutáneas como la psoriasis (73).

b.- Metil-éster-aminolevulinato (MAL):

El MAL no es un ácido libre sino un éster, de forma que el grupo polar COOH⁻ del ALA es cubierto por la esterificación con un alcohol (metanol), resultando en un cambio fundamental de las propiedades biofísicas de la molécula. Los ésteres pueden emplear tanto un transporte activo adicional como una vía de difusión, la cual dependerá del gradiente de concentración. Ello conduce a una aceleración significativa de la captación celular, sobre todo al inicio cuando el gradiente es más alto.

El metil-[5-amino-4-oxopentanoato] es un polvo cristalino blanco sensible a la luz que, a partir de una molécula, puede construir fácilmente un dímero cíclico con otra molécula. Es sensible a la temperatura y otras influencias físicas lo que hace que sea difícil su formulación galénica para su empleo en dermatología. Sólo la producción industrial altamente controlada puede garantizar la calidad apropiada de la formulación en la que se utiliza una molécula más pequeña, el hidróclorido, con un peso molecular de 181,6.

Después de la captación celular, el éster se disocia parcialmente a ALA y alcohol metilo. El ALA experimenta entonces su vía metabólica. Otros restos como el éster parecen entrar directamente en la síntesis de porfirinas, es decir, existen evidencias de la incorporación directa de MAL en la ruta de síntesis de las porfirinas e incluso de efectos estimulantes del MAL en la ruta porfirínica (71).

Al ser una molécula lipofílica penetra mejor a través del estrato córneo por lo que requiere un tiempo menor de incubación, 3 horas desde su aplicación. Peng y cols. describieron que el MAL penetraba hasta 2 mm de profundidad en carcinomas basocelulares frente a la capacidad de profundizar más limitada del ALA (74). Sin embargo, Ahmadi demostró en un estudio, *in vitro* de biopsias de piel humana, que cuando se utilizaba un periodo de 4 horas de incubación del ALA, conseguía una capacidad de penetración de cómo mínimo 2 mm desde la superficie lesional. Curiosamente, usando el mismo protocolo con MAL, se obtiene niveles más altos de PpIX con ALA, pero menos selectividad por el tejido enfermo que por el sano que con el empleo de MAL, tanto en el tratamiento de queratosis actínicas como en el acné (75).

La formulación del metil-éster del ALA en O/W es comercializada, a una concentración de 160 mg/g, con el nombre comercial de Metvix[®] por la compañía PhotoCure ASA (Oslo, Noruega), siendo Galderma (Freiburg, Alemania) la responsable de su distribución por Europa donde está aprobado su empleo para el tratamiento de queratosis actínicas, epiteloma basocelular superficial y nodular y enfermedad de Bowen (55,73).

4.4 METABOLISMO DEL ALA.

El ALA es un precursor endógeno de metabolitos de porfirinas altamente fotosensibilizadores. Para entender la transformación del ALA en PpIX hay que conocer la vía de síntesis del hemo (Figura 6). La formación de ALA a partir de glicina y succinil-coenzima A es el escalón inicial y limitante de esta vía, y tiene lugar en el interior de la mitocondria. Subsecuentemente, 4 moléculas de ALA son condensadas a porfobilinógeno (PBG), el siguiente paso intermedio. La conversión desde 4-PBG a uroporfirinógeno I (UROP I) y uroporfirinógeno III (UROP III) es catalizada por PBG-deaminasa. Sólo el isómero III puede ser más tarde metabolizado en la vía de síntesis del hemo. La decarboxilación de UROP III conduce a la formación de hepta-, hexa-, penta- y, finalmente, protoporfirinógeno. El protoporfirinógeno es oxidado a PpIX y la incorporación de hierro en la PpIX forma el hemo, a través de la ferroquelatasa. Bajo condiciones fisiológicas, la síntesis del ALA está fuertemente controlada por la disponibilidad del substrato y por una inhibición por retroalimentación de la enzima ALA sintasa (ALA-S), presumiblemente por los niveles intracelulares de hemo. La administración exógena de ALA *by-passea* la inhibición del ALA-S y, de esta forma, conduce a una mayor formación de porfirinas en los tejidos, principalmente, PpIX, ya que ninguna de las enzimas de la vía de síntesis del hemo está limitada salvo la actividad de la ferroquelatasa. La PpIX se acumula en las células tumorales posiblemente por una disminución de la actividad de la ferroquelatasa y/o un aumento de la actividad de la porfobilinógeno deaminasa. La síntesis de PpIX en las células tumorales o premalignas es de 2-10 veces superior que en las células normales y el acúmulo intracelular de PpIX se produce en la mitocondria, la membrana citoplásmica, la envoltura nuclear y los

lisosomas (76). La activación lumínica de esta PpIX induce daño de varias organelas celulares tales como las mitocondrias, el retículo endoplásmico y la membrana citoplásmica. Además, durante la TFD se generan metabolitos con capacidad fotosensibilizante que inducen aún más daño celular.

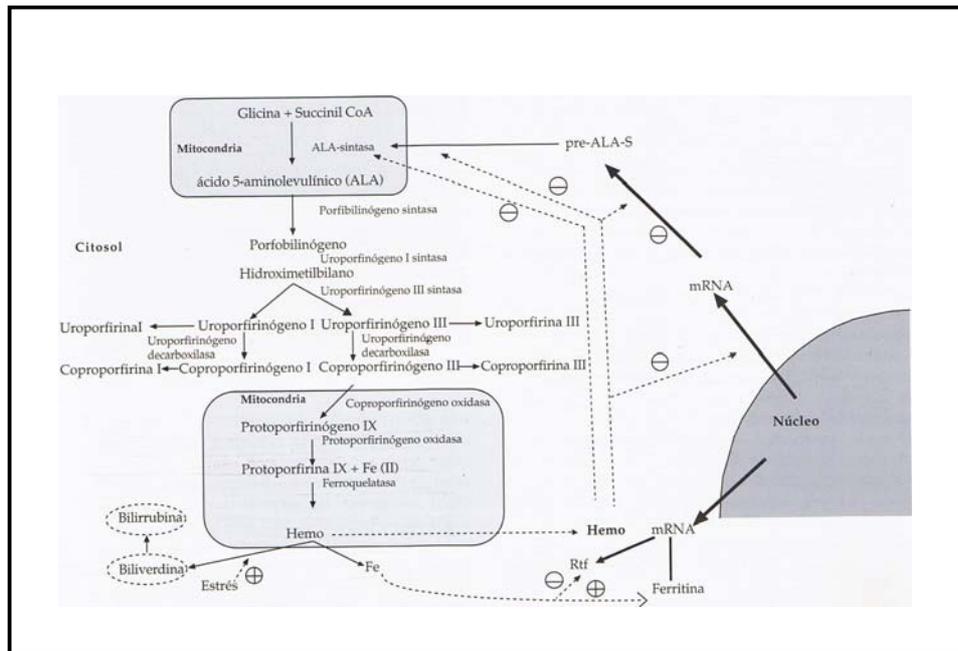


Figura 6. Vía de síntesis del hemo.

(Imagen tomada de “Terapia Fotodinámica”, Capítulo 1. Principios básicos de la terapia Fotodinámica. Yolanda Gilaberte)

4.5 FARMACODINÁMICA DEL ALA.

El ALA es el precursor más importante de porfirinas capaz de producir síntomas de *porfiria-like* si es administrado en cantidades suficientes (77). Se puede administrar de forma tópica o sistémica.

a.- Administración sistémica del ALA:

En 1998, Herman (78) examinó los efectos hemodinámicos del ALA, administrado de forma oral, en dosis usadas para TFD, en 6 pacientes con historia de enfermedad cardiaca. Los pacientes experimentaron un descenso importante en la presión sanguínea sistólica y diastólica, en la presión sistólica

y diastólica pulmonar y en la resistencia vascular pulmonar. Aunque no se apreciaron secuelas adversas como resultado de estos cambios hemodinámicos, este potencial debería ser reconocido en pacientes sometidos a TFD con ALA.

En 1997, Fritsch y cols. midieron la cinética de las porfirinas inducidas por el ALA, administrado de forma intravenosa 24 horas antes, en hamsters con melanoma amelanótico. La inyección intravenosa resultó en un aumento del ALA y porfirinas dentro de los eritrocitos, con un valor máximo a los 45 minutos. Los niveles basales fueron alcanzados de nuevo a las 24 horas después de la inyección. La inyección de ALA fue seguida de la acumulación de porfirinas totales en tumor, piel, hígado y riñón. Los niveles de porfirina en el tejido tumoral demostraron valores máximos a los 45 minutos y a las 4 horas, y estuvieron aún elevados a las 24 horas. En piel, la acumulación de porfirinas fue menos elevada, con un máximo a las 4-8 horas y, aún detectables, a las 24 horas. La protoporfirina, coproporfirina y porfirinas altamente carboxiladas fueron encontradas en el tejido tumoral en cantidades comparativamente más altas, con máximos valores a los 45 minutos y 4 horas. En la piel, los niveles de protoporfirina y porfirinas altamente carboxiladas, pero no de corproporfirinas, demostraron un aumento ligero (79).

La administración sistémica del ALA resulta en una acumulación más rápida y más alta de porfirinas intratumorales que la que se alcanza con la aplicación tópica. Con la aplicación tópica del ALA, tanto en humanos como en animales, la fluorescencia máxima se detecta después de 4 a 6 horas.

En contraste a la aplicación tópica, la administración sistémica de ALA se asocia a efectos adversos como aumento en suero de aspartato

aminotransferasa, náuseas, vómitos, cefalea, fracaso circulatorio y fotosensibilidad (80). Ello puede deberse al aumento en 50 veces de los niveles hepáticos de protoporfirina. El ALA sistémico induce síntesis de porfirinas especialmente en el hígado y en la médula ósea, aunque todas las células nucleadas pueden sintetizar PpIX, la cual puede ser detectable en la epidermis entre las 3 y 8 horas de la administración sistémica del ALA.

La administración sistémica de ALA en humanos se ha realizado a dosis de 10-60 mg/Kg oral bisemanal, lo que induce un pico temprano (< 4 horas) de niveles de ALA y porfirinas en eritrocitos y plasma. Los valores basales fueron, de nuevo, alcanzados después de 12 horas, en el caso del ALA, y de 48 horas, en el caso de las porfirinas. Estos datos demuestran claramente que todo el ALA administrado de forma oral, es precozmente transportado hacia el plasma. Estos picos altos iniciales de ALA en sangre serían los responsables de potenciales efectos adversos neurológicos, gastrointestinales o hemodinámicos. La excreción urinaria de porfirinas y precursores demuestra valores normales a los 3 días después del tratamiento, siendo rápido el aclaramiento de la PpIX generada, en unas 48 horas (80).

b.- Administración tópica de ALA:

La principal ventaja de la aplicación tópica del ALA es la ausencia de fotosensibilidad cutánea generalizada. En 1996, Fritsch y cols. investigaron el metabolismo de las porfirinas en sangre y orina después del tratamiento tópico con ALA para confirmar la ausencia de efectos sistémicos. El estudio confirmó que la aplicación tópica de ALA en cantidades de 0,05-0,2 g/cm² (cantidades totales de 0,02-7 g) no inducía acumulación significativa sistémica de porfirinas (81).

La PpIX se detecta en la epidermis después de las 4 horas de la aplicación tópica del ALA. Los preparados tópicos de ALA por debajo del 50% en emulsión O/W no son tóxicos para los tejidos cuando se aplican durante menos de 48 horas.

El estrato córneo es la barrera limitante del ALA, siendo insignificante la penetración a través de los anejos. El ALA penetra con dificultad a través de la piel, y su selectividad tumoral se debe probablemente a una alteración de la permeabilidad cutánea en ese punto. Numerosos intentos se han realizado para potenciar la eficacia de la TFD con ALA tópico mediante el empleo de potenciadores de la penetración o compuestos adicionales para inducir o inhibir ciertas enzimas de la vía de síntesis del hemo. Fijan (82), en 1995, demostró que la desferrioxamina aumentaba la acumulación de protoporfirina inducida por ALA. Peng (74) y, posteriormente, Soler (83), demostraron que la combinación de dimetilsulfóxido (DMSO) y ácido etilen-diamine-tetra-acético (EDTA) con ALA, aumentaba la producción de protoporfirina en la profundidad de las lesiones, aumentando el porcentaje de respuesta completa del epiteloma basocelular nodular.

Los ésteres lipofílicos derivados del ALA demuestran una fluorescencia de porfirinas más débil, pero la selectividad tumoral es más alta, probablemente debido a una penetración alternativa a través de las membranas celulares, comparado con el ALA hidrofílico (84). Los ésteres con grupos metilo y hexilo son los más selectivos. La terapia fotodinámica con MAL resulta en un porcentaje de respuesta más alto del epiteloma basocelular nodular, lo cual indica que esta pro-droga fotosensibilizadora puede ser útil en tumores más gruesos. Con los ésteres derivados del ALA se puede acelerar la captación

entre la aplicación tópica y el inicio de la irradiación ya que se mejora la selectividad por las células neoplásicas. La FDA declara un tiempo entre la aplicación del ALA de 16 horas, mientras que con MAL es de 3 horas (73).

4.6 FUENTES DE LUZ UTILIZADAS EN LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

En la terapia fotodinámica la fuente de luz empleada viene determinada por el espectro de excitación del fotosensibilizante, la capacidad de penetración de la luz en los tejidos y la potencia. La fuente de luz ideal para la TFD en Dermatología debería cumplir los siguientes requisitos (85):

- Emitir una luz que sea bien absorbida por el fotosensibilizante.
- Capacidad de penetración adecuada en la piel para alcanzar su diana.
- Tener una adecuada fluencia y duración para producir la reacción fotodinámica.
- Poder administrarse en poco tiempo.
- Causar mínimas molestias y eritema, con ausencia de púrpura, costras ni discromías.
- Permitir una recuperación rápida del daño tisular causado, sin lesiones residuales.

Las fuentes de luz empleadas en Dermatología para la realización de la TFD son fuentes de luz no coherente, fuentes de luz coherente o láser y la luz pulsada intensa (IPL).

a.- Fuentes de luz no coherentes: Son las primeras fuentes de luz que se comenzaron a usar en la TFD y las que más se usan actualmente. Al emitir un

haz muy grande, tienen el inconveniente de no poder enfocar sobre el objetivo cuando éste es muy pequeño, y la ventaja de que al poder iluminar campos amplios, se pueden tratar áreas grandes de forma simultánea (86). Las longitudes de onda empleadas se basan en el espectro de absorción de las porfirinas (Tabla 10):

- Luz azul: presenta el pico de máxima absorción a 400 nm (banda de Soret). Comenzó a emplearse con más frecuencia a finales de los 90 en el tratamiento de las queratosis actínicas, por tratarse de lesiones superficiales que no requerían gran penetración tisular. En 1997, la FDA aprobó su uso junto al ALA tópico para el tratamiento de las queratosis superficiales. Esta combinación ha demostrado ser eficaz para actuar sobre el fotoenvejecimiento cutáneo y en las últimas décadas se han realizado varios estudios sobre su utilidad en el tratamiento del acné.

Tabla 10. Fuentes de luz no coherente (87).

Lámparas incandescentes	Bombillas convencionales.	Longitud de onda de banda ancha de 400nm a infrarrojo.	Cuarzo Halógenas Tungsteno
Arcos de alta presión	Lámparas que contienen gas que conducen electricidad a altas temperaturas.	Longitud de onda de banda ancha.	Arco de Xenon (600-660 nm) Arco de xenon mercurio
Arcos de baja presión (material fluorescente)	Lámparas que contienen gas que conducen electricidad a altas temperaturas.	Banda ancha	Vapor de mercurio
Diodo emisor de luz (LED)	Dispositivo semiconductor que emite luz policromática cuando es atravesado por la corriente eléctrica.	Banda estrecha de 20-50 nm, sin emisión infrarroja.	Arseniuro fosfuro de galio (630 nm); Aktilite®. Omnilux PDT®

- Luz roja: proporciona la máxima penetración tisular, aunque el coeficiente de absorción es menor a esta longitud de onda de 650 nm (banda Q). Permite el tratamiento de cáncer de piel no melanoma hasta una profundidad de 2-3 mm. Es la fuente de luz más empleada con el MAL. Ha

demostrado ser eficaz en el tratamiento del acné con ALA tópico aunque con efectos secundarios significativos.

b.- Fuentes de luz coherentes o láseres: son fuentes de luz monocromática y unidireccional que comenzaron a emplearse en los 90 en la TFD. Presentan una serie de ventajas respecto a las fuentes de luz no coherente (86,88,89):

- Puede acoplarse un cable de fibra óptica para acceder a tumores internos.
- Permite seleccionar una longitud de onda determinada que maximice la profundidad de la penetración tisular.
- Capacidad para administrar mayor energía lumínica en menos tiempo al presentar mayor irradiancia.
- Permite aplicar la luz sobre áreas muy pequeñas con límites muy precisos y alta definición.

Los láseres pulsados parecen ser más eficaces que los de iluminación continua, siendo el láser de colorante pulsado el que parece ofrecer más ventajas al permitir seleccionar la longitud de pulso, lo cual evita la producción de púrpura. Su sistema de enfriamiento dinámico minimiza el dolor durante el disparo (87). No obstante, dos estudios recientes defienden que las fuentes de luz pulsada, aunque inducen reacción fotodinámica evidente, ésta es más débil que la que ocurre con fuentes de onda continua en el rango azul. Defienden que tanto el láser de colorante pulsado como el IPL liberan luz intensa en periodos de menos de 20 mseg, lo cual puede suprimir el consumo de oxígeno y piensan que la exposición posterior a la luz ambiental parecen tener su contribución en el efecto clínico (90,91).

c.- **Luz pulsada intensa (IPL)**: es muy versátil lo que le permite usar longitudes de onda que se extienden entre el azul y los infrarrojos, excitando así a la PpIX mediante sus sucesivas bandas de absorbancia. Estudios preliminares sugieren que la TFD con luz pulsada intensa puede ser un tratamiento eficaz y bien tolerado para el acné, sin embargo, se requieren aún más ensayos controlados (85).

4.7 INDICACIONES DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA.

La terapia fotodinámica (TFD) es altamente eficaz en el tratamiento de tumores cutáneos epiteliales con excelentes resultados cosméticos, superiores a la crioterapia y cirugía. Las indicaciones aprobadas en Europa son: queratosis actínicas, carcinomas basocelulares superficiales y nodulares y, recientemente, la enfermedad de Bowen (55). Nuevas indicaciones prometedoras de la TFD incluyen múltiples dermatosis inflamatorias, tumorales, infecciosas, depilación, rejuvenecimiento y lesiones vasculares (21) (Tabla 11 y 12).

El uso de la TFD en lesiones de psoriasis es una de las indicaciones más interesantes. La TFD produce apoptosis de los linfocitos de la placa y, además, una disminución del número de CD4 en comparación con las placas no tratadas. Igual que el PUVA-terapia, la TFD inhibe la producción de TNF alfa y la producción de IL-1 e IL-6. Se aprecia una normalización de la queratinización epidérmica en las biopsias practicadas y una disminución del marcador Ki67, que representa la proliferación de la epidermis. Fransson (92) demuestra, además, que la TFD disminuye el infiltrado inflamatorio y aumenta la

neovascularización dérmica. Sin embargo, varios problemas están limitando su empleo como son: el tratamiento de lesiones diseminadas, alto grado de dolor quemante por el empleo de dosis lumínicas más altas y la provocación del fenómeno de Koebner.

Tabla 11. Nuevas prometedoras indicaciones de la TFD.

Patología inflamatoria	<ul style="list-style-type: none"> - Acné - Psoriasis - Morfea - Liquen escleroso y atrófico - Rosácea - Liquen plano - Alopecia areata
Patología tumoral	<ul style="list-style-type: none"> - Linfoma cutáneo de células T - Carcinoma escamoso - Prevención de cáncer cutáneo - Tratamiento paliativo de metástasis cutáneas - Eritroplasia de Queyrat - Queilitis actínicas - Queratoacantomas
Patología infecciosa	<ul style="list-style-type: none"> - VPH: verrugas vulgares, condilomas, VIN, epidermodisplasia verruciforme - Hongos - Leishmania cutánea
Miscelánea	<ul style="list-style-type: none"> - Lesiones vasculares - Hirsutismo - Rejuvenecimiento fotodinámico - Hiperplasias sebáceas - Sarcoma de Kaposi - Queloides - Melanoma amelanótico - Granuloma anular - Hailey-Hailey - Nevus sebáceo - Hidrosadenitis - Paget extramamario - Linfadenosis benigna cutis - Poroqueratosis actínica - Enfermedad de Darier - Necrobiosis lipoídica - Pseudolinfomas

El acné vulgar es otra de las enfermedades cutáneas de interés actual en la investigación de la TFD, dada la destrucción selectiva que induce del *P. acnes*.

Aún se desconoce el mecanismo exacto de la TFD en el acné aunque se postulan 4 formas de actuación: bactericida, daño de la glándula sebácea, disminución de la obstrucción folicular y respuesta inmunológica (93).

Morton y cols. han publicado, recientemente, una serie de directrices sobre el empleo de TFD en las que establecen un cuadro sobre las indicaciones clínicas en base a análisis y calidad de evidencia (72):

Tabla 12. Indicaciones clínicas de la TFD en dermatología y análisis de evidencia.

Intensidad de la recomendación	Calidad de la evidencia	Indicaciones
A	I	Queratosis actínicas, CBC superficial y enfermedad de Bowen
B	I	CBC nodular delgado, displasias epidérmicas en pacientes transplantados, acné inflamatorio en cara y espalda, verrugas víricas, leishmaniasis cutánea.
B	II-iii	Fotorrejuvenecimiento
C	II-iii	Linfoma de células T cutáneo localizado, neoplasia intraepitelial vaginal
C	III	Enfermedad de Paget extramamaria
C	IV	Prevención de cáncer cutáneo
D	I	Psoriasis
D	II-iii	CEC invasivo

Intensidad de las recomendaciones: A: hay buena evidencia que apoya el uso de la técnica; B: hay bastante evidencia que apoya el uso; C: hay poca evidencia que apoya el uso; D: hay bastante evidencia que apoya el rechazo de la técnica; E: hay buena evidencia que apoya el rechazo de la técnica.

Calidad de la evidencia: I: evidencia obtenida de como mínimo un ensayo propiamente designado, randomizado y controlado; II-i: evidencia obtenida de un ensayo bien designado y controlado pero no randomizado; II-ii: evidencia obtenida de un estudio analítico de casos-contróles o estudio cohorte bien designado, preferiblemente de más de un centro o grupo de investigación; II-iii: evidencia obtenida de múltiples series con o sin la intervención; III: opiniones de respetadas autoridades basadas en la experiencia clínica, estudios descriptivos o publicaciones de comités de expertos; IV: evidencia inadecuada debido a problemas de metodología.

4.8 SEGURIDAD Y TOLERABILIDAD DE LA TFD.

Las contraindicaciones establecidas para la TFD incluyen pacientes con fotosensibilidad, porfirias u otras enfermedades que puedan ser provocadas o agravadas por exposición lumínica, alergia a porfirinas (que no han sido descritas), ALA o algún componente de la formulación usada. En 1998, Gniazdowska describió un caso de dermatitis alérgica de contacto después de la exposición al ALA (94).

En contraste con algunas modalidades terapéuticas convencionales dirigidas contra el cáncer, la TFD tiene comparativamente pocos y transitorios efectos adversos. No obstante, un fenómeno común durante la exposición lumínica es el hecho de que los pacientes experimentan dolor quemante, escozor o picor, restringido al área iluminada (95). Los picos de malestar ocurren, principalmente, en los primeros minutos de irradiación y pueden, ocasionalmente, continuar durante algunas horas, con intensidad disminuida. Las molestias alcanzan una meseta a los 6 minutos de irradiación lumínica y decrecen entre un minuto y 24 horas después del final del tratamiento. Estudios sobre monitorización de la temperatura han demostrado que los tumores cutáneos alcanzan temperaturas entre 39,5-42,5 °C durante la TFD, mientras que en el área irradiada no tratada con ALA, fue de 2-4 °C más alta (96). Sin embargo, el dolor fue asociado sólo al área tumoral lo que sugiere que la quemazón y/o escozor durante la TFD son el resultado del proceso fotoquímico más que de la hipertermia. Existen evidencias de que la severidad de estos efectos de calor y dolor está relacionada con la longitud de onda aplicada, de forma que las longitudes más cortas (luz verde en lugar de roja) parecen causar menos dolor. En cualquiera de los casos, el fenómeno del dolor

quemante durante la TFD aún no está claro. Se piensa que es debido a una combinación de la hipertermia alcanzada por el tejido diana durante el proceso, y una intensa estimulación nerviosa por las especies de oxígeno reactivo formadas. Las molestias son similares a las descritas en pacientes que sufren de porfiria eritropoyética cuando se exponen al sol y se piensa que el dolor de la TFD resulta de una porfiria inducida localmente y parece relacionarse con una estimulación nerviosa y/o daño tisular por especies de oxígeno reactivo. Las especies de oxígeno reactivo conducen a una oxidación de los lípidos de membrana, entrecruces de proteínas y daño oxidativo del ADN. La activación de los factores de complemento induce daño de membrana, activación de mastocitos, quimiotaxis de leucocitos polimorfonucleares, vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. La degranulación de los mastocitos puede ser un factor adicional responsable de la quemazón y hormigueo durante la TFD.

Los factores implicados en la intensidad del dolor son: localización (las lesiones localizadas en la cabeza son más dolorosas que las de tronco y extremidades), tipo (las queratosis actínicas son más dolorosas que los epitelomas) y tamaño de la lesión; presencia de ulceración; área de fluorescencia; fluencia (a mayor fluencia, mayor dolor); dosis de tratamiento; fototipo del paciente (mayor dolor en los fototipos I-II); tipo de luz (luz roja más dolorosa que luz verde); grado de eritema (a mayor eritema hay mayor vasodilatación, lo que conlleva más aporte de oxígeno y se forman más reactantes); y fraccionamiento de la dosis (las dosis fraccionadas son mejor toleradas y conservan la misma eficacia) (97-99). Cuando se compara la aparición de dolor entre el empleo de ALA y MAL, Wiegell y Wulf (36)

observaron que en pacientes con acné, no había diferencias estadísticamente significativas en los niveles de dolor durante la iluminación, aunque el área tratada con ALA presentaba eritema, edema y costras más intensos. Este estudio difiere de otro realizado por Wiegell (100) sobre las diferencias entre la TFD en piel normal y piel enferma, encontrando que en piel sana, las áreas tratadas mediante TFD con MAL presentan menos dolor que con ALA. Además, observa diferencias en la pigmentación postinflamatoria, siendo difusa en el lado del ALA y folicular con el MAL. Moloney y Collins observaron niveles más altos de dolor en las áreas tratadas con ALA respecto a MAL en pacientes con queratosis actínicas en cuero cabelludo (101). Kasche describe que en el grupo de pacientes con queratosis actínicas que son tratados con ALA es necesario la interrupción de la irradiación, por aparición de dolor, con más frecuencia que cuando se aplica MAL (102). Sin embargo, en estos dos estudios de Moloney y Kasche es importante puntualizar que emplean un periodo de incubación doble del ALA respecto al MAL, lo que puede llevar a mayor producción de porfirinas. Taylor (103) defiende que MAL no produce menos dolor que ALA cuando se trata piel enferma, pero los efectos adversos parecen desaparecer más rápidos con el MAL y tener menos afectación en piel sana.

Con la intención de mejorar el tema del dolor, se probó a emplear cremas de xilocaína (EMLA[®]) pero no fue eficaz. Además, no se recomienda la aplicación de estos anestésicos tópicos durante la incubación del ALA/MAL porque su alto pH podría inactivar químicamente al fotosensibilizante (104). La infiltración local de anestesia es eficaz en lesiones localizadas, siendo más complicado su uso en amplias áreas con múltiples lesiones. No obstante, no se recomienda el

empleo de anestésicos con vasoconstrictores puesto que es necesario un aporte adecuado de oxígeno a la lesión durante el tratamiento. Los bloqueos nerviosos mediante anestesia regional son los más empleados en los protocolos de TFD. En el 2001, Lang demostró la disminución del dolor mediante la aplicación de aire frío con sistemas de enfriamiento (105). Se pueden emplear ventiladores manuales, sprays con agua o suero salino, nitrógeno líquido.

El curso normal de la respuesta clínica a la TFD implica la aparición de otros efectos adversos como la presentación de costra, descamación, eritema y edema que, generalmente, se resuelven entre 1 y 4 semanas después del tratamiento, dependiendo de la extensión y características histopatológicas de las lesiones. En otras ocasiones pueden aparecer pústulas, disestesia y excoriación, urticaria, exudación. No obstante, y de forma global, los resultados cosméticos de la TFD son excelentes, con frecuencia superiores a los de la crioterapia o cirugía (72). Además, los miembros del grupo de consenso sobre TFD, reunidos en el 2006, establecieron que los resultados de la TFD mejoran con la cantidad de eritema y descamación alcanzados después del tratamiento, de forma que la ausencia de enrojecimiento a las 24-48 horas de la sesión, generalmente, indican que la incubación del ALA no ha sido suficiente para alcanzar un efecto terapéutico, por lo que el tiempo de incubación debería aumentarse en las siguientes sesiones (47).

Una de las desventajas que puede ocurrir es la aparición de hiper o hipopigmentación residual del área tratada, observado en un 10-30% de los casos (95). Estudios en piel sana demostraron que la hiperpigmentación es dosis-dependiente del ALA, ocurriendo a las 48-72 horas del tratamiento,

aumentando durante las dos semanas posteriores (106). Otros efectos secundarios infrecuentes son los quistes de millium, cicatrices superficiales y casos aislados de ulceración. Se han observado, también, casos de foliculitis aséptica en TFD de zonas pilosas, y de pérdida de pelo después de tratamientos sobre amplias áreas de enfermedad de Bowen y carcinoma basocelular, en zonas de piel no pertenecientes al cuero cabelludo (107,108).

En cuanto al posible potencial carcinógeno de la TFD, éste no ha sido demostrado, dado que además este tratamiento no induce modificaciones covalentes del ADN (95). De hecho, en 1997, Stender y cols. (109) describieron que el ALA tópico retrasaba la fotocarcinogénesis por radiación UV inducida en piel lampiña de ratones, de ahí que la TFD puede ser de utilidad en la prevención de cáncer de piel. Por otro lado, las moléculas “*porfirina-like*” poseen propiedades antioxidantes y antimutagénicas (110). La TFD tiene el potencial de promover efectos genotóxicos dado que genera especies de oxígeno reactivas (ROS), sin embargo, estos efectos se limitan al área de alrededor del sitio de su generación; y en el caso de la TFD los ROS liberados median sus efecto en la mitocondria y no en el núcleo (59). Recientes estudios han demostrado que la TFD induce niveles bajos de p53 y que los ROS generados no producen daño del ADN por la vía de fosforilación de la p53, como se ha visto con el PUVA (111). La TFD no induce dímeros de pirimidina ciclobutano ni fotoproductos como ocurre con la radiación UV que induce lesiones en el ADN por mutaciones características de la p53 que se observan en cáncer de piel no melanoma (112). No obstante, se han descrito 3 casos de neoplasias asociadas a la realización de TFD: un melanoma en cuero cabelludo de paciente que se había tratado por queratosis actínicas (113); un

carcinoma espinocelular sobre un área de eritroplasia de Queyrat que estaba siendo tratada con TFD (114); un queratoacantoma en paciente que estaba siendo tratado por queratosis actínicas (115). Bissonette (116) realizó estudios para comprobar si existían posibles efectos carcinogénicos con el empleo de múltiples sesiones de ALA con luz azul y observó que tanto el ALA aislado, como la luz sola o la TFD mediante la combinación de ALA y luz azul, eran tratamientos seguros para el humano.

4.9 TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ.

Los ensayos clínicos han demostrado la eficacia de la TFD endógena en el acné inflamatorio leve-moderado por acción de las porfirinas producidas por la propia bacteria (*P. acnes*), mediante el empleo de diferentes fuentes de luz. Con el objetivo de aumentar la reacción fotodinámica y, potencialmente, poder tratar el acné inflamatorio moderado-grave, los investigadores comenzaron a emplear una forma exógena de TFD mediante la aplicación tópica de un fotosensibilizador en el área a ser tratada, previo a la irradiación lumínica (117).

El enfoque del empleo de la TFD en el acné está basado en (47) (Figura 7):

- La eficacia probada del uso de fuentes de luz y láser en el acné.
- La captación del ALA por las unidades pilosebáceas y su conversión en PpIX.
- La fotoexcitación de las porfirinas endógenas bacterianas para producir singletes de oxígeno citotóxicos.

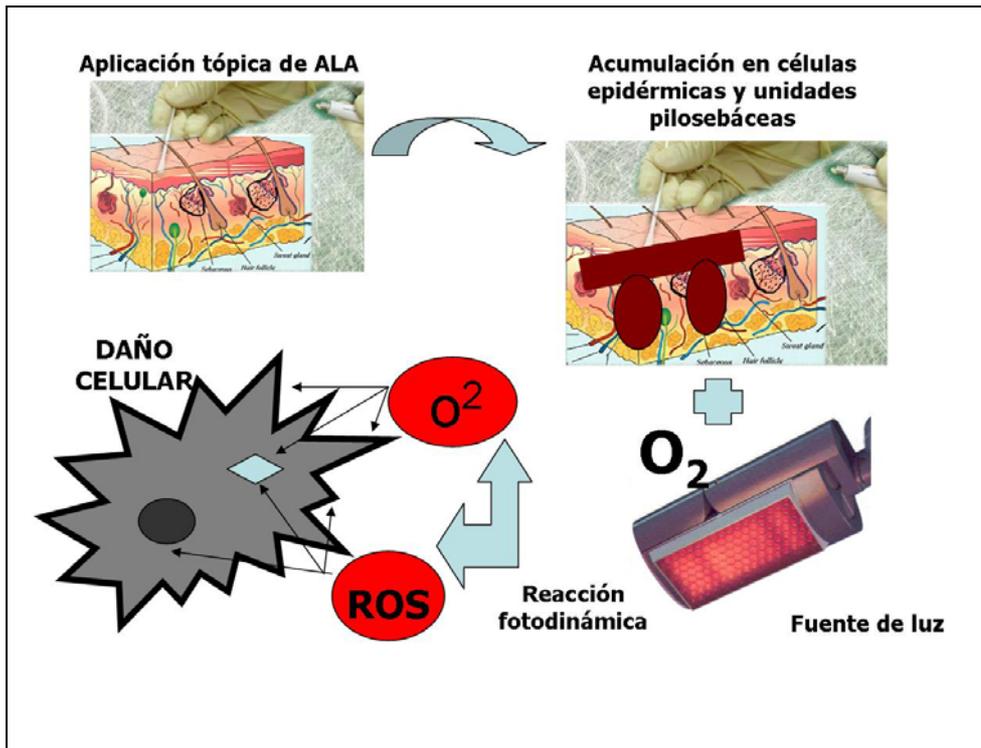


Figura 7. Acúmulo preferencial de ALA en glándulas sebáceas y reacción fotodinámica.

El mecanismo exacto de actuación de la TFD en el acné no es conocido pero se postulan varias acciones (118):

- Daño fotodinámico directo sobre la glándula sebácea, induciendo disminución de la producción de sebo.
- Destrucción fotodinámica del *P. acnes*.
- Aumento del recambio de los queratinocitos con disminución de la hiperqueratinización y de la obstrucción folicular.

El depósito de 5-ALA no sólo tiene lugar en las células epidérmicas sino también en las unidades pilosebáceas, donde ocurre un acúmulo preferencial, en el *P. acnes*, de coproporfirina III, protoporfirina y uroporfirina (93,118). Este dato apoya el empleo de la TFD en el tratamiento del acné. No obstante, la selectividad y acumulación en las glándulas dependerá del vehículo y tiempo

de aplicación (23). En los distintos ensayos clínicos se intenta que se produzca un acúmulo preferencial de ALA en la glándula sebácea frente a la epidermis. Con periodos cortos de incubación (< 2 horas), la mayor parte de la formación de PpIX ocurrirá en el infundíbulo y parte superior de la epidermis. Con periodos más largos se puede conseguir una acumulación preferencial en el folículo sebáceo sin comprometer la epidermis (23). Algunos investigadores han empleado las pautas tradicionales de la TFD con periodos largos de incubación del ALA y empleo de fuentes de luz con fluencias y penetraciones más profundas. Así, Itoh realizó un estudio con láser excimer de 635 nm, a 5 J/cm², previa incubación de ALA durante 4 horas. Demostró remisión del acné durante 8 meses después de un único tratamiento (119).

Divaris y cols. fueron quienes, en un estudio en ratones albinos, demostraron, *in vitro*, que el ALA era metabolizado a PpIX en las unidades pilosebáceas, mediante la vía de síntesis del hemo. Observaron una acumulación más intensa de porfirinas en las unidades pilosebáceas, en comparación con epidermis y folículos pilosos (19). La mayor cantidad de porfirinas acumuladas en las glándulas sebáceas se observa mediante la aplicación de luz de Wood, con la que se obtiene fluorescencia rojo-anaranjada coral a nivel de los folículos sebáceos, sobre todo, aquellos que están afectados por acné (Figura 8). Esta fluorescencia ha sido empleada como una técnica simple, no invasiva, para monitorizar la destrucción del *P. acnes* y la eficacia de los antibióticos sistémicos. Cornelius y Ludwig descubrieron que la intensidad de la fluorescencia, principalmente, producida por la coproporfirina III, era proporcional a la cantidad de bacteria. Hongcharu y cols. (93) observaron, mediante fotografía con luz ultravioleta, mayor intensidad de la

fluorescencia en las zonas afectadas por el acné que en los tejidos circundantes. Por tanto, se determina que la intensidad de la fluorescencia roja, se relaciona con la cantidad de porfirinas que, a su vez, se correlaciona con el grado de colonización de los folículos pilosebáceos por el *P. acnes* (9,93). En el estudio realizado por Wiegell y Wulf con TFD empleando MAL demuestran, mediante el empleo de iconografías antes y después de la incubación de MAL, la presencia de fluorescencia en las zonas de lesiones inflamatorias con ausencia de la misma en las lesiones no inflamatorias. Encuentran una correlación estadísticamente significativa entre las lesiones inflamatorias y la alta fluorescencia de PpIX. Ello puede soportar la teoría de que la ausencia de efecto fotodinámico que se observa en las regiones de lesiones no inflamatorias, pueda estar asociado con menor acumulación de PpIX (120).

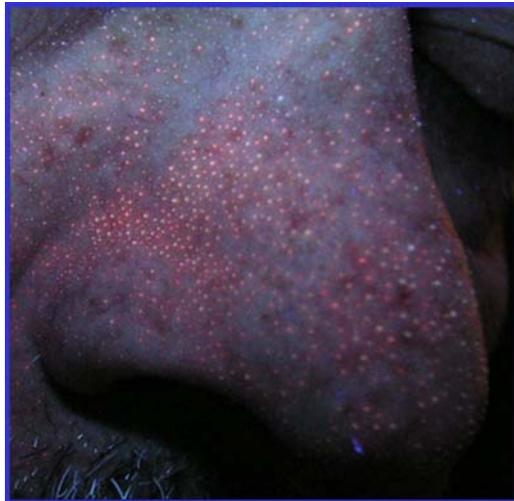


Figura 8. Fluorescencia rojo-anaranjada de los folículos pilosebáceos con luz de Wood.

(Iconografía que realizamos mediante flash de luz UV sistema Clear-Stone® acoplado a la cámara digital de Olympus®)

Arakanes y cols. demostraron que las porfirinas producidas por el *P. acnes* eran capaces de inducir singletes de oxígeno en la superficie cutánea, bajo la

irradiación de ultravioleta. La emisión dependía de la concentración de corproporfirina (CP), que es la porfirina predominante producida por la bacteria, sugiriendo que la CP genera singletes de oxígeno suficientemente eficientes para una fotoirradiación en un amplio rango de concentraciones. Además, en este estudio, comprobaron que la producción de singletes a partir de la CP era más eficaz que a partir de protoporfirina, hematoporfirina, riboflavina, eosina y 8-metoxipsolareno (25).

La destrucción fotodinámica del *P. acnes* ocurre cuando se aplica una fuente de luz visible capaz de activar las porfirinas producidas por la bacteria. Se pone en marcha, entonces, una reacción fotodinámica con la subsecuente producción de singletes de oxígeno y radicales libres que llevan a la producción de daño celular por destrucción de los lípidos de membrana (26). En un estudio reciente, realizado por Yung y cols., se demuestra el efecto microbiológico de la TFD después de una única sesión, comparando el empleo de dos derivados esterificados del ALA, concretamente el MAL y el hexil-hidrocloride-aminolevulinato (HAL), y la aplicación posterior de una fuente de luz roja (Aktelite®) (121). Consiguen una disminución estadísticamente significativa en la densidad de *Propionibacterium spp* con ambos tratamientos, siendo ambos bien tolerados, con escasos efectos adversos, sobre todo, eritema que resulta más frecuente con MAL que con HAL. Con MAL se observa también mayor porcentaje de vesiculación y sequedad que no se aprecia con el HAL. Probablemente, el efecto de la TFD sea bactericida y transitorio ya que la disminución en el recuento bacteriano es temporal, con subsecuente recolonización desde las porciones más profundas de las estructuras anexiales. El descenso en la densidad bacteriana se correlaciona con disminución de la

fluorescencia. En este estudio se sugiere que, dada la fotoactivación transitoria del *Propionibacterium spp*, la mejoría del acné después de la TFD sea debida a otros mecanismos y no sólo al efecto fotodinámico sobre la bacteria. Se ha observado que después del tratamiento ocurre una degeneración epidérmica extensa a nivel del epitelio folicular, en la dermis subpapilar, con la subsecuente exfoliación epidérmica, lo cual lleva a una disminución de la obstrucción folicular. Adicionalmente, la TFD disminuye las lesiones inflamatorias por un efecto antiinflamatorio no específico, además de demostrarse, *in vitro*, tener efectos inmunomoduladores. De esta forma, en las biopsias de las lesiones inflamatorias del acné, antes de la TFD, se observa un aumento de la expresión de la E-selectina, con sobrerregulación de los niveles de la molécula de adhesión intercelular ICAM-1 y de la citocina proinflamatoria IL-1. Después de la TFD se demuestra una disminución del 40% de ICAM-1 y de la expresión del complejo de histocompatibilidad II en las células dendríticas, lo cual puede explicar los efectos antiinflamatorios (121).

En base al conocimiento de los dos picos de absorción de las porfirinas, a 415 nm en el espectro de la luz azul y a 630 nm en el espectro de la luz roja, se han empleado distintas fuentes de luz en el tratamiento del acné (Tabla 13).

Aunque la mejora del acné se ha observado, principalmente, con tiempos relativamente largos de incubación del ALA (más de 3 horas), el riesgo de edema, costra y alteraciones pigmentarias es más alto. En la práctica, el uso de tiempos de incubación cortos (1 hora) y múltiples sesiones de tratamiento, optimizan la eficacia clínica y la colaboración del paciente (122). Por tanto, varios estudios combinan periodos cortos de incubación del ALA seguido de la aplicación de luz roja, luz azul, luz pulsada intensa, láser de colorante pulsado

o luz emitida por diodos (LEDs). Se han publicado 3 posibles protocolos de tratamiento (23,122):

- Incubación de 5-ALA durante una hora seguido de luz azul de 410 nm (5-10 J/cm²), en intervalos semanales.
- Incubación de 5-ALA durante una hora y láser de colorante pulsado de 595 nm (spot de 10 mm; 7-7,5 J/cm²) a intervalos mensuales.
- Incubación de 5-ALA durante una hora seguido de la aplicación de luz intensa pulsada con filtro de 550 nm (24-32 J/cm²; doble pulso 2,4 msg/4 msg; delay 10-20 msg) a intervalos de 2-4 semanas.

Tabla 13. Fuentes de luz empleadas en el tratamiento del acné.

Mecanismo de acción	Tipo de fuente de luz
<u>Dstrucción del <i>P. acnes</i></u>	Luz azul / Luz roja Luz pulsada intensa Láser de colorante pulsado
<u>Disminución en tamaño y número de glándulas sebáceas</u>	Láser de diodo Láser de Nd:YAG Radiofrecuencia
<u>Dstrucción del <i>P. acnes</i> y afectación parcial de las glándulas sebáceas</u>	TFD con ALA / MAL: Luz azul y/o roja; luz intensa pulsada o láser de colorante pulsado

Para obtener un aclaramiento más prolongado y completo del acné son necesarios múltiples tratamientos.

El primer estudio importante sobre el empleo de TFD en acné fue realizado, en el 2000, por Hongcharu y cols. quienes estudiaron el cambio en los porcentajes de secreción de sebo y de auto-fluorescencia de la bacteria en los

folículos, la síntesis de protoporfirina en las unidades pilosebáceas y los cambios histológicos asociados. Los resultados que obtuvieron fueron (93):

- Múltiples tratamientos se asociaban con disminución en los porcentajes de secreción del sebo.
- Se consigue supresión de la fluorescencia inducida por las porfirinas endógenas. Se produce una disminución del recuento folicular de bacterias al producir la destrucción fotodinámica del *P. acnes*. Sólo las áreas tratadas con TFD demostraron pérdida significativa de fluorescencia, demostrando más fluorescencia las zonas sin tratamiento.
- Aparición de una erupción aguda de pápulas inflamatorias a los 3-4 días de iniciar el tratamiento, con una duración de 4 semanas y posterior mejoría. En el grupo de tratamientos múltiples se observa una erupción acneiforme progresivamente más débil y menos inflamatoria después de cada subsecuente sesión.
- Se obtiene daño de las glándulas sebáceas, después de múltiples sesiones, con disminución del tamaño de las mismas. Múltiples sesiones consiguen mayor disminución de la secreción sebácea, aunque la diferencia respecto a un único tratamiento, fue estadísticamente significativa a largo plazo.
- Disminución de la obstrucción folicular por alterar la salida de los queratinocitos y disminuir la hiperqueratosis.
- Aclaramiento del acné inflamatorio durante las 10-20 semanas posteriores a un único y múltiples tratamientos, respectivamente. Mejoría significativa mayor en el grupo tratado con múltiples sesiones frente al grupo de un único tratamiento.

- Aparición de efectos adversos como hiperpigmentación transitoria, exfoliación superficial y costras, que desaparecen sin dejar cicatrices.

Uno de los hallazgos característicos observados por Hongcharu y cols. (93) y, que posteriormente, ha sido descrito en otros estudios, es la aparición después de la TFD de una inflamación aguda seguida de necrosis, parcial o completa, de las glándulas sebáceas, dando origen a una erupción acneiforme monomórfica varios días después del inicio del tratamiento. Una erupción similar ocurre cuando se realiza tratamiento con retinoides orales, los cuales inhiben intensamente la actividad de las glándulas sebáceas. Hongcharu y cols. establecieron como hipótesis que esta erupción acneiforme, que ocurría de 3-4 días del inicio de la TFD, podía ser debida a que se producía una disrupción de los sebocitos y de las membranas del *P. acnes*, lo cual llevaba a la activación del complemento y migración de neutrófilos hacia el área perifolicular. Especies de oxígeno reactivo producidas por estos neutrófilos juegan un papel significativo en la disrupción del epitelio folicular, lo cual es responsable del proceso inflamatorio del acné. Adicionalmente, el *P. acnes* activa el complemento y produce C5a, el cual es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos. Por otro lado, Hongcharu confirma, en este estudio, el hallazgo de Vowel , que indicaba que el péptidoglicano-polisacárido de la pared bacteriana jugaba un papel en la estimulación de la reacción inmune tipo granuloma (93).

Desde el punto de vista histológico, en este estudio se demostraron una serie de cambios focales en las glándulas sebáceas de zonas tratadas con la TFD (93):

- Inmediatamente después de la sesión, se observaba un infiltrado mixto, predominantemente de neutrófilos, a lo largo de las unidades

pilosebáceas y en áreas perivasculares, con degeneración retiforme de los sebocitos. Aparente disminución del tamaño de las glándulas sebáceas. Cambios epidérmicos con presencia de necrosis y vacuolización de queratinocitos desde la mitad del estrato espinoso hasta el estrato granuloso, asociado a exocitosis de neutrófilos.

- A los 3 días del inicio de la TFD, las lesiones acneiformes, inducidas por el tratamiento, demostraron grandes pústulas intraepidérmicas, disrupción de folículos pilosos y destrucción franca de las glándulas sebáceas, que eran reemplazadas por un infiltrado dérmico mixto de predominio neutrofílico.
- A las 3 semanas del tratamiento, se observó una disminución del tamaño de las glándulas sebáceas del 30% en zonas de una única sesión, y del 50% en áreas de múltiples tratamientos, comparado con las áreas que no recibieron TFD. Existía una vacuolización focal de los sebocitos junto con una reacción granulomatosa y fibrosis perifolicular, aunque algunas glándulas habían recuperado una morfología normal, pero con un tamaño más pequeño respecto al control. En el sebocito, la relación área citoplasma/ área núcleo disminuyó a un 38% y a un 56% después de uno y múltiples tratamientos, respectivamente, a diferencia de las zonas no tratadas.
- A las 20 semanas después de múltiples sesiones de TFD, hubo una destrucción completa o marcada atrofia de los lóbulos de las glándulas sebáceas, con pocos sebocitos presentes. En el remanente de las glándulas sebáceas destruidas se observaba una reacción granulomatosa compuesta de células gigantes multinucleadas e

infiltrado histiocitario. Ocasionalmente, se observaba una fibrosis perifolicular, inflamación y espongiosis. La epidermis aparecía totalmente normal.

- A las 20 semanas de un único tratamiento, se observaba sólo una ligera disminución del tamaño de las glándulas sebáceas (del 17%) sin otros cambios aparentes a nivel morfológico ni presencia de infiltrados. La relación entre área citoplasma/ área núcleo no estaba disminuida.
- Tinciones con tricromo Masson: fibrosis perifolicular tanto con una como con múltiples sesiones de TFD, junto con leve desorganización de las bandas de colágeno a nivel de la dermis reticular media, después de múltiples sesiones.
- Tinción con Fontana-Masson: mayor pigmentación epidérmica y, discretamente, mayor cantidad de melanófagos en dermis (incontinencia pigmenti), comparado con áreas no tratadas.
- Microscopia fluorescente de secciones cortadas en fresco: fluorescencia brillante de las porfirinas de la epidermis y unidades pilosebáceas en zonas tratadas con ALA, frente a áreas no tratadas. Fluorescencia más brillante en los sebocitos que en las células epiteliales foliculares adyacentes.

Como resumen de su estudio, Hongcharu defendió que para optimizar el tratamiento del acné mediante la TFD, habría que usar dosis más bajas de luz, sesiones fraccionadas e intentar aumentar la acumulación selectiva del ALA en las glándulas sebáceas frente a la epidermis.

En el estudio realizado por Itoh, en el 2001, también se tomaron muestras para biopsia, observando (123):

- A las 24 horas de la TFD, se detectaba degeneración con vacuolización de los queratinocitos de la mitad superior de la epidermis y mitad inferior del folículo piloso hacia la profundidad de la dermis subpapilar. Disminución del núcleo de las células de las glándulas sebáceas y disposición desordenada de las gotas lipídicas de las glándulas con ligera infiltración de las células inflamatorias.
- A las 72 horas, había una recuperación completa de las glándulas sebáceas, epidermis y folículos pilosos.

Los hallazgos histológicos de este estudio se correlacionan con los obtenidos por Divaris (19), aunque la recuperación de las glándulas sebáceas fue más rápida. Es por ello, que se cuestione si una única sesión de TFD conduce a una disminución de las unidades pilosebáceas o, más bien, sólo lleva a un daño reversible de las mismas. Aunque la destrucción de las glándulas sebáceas sea el efecto terapéutico final deseable, no obstante, dicho efecto es cuestionable ya que, aunque el papel de las glándulas en la aparición del acné es innegable, también hay que tener en cuenta, tal y como indica Zouboulis, que los lípidos sebáceos son útiles ya que sostienen la integridad de la sustancia epidérmica, actúan como función barrera cutánea, poseen actividad antimicrobiana intrínseca y son antiinflamatorios, induciendo la liberación de vitamina E, que es un antioxidante. El efecto de la reacción fotodinámica a nivel de las glándulas sebáceas puede ser comparado con el de la isotretinoína, el cual es un agente seboestático importante que induce apoptosis celular, detiene el ciclo celular e induce atrofia glandular. Después de la suspensión del tratamiento se produce una cierta recuperación de la actividad sebácea que tiende a niveles pre-tratamiento en semanas a meses.

Este fenómeno parece ser similar al que se produce en la TFD. Así lo confirman los resultados del estudio de Hongcharu en los que se observa que la glándula vuelve a aumentar su tamaño, después de un único tratamiento siendo incluso de hasta el 83% del tamaño pre-tratamiento a las 17 semanas de finalizar las sesiones, asociándose un aumento de la secreción de sebo a las 20 semanas de seguimiento (93).

Posteriormente, se han realizado múltiples estudios con el empleo de distintas pautas y fuentes de luz, demostrando que la TFD en el acné es una modalidad terapéutica segura y eficaz (Tabla 14). En los estudios realizados con luz pulsada intensa se observa la eficacia de la TFD para el tratamiento del acné y el fotorrejuvenecimiento, empleando incluso periodos cortos de incubación del fotosensibilizante (30-60 minutos). En ello está implicada la presencia de pequeños picos de absorción de las porfirinas dentro del espectro de emisión de la luz pulsada intensa. No obstante, en el ensayo realizado por Yeung no consiguen demostrar la eficacia de la TFD con luz pulsada intensa (IPL) en pacientes asiáticos con acné inflamatorio moderado (124). Sí se consigue una disminución en el número de lesiones no inflamatorias, lo cual refleja los cambios que se producen en las glándulas sebáceas después de la TFD. Se produce una disminución en la producción de sebo que conduce a una disminución en la formación de comedones. Como las lesiones no inflamatorias preceden a las inflamatorias, a largo plazo la disminución de las lesiones no inflamatorias puede conducir a una disminución continua de lesiones inflamatorias. Santos y cols. también describieron en su estudio un descenso significativo de lesiones inflamatorias de acné en pacientes tratados con TFD mediante el empleo como fuente de luz de IPL, estableciendo que la luz

pulsada intensa aplicada de forma aislada, sin fotosensibilizante, no parece ser útil como tratamiento aislado del acné inflamatorio (125). Santos establece, también, que parecen responder mejor a la TFD las lesiones pápulo-pustulosas que las formas nódulo-quísticas.

Kim y cols. (126) han publicado un estudio reciente en el que emplean un protocolo de TFD diferente, con verde de indocianina y láser de diodo. Consiguen respuestas clínicas favorables en pacientes asiáticos con acné.

El empleo del láser de colorante pulsado como fuente de luz para la TFD ha sido muy estudiado en los últimos años. Se demuestra mayor eficacia que la luz azul, dado que la longitud de onda es mayor y permite mayor capacidad de penetración. Además, a diferencia de las fuentes de luz roja empleadas previamente las cuales tenían la desventaja de producir efectos adversos importantes como eritema, vesiculación y discromías, el uso de este tipo de láser junto a periodos cortos de incubación del fotosensibilizante, han llevado a minimizar tales efectos indeseables. Adicionalmente, al efecto fotodinámico de la TFD, el láser de colorante pulsado puede mejorar por sí solo el acné, al actuar sobre los vasos sanguíneos, como dianas, y producir un efecto anti-inflamatorio. Además, puede actuar como un débil pero adecuado fotoactivador de las porfirinas endógenas del *P. acnes*. En los estudios realizados por Alexiades-Armenakas se demuestra que el láser de colorante pulsado sin TFD puede ser tan o más eficaz que los tratamientos convencionales tópicos u orales (127). Esta eficacia aumenta aún más cuando se emplea en TFD, al aumentar el depósito de porfirinas, lo cual aumenta la fotoinactivación de la bacteria. Además, el ALA también tiende a acumularse en los vasos sanguíneos de las papilas dérmicas, resultando en el daño fotodinámico y

fototérmico de estos vasos y, por tanto, en una disminución de las lesiones inflamatorias.

Cuando se emplea la luz azul como fuente lumínica para la TFD del acné, la mejoría que se obtiene es generalmente transitoria, ya que no parece inducir destrucción de las glándulas sebáceas (128).

En el 2006, los miembros de la Conferencia de Consenso sobre TFD establecen los siguientes puntos (47):

- Los mejores resultados se obtienen cuando la TFD se emplea en los casos de acné inflamatorio y quístico.
- Resultados menos prometedores cuando se trata acné comedoniano, si bien, se consiguen mejores resultados en estos casos cuando se emplea láser de colorante pulsado de pulso largo.
- Después de algunas sesiones se pueden producir erupciones acneiformes agudas que, posteriormente, desaparecen. Se pueden producir incluso después de una única sesión.
- La fuente de luz que parece proporcionar mejores resultados para la TFD del acné es el láser de colorante pulsado.
- Se recomiendan, generalmente, entre 1-3 sesiones con intervalos de 2-3 semanas entre ellas. No obstante, uno de los miembros del grupo de consenso, el Dr Nestor, estableció que un solo tratamiento con ALA y láser de colorante pulsado puede mantener la mejoría del acné durante más de dos años. No obstante, sus datos aún no han sido publicados.

Hasta la fecha sólo existen 3 estudios sobre el empleo de MAL para la TFD del acné, obteniendo resultados prometedores en la disminución de las lesiones, principalmente inflamatorias (120,129,130). Wiegell y Wulf

realizaron además un estudio comparativo entre el empleo de ALA y MAL. No obtuvieron diferencias significativas en el empleo de ambos sensibilizantes en la TFD del acné, aunque los efectos adversos fueron más intensos y duraderos con ALA. En cuanto a la combinación de MAL con láser de colorante pulsado, sólo hay un ensayo previo al nuestro, aunque en un grupo pequeño de pacientes. Consigue reducción en las lesiones principalmente inflamatorias, con porcentajes de curación mayores que con la aplicación aislada del láser (129).

Tabla 14. Estudios sobre terapia fotodinámica en el acné.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Hongcharu, 2000 (93)	22 con acné leve-moderado en espalda	4 áreas de tto: ALA 20% en 3 horas + luz roja; ALA sólo; luz roja sólo; control	Luz roja de banda ancha (550-700nm): 150 J / cm ² .	La mitad de los pacientes fueron tratados en sesión única y la otra mitad en 4 sesiones	Mejoría clínica estadísticamente significativa en el lado tratado con TFD sin recidiva después de 20 semanas en el grupo de 4 sesiones y después de 10 semanas en el grupo de 1 sesión
Itoh, 2001 (123)	13 con acné recidivante	ALA 20% durante 4 horas	Luz visible policromática (600-700 nm) con fuente de luz halógena con dosis total de 13J/cm ²	Una sesión	Excelentes resultados con mejoría en todos los pacientes al mes, 3 y 6 meses del tto.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Pollock, 2004 (118)	10 pacientes con acné leve-moderado	4 áreas de tto: ALA 20% (3 horas) + luz roja, ALA sólo, luz sólo, zona control. Incubación de 3 horas.	Luz roja de diodo (635 nm) a 15J/cm ²	3 sesiones semanales	Disminución estadísticamente significativa del número de lesiones (69%) en el lado tratado con TFD-ALA, después de la 2ª sesión. No demostraron disminución estadísticamente significativa en la concentración de <i>P. acnes</i> ni en la producción de sebo.
Hörfelt, 2006 (130)	30 pacientes con acné moderado-grave	Área de tratamiento dividida en dos zonas: MAL 16% y placebo. Incubación de 3 horas	Luz roja incoherente de 635 nm (Aktelite®) a 37 J/cm ²	2 sesiones separadas de dos semanas	Disminución mayor estadísticamente significativa en el lado tratado con MAL del nº total de lesiones inflamatorias (54% vs el 20% en el lado tratado con placebo)
Hörfelt, 2007 (131)	15 pacientes	ALA 20%, con incubación de 3 horas.	Lámpara Walkman, 630-730 nm. Dosis de 30-70 J/cm ²	1 sesión	Igual respuesta clínica con 30 y 50 J/cm ² . El 70% de los sujetos mejoraron en como mínimo un grado de gravedad en una escala de 4.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Wiegell, 2006 (120)	36 pacientes con acné facial moderado-grave.	21 pac con MAL 16% en 3 horas de incubación. 15 pacientes fueron al grupo control.	Luz roja de 635nm (Aktilite®) a 37 J/cm ²	2 sesiones separadas de dos semanas.	68% de disminución de lesiones inflamatorias frente al grupo control. Disminución del 29% de lesiones no inflamatorias en área de tratamiento frente al 18% en control.
Alexiades-Armenakas, 2006 (127)	19 pacientes con acné facial moderado-grave	14 pacientes recibieron ALA-TFD, 1 paciente recibió BLU-U y 4 fueron pac control. Incubación de 45 minutos.	Láser de colorante pulsado de 595 nm a 7-7,5 J/cm ² , 10 msg y 10 mm de spot. Luz BLU-U.	1-6 sesiones mensuales.	Completa resolución del acné en el grupo tratado con TFD (↓ media del 77% de lesiones), a los 13 meses de seguimiento. Media de 3 tto fueron necesarios. Mayor eficacia del PDL que de BLU-U en la TFD.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Wiegell y Wulf, 2006 (36)	15 pacientes con al menos 12 lesiones inflamatorias en cara.	½ de la cara recibió ALA 20% y la otra ½ MAL 16%. Incubación de 3 horas.	Luz roja de 635 nm a 37 J/cm ² (AKtilite®)	Una sesión y evaluación a las 6 y 12 semanas.	Mejoría clínica sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos ttos. Ausencia de disminución de las lesiones no inflamatorias. Efectos adversos más prolongados en el lado tratado con ALA. Mayor duración del dolor en el lado del ALA. Fluorescencia mayor y uniforme en el lado del ALA.
Rojanamatin, 2006 (132)	14 pacientes con al menos 10 lesiones inflamatorias	½ de la zona de tto recibió IPL sólo; y la otra ½ IPL con ALA 20% previo en incubación de 30 min.	IPL con filtro de 560-590 nm con 25-30 J/ cm ² . y delayed de 20-40 msg.	3 sesiones separadas de 3-4 semanas.	En ambas zonas de tto se obtuvo mejoría, pero en el lado del ALA el resultado fue mayor y más prolongado: ↓ del 87,7% de lesiones en el lado del ALA y del 66,8% en el de IPL. No erupción acneiforme.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Yeung, 2007 (124)	30 pacientes chinos de fototipo IV-V, con acné moderado.	½ de cara tratada con IPL sólo y la otra ½ con IPL y TFD. Incubación de MAL 16% durante 30 minutos.	IPL de 530-750 nm. Pase único de doble pulso de 2,5 msg y delay de 10 msg. Fluencia de 7-9 J/cm ² .	4 sesiones separadas de 3 semanas entre ellas.	En pacientes asiáticos la TFD con MAL no se asocia con mejoría del acné en comparación con IPL aislado. Sí hubo disminución del nº de lesiones no inflamatorias en ambos grupos. El usote IPL en pacientes asiáticos se relaciona con mayor riesgo de hiperpigmentación, por el mayor contenido de melanina en epidermis.
Taub, 2004 (133)	18 pacientes	ALA 20% durante 15-30 minutos.	Aplicación tanto de IPL como de BLU-U.	2-4 sesiones con intervalo de 4-8 semanas.	12 pacientes refirieron mejoría: 11 tuvieron mejoría del 50% y 5 pacientes del 75%. Efectos 2º consistentes en eritema y descamación. No se pudo determinar cuál fuente de luz era la mejor.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Gold, 2007 (117)	20 pacientes	ALA 20% durante 1 hora	IPL + SkinStation® (energía lumínica + calor) (430-1100 nm) a 3-9 J/cm ²	1 sesión semanal durante 4 semanas.	15 pacientes completaron el tratamiento. Sólo 12 tuvieron mejoría del 72% a las 12 semanas.
Goldman, 2003 (134)	27 pacientes	ALA 15 minutos	BLU-U 417 nm a 10 mW/cm ²	2 grupos de pacientes: 1) un grupo sin ALA sometidos a dos sesiones de 6 minutos con intervalo de 1 semana; 2) 2º grupo con ALA previo, dos sesiones.	Disminución del acné en un 25% en el grupo de la luz y del 32% en el que se asoció ALA previo.
Kimura, 2004 (135)	51 pacientes	ALA vía oral 10 mgrs/Kg	Luz visible policromática	Una sesión	Marcada mejoría en el 61% de los pacientes. Dolor y quemazón durante la irradiación, pero ausencia de efectos hepáticos.
Tuchin, 2003 (62)	22 pacientes	ICG (verde de indocianina; colorante tricarbocianina) durante 5- 15 minutos de incubación	Láser diodo de 803-809 nm	Comparación de área no tratada vs ICG sólo vs láser sólo vs ICG + láser.	Disminución de lesiones inflamatorias, del nº de bacterias y de la producción del sebo en el área tratada con ICG + láser frente al resto de áreas. Demostraron que múltiples tratamientos eran más eficaces que un único tratamiento.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Lloyd y Mirkov, 2002 (22)	10 pacientes	ICG	Láser diodo de 810 nm a 40 J/cm ²	Una sesión	Mejoría clínica del acné y demostraron histológicamente la existencia de necrosis selectiva de las glándulas sebáceas. Concluyen que el éxito de este tratamiento se debe a la capacidad de inducir fototermólisis selectiva de las glándulas sebáceas. Se producen efectos fotodinámicos y fototérmicos.
Santos, 2005 (125)	15 pacientes, completaron el estudio 13 pacientes.	ALA 20% incubación de 3 horas	IPL con filtro de 560 nm, con doble pulso de 2,4/6 msg y delay de 25 msg. Comienza con 26 J/cm ² y aumenta a 34.	2 sesiones en las que se compara ALA + IPL vs IPL aislada.	En 10 pacientes se demuestra una significativa disminución de las lesiones inflamatorias (77%) con ausencia de formación de nuevas lesiones en el área de la TFD. Erupción acneiforme en el lado de la TFD que desaparece en 2 semanas.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Itoh, 2000 (119)	1 paciente	ALA durante 4 horas	Láser excimer pulsado de 635 nm.	Una sesión	Ausencia de lesiones en los 8 meses posteriores. Eritema y edema seguido de costra en los 10 días después de tratamiento.
Yung, 2007 (121)	18 pacientes sanos	MAL y HAL (hexyl aminolevulinato hydrochloride). Incubación de 3 horas.	Lámpara de luz roja Aktilite® a 37 J/cm ²	Una sesión	Disminución estadísticamente significativa en la densidad del <i>Propionibacterium spp</i> con ambos tratamientos a los 2 días respecto al basal. Probable efecto bactericida transitorio. Bien tolerado con escasos efectos adversos, sobre todo eritema y más con MAL.
Akaraphanth, 2007 (128)	20 pacientes	Mitad de área de tto con TFD y la otra mitad con luz azul aislada. ALA 10% con incubación a una hora.	Luz azul Omnilux (409-418 nm) de 40 mW/cm ² con dosis de 48 J/cm ²	Una sesión a la semana, durante 4 semanas.	Mayor disminución, aunque no estadísticamente significativa, de las lesiones inflamatorias en el lado de la TFD respecto al lado de la luz azul. Eficacia en la disminución del nivel de lípidos, determinado por el sebumeter, tanto con la TFD como con la luz azul.

AUTOR	NÚMERO DE PACIENTES	FOTOSENSIBILIZANTE Y TIEMPO DE INCUBACIÓN	FUENTE DE LUZ Y FLUENCIAS	NÚMERO DE SESIONES	RESPUESTA CLÍNICA
Mavilia, 2007 (136)	16 pacientes	MAL al 4% (mezcla de una parte de MAL con 3 partes de crema hidratante, Cetaphil®). No oclusión sino permanencia en habitación oscura durante 1-5 horas.	Luz roja de 635 nm (Aktilite®) a 10 J/cm ² en pacientes con fototipo II y a 15 y 20 en fototipo III y IV, respectivamente.	2 sesiones separadas de 1 semana. En 11 pacientes fue necesario un 3º tto a las 4 semanas de la 1ª sesión, ya que el descenso de las lesiones inflamatorias fue de < 50%.	A las 12 semanas de seguimiento no se observó diferencias en el nº de lesiones no inflamatorias, mientras que el recuento de lesiones inflamatorias descendió a un 66%.
Haedersdal, 2008 (129)	15 pacientes	MAL 16%. Incubación de 3 horas. Mitad con MAL y mitad sólo láser.	Láser de colorante pulsado. 7,5 J/cm ² , 10 msg y 10 mm.	3 sesiones a intervalos de 2 semanas.	La TFD con MAL y PDL obtiene resultados ligeramente superiores al empleo aislado de PDL en el acné inflamatorio.
Ryou, 2009 (137)	2 grupos de 10 pacientes con acné localizado recalcitrante y 22 pacientes con acné difuso facial.	- 10 pacientes: inyección intralesional (ILI) de ALA (mezcla de Levulan® con salino) 0,1-0,15 cc por lesión (TFD-ILI). Previo limpieza con etanol. 30 minutos de incubación. - 22 pacientes: peeling de glicólico y posterior aplicación convencional de ALA en incubación de 90 minutos.	Láser de colorante pulsado. 7,5 J/cm ² , 10 msg y 10 mm.	3 sesiones a intervalos mensuales.	- Reducción significativa de las lesiones inflamatorias con ambos ttos, aunque la reducción fue mayor después de las dos primeras sesiones con el ALA inyectado. Mientras que después de la 3ª sesión no hubo diferencias. Irritación menor en el área de TFD-ILI.

II. MATERIAL Y MÉTODO

1. OBJETIVOS

La terapia fotodinámica (TFD) ha emergido en las últimas décadas en el estudio de potenciales nuevas indicaciones entre las que se encuentra el acné vulgar (47,138). La TFD y fuentes de luz pueden ser consideradas una herramienta adicional en el empleo, como tratamiento único o adyuvante, en pacientes con cuadros recidivantes o en los que no es posible la utilización de otras opciones terapéuticas. Aunque el mecanismo exacto de acción de la TFD en el acné es desconocido, se postulan 3 posibilidades: daño fotodinámico directo de la glándula con disminución de la producción sebácea; destrucción fotodinámica del *P. acnes*; aumento del recambio de los queratinocitos con disminución de la hiperqueratinización y obstrucción folicular (118).

La mayoría de los estudios realizados hasta ahora en el acné, emplean ALA y fuentes de luz no coherentes, principalmente, luz roja y/o azul. Nosotros consideramos la posibilidad de utilizar un fotosensibilizante más lipofílico, concretamente el metilaminolevulinato, con el objetivo de alcanzar con mayor facilidad al *P. acnes* localizado en las glándulas sebáceas. Adicionalmente, nos planteamos conseguir focalizar la energía con mínima divergencia de la misma, por lo que decidimos emplear un láser como fuente de luz para activar la reacción fotodinámica. Consideramos utilizar láser de colorante pulsado de pulso largo (LP PDL) por la capacidad de profundizar, por presentar una duración de pulso variable con tamaño amplio de *spot* y por la mayor velocidad de disparo de 1 Hz. Al ser la hemoglobina su cromóforo, permite actuar sobre

el componente inflamatorio del acné; además induce la liberación de moléculas antiinflamatorias y se postula que elimina las bacterias por estimular el sistema inmunológico.

Hasta la fecha, sólo existe un estudio reciente sobre la eficacia del láser de colorante pulsado frente a la TFD, con PDL y MAL, en un grupo pequeño de pacientes y durante un periodo corto de seguimiento (129).

En este trabajo de investigación sobre el empleo novedoso de MAL y PDL en la terapia fotodinámica del acné, **PROPONEMOS LOS SIGUIENTES OBJETIVOS:**

1.- Valorar la eficacia clínica y el grado de satisfacción del tratamiento del acné mediante terapia fotodinámica con metilaminolevulinato y láser de colorante pulsado de pulso largo.

2.- Evaluar los efectos adversos derivados de la realización de la técnica: edema, eritema, púrpura, alteración de la pigmentación, vesiculación, descamación, cicatrización y grado de dolor durante el tratamiento.

3.- Comparar la eficacia y tolerabilidad, en el tratamiento del acné, entre el empleo aislado del láser de colorante pulsado de pulso largo (LP PDL) y la terapia fotodinámica (TFD).

2. MATERIAL Y MÉTODO

En base a los estudios preliminares existentes en la literatura sobre el empleo de fuentes de luz y láser para el tratamiento del acné, y partiendo de la experiencia previa del empleo de láser de colorante pulsado en diversas patologías inflamatorias, en la Unidad de Fototerapia y Láser del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario Ramón y Cajal, desarrollamos este estudio sobre la eficacia y tolerabilidad en el tratamiento del acné del láser de colorante pulsado de pulso largo como terapia única, frente al empleo de terapia fotodinámica con metilaminolevulinato (Metvix®) asociado al láser de colorante pulsado como fuente de luz. El protocolo de estudio consistió en la realización de 4 a 6 sesiones, a intervalos de 4 semanas.

2.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.

En nuestro estudio, hemos incluido a un total de 50 pacientes afectos de acné (n= 50), con diferentes grados de severidad, procedentes de las consultas externas de la Unidad de Dermatología del Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid, durante un periodo de 20 meses, entre los años 2006 y 2007.

Se consideraron los siguientes criterios de inclusión y exclusión de los pacientes:

a.- Criterios de inclusión:

- Edad \geq 14 años.
- Tipo de piel según la clasificación de Fitzpatrick II-IV.
- Acné de grado leve a moderado.

- Acné de grado moderado a grave en pacientes con ausencia de respuesta o incapacidad para realizar otros tratamientos.
- Pacientes con capacidad para el entendimiento de la técnica de estudio y, en base a ello, libre firma del consentimiento informado.
- Pacientes colaboradores con capacidad de compromiso en la realización de los esquemas de tratamiento*.

* Los pacientes incluidos en el estudio fueron libres de poder interrumpir su participación en cualquier momento del mismo, sin que ello supusiera ninguna merma en la calidad de su cuidado médico. Del mismo modo, el médico podía interrumpir la participación del paciente en el estudio si no colaboraba en el cumplimiento de las instrucciones del mismo o suponía un peligro para la salud del paciente.

b.- Criterios de exclusión:

- Edad < 14 años.
- Tipo de piel según clasificación de Fitzpatrick V-VI.
- Embarazo o lactancia.
- Hipersensibilidad al principio activo o algunos de sus componentes.
- Historia previa de cicatrices queloides y/o fotosensibilidad 1ª y/o 2ª a medicamentos.
- Tratamiento de retinoides sistémicos en el año pasado.
- Tratamiento antibiótico oral el mes previo.
- Tratamiento tópico del acné con alfa-hidroxiácidos un mes antes; o microdermoabrasión en los 3 meses previos.
- Historia de dermoabrasión o láser *resurfacing* en el año previo.
- Uso de AINEs en los 10 días previos.

- Pacientes no colaboradores.
- Existencia en el área de tratamiento de lesiones pigmentadas susceptibles de malignidad.

2.2 METODOLOGÍA.

2.2 a.- Ámbito de estudio:

Unidad de Fototerapia y Láser del Servicio de Dermatología del Hospital Universitario Ramón y Cajal, de Madrid.

2.2 b.- Valoración pretratamiento:

- *CONSIDERACIÓN DE LOS CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN:* Para ello diseñamos una encuesta clínica con el objetivo de recoger todos los datos sobre anamnesis y antecedentes de interés de los pacientes: enfermedades que empeoran con la luz, alteraciones hormonales, toma de medicamentos, fecha de inicio del acné y duración del mismo, medicación previa utilizada para el acné (Anexo 1).
- *INFORMACIÓN AL PACIENTE DEL PROCEDIMIENTO DE ESTUDIO, DESARROLLO DE LA TÉCNICA, POSIBLES RIESGOS Y BENEFICIOS DEL TRATAMIENTO, PARA LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO (Anexo 2).*
- *EXPLORACIÓN FÍSICA:* Valoración del fototipo de piel según la clasificación de Fitzpatrick, identificación del área de tratamiento, recuento y descripción de las lesiones de acné para graduar la gravedad del mismo.
- *ICONOGRAFÍA CON LUZ NORMAL:* Previo a la aplicación del fotosensibilizante, se realizan iconografías de las áreas a ser tratadas

mediante el empleo de cámara digital Olympus® C5050 con sistema de luz normal.

2.2 c.- Realización del tratamiento:

- *PREPARACIÓN DEL ÁREA DE TRATAMIENTO:* Se realiza limpieza de la zona a ser tratada mediante el empleo de alcohol isopropilo al 70%.
- *APLICACIÓN DEL FOTOSENSIBILIZANTE:* Se procede a la administración de la crema Metvix® en la mitad del área a ser tratada, para lo cual se aplica una capa de 1 mg, alcanzando 1 cm de margen de piel sana. Posteriormente, se ocluye la zona con un apósito tipo Tegaderm®, para favorecer la penetración de la crema, y sobre él se aplica un apósito opaco tipo Mepore®, para impedir el paso de cualquier fuente de luz. Se establece un periodo de incubación del fotosensibilizante de 60 minutos (Figura 9).



Figura 9. Apósitos oclusivos durante el periodo de incubación del MAL.

- *REALIZACIÓN DE ICONOGRAFÍA:* Después del periodo de incubación del fotosensibilizante se procede a la retirada de los apósitos y la crema. Se realizan iconografías con flash de luz ultravioleta para lo cual empleamos el sistema denominado Clear-Stone® que utiliza 3 flashes sincronizados que emiten luz ultravioleta y están acoplados a la cámara digital de Olympus® (Figuras 10, 11 y 12).



Figura 10. Fotoactivación de porfirinas en lesiones inflamatorias de acné.



Figura 11. Fluorescencia rojo-coral de las lesiones inflamatorias después de una hora de incubación del MAL.



Figura 12. Iconografías con luz normal y luz UV.

- *ADMINISTRACIÓN DE LA FUENTE DE LUZ:* Previo a la colocación de gafas de protección ocular para longitudes de onda de 585-595 nm, se procede a la aplicación de la fuente de luz en las dos mitades de tratamiento, para lo cual utilizamos un láser de colorante pulsado de pulso largo (595 nm; láser V Beam™, Candela). Se emplean los siguientes parámetros en ambas áreas de tratamiento: fluencia de 9 J/cm²; pulso de 6 msg; 30/20 DCD. Los disparos del láser se realizan haciendo barrido de todo el área de tratamiento, incluyendo tanto zonas de piel sana como de piel con lesiones de acné (Figura 13).

2.2 d.- Periodo postratamiento:

- *LIMPIEZA DEL ÁREA DE TRATAMIENTO:* Se retiran los restos de crema mediante el empleo de agua termal y suero fisiológico, que adicionalmente consiguen un efecto calmante de la piel.
- *PROTECCIÓN DEL ÁREA DE TRATAMIENTO DE LAS FUENTES DE LUZ:* Se indica al paciente la obligatoriedad de proteger la zona tratada de la luz solar y luces halógenas, durante un periodo de 30 horas

posteriores a la realización del tratamiento. Procedemos a la colocación de una máscara de fotoprotector con FPS 50+ que el paciente debe renovar cada hora. Indicamos al paciente que, después de las 30 horas de protección máxima, realice las medidas de protección solar básicas posteriores a la realización de cualquier técnica láser, utilizando fotoprotección cada 3-4 horas si presenta exposición solar.



Figura 13. Proceso de aplicación del tratamiento.

- **ENCUESTA SOBRE EL NIVEL DEL DOLOR EXPERIMENTADO DURANTE EL TRATAMIENTO:** Se procede a valorar el nivel subjetivo de dolor experimentado por el paciente, en una escala de 1 a 6 (1: no dolor, 2: dolor leve, 3: dolor moderado, 4: dolor intenso, 5: dolor muy intenso, 6: NS/NS).

- *EVALUACIÓN DE LOS EFECTOS ADVERSOS DERIVADOS DE LA TÉCNICA*: Procedemos a la exploración del área de tratamiento para evaluar la posible aparición de eritema, edema, descamación, púrpura, vesículas, costras.
- *SEGUIMIENTO MEDIANTE CONTROLES ICONOGRÁFICOS MENSUALES*: Se realizan iconografías, con luz normal y luz ultravioleta, previo a la realización de cada sesión para proceder, posteriormente, al estudio comparativo de las imágenes obtenidas, mediante las cuales se realiza el recuento del número de lesiones inflamatorias y no inflamatorias.
- *VALORACIÓN DEL GRADO DE SATISFACCIÓN DEL PACIENTE*: Se evalúa el grado de satisfacción subjetiva del paciente y se contrasta con la exploración objetiva, por parte de nosotros, en cuanto al recuento de lesiones y la posibilidad o no de disminución de las mismas. Se procede a determinar criterios de continuidad o no en el tratamiento, según dicha evolución y la ausencia de efectos adversos para el paciente.

2.2 e.- Medios técnicos empleados:

- *FOTOSENSIBILIZANTE*: Empleamos como fotosensibilizador el Metvix®, crema de metiléster-aminolevulinato en O/W a una concentración de 160 mg/g, comercializada por la compañía PhotoCure ASA (Oslo, Noruega); siendo Galderma (Freiburg, Alemania) la responsable de su distribución por Europa.
- *APÓSITOS OCLUSIVOS (Tegaderm®) Y OPACOS (Mepore®)*.
- *ALCOHOL ISOPROPILO AL 70%*.

- *FUENTE DE LUZ*: Utilizamos una fuente de luz coherente consistente en un láser de colorante pulsado de pulso largo, denominado láser V Beam® Platinum (Candela Ibérica S.A.). Especificaciones técnicas: longitud de onda de 595 nm; duración de pulso 0,45-40 msg; *spot*/fluencia: 3 mm-40 J/cm², 5 mm-30 J/cm², 7 mm-20 J/cm², 10 mm-10 J/cm², 12 mm-7 J/cm², 3x10 mm-25 J/cm²; fibra óptica de 3 m con lente acoplada con dispositivo manual; control del pulso mediante pieza de mano y pedal; datos eléctricos: 230V, 50/60 Hz, Monofásico.
- *ICONOGRAFÍA*: Cámara digital Olympus® C5050 con sistema Clear-Stone® acoplado de 3 flashes de luz ultravioleta.
- *FOTOPROTECCIÓN*: Empleo de máscara de fotoprotector FPS 50+ en crema como barrera protectora de luz solar y fuentes halógenas.

2.2 f.- Aspectos éticos:

El estudio de investigación ha sido realizado de acuerdo a las recomendaciones para ensayos clínicos y evaluación de fármacos en el hombre, que figuran en la Declaración de Helsinki, revisada en Tokio, Venecia, Hong-Kong, Sudáfrica y Edimburgo (2000), y en la actual legislación española de ensayos clínicos.

Todos los pacientes participantes fueron informados y dieron su consentimiento por escrito, antes de iniciar el estudio.

2.3 DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio controlado, prospectivo, longitudinal y comparativo de la eficacia y tolerabilidad, en el tratamiento del acné, del empleo de láser de colorante

pulsado de pulso largo frente a la terapia fotodinámica empleando Metvix® y láser de colorante pulsado de pulso largo, en base a los siguientes valores:

- Disminución del número de lesiones totales, inflamatorias y no inflamatorias, al finalizar el tratamiento.
- Comparar los resultados obtenidos entre el láser y la terapia fotodinámica.
- Grado de satisfacción subjetiva del paciente.
- Valoración de los efectos adversos.
- Graduación del dolor durante el tratamiento.
- Evaluación de las dificultades derivadas del desarrollo de la técnica.

Para la realización del análisis estadístico se procedió a la utilización del Software SPSS 13.0® para Windows. En todas las comparaciones del análisis se consideraron diferencias significativas a las estimaciones con $p < 0,05$.

2.3.a.-) Estudio descriptivo:

Se procedió al análisis descriptivo de la población atendida para el tratamiento del acné mediante láser de colorante pulsado y terapia fotodinámica ($n= 50$). Se describieron las variables relacionadas con las características de la población, el tipo de lesiones de acné y los datos derivados de la realización del tratamiento.

1.-) Variables descriptivas de la población de estudio:

Se describieron las siguientes variables demográficas y epidemiológicas de los pacientes incluidos en el estudio:

- Edad y sexo de los pacientes.
- Fototipo de piel según la graduación de Fitzpatrick.
- Edad de inicio de las lesiones de acné.

- Tratamientos previos recibidos: se dividieron en 6 grupos: 1, tratamientos tópicos (retinoides, queratolíticos y antibióticos); 2, antibióticos orales; 3, tratamientos hormonales / anticonceptivos; 4, combinación de tratamientos tópicos y antibióticos orales; 5, isotretinoína oral; 6, NS/NC.
- Antecedentes personales.

2.-) Variables descriptivas de las lesiones de acné:

2a.- Graduación de la gravedad del acné:

Se consideran dos tipos de escalas, presentes en la literatura, que valoran el nivel de afectación por el acné, según varios aspectos:

- Sistema de Graduación Global del Acné (Global Acne Grading System GAGS): Se valoran distintos parámetros en función de la superficie del área afecta, distribución de las lesiones y densidad de las unidades pilosas:

<u>Localización</u>	<u>Factor x grado (0-4)*</u>
I Frente	2
II Mejilla derecha	2
III Mejilla izquierda	2
IV Nariz	1
V Mentón	1
VI Tórax y espalda sup	3

* Grados

GRADUACIÓN GLOBAL

0: no lesiones

- 0: ninguno.

1: 1 comedón

- 1-18: leve.

2: ≥ de una pápula

- 19-30: moderado.

3: ≥ de una pústula

- 31-38: grave.

4: ≥ de un nódulo

- > 39: muy grave.

- Escala de Burton:
- Grado 0: no acné reconocido.
- Grado 1: comedones leves.
- Grado 2: comedones, pápulas pequeñas o quistes pequeños.
- Grado 3: acné moderado (grados entre 2 y 4).
- Grado 4: formación quística aparente.
- Grado 5: quistes grandes o formación quística acompañada de inflamación.

Resumiendo los aspectos básicos de ambas escalas, se agrupan a los pacientes en 4 grados:

- Acné leve: comedones y algunas pápulas.
- Acné moderado: comedones, pápulas y algunas pústulas.
- Acné moderado-grave: comedones, pápulas y pústulas.
- Acné grave: nódulos y quistes.

2b.- Localización de las lesiones de acné:

- 1: cara,
- 2: espalda,
- 3: tórax,
- 4: varias localizaciones.

2c.- Recuento del número de lesiones de acné:

- Al inicio, al mes y al finalizar el tratamiento con láser de colorante pulsado de pulso largo.
- Al inicio, al mes y al finalizar el tratamiento con terapia fotodinámica.

3.-) Variables descriptivas derivadas de la realización del tratamiento:

3a.- Número de lesiones inflamatorias y no inflamatorias al inicio y finalización del láser de colorante pulsado y de la TFD.

3b.- Graduación del dolor durante el tratamiento, en función de la siguiente escala:

- 1: ausencia de dolor,
- 2: dolor leve,
- 3: dolor moderado,
- 4: dolor intenso,
- 5: dolor muy intenso,
- 6: NS/NC.

3c.- Grado de eritema derivado de la realización del tratamiento:

- 0: ausente,
- 1: leve,
- 2: moderado,
- 3: intenso,
- 4: NS/S.

3d.- Grado de satisfacción subjetiva del paciente:

Son consideradas dos tipos de respuestas:

- SI: paciente satisfecho de los resultados obtenidos.
- NO: el paciente no percibe mejoría de su cuadro clínico.

3e.- Número de sesiones recibidas:

- pacientes que reciben 4 sesiones,
- pacientes que reciben 6 sesiones.

3f.- Efectos adversos derivados del tratamiento:

- 1: púrpura,

- 2: hipopigmentación,
- 3: hiperpigmentación,
- 4: cicatrices,
- 5: ausentes.

2.3.b.- Estudio comparativo de los resultados obtenidos:

Se realiza, previamente, un test de Normalidad (Shapiro-Wilk) y se obtiene que las variables no siguen una distribución normal, por lo que para el estudio de comparaciones de los resultados obtenidos antes y después de la realización del láser de colorante pulsado de pulso largo, y antes y después de la terapia fotodinámica, se utiliza el Test de Wilcoxon para pruebas no paramétricas para dos muestras relacionadas. Se consideran los siguientes grupos:

- número de lesiones totales al inicio del láser de colorante pulsado de pulso largo,
- número de lesiones totales al final del láser de colorante pulsado de pulso largo,
- número de lesiones totales al inicio de la TFD,
- número de lesiones totales al final de la TFD,
- número de lesiones inflamatorias al inicio del láser de colorante pulsado de pulso largo,
- número de lesiones inflamatorias al final del láser de colorante pulsado de pulso largo,
- número de lesiones no inflamatorias al inicio del láser de colorante pulsado de pulso largo,

- número de lesiones no inflamatorias al final del láser de colorante pulsado de pulso largo
- número de lesiones inflamatorias al inicio de la TFD,
- número de lesiones inflamatorias al final de la TFD,
- número de lesiones no inflamatorias al inicio de la TFD,
- número de lesiones no inflamatorias al final de la TFD.

III. RESULTADOS

1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.

1.1 INFORMACIÓN DEMOGRÁFICA Y EPIDEMIOLÓGICA.

El estudio comparativo sobre la eficacia y tolerabilidad del tratamiento del acné con láser de colorante pulsado de pulso largo frente a la terapia fotodinámica fue realizado durante un periodo de 20 meses, desde mayo del 2006 a diciembre del 2007. Se incluyeron un total de 50 pacientes (n= 50) procedentes de las consultas externas de la Unidad de Dermatología del Hospital Universitario Ramón y Cajal, de Madrid.

La **edad media** fue de 22,16 años (rango: 14-43 años), con predominio del **sexo** femenino (62%) sobre el masculino (38%). Se observó una diferencia significativa entre la edad media de las mujeres con acné (23,81 años) y la de los hombres (19,47 años).

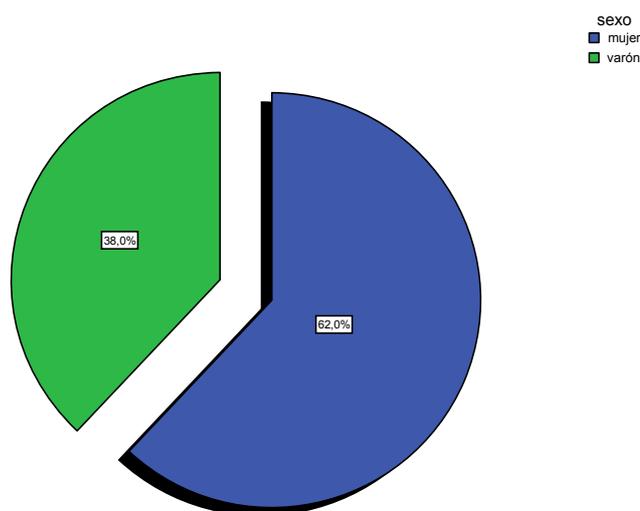


Figura 14. Distribución por sexo de la población de estudio.

Respecto al **fototipo de piel**, según la clasificación de Fitzpatrick, de mayor a menor frecuencia los resultados fueron: fototipo III en el 66% de los pacientes, fototipo II en el 28% y fototipo IV en el 6%.

Las **edades más frecuentes de inicio de las lesiones de acné** fueron: 14 años, en el 54% de los pacientes; en el 38% a los 16 años; en dos de los casos las lesiones comenzaron antes de los 14 años y en 21 pacientes, después de los 14 años.

Todos los pacientes habían realizado **tratamientos previos**. La gran mayoría habían empleado tratamientos tópicos (34% de los pacientes). En un 22% de los casos habían tomado antibióticos orales y en otro 22%, isotretinoína oral. En el resto de los casos, un 10% tomaron anticonceptivos orales y un 12% combinaron antibióticos orales con tratamientos tópicos.

Respecto a los **antecedentes personales** ningún paciente presentaba fotosensibilidad, enfermedades que se agravaran con la luz, toma de fármacos fotosensibilizantes, hipersensibilidad al principio activo o a sus excipientes, presencia de lesiones pigmentadas sospechosas de malignidad en las zonas de tratamiento ni historia de cicatrices previas. El 92% de los pacientes carecían de antecedentes patológicos de interés, mientras que el 8% sólo referían padecer: 2 casos de síndrome de Gilbert, un caso de síndrome poliglandular autoinmune y un caso controlado de epilepsia.

1.2 CARACTERÍSTICAS SOBRE EL TIPO DE LESIÓN DE ACNÉ.

Respecto a la **graduación de las lesiones**, los tipos más frecuentes de acné fueron leve y moderado, con porcentajes similares del 32%, en cada uno

de los grupos. En el 20% de los casos presentaban un grado moderado-grave y en el 16% el acné era nódulo-quístico.

La **localización** predominante de las lesiones de acné fue la cara (82%) y en el resto de los paciente, fue la espalda (18%).

En cuanto al **recuento de lesiones** de tipo inflamatorio y no inflamatorio al inicio y al finalizar los tratamientos, se obtuvieron los siguientes resultados:

a.- Láser de colorante pulsado:

		nº lesiones inflamatorias al inicio del láser	nº lesiones inflamatorias al fin del láser	nº lesiones NO inflamatorias al inicio del láser	nº lesiones NO inflamatorias al fin del láser
N	Válidos	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Media		10,32	7,96	9,54	6,90
Mediana		7,50	5,00	10,00	5,00
Percentiles	25	5,00	3,00	5,00	3,00
	50	7,50	5,00	10,00	5,00
	75	15,00	10,00	15,00	10,00

b.- Terapia fotodinámica:

		nº lesiones inflamatorias al inicio de la TFD	nº lesiones inflamatorias al fin de la TFD	nº lesiones NO inflamatorias al inicio de la TFD	nº lesiones NO inflamatorias al fin de la TFD
N	Válidos	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Media		13,30	7,00	9,60	6,36
Mediana		10,00	5,00	10,00	5,00
Percentiles	25	8,00	3,00	5,00	1,75
	50	10,00	5,00	10,00	5,00
	75	20,00	8,50	15,00	10,00

1.3 GRADUACIÓN DEL DOLOR DURANTE EL TRATAMIENTO.

La mayor parte de los pacientes que recibieron tratamiento con láser de colorante pulsado describían ausencia de dolor (42%) y en el 30% y 24% de los casos presentaban dolor leve y moderado, respectivamente. Sólo dos pacientes manifestaron dolor intenso.

En el caso de la TFD, el porcentaje de pacientes que manifestó ausencia de dolor fue similar al de los pacientes que recibieron láser, al igual que la presencia de dolor leve-moderado.

1.4 GRADO DE ERITEMA DESPUÉS DEL TRATAMIENTO.

El porcentaje de eritema fue discretamente mayor en los casos de TFD que en los pacientes que fueron sólo tratados con el láser de colorante pulsado. Sólo se describió un caso de eritema intenso después de la TFD y no fue descrito ningún caso después de la aplicación aislada del láser.

1.5 GRADO DE SATISFACCIÓN SUBJETIVA DEL PACIENTE.

Fue valorado de forma global tanto con el empleo del láser aislado como con la TFD. En el 52% de los pacientes manifestaron satisfacción por los resultados obtenidos, mientras que en el 22% referían no apreciar cambios en sus lesiones de acné, sin mejoría ni empeoramiento.

1.6 NÚMERO DE SESIONES DE TRATAMIENTO RECIBIDAS.

El número de sesiones, a intervalos mensuales, que recibieron los pacientes fue de 4 sesiones en un 44% de los casos y de 6 sesiones en el 56%. La

administración de 4 ó 6 sesiones fue determinada en función de la evolución de los pacientes y los resultados obtenidos en cada tratamiento.

1.7 EFECTOS ADVERSOS.

En el total de los pacientes, incluidos tanto los que recibieron láser aislado como los que fueron tratados mediante TFD, sólo se apreciaron 2 casos de hipopigmentación residual, que se resolvió en el transcurso de 2 a 3 semanas.

2. RESULTADOS DEL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE LA APLICACIÓN DE LÁSER DE COLORANTE PULSADO Y TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL ACNÉ.

Se realiza Test de Wilcoxon para pruebas no paramétricas de 2 muestras relacionadas. Se obtienen los siguientes resultados:

2.1 ESTUDIO DE LAS LESIONES TOTALES (INFLAMATORIAS Y NO INFLAMATORIAS) (Tabla 15) (Figuras 15-19):

- En la mitad del área de tratamiento en la que se aplica láser de forma aislada, se consigue un descenso en el número de lesiones en un 21,94%, estadísticamente significativo ($p < 0,000$) (Gráfico 1).
- En el área en la que se realiza TFD, los pacientes presentan una reducción de las lesiones en un 44,39%, estadísticamente significativo ($p < 0,000$) (Gráfico 2).
- Cuando comparamos los porcentajes de reducción en el número de lesiones entre el área tratada con láser y la zona que recibe TFD,

objetivamos una mayor reducción cuando se realiza TFD, respecto a la aplicación aislada del láser y esta diferencia se obtiene que es estadísticamente significativa ($p < 0,002$) (Gráfico 3).

Tabla 15. Estudio de lesiones totales antes y después de láser y TFD.

		nº de lesiones al inicio del láser	nº lesiones al inicio de TFD	nº lesiones al final del láser	nº lesiones al final de TFD
N	Válidos	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Media		20,06	23,12	15,10	13,38
Mediana		15,50	19,00	10,50	10,50
Desv. típ.		11,771	13,133	11,329	11,283
Mínimo		5	7	0	0
Máximo		50	60	50	50
Percentiles	25	11,00	12,75	7,00	5,00
	50	15,50	19,00	10,50	10,50
	75	26,25	30,00	20,25	20,00



Figura 15. Reducción significativa de las lesiones totales de acné después de 3 sesiones de tratamiento: a) antes de la TFD y el láser; b) fin de la TFD y el láser.

Figura 16. Respuesta clínica favorable a la TFD de acné leve-moderado de cara: (a) antes del tratamiento; (b) respuesta clínica después de 4 sesiones; (d) fluorescencia aumentada al inicio de la TFD; (e) desaparición de la fluorescencia con el tratamiento.



Figura 16. Respuesta clínica favorable a la TFD de acné leve-moderado de cara: (a) antes del tratamiento; (b) después de 4 sesiones; (d) fluorescencia al inicio de la TFD; (e) desaparición de la fluorescencia con el tratamiento.



Figura 17. Mejoría clínica después de 6 sesiones de TFD: a y b) antes del tratamiento; c y d) al finalizar el tratamiento.



Figura 18. Reducción de lesiones inflamatorias y no inflamatorias después de 6 sesiones de TFD.

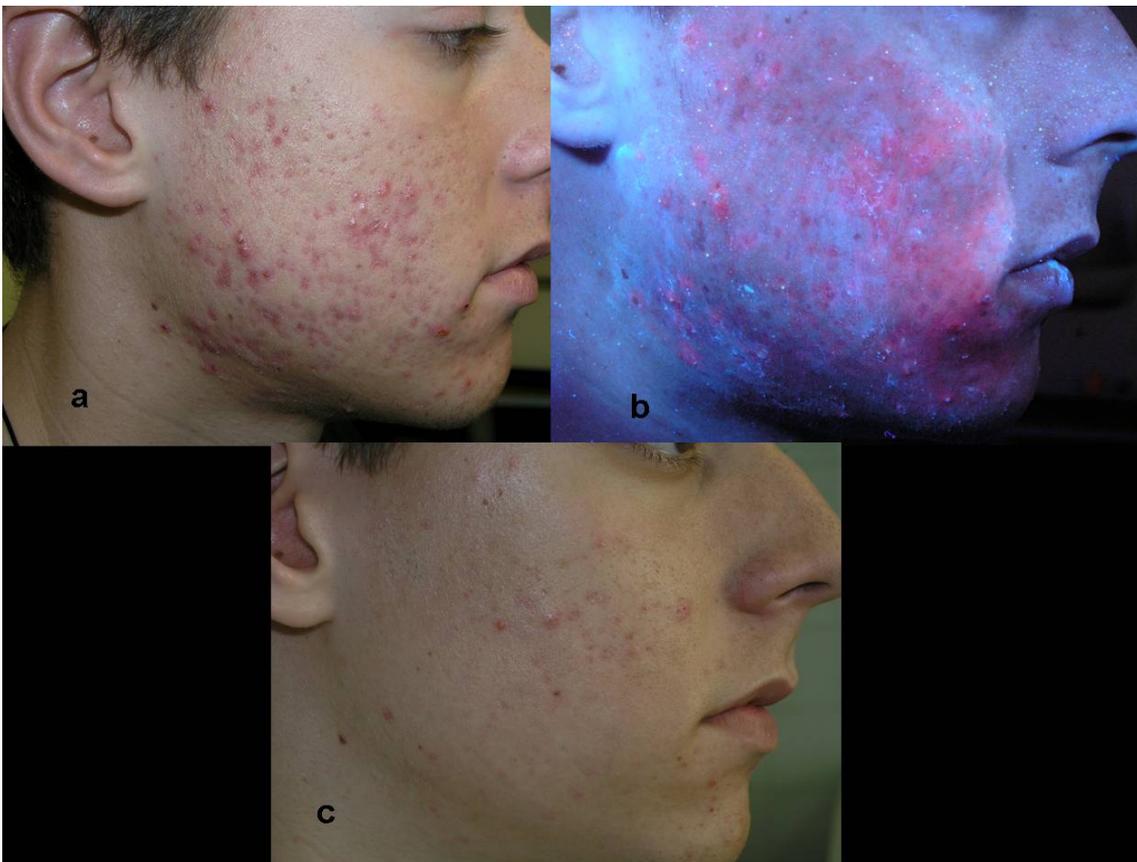


Figura 19. Reducción de lesiones totales después de 6 sesiones de TFD: a) antes del tratamiento; b) fluorescencia de las lesiones inflamatorias; c) final del tratamiento.

Gráfico 1. Representación gráfica del número de lesiones totales al inicio y al final de la aplicación del láser.

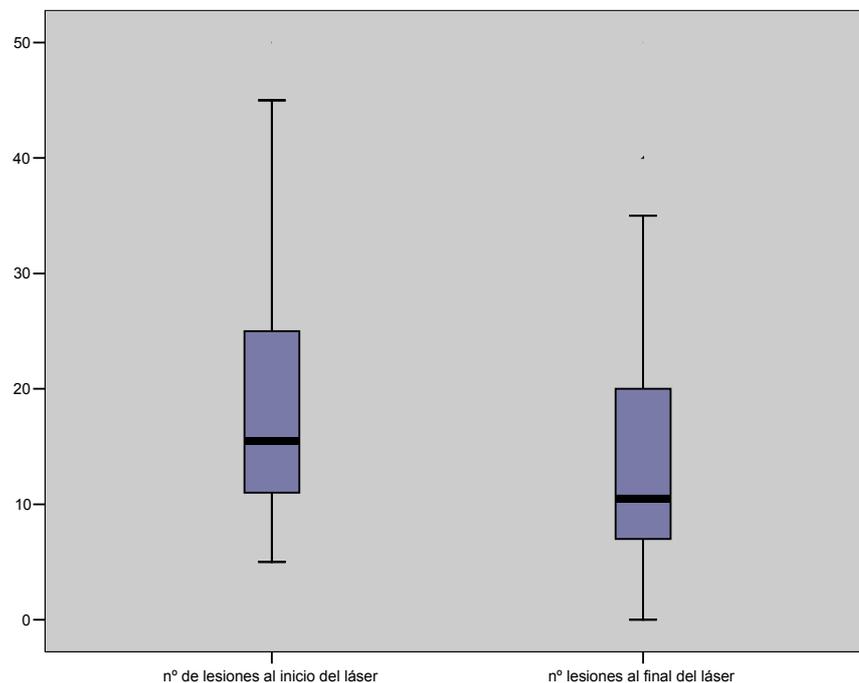


Gráfico 2. Representación gráfica del número de lesiones totales antes y después de la terapia fotodinámica.

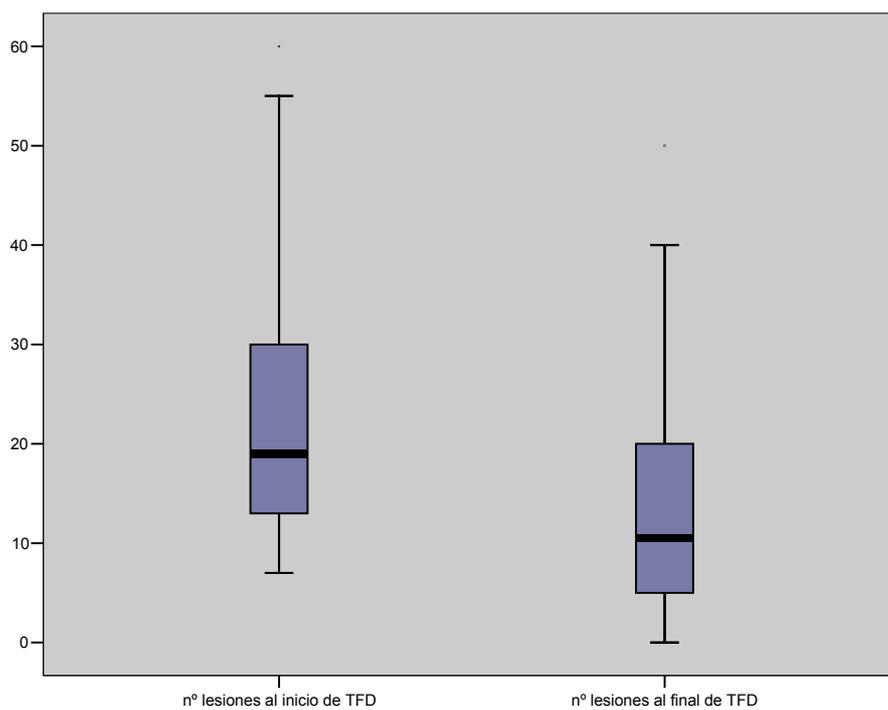
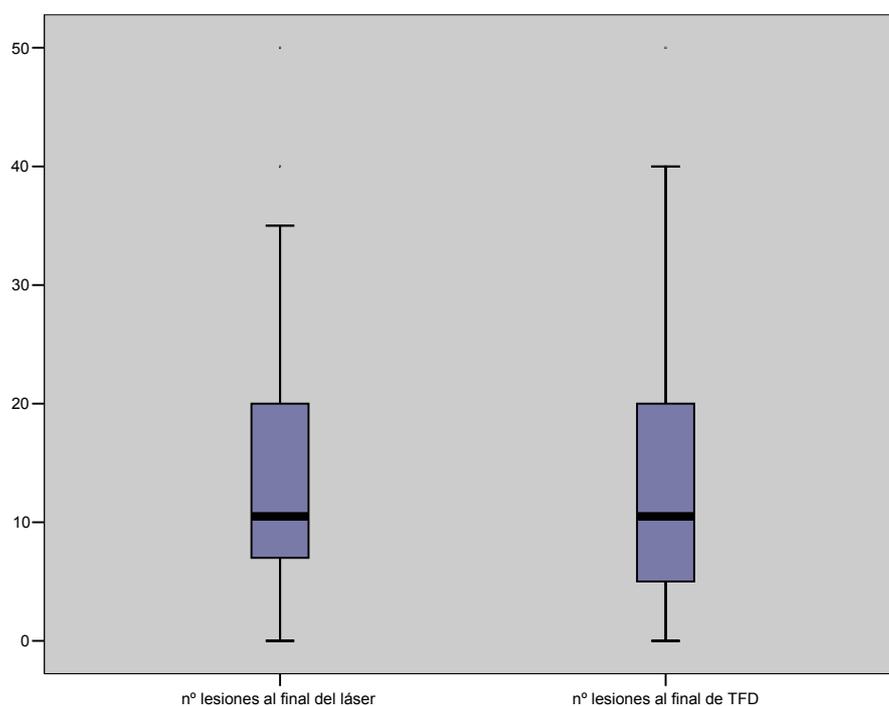


Gráfico 3. Representación gráfica de los niveles de reducción del número de lesiones totales después del láser y de la TFD.



2.2 ESTUDIO DE LAS LESIONES INFLAMATORIAS (Tabla 16) (Figuras 20-24):

- Después de la aplicación aislada del láser, se obtiene una reducción del número de lesiones inflamatorias en un 17,05%, estadísticamente significativa ($p < 0,01$) (Gráfica 4).
- En el estudio de las zonas tratadas con TFD, se consigue una disminución del 48,97%, estadísticamente significativo ($p < 0,000$) (Gráfica 5) .
- Comparando la disminución del número de lesiones después de la TFD respecto al láser, se obtiene mejores resultados con la TFD aunque no estadísticamente significativo ($p < 0,133$). En 17 pacientes, el acné fue mayor en la zona tratada con TFD respecto al área tratada con láser; y en 10 casos no se apreciaron diferencias entre ambas terapias (Gráfica 6).

Tabla 16. Estudio de las lesiones inflamatorias con láser y TFD.

		n° lesiones inflamatorias al inicio del láser	n° lesiones inflamatorias al inicio de TFD	n° lesiones inflamatorias al fin del láser	n° lesiones inflamatorias al fin de TFD
N	Válidos	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Media		10,32	13,30	7,96	7,00
Mediana		7,50	10,00	5,00	5,00
Desv. típ.		7,266	8,286	7,148	6,893
Mínimo		3	4	0	0
Máximo		30	40	30	30
Percentiles	25	5,00	8,00	3,00	3,00
	50	7,50	10,00	5,00	5,00
	75	15,00	20,00	10,00	8,50

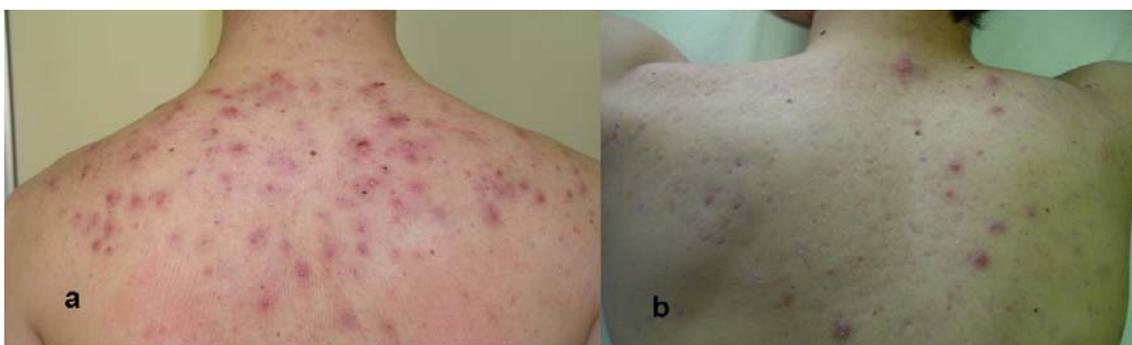


Figura 20. Respuesta clínica favorable a la TFD de acné moderado-grave de espalda: (a) inicio del tratamiento; (b) después de 6 sesiones de tratamiento.



Figura 21. Ausencia de respuesta clínica a la TFD en acné grave de espalda: (a) al inicio del tratamiento; (b) a las 6 sesiones.



Figura 22. Reducción de lesiones inflamatorias en hemicara tratada con TFD respecto al área con aplicación aislada de PDL: 1A y 1B hemicara de TFD; 2A y 2B hemicara de PDL.



Figura 23. Ausencia de respuesta clínica a la TFD: a1 y a2) antes del tratamiento; b1 y b2) después de 6 sesiones.



Figura 24. Iconografía de lesiones inflamatorias con luz normal y luz UV.

Gráfico 4. Representación gráfica de los niveles de disminución de lesiones inflamatorias después de la aplicación aislada de láser.

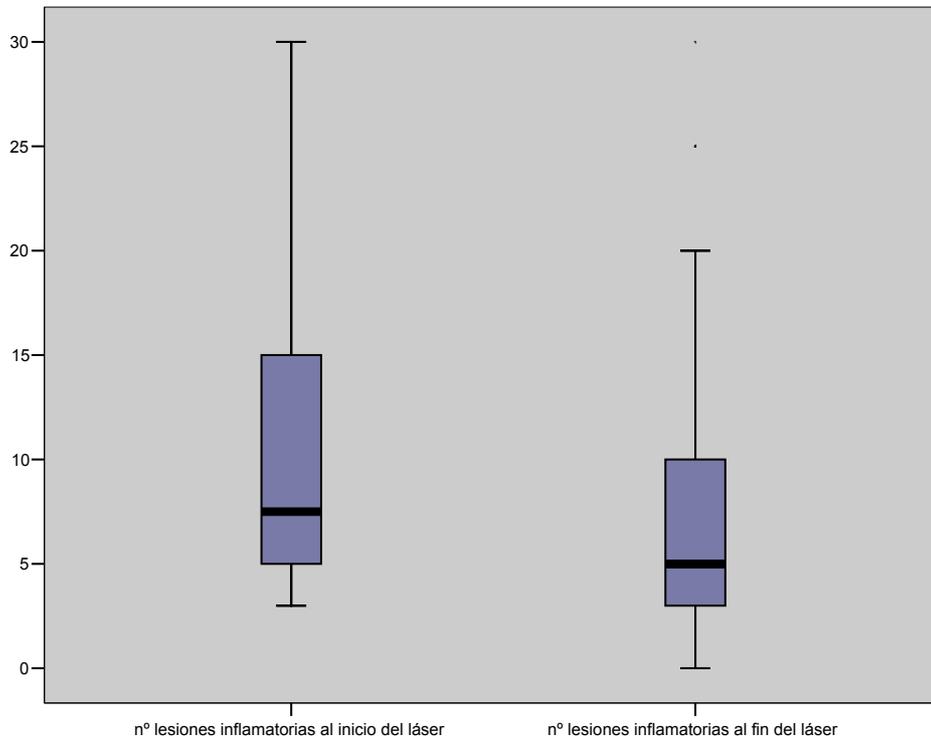


Gráfico 5. Representación gráfica de los niveles de reducción de lesiones inflamatorias después de la TFD.

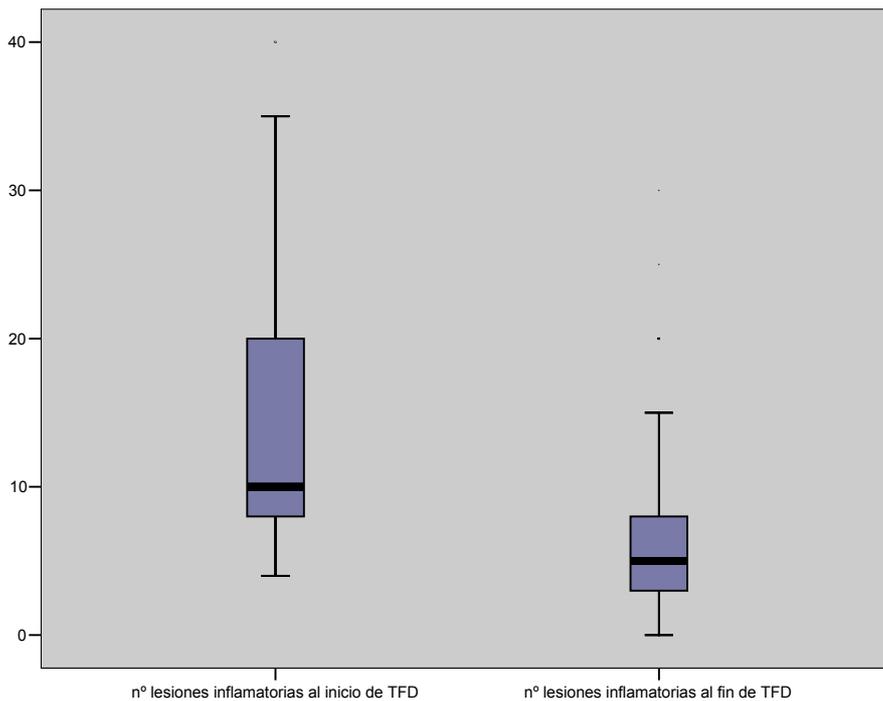
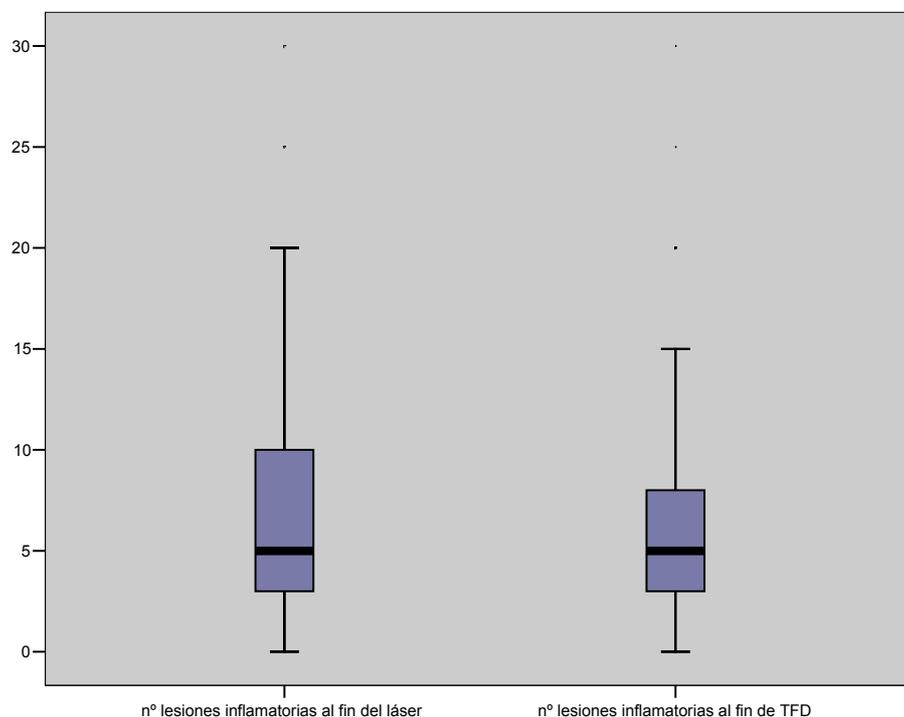


Gráfico 6. Representación gráfica de las diferencias en los niveles de disminución de lesiones inflamatorias entre el láser y la TFD.



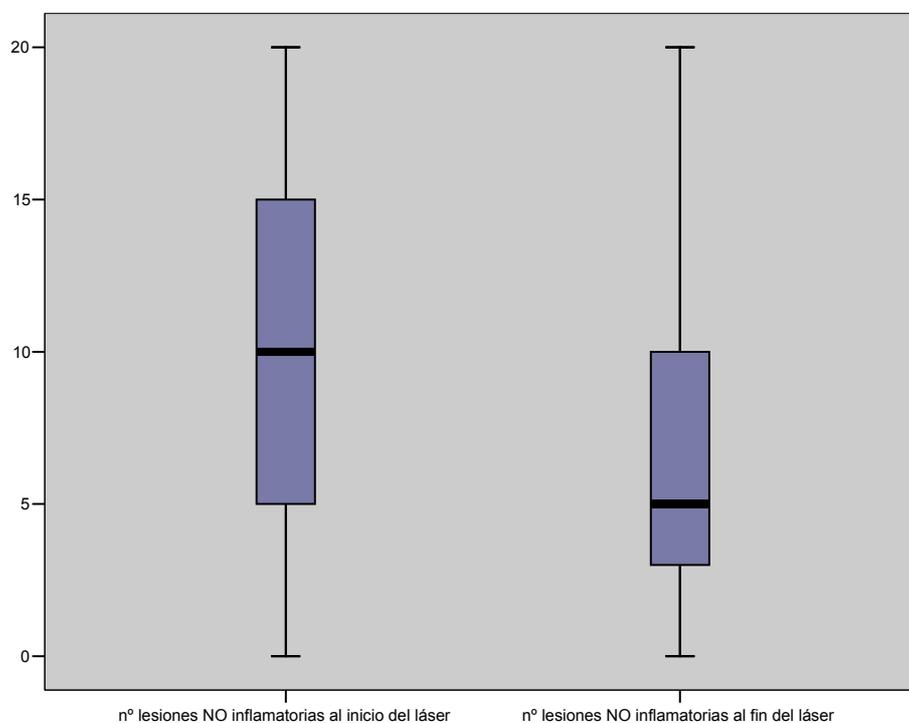
2.3 ESTUDIO DE LAS LESIONES NO INFLAMATORIAS (Tabla 17):

- Las lesiones no inflamatorias descendieron en un 29,25% después de la aplicación aislada del láser, de forma estadísticamente significativa ($p < 0,000$) (Gráfica 7).
- Después de la TFD, presentaron disminución de las lesiones en un 33,42%, estadísticamente significativo ($p < 0,000$) (Gráfica 8).
- Comparando la TFD con el láser, se consigue un descenso de las lesiones no inflamatorias respecto a la zona tratada sólo con láser, pero no fue estadísticamente significativo ($p < 0,229$) (Gráfica 9).

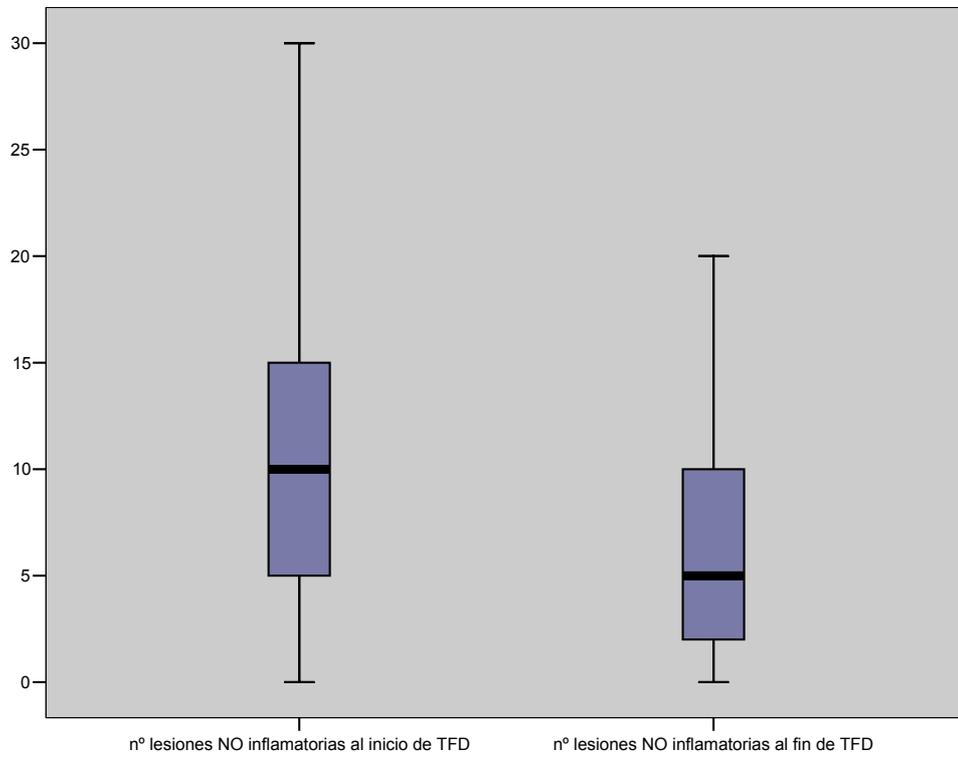
Tabla 17. Estudio de las lesiones no inflamatorias con láser y TFD.

		nº lesiones NO inflamatorias al inicio del láser	nº lesiones NO inflamatorias al inicio de TFD	nº lesiones NO inflamatorias al fin del láser	nº lesiones NO inflamatorias al fin de TFD
N	Válidos	50	50	50	50
	Perdidos	0	0	0	0
Media		9,54	9,60	6,90	6,36
Mediana		10,00	10,00	5,00	5,00
Desv. típ.		5,797	6,376	5,515	5,267
Mínimo		0	0	0	0
Máximo		20	30	20	20
Percentiles	25	5,00	5,00	3,00	1,75
	50	10,00	10,00	5,00	5,00
	75	15,00	15,00	10,00	10,00

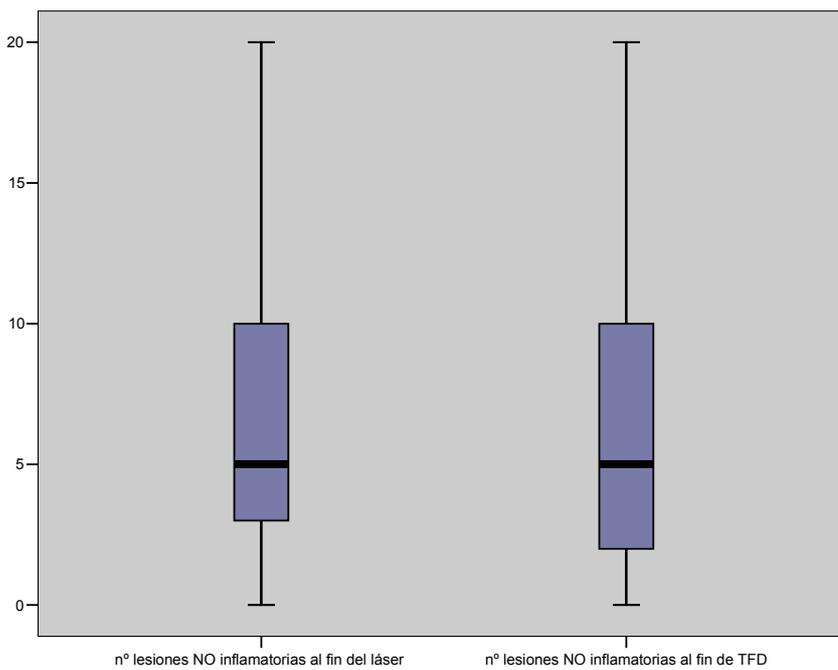
Gráfica 7. Representación gráfica de los niveles de disminución de las lesiones no inflamatorias después del láser.



Gráfica 8. Representación gráfica de los niveles de disminución de las lesiones no inflamatorias después de la TFD.



Gráfica 9. Representación gráfica de las diferencias en los niveles de reducción de lesiones no inflamatorias después del láser y de la TFD.



3. EVALUACIÓN ECONÓMICA Y OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO EMPLEADO POR EL ESPECIALISTA.

A la hora de evaluar el tiempo requerido por el especialista para realizar láser y TFD en pacientes con acné, en nuestro estudio comprobamos que en el caso de la TFD el tiempo global estimado fue de una hora y media, en cara y dos horas en espalda, incluyendo: aplicación de la crema de MAL, periodo de incubación y administración de la fuente de luz. Estudiamos la posibilidad de optimizar este tiempo, ya que, la hora de incubación de la crema por un paciente podía ser utilizada para la aplicación de la crema a otros dos pacientes más. De esta forma, en una jornada laboral de 4 horas, establecimos la posibilidad de realizar tratamiento a un total de 8 pacientes aproximadamente, considerando que dichas sesiones eran aplicadas por una única persona (tratamiento de 4 pacientes cada 2 horas). Consideramos que es un número adecuado de pacientes, dado lo laborioso de la técnica y la dedicación que hay que prestar a cada paciente. Este tiempo podría optimizarse aún más si el especialista es ayudado por un auxiliar.

En cuanto a la evaluación de los gastos, determinamos un presupuesto medio por paciente de:

- Crema Metvix®: 281,46 euros, con financiación por el Sistema Nacional de la Seguridad Social. Empleamos $\frac{1}{2}$ envase de la crema para el tratamiento completo de cara (140,73 euros) y un envase completo para el área total de la espalda (281,46 euros).
- Apósitos de Mepore®: el envase de 10 unidades del tamaño de 9 x 10, son aproximadamente 5 euros (4,98 euros). En la región de la cara, usamos dos apósitos para cada tratamiento (1 euro, aproximadamente,

por paciente). En la espalda, empleamos 10 unidades por paciente (5 euros).

- Apósitos de Tegaderm®: los envases de 25 unidades de apósitos de 9 x 10 tienen un coste aproximado de 28 euros (28,35 euros). Empleamos 2 apósitos en cara (2,24 euros por área y paciente). En la espalda se emplean 10 unidades por paciente (11,2 euros por paciente).
- Sesión láser: según las estimaciones realizadas por las casas comerciales de las fuentes de luz, en la cara se realiza un cálculo aproximado de 300 euros. En el caso de la espalda, se establece una media de 600 euros.

Todo ello correspondería a un presupuesto medio por paciente de, aproximadamente, 445 euros (443,97 euros) en el caso de que tratemos la cara; y de 900 euros (897,66 euros), cuando se trata la espalda. No obstante, estos presupuestos suponen una aproximación, a groso modo, del coste medio de los tratamientos, dado que no están basados en la construcción de modelos de análisis coste-beneficio, sino en la propia experiencia personal del equipo. Al analizar la literatura dermatológica, sólo existen artículos sobre la relación coste-beneficio del empleo de láser de colorante pulsado en el tratamiento de verrugas genitales y condilomas. En relación a la TFD, Farah y cols. (139) realizan un estudio comparativo entre el empleo de TFD con Levulan Kerastick® para el tratamiento de queratosis actínicas de cara y cuero cabelludo, frente a la utilización de 5-Fluorouracilo o Imiquimod, estableciendo un coste similar para los 3 tratamientos. Cuando comparamos los costes de la TFD con los derivados del empleo de isotretinoína, las diferencias se acortan ya que hay que tener en cuenta los costes en sí de la propia isotretinoína junto con los costes de los estudios analíticos que se realizan durante el tratamiento,

test de gestación, empleo de anticonceptivos orales, visitas a ginecología y dermatología, además de los costes relacionados con la toxicidad del tratamiento. De esta forma, Alexiades (140) establece que el coste global de 3 sesiones de TFD es menor que el régimen completo de isotretinoína, aunque hay que tener en cuenta que este autor no tiene en cuenta los costes de re-tratamientos con TFD.

En el intento de economizar la técnica, Akaraphanth (128) establece, en un estudio reciente, la posibilidad de utilizar la crema de MAL reducida al 4% de su concentración. Ello asociado al empleo de dosis bajas de luz podría ser útil para controlar los efectos adversos que puedan derivarse de la realización de la TFD, además de reducir los costes al disminuir la cantidad de crema necesaria para el tratamiento. En este estudio se establece que la eficacia se mantiene al mismo nivel que con altas concentraciones de Metvix® (128).

En cuanto a las dificultades técnicas durante el desarrollo del estudio, las principales fueron derivadas, básicamente, del recuento del número de lesiones, sobre todo, de las de tipo no inflamatorio. Por ello, determinamos tener en cuenta tanto la exploración clínica en cada sesión de tratamiento, como la evaluación de las iconografías mediante la técnica de Leeds modificada, comparándolo con el recuento clínico de lesiones. Por otro lado, ningún paciente demostró inconvenientes en la utilización de oclusión durante el periodo de incubación del fotosensibilizante, ni describieron dificultades en su vida cotidiana durante las 30 horas posteriores al tratamiento en las que debía emplear una máscara de fotoprotección, por lo que no fueron consideradas limitaciones para realizar la TFD. La aplicación del láser no conllevó ninguna dificultad técnica ni clínica, excepto el hecho de que por el

spot de 7 mm, el tiempo empleado para la realización de la TFD de amplias zonas, como la espalda, era más extenso que cuando se usan lámparas de luz no coherente.

IV. DISCUSIÓN

1. DEFENSA Y LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

El acné es una de las enfermedades cutáneas de mayor incidencia afectando a un porcentaje alto de adolescentes y a una parte de la población adulta. El problema de esta dermatosis de la unidad pilosebácea es que, si no es tratada adecuadamente, puede evolucionar al desarrollo de cicatrices y, en consecuencia, a la desfiguración de las zonas afectas. Ello, a veces, puede llevar a graves consecuencias en el desarrollo de la personalidad de los pacientes jóvenes a los que con más frecuencia afecta y puede derivar en problemas de ansiedad y depresión, existiendo incluso casos descritos de suicidios.

Aunque el acné es una patología inflamatoria que no conlleva un riesgo vital, es importante el reconocimiento global de estos pacientes en los que, a veces, puede existir una merma en su calidad de vida, dado que con frecuencia se ven inmersos en una situación de estrés tanto por el aspecto físico en el que se ven reflejados, como por la utilización de múltiples “tratamientos” a los que están “esclavizados”.

Debido al aumento de las resistencias bacterianas, por el empleo indiscriminado de los antibióticos, la utilización de los mismos en el acné ha visto reflejada una disminución de su eficacia. Incluso, en últimas publicaciones, se ha defendido la posibilidad de aumentar el riesgo de desarrollar cáncer de mama en aquellas mujeres que se han visto sometidas a

tratamientos crónicos con antibióticos (5). También se ha descrito un aumento de la incidencia de infecciones respiratorias por el abuso de los mismos (4).

En cuanto a los retinoides sistémicos, aunque han supuesto un escalón importante en la terapéutica del acné, por su eficacia de actuación con escasos índices de recidivas, no obstante, sus efectos adversos y contraindicaciones, así como el alto riesgo de teratogenicidad llevan a delimitar su utilización a determinados casos seleccionados en los que no haya riesgo de utilización (1).

Por tanto, teniendo en cuenta las puntualizaciones previas, además de considerar la existencia de patologías que contraindican el uso de determinadas terapéuticas, así como de pacientes con ausencia de respuesta a múltiples tratamientos previos, surge la necesidad de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas para el acné.

Desde la pasada década se lleva investigando el empleo de fuentes de luz y láser en la terapia del acné, basándose en 3 posibles mecanismos de actuación:

- Fotoactivación de las porfirinas endógenas que el *P. acnes* produce en condiciones normales.
- Fototermólisis de la glándula sebácea al actuar sobre el agua como diana.
- Disminución de la inflamación por el fenómeno de la fototermólisis selectiva sobre la hemoglobina y, adicionalmente, promover respuestas inmune antiinflamatorias.

En el intento de aumentar la fotoactivación del *P. acnes* y de potenciar el mecanismo de actuación sobre la glándula sebácea, la terapia fotodinámica ha surgido como uno de los avances más recientes que han revolucionado el tratamiento del acné. La terapia fotodinámica supone el empleo de

fotosensibilizantes exógenos que llevan a una mayor producción de radicales libres y singletes de oxígeno que inducen la muerte celular de forma más activa e intensa que con las porfirinas endógenas (21).

La mayor parte de los estudios realizados hasta ahora sobre el empleo de la TFD en el acné, han utilizado como fotosensibilizante, el ácido 5-aminolevulínico (ALA) y, como activador del mismo, fuentes de luz no coherentes (9).

Nuestro estudio tiene como novedad valorar la eficacia y tolerabilidad en el tratamiento del acné de la terapia fotodinámica mediante el empleo de metilaminolevulinato, como sensibilizante, y del láser de colorante pulsado de pulso largo, como fuente de luz. Además, comparamos los resultados con la utilización aislada del láser de colorante pulsado.

Hasta la fecha, en la literatura, sólo existe un estudio reciente sobre la eficacia del láser de colorante pulsado frente a la terapia fotodinámica con dicho láser y MAL en un grupo reducido de 15 pacientes y durante un periodo corto de seguimiento (129).

Los factores que justifican el empleo combinado de metilaminolevulinato (MAL) junto al láser de colorante pulsado de pulso largo son:

- El MAL es un éster del ALA con alta lipofilia por lo que penetra más rápidamente y con mayor profundidad que el ALA. De esta forma, puede llegar más fácilmente a la región glandular donde se concentra la bacteria *P. acnes* (36).
- El MAL es más selectivo de la piel enferma que el ALA, el cual tiende a acumularse tanto en piel sana como enferma. Al acumularse el ALA en piel sana se induce, también, una reacción fotodinámica en estas áreas, lo

que explica que la TFD con ALA pueda ser más dolorosa que con MAL (36).

- El ALA induce un depósito homogéneo de PpIX, mientras que el MAL lo hace en forma de “spots”. Ello permite que el tratamiento con MAL sea más eficaz en zonas donde realmente tiene que actuar ya que la reacción fotodinámica se produce en la zona lesional sin alterar la piel sana circundante (36).
- Los efectos adversos, tales como el eritema y edema, suele ser más intensos y duraderos con el ALA que con el MAL, debido al depósito homogéneo de PpIX que induce ALA (54) .
- El empleo de láser como fuente de luz permite focalizar la energía hacia las zonas sobre las que realmente se quiere actuar, con mínima divergencia de dicha energía, a diferencia de lo que ocurre con la luz no coherente (13). De esta forma se puede irradiar con alta energía sobre un foco pequeño de piel, lo que lleva asociado la posibilidad de causar menos efectos adversos. No obstante otros autores defienden el empleo de fuentes de luz no coherentes por ser mejores en lesiones superficiales de áreas grandes.
- El láser de colorante pulsado de pulso largo presenta una longitud de onda (595 nm) localizada en el lado de la banda Q del espectro de absorción de las porfirinas (17). Corresponde a un espectro débil de excitación de las porfirinas, localizado a longitudes de ondas altas entre 450-700 nm, pero se encuentra dentro del rango en el que existen 4 picos, aunque más débiles que en la banda Soret, de absorción de las porfirinas entre 500-635 nm.

- El láser de colorante pulsado de pulso largo presenta mayor capacidad de profundizar por lo que puede actuar sobre las porfirinas localizadas en las zonas más profundas de los folículos pilosebáceos (17).
- El láser de colorante pulsado tiene la ventaja de presentar una duración de pulso variable en el rango no purpúrico, un sistema DCD de enfriamiento para minimizar las molestias, un tamaño amplio de *spot* de hasta 10 mm y una mayor rapidez de tratamiento con una velocidad de disparo de 1 Hz (13).
- El empleo del láser de colorante pulsado permite actuar en el componente inflamatorio del acné al tener como cromóforo la hemoglobina. Además, parece inducir la liberación de moléculas antiinflamatorias, basándose entre otros aspectos, en que la emisión de baja energía láser tiene efecto estimulador en las células, concretamente en las células T (120). Se postula que este láser elimina las bacterias no sólo de forma directa, sino también mediante la estimulación del sistema inmune.
- Las fluencias bajas del láser de colorante pulsado inducen la producción de procolágeno secundario al calentamiento de la dermis perivasular, lo que puede ser de utilidad en la mejora de las cicatrices de acné (9,141).
- El láser de colorante pulsado parece disminuir la comedogénesis y la maduración de la pared folicular (24).
- La reacción fotodinámica inducida por la combinación de metilaminolevulinato y de láser de colorante pulsado parece inducir una disminución del tamaño de las glándulas sebáceas y una supresión de la función de las mismas.

- El uso del láser de colorante pulsado de pulso largo se ha relacionado con escasos efectos secundarios que pensamos no aumentan por la asociación del metilaminolevulinato (24).

A pesar de la abundancia de estudios que han surgido, en la última década, demostrando la eficacia marcada del empleo de la terapia fotodinámica en el tratamiento del acné, todavía existe la necesidad de realizar ensayos randomizados, a doble ciego, con placebo-control, para poder llevar a su aprobación, por la FDA y Comité Europeo de Medicamentos, el tratamiento fotodinámico del acné, como vía alternativa a la isotretinoína.

En nuestro estudio es importante indicar el hecho de que para poder realizar una adecuada interpretación de los resultados, se deberán tener en cuenta las limitaciones que éste puede presentar, dado que las conclusiones están basadas en datos clínicos que, como en otros estudios, son difíciles de correlacionar con cambios en la excreción de sebo, daño de las glándulas sebáceas, niveles de *P. acnes* y fluorescencia de PpIX.

Actualmente, a nivel histológico sólo se ha demostrado una alteración leve de la glándula sebácea que, aunque se piensa es transitoria, puede ser suficiente para disminuir la producción de sebo, resultando en una mejoría a largo plazo del acné. No obstante, con el tiempo, se ha visto que la alteración de los sebocitos vuelve a su histología pre-tratamiento (93).

En cuanto a los niveles de bacteria, aunque la medida cuantitativa específica, en la piel, del *P. acnes*, por sí misma, es más exacta que la medida indirecta de la fluorescencia, hay que tener en cuenta que dichos valores en la superficie cutánea son diferentes a los que existen en los conductos pilosebáceos, por lo que no constituirían un reflejo fiel de la cantidad de

fotoinactivación bacteriana que realmente se produciría (121). Por otro lado, y tal como se defiende en anteriores estudios, la reacción fotodinámica induce un daño en la bacteria más que una destrucción, por lo que cuando son cultivados en ambiente ideal, crecen de forma adecuada. Es por ello que varias semanas después de la interrupción del tratamiento se puede ver recolonización de la piel por el *P. acnes*. Lo cual no debe ser interpretado como fracaso de la TFD, ya que como bien defiende Hongcharu (93), además del daño directo sobre la glándula y de la inactivación fotodinámica de la bacteria, parece existir un mecanismo de acción alternativo consistente en la disminución de la obstrucción folicular, por un aumento del recambio de queratinocitos y disminución de la hiperqueratosis.

Aunque existen estudios previos sobre TFD en el acné en los que determinan, para comprobar los resultados del tratamiento, la medida de la excreción de sebo mediante *sebutape*, consideramos que los valores que se obtienen con tal medida son muy variables y con tendencia a infraestimar dicha excreción (19). En nuestro estudio, no consideramos necesaria la valoración de este dato ya que pensamos que no representa un reflejo fiel de la acción de la terapia sobre la función de la glándula.

2. DISCUSIÓN.

Desde hace varias décadas se ha demostrado la utilidad de la fototerapia en el acné. Al principio, se comenzaron a emplear fuentes de luz no coherentes y, posteriormente, se amplió el uso de fuentes de luz láser con las que se observaba su utilidad no sólo en lesiones activas de acné sino también en cicatrices. Se han propuesto varios mecanismos de acción de las terapias

ópticas: calentamiento fototérmico de las glándulas sebáceas, inactivación fotoquímica del *P. acnes* y posibles reacciones fotoinmunológicas (142). En nuestra Unidad de Láser del Servicio de Dermatología, fue realizado un ensayo, previo a este estudio, sobre la utilidad del láser de colorante pulsado en el acné, comprobando su eficacia en la reducción de lesiones activas de acné (24).

La terapia fotodinámica se fundamenta en la activación de moléculas sensibles a la luz (fotosensibilizantes), las cuales forman radicales citotóxicos de oxígeno que causan lesión tisular y muerte celular. Aunque sus indicaciones aprobadas en la actualidad son las queratosis actínicas, el carcinoma basocelular, superficial y nodular, y la enfermedad de Bowen, numerosos estudios se están realizando con el objeto de conocer su utilidad en otras patologías dermatológicas no neoplásicas, tales como las enfermedades infecciosas o inflamatorias, entre las que está el acné (21). Hay evidencia acumulada sobre el empleo de TFD en el acné, aunque aún son necesarios estudios detallados sobre optimización del protocolo. El empleo de la TFD en el acné se fundamenta en: la eficacia probada del uso de fuentes de luz; la captación del ALA por las unidades pilosebáceas y su conversión en PpIX; y la fotoexcitación de las porfirinas endógenas bacterianas para producir singletes de oxígeno (47). Aunque el mecanismo exacto de la TFD en el acné no está claro, se defienden 3 posibles acciones que incluyen daño fotodinámico de la glándula sebácea, destrucción fotodinámica del *P. acnes* y aumento del recambio de los queratinocitos con disminución de la hiperqueratosis y obstrucción folicular (118).

En el estudio actual proponemos realizar TFD en pacientes con acné mediante el empleo novedoso de metilaminolevulinato (MAL) como fotosensibilizante, en el intento de aumentar la capacidad de penetración, y profundizar hasta las glándulas sebáceas. Hasta la fecha, sólo hay 4 estudios que emplean MAL en la terapia fotodinámica del acné, ya que la mayoría utilizan ALA (36,120,124,129,130). Como fuente de luz, decidimos utilizar láser de colorante pulsado, en lugar de una fuente de luz no coherente, como en la mayoría de los estudios descritos en la literatura. El único ensayo previo al presente estudio, en el que realizan TFD del acné mediante la combinación de MAL y láser de colorante pulsado es el presentado, recientemente, por Haedersdal y cols. (129). Nuestro estudio es el más amplio, hasta ahora, en cuanto a número de pacientes y periodo de seguimiento respecto al empleo de TFD con MAL y láser de colorante pulsado (Figuras 25, 26 y 27). En cuanto a la **metodología** establecimos como protocolo un periodo de incubación del MAL de una hora seguido, posteriormente, de la aplicación del láser de colorante pulsado de pulso largo, utilizando fluencias de 9 J/cm^2 , pulso de 6 msg y spot de 7 mm.



Figura 25. Respuesta clínica excelente en la 4^a sesión de TFD: (a) al inicio; (b) a las 4 sesiones.



Figura 26. Hemicara derecha de paciente con disminución discreta de lesiones después de 6 sesiones de láser de colorante pusado: (a) antes del tratamiento; (b) después del tratamiento.

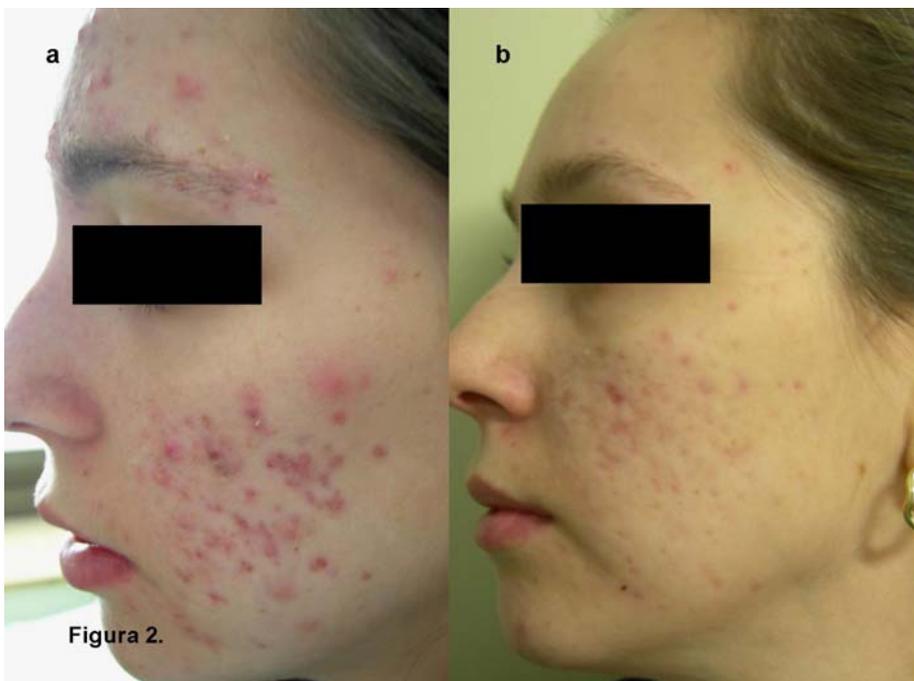


Figura 27. Hemicara izquierda con buenos resultados después de 6 sesiones de TFD: (a) antes del tratamiento; (b) después del tratamiento.

Respecto a las **sesiones**, consideramos por nuestra experiencia, que son necesarios múltiples tratamientos, frente a sesiones aisladas, no sólo con el objeto de conseguir un mantenimiento de los resultados prolongado en el tiempo, sino también de obtener, en sí mismo, tales resultados, sobre todo, cuando tratamos pacientes con acné de grado moderado-grave. Coincidimos, así, con las conclusiones establecidas previamente por Hongcharu e Itoh. En su estudio sobre 13 pacientes sobre los que aplicó un tratamiento único, Itoh demostró mejoría clínica pero no persistía más allá de 3 a 6 meses, concluyendo que una sesión de TFD sólo producía daño “reversible” de la glándula sebácea, describiendo la necesidad de emplear múltiples sesiones en la TFD del nevus sebáceo (119). Por otro lado, como confirma Pollock en su estudio, la TFD más que producir destrucción del *P acnes*, lo que hace es dañarlo, de forma que, después de varias semanas de la finalización del tratamiento, el área se ha recolonizado (118). Coincidimos, por tanto, con Hongcharu en que el empleo de múltiples sesiones se asocia con descenso en los porcentajes de secreción del sebo con disminución de la obstrucción folicular y daño de las glándulas sebáceas, con disminución del tamaño de las mismas y ello se deriva en mejores resultados clínicos mantenidos en el tiempo que cuando se emplean tratamientos únicos (93). Establecemos como intervalo entre sesiones un total de 4 semanas, tiempo suficiente en el que comprobamos la recuperación del área de tratamiento respecto a la sesión previa y la adecuación tanto de la vida personal como profesional del paciente a la necesidad de acudir al hospital para la realización del tratamiento. Muchos estudios emplean intervalos más cortos, de 1 a 2 semanas, si bien las energías

usadas son menos intensas y los índices de recidiva más altos (117,118,120,130).

Referente a **la luz a emplear para inducir la reacción fotodinámica**, la mayoría de los estudios utilizan fuentes de luz no coherente, generalmente, luz azul y/o roja, o bien, luz pulsada intensa (13,47,138). Nuestra intención respecto al empleo del láser de colorante pulsado no sólo era focalizar la energía sobre las zonas enfermas, sino también disminuir el componente inflamatorio y mejorar la cicatrización (9,120,141). Tal y como describe Alexiades-Armenakas (85) las fluencias requeridas para que el láser de colorante pulsado sea eficaz en el tratamiento del acné, deben ser de, al menos, 7 a 7,5 J/cm². Nosotros empleamos una fluencia mayor para asegurar la eficacia, utilizando un total de 9 J/cm², con la que, además, mantuvimos una buena tolerabilidad del tratamiento con escasos efectos adversos, dado que asociamos una duración de pulso de 6 msg para evitar posible aparición de alteraciones pigmentarias o de púrpura, además de ser menos doloroso para el paciente. Sólo existe un enyaso previo a este estudio en el que emplea láser de colorante pulsado asociado a MAL para la TFD del acné, si bien nosotros utilizamos una fluencia mayor con una duración de pulso menor (129). Además, necesitamos emplear un mayor número de sesiones para conseguir resultados similares en cuanto a la eficacia en la reducción de las lesiones inflamatorias.

La utilización de MAL como **fotosensibilizante** puede ofrecer, por su lipofilia, ventajas teóricas sobre el ALA por presentar mejores propiedades de penetración y mayor selectividad tisular. Dicha selectividad hace que su

depósito en “spot”, no homogéneo como ocurre con el ALA, parezca conducir a menor intensidad del dolor durante el tratamiento y menos efectos adversos (130). Fritsch comparó la intensidad de la fluorescencia y la producción *in situ* de porfirinas entre ALA y MAL en 80 pacientes, de los cuales 40 tenían piel normal y el resto presentaban queratosis actínicas (54). Observó que la fluorescencia en piel normal era menor con MAL y que la producción de porfirinas en las zonas con queratosis actínicas era doble con ALA respecto a MAL. De ello concluye que ALA parece ser un productor más eficiente de porfirinas conduciendo a una reacción fotodinámica mayor que con MAL. No obstante, concuerda con Christiansen (143) en que la producción de PpIX a partir del ALA es excesiva para las indicaciones cosméticas. Con respecto al tiempo de incubación del MAL coincidimos con otros estudios en la posibilidad de utilizar periodos cortos, aunque nosotros comprobamos la necesidad de mantener el fotosensibilizante en contacto con el área de tratamiento, al menos, durante una hora. Cuando el tiempo de incubación que empleábamos era de 45 minutos, no sólo no obteníamos la fluorescencia rojo-anaranjada coral típica de la acumulación de PpIX, sino que además no se conseguía efecto terapéutico. La piel del área tratada no demostraba ni el eritema ni el edema típicos que se observan cuando se produce la reacción fotodinámica. Aunque existen pocos ensayos controlados en los que se evalúe la utilización de tiempos cortos de incubación del fotosensibilizante, de 15 a 30 minutos, nosotros establecemos que, al menos, dicho periodo debe ser de una hora (124,132,133). Haedersdal realizó una revisión basada en la evidencia sobre el empleo de láser, fuentes de luz y TFD en el tratamiento del acné, observando en los estudios sobre TFD que la eficacia y grado de dolor después de un

tratamiento utilizando ALA y MAL eran similares, mientras que el eritema, erupción pustular y exfoliación eran más intensos cuando se empleaba ALA que con el uso de MAL. Además, observó que en la mayoría de los estudios la eficacia era mayor y se mantenía en el tiempo cuando se empleaban 4 tratamientos frente a una única sesión (142).

Respecto a la **eficacia clínica** (Figuras 28, 29 y 30), en el recuento de lesiones obtuvimos un descenso estadísticamente significativo en el número de lesiones totales, así como también en el número de lesiones inflamatorias y no inflamatorias, tanto con el empleo aislado del láser como con la TFD. Los porcentajes de reducción, con la aplicación aislada de láser, en el total de lesiones, en las lesiones inflamatorias y no inflamatorias fueron de 21,94%, 17,05% y 29,25%, respectivamente. Sin embargo, al comparar ambas terapias, la TFD sólo fue superior al láser, de forma estadísticamente significativa ($p > 0,002$), cuando se estudiaba el número de lesiones totales de acné, obteniendo un descenso del 44,39%, con la TFD y del 21,94%, con la aplicación aislada del láser. En el estudio aislado de las lesiones inflamatorias, la TFD obtuvo mejores resultados (descenso del 48,97%) que el láser (descenso del 17,05%), aunque no fue estadísticamente significativo ($p < 0,133$). De la misma forma, el descenso de las lesiones no inflamatorias fue mayor con la TFD (disminución del 33,42%) que con el láser (disminución del 29,25%) pero no estadísticamente significativo ($p < 0,229$). Consideramos, no obstante, como en estudios previos descritos en la literatura, la dificultad a la hora de realizar el recuento de lesiones no inflamatorias dada la evolución en sí de las mismas, que pueden ir aumentando en número incluso desde antes de

iniciar el tratamiento, y sin estar asociado al inicio del mismo (36). Además, se debe tener en cuenta el hecho de que el número en sí de lesiones no inflamatorias con frecuencia es pequeño. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en los 4 ensayos en los que emplean MAL en la TFD del acné, obteniendo porcentajes de reducción, principalmente, en las lesiones inflamatorias (36,120,129,130). No obstante, las diferencias entre la aplicación aislada del láser y la realización de TFD son pequeñas, coincidiendo así con el resto de los estudios; e incluso las diferencias obtenidas sólo fueron estadísticamente significativas al considerar el número total de lesiones. En el caso de las lesiones inflamatorias, la mejoría obtenida fue mayor que al tratar lesiones no inflamatorias, tanto con láser como con TFD, como se confirma en estudios previos. Aunque, en nuestro caso, no fue estadísticamente significativa la diferencia obtenida en los resultados entre el láser y la TFD.



Figura 28. Desaparición de las lesiones inflamatorias de acné después de 4 sesiones de TFD.

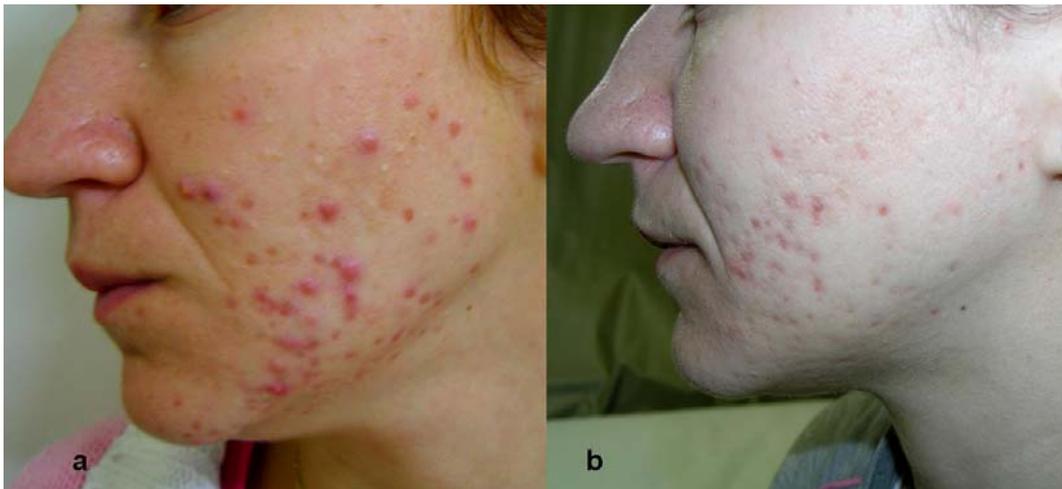


Figura 29. Respuesta clínica favorable después de 6 sesiones de TFD: a) al inicio del tratamiento; b) al finalizar el tratamiento.



Figura 30. Respuesta clínica favorable después de 6 sesiones de TFD: (a) antes del tratamiento; (b) al finalizar el tratamiento.

Como se confirma en los estudios de Fritsch (81) y de Wiegell-Wulff (120), nosotros comprobamos mayor **fluorescencia** (Figuras 31, 32 y 33) en las zonas de piel afecta por la inflamación del acné, que en la piel perilesional, lo que define la mayor selectividad del MAL hacia la piel enferma, acumulándose de forma selectiva en las glándulas sebáceas inflamadas y agrandadas, donde

además se induce una mayor acumulación de PpIX. Al igual que Haedersdal y cols. (129), confirmamos la presencia de fluorescencia en el lado pre-tratado con MAL, respecto al contralateral. En nuestro estudio comprobamos, al igual que en otros ensayos descritos en la literatura, que la ausencia de fluorescencia se mantenía de forma más prolongada cuando se aplicaban múltiples sesiones en comparación con la administración de un tratamiento único. No obstante, aunque aún no se ha demostrado el mecanismo exacto de la TFD en el acné, es probable que, como confirma Hongcharu, la TFD actúe no sólo por destrucción fotodinámica del *P. acnes* y daño directo de la glándula sebácea, sino también mediante la disminución de la obstrucción folicular al inducir un aumento del recambio de queratinocitos y una disminución de la hiperqueratosis (93). Respecto a la valoración de las colonias de *P. acnes*, aunque la medida cuantitativa específica de la bacteria en la piel, por sí misma, es más exacta que la medida indirecta de la fluorescencia, hasta ahora no hay estudios que cuantifiquen el número de bacterias, excepto el ensayo de Pollock y cols. (118) en el que midieron los niveles de *P. acnes* en la superficie cutánea, si bien estos niveles tampoco se correlacionaban exactamente con los que existían en los conductos pilosebáceos. Por ello, la disminución de la fluorescencia sigue siendo la medida indirecta que refleja la disminución del recuento bacteriano. Se observa que esa fluorescencia vuelve a reaparecer varias semanas después de la finalización de la TFD, lo que podría confirmar la posibilidad de recolonización. Por los datos descritos en la literatura y los resultados de nuestro estudio, comprobamos que la ausencia de fluorescencia se mantiene más prolongada en el tiempo cuando se aplicaban múltiples sesiones en comparación con un tratamiento único.



Figura 31. Fluorescencia rojo-anaranjada en piel lesional.

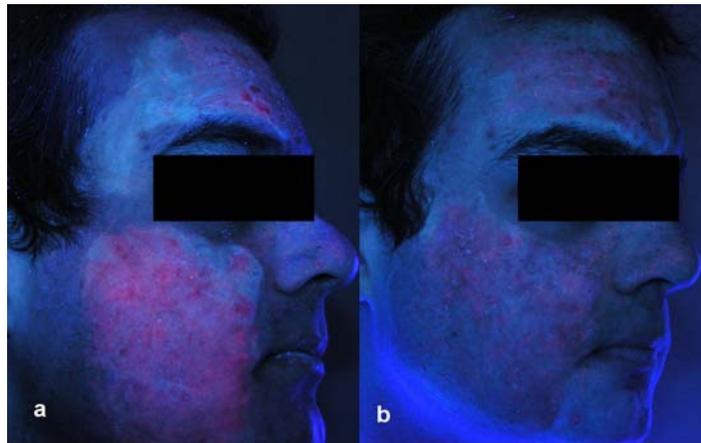


Figura 32. Desaparición de la fluorescencia después de 6 sesiones de TFD: a) antes del tratamiento; b) al finalizar el tratamiento.



Figura 33. Fluorescencia en mitad de área de tratamiento después de incubación de MAL durante una hora.

En cuanto a la **tolerabilidad del tratamiento**, ningún paciente abandonó el estudio. En la valoración de la aparición de **efectos adversos**, podemos establecer que la TFD es un tratamiento seguro. Al considerar la aparición de dolor, los pacientes manifestaban sensación de hormigueo y quemazón que lo definían en una escala de 1 a 6 (1: ausencia de dolor, 2: dolor leve, 3: dolor moderado, 4: dolor intenso, 5: dolor muy intenso, 6: NS/NC). Casi la mitad de los pacientes referían ausencia de dolor durante el tratamiento, tanto láser como de TFD. En el 54% restante de los pacientes en los que sí aparecía dolor, éste era de características leve-moderado (niveles 2-3). Se sabe que el dolor que aparece durante la TFD se restringe a la zona iluminada y que puede ser reflejo de una estimulación nerviosa y/o del daño tisular producido por los radicales oxígenos reactivos, probablemente empeorado por la hipertermia (55). Parece que el MAL podría provocar menos estimulación de las fibras nerviosas y, consecuentemente, inducir menor aparición de dolor (84). De hecho, en estudios previos se ha demostrado que la TFD de la piel sana es más dolorosa con ALA que con MAL, y ello es debido a que la acumulación de PpIX es mayor después de la incubación del ALA que con el MAL. Wiegell y Wulff (36) comprobaron la existencia de diferencias en los niveles de dolor, entre ALA y MAL, cuando trataban piel normal. Sin embargo, esta diferencia no se aprecia cuando se trata piel enferma y ello es debido a que, aunque el MAL induce una acumulación no homogénea y sólo lo hace en “spots”, la activación de altas cantidades de PpIX en un “spot” puede ser tan doloroso como la activación de un área de tratamiento con distribución más homogénea de la PpIX, como ocurre con el ALA. Este hecho explica que en los casos de pacientes con acné tratados con MAL, como en nuestro estudio, el dolor sea

leve o ausente, dado que las zonas tratadas en estos pacientes presentan áreas importantes de piel sana, en comparación a la extensión total de las lesiones. Por el contrario, podríamos postular que el empleo de ALA en la TFD del acné induciría mayor intensidad de dolor ya que se tratarían áreas de mayor cantidad de piel sana frente a piel lesional, de forma que el acúmulo homogéneo de PpIX en la piel perilesional llevaría a mayor dolor durante la iluminación, mientras que con el MAL el acúmulo de PpIX se produciría en lesiones puntuales. En un reciente estudio, Wiegell y Wulf (144) observaron la aparición de dolor durante la TFD con el empleo de MAL para el tratamiento de queratosis actínicas y de acné, demostrando que el dolor era más alto en relación con picos más altos de fluorescencia por PpIX y también con rangos más altos de fluencias. Dos ensayos previos describieron la aparición de menos dolor en la TFD con MAL respecto a ALA, en el tratamiento de queratosis actínicas de cuero cabelludo, aunque se emplearon periodos más cortos de incubación con MAL que con ALA (101,102). Recientemente, Wiegell (36) estudiando la TFD en el acné y Kuijpers (145) en el tratamiento del CBC nodular observaron que, mediante la aplicación de ambas prodrogas durante un periodo de incubación de 3 horas, no había diferencias significativas en cuanto al nivel del dolor entre ambos agentes, aunque en el caso del acné el lado tratado con ALA fue significativamente más doloroso en las 24 horas posteriores al tratamiento. El grado de dolor parece también estar más relacionado con la intensidad de luz proporcionada, de forma que dosis de luz fraccionada aumenta la tolerancia y parece, al mismo tiempo, mejorar el porcentaje de curación, así como también el empleo de fluencias más bajas (144,146).

No fueron descritos casos de costras, ni descamación ni púrpura ni cicatrización. Sólo se produjeron dos casos de hipopigmentación que se resolvieron en 3 semanas. La mayoría de los pacientes experimentaron la aparición de eritema con discreto edema inmediatamente después de la aplicación de la sesión, y que los pacientes referían desaparecer en el transcurso del día, sin limitar la vida cotidiana del paciente. Concretamente, el eritema y edema fueron más intensos en los 10 minutos primeros del inicio de la TFD, disminuyendo una hora después de finalizar el tratamiento, tal y como describe Hongcharu (93). El dolor, quemazón y picor también se presentan más intensos en los primeros 10 minutos y, posteriormente, alcanza una meseta. Esta sensación de quemazón fue más intensa en tratamientos subsecuentes.



Figura 34. Erupción acneiforme después de la primera sesión de TFD.

El eritema y edema se correspondían con el efecto fotodinámico, lo cual nos indicaba la existencia de efectividad terapéutica. Los pacientes que no desarrollaban tal eritema y edema, presentaban ausencia de respuesta clínica cuando acudían a la siguiente sesión (Figura 34). Coincidiendo con el estudio de Haedersdal, el eritema y edema aparecieron de forma más frecuente y significativa en el lado de la TFD que en el lado tratado sólo con láser (129).

Con el presente estudio demostramos la eficacia de la TFD en el tratamiento del acné, principalmente en el acné de tipo inflamatorio. Consideramos, no obstante, las limitaciones que puedan derivarse por el desarrollo de la técnica, coincidiendo con otros estudios en optimizar los regímenes de tratamiento para obtener resultados mantenidos en el tiempo y con escasos efectos adversos. Defendemos que la utilización tanto de la TFD como de otras fototerapias no debe ser considerada sustituta de tratamientos con antibióticos o retinoides.

V. CONCLUSIONES

Conclusiones

De la realización del presente estudio, en el que describimos nuestra experiencia sobre el empleo de láser y terapia fotodinámica en el tratamiento del acné, se extraen las siguientes conclusiones:

1. La terapia fotodinámica, mediante el empleo de metilaminolevulinato (MAL) y láser de colorante pulsado de pulso largo (LP PDL), es un tratamiento efectivo para el acné de predominio inflamatorio.
2. La terapia fotodinámica en el tratamiento del acné puede ser considerada una técnica inocua dada la práctica ausencia de efectos adversos.
3. La terapia fotodinámica mediante el empleo de metilaminolevulinato (MAL) y láser de colorante pulsado de pulso largo (LP PDL), consigue mejores resultados que el láser de colorante pulsado (PDL), en el tratamiento del acné, principalmente en las lesiones de tipo inflamatorio.

VI. ABSTRACT

LASER AND PHOTODYNAMIC THERAPY FOR
TREATMENT OF THE ACNE

INTRODUCTION

The increasing number of failures, adverse effects and contraindications of the classic treatments has emphasized the need to develop new therapeutic options for the treatment of acne. Over the past decade, the need for an alternative treatment has led to the investigation of light sources, lasers and photodynamic therapy (PDT) as a novel therapy of acne.

PDT and light sources can be considered as an additional tool for single or adjuvant treatment in patients presenting a relapse, or in whom other therapeutic options are not possible.

The exact mechanism of PDT in acne vulgaris is not known, but 4 pathways of action are postulated: bactericidal, damage of the sebaceous gland, decrease of the follicular obstruction and immunological response (93).

The innovation of our study was to assess the efficiency and tolerance in the treatment of acne of PDT with methyl-aminolevulinate (MAL) and pulsed dye laser(PDL).

OBJECTIVES

1.-To assess the clinical response, degree of satisfaction and tolerability of PDT with MAL and pulsed dye laser long pulse (PDL LP) for treatment of acne vulgaris.

2.- To evaluate the adverse effects provoked by the technique: edema, erythema, purpura, alteration of the pigmentation, blisters, exfoliation, scarring and degree of pain during treatment.

3.- To compare the effectiveness and tolerance, in acne treatment of the isolated use of the PDL LP versus PDT .

MATERIALS AND METHODS

During a 20 month period between 2006 and 2007, 50 acne patients were studied.

The study protocol consisted of 4-6 sessions at monthly intervals. Metvix® (MAL) was applied with an incubation period of 1 hour and subsequently PDL LP to 9 J/cm², 6 msg and 7 mm spot was applied as the source of light.

The statistical analysis was performed with Software SPSS 13.0 for Windows. In all the comparisons of the analysis estimations significant differences were considered to be $p < 0.05$. A test of normality (Shapiro-Wilk) revealed that the variables were not normally distributed, and consequently the non-parametric Wilcoxon's test was used for two matched pairs for comparing the results.

CONCLUSIONS

In the present study we describe our experience in the use of laser and PDT for the treatment of acne. This work was developed to compare the utilization of alternative or adjuvant new technologies with conventional therapy. Although antibiotics and retinoids are the gold standard of the treatment for acne, it is necessary to develop new alternatives not only for treatment of patients with

multiple contraindications, but for those that have been resistant to several therapies.

In the last decade, a large number of studies have described the use of PDT in new dermatological indications, such as acne. Our study involves the development of the technique in a wide number of patients and during a long period of follow-up. Most of the studies reported used aminolevulinic acid (ALA) as photosensitizer where as in this study MAL was used. As there are very few assays using laser in PDT the novel use of PDL was selected.

As a result of our study the following conclusions were obtained:

1. PDT with MAL and PDL LP , achieved a favorable clinical response in treating acne, with good tolerance of the technique and patient satisfaction with the results obtained.
2. PDT of acne can be considered a safe technique because of the virtual absence of side effects. The onset of pain during treatment was well tolerated and no patient abandoned the study .
3. When comparing the use of PDL versus PDT for the treatment of acne, it was found that PDT achieved a larger reduction in total acne lesions, mainly those of an inflammatory nature.

VII. ANEXOS

Anexo 1. CUESTIONARIO
PROTOCOLO TERAPIA FÍSICA DEL ACNÉ:
LÁSER Y TERAPIA FOTODINÁMICA EN EL TRATAMIENTO DEL ACNÉ

DATOS DEL PACIENTE

- Nombre y apellidos:
- Edad:
- Teléfono de contacto:

ANTECEDENTES DE INTERÉS

- Antecedentes familiares:

- Antecedentes personales:
 - *Enfermedades previas y/o actuales:
 - *Toma de medicamentos:
 - *Fecha de inicio del acné y duración:

-Tratamientos previos para el acné:

TÓPICOS

	EFICACIA	DURACIÓN	ÚLTIMA DOSIS
<u>QUERATOLÍTICOS:</u> Peróxido de Benzoilo (Benoxigel®, Oxiderma®, Panoxyl®, Solucel®, Peroxiben®) Ácido Azelaico (Skinoren®, Zeliderm®, Azelac®) Adapaleno (Differine 0,1%®)			
<u>RETINOIDES:</u> Isotretinoína (Isotrex®) Tretinoína (Retirides®) Tazaroteno (Zorac®)			
<u>ANTIBIÓTICOS</u> Eritromicina (Loderm®, Lederpax®, Deripil®, Euskin®) Clindamicina (Dalacin®, Clinwas®)			

ORALES

	EFICACIA	DURACIÓN	ÚLTIMA DOSIS
<p><u>ANTIBIÓTICOS</u></p> <p>Tetraciclinas Doxiciclina (Doxiclat®, Proderma®, Rexilen®, Vibracina®) Minociclina (Minocin®)</p> <p>Macrólidos Azitromicina (Zitromax®) Eritromicina (Pantomicina®)</p> <p>Trimetropim-Sulfametoxazol</p>			
<p><u>ISOTRETINOÍNA</u> Roacutan®, Isdiben®, Dercutane®, Acnemin®, Farmacne®, Flexresan®</p>			
<p><u>ANTIANDRÓGENOS</u> (Androcur®)</p> <p><u>ANTICONCEPTIVOS ORALES</u> (Diane®, Jasmin®)</p>			

Anexo 2. Consentimiento informado.

TERAPIA FOTODINÁMICA Y LÁSER EN ACNÉ

La terapia fotodinámica (TFD) es una técnica que se utiliza para tratar enfermedades en tejidos que pueden ser alcanzados por la luz, como ocurre con el caso de la piel.

Esta técnica la utilizamos los dermatólogos para tratar lesiones pre-cancerosas y cáncer de piel, aunque también se ha comenzado a utilizar en otras enfermedades no tumorales de la piel como el ACNÉ e incluso en rejuvenecimiento cutáneo.

El procedimiento consiste en la aplicación de una crema sobre la lesión a tratar, y 1 hora después se ilumina con una luz específica.

La crema (Metvix) contiene una sustancia fotosensible que se absorbe específicamente por las células inflamadas por el acné.

Durante el tratamiento el paciente puede sentir una ligera sensación de calor y quemazón. Posteriormente se puede presentar irritación local con enrojecimiento y, a veces, descamación, costra e hipo o hiper-pigmentación, que desaparecen en aproximadamente 10 días posteriores. En las 30 horas posteriores a la sesión, el paciente debe evitar la exposición solar de la zona tratada.

El protocolo de tratamiento consiste en la realización de una sesión de TFD cada mes, con un total de 4 a 6 sesiones, en función de la evolución clínica.

Adicionalmente, se tratará con láser decolorante pulsado, en la mitad de la cara que no se aplique la luz. Este tratamiento ha sido aprobado recientemente en Inglaterra por su eficacia en un elevado número de pacientes con acné inflamatorio. También se usa de forma cosmética en arrugas y cicatrices atróficas (incluidas las del acné).

Este láser emite un haz de luz que penetra en la piel de forma superficial y se utiliza a energías bajas, por lo que no se dañan estructuras vecinas. Los efectos secundarios pueden ser molestias durante la sesión en forma de quemazón (es variable según cada paciente), hiper o hipo-pigmentación, púrpura, enrojecimiento. Son transitorios y desaparecen en días, siendo importante la protección solar.

He comprendido los posibles efectos adversos de estas técnicas y he tenido la oportunidad de preguntar y mis preguntas han sido respondidas. De esta manera estoy

de acuerdo con participar en este estudio así como, también, consiento la obtención de imágenes digitales de mis lesiones cutáneas mediante las iconografías que realizará mi dermatólogo, antes del inicio del tratamiento y en cada una de las sesiones del mismo. Estoy de acuerdo en que las imágenes y la información relacionada con mi caso puedan ser utilizadas para fines clínicos, científicos o docentes que el Servicio de Dermatología del Hospital Ramón y Cajal consideren oportuno. Sin embargo, no seré identificado por mi nombre en ninguno de estos casos, y mis rasgos faciales serán camuflados siempre que sea posible y no dificulte la evaluación clínica. Las imágenes e información clínica serán propiedad del Servicio de Dermatología del Hospital Ramón y Cajal.

Nombre del paciente y/o padres o tutores

DNI

Firma

Médico responsable

Firma

Fecha

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Goulden V. Guidelines for the management of acne vulgaris in adolescents. *Paediatr Drugs* 2003; 5: 301-13.
2. Katsambas AD, Stefanaki C, Cunliffe WJ. Guidelines for treating acne. *Clin Dermatol* 2004; 22: 439-44.
3. Van de Kerkhof PC, Kleinpenning MM, de Jong EM. Current and future treatment options for acne. *J Dermatolog Treat* 2006; 17: 198-204.
4. Coates P, Vyakarnam S, Eady EA. Prevalence of antibiotic-resistant propionibacteria on the skin of acne patients: 10-year surveillance data and snapshot distribution study. *Br J Dermatol* 2002; 146: 840-8.
5. Velicer CM, Heckbert SR, Lampe JW. Antibiotic use in relation to the risk of breast cancer. *JAMA* 2004; 291: 827-35.
6. Taub AF. Procedural treatments for acne vulgaris. *Dermatol Surg* 2007; 33: 1005-26.
7. Karp FL, Nieman NH. Cryotherapy for acne vulgaris. *Arch Dermatol Syphilol* 1939; 39: 995-8.
8. Dobes WL, Keil H. Treatment of acne vulgaris by cryotherapy (slush method). *Arch Dermatol Syphilol* 1940; 42: 547-58.
9. Charakida A, Seaton ED, Charakida M. Phototherapy in the treatment of acne vulgaris: what is its role? *Am J Clin Dermatol* 2004; 5: 211-6.
10. Elman M, Lebzelter J. Light therapy in the treatment of acne vulgaris. *Dermatol Surg* 2004; 30: 139-46.
11. Meffert H, Gaunitz K, Gutewort T. Therapy of acne with visible light. Decreased irradiation time by using a blue-light high-energy lamp. *Dermatol Monatsschr* 1990; 176: 597-603.
12. Sigurdsson V, Knulst AC, van WH. Phototherapy of acne vulgaris with visible light. *Dermatology* 1997; 194: 256-60.
13. Mariwalla K, Rohrer TE. Use of lasers and light-based therapies for treatment of acne vulgaris. *Lasers Surg Med* 2005; 37: 333-42.
14. Papageorgiou P, Katsambas A, Chu A. Phototherapy with blue (415 nm) and red (660 nm) light in the treatment of acne vulgaris. *Br J Dermatol* 2000; 142: 973-8.

15. Paithankar DY, Ross EV, Saleh BA. Acne treatment with a 1,450 nm wavelength laser and cryogen spray cooling. *Lasers Surg Med* 2002; 31: 106-14.
16. Boineau D. Treatment of active acne with an Er:glass laser. *Lasers Surg Med* 2004; 34: S55.
17. Seaton ED, Charakida A, Mouser PE. Pulsed-dye laser treatment for inflammatory acne vulgaris: randomised controlled trial. *Lancet* 2003; 362: 1347-52.
18. Kjeldstad B, Johnsson A. An action spectrum for blue and near ultraviolet inactivation of *Propionibacterium acnes*; with emphasis on a possible porphyrin photosensitization. *Photochem Photobiol* 1986; 43: 67-70.
19. Divaris DX, Kennedy JC, Pottier RH. Phototoxic damage to sebaceous glands and hair follicles of mice after systemic administration of 5-aminolevulinic acid correlates with localized protoporphyrin IX fluorescence. *Am J Pathol* 1990; 136: 891-7.
20. Plewig G. Morphologic dynamics of acne vulgaris. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1980; Suppl 89: 9-16.
21. Fernandez-Guarino M, Garcia-Morales I, Harto A. Photodynamic therapy: new indications. *Actas Dermosifiliogr* 2007; 98: 377-95.
22. Lloyd JR, Mirkov M. Selective photothermolysis of the sebaceous glands for acne treatment. *Lasers Surg Med* 2002; 31: 115-20.
23. Ross EV. Optical treatments for acne. *Dermatol Ther* 2005; 18: 253-66.
24. Harto A, Garcia-Morales I, Belmar P, Jaen P. Pulsed dye laser treatment of acne. Study of clinical efficacy and mechanism of action. *Actas Dermosifiliogr* 2007; 98: 415-9.
25. Futsaether CM, Kjeldstad B, Johnsson A. Intracellular pH changes induced in *Propionibacterium acnes* by UVA radiation and blue light. *J Photochem Photobiol B* 1995; 31: 125-31.
26. Bhardwaj SS, Rohrer TE, Arndt K. Lasers and light therapy for acne vulgaris. *Semin Cutan Med Surg* 2005; 24: 107-12.
27. Arakane K, Ryu A, Hayashi C. Singlet oxygen (1 delta g) generation from coproporphyrin in *Propionibacterium acnes* on irradiation. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 223: 578-82.
28. Meffert H, Scherf HP, Sonnichsen N. Treatment of acne vulgaris with visible light. *Dermatol Monatsschr* 1987; 173: 678-9.
29. Scherf HP, Meffert H. Aknetherapie mit sichtbarem Licht: Ein kontrollierter Vergleich gegenüber der Wirkung von Infrarotbestrahlungen. *Dtsch Dermatol* 1988; 36: 1281-7.

30. Shalita AR. Acne vulgaris: current concepts in pathogenesis and treatment. *Int J Dermatol* 1976; 15: 182-7.
31. Elman M, Slatkine M, Harth Y. The effective treatment of acne vulgaris by a high-intensity, narrow band 405-420 nm light source. *J Cosmet Laser Ther* 2003; 5: 111-7.
32. Kawada A, Aragane Y, Kameyama H. Acne phototherapy with a high-intensity, enhanced, narrow-band, blue light source: an open study and in vitro investigation. *J Dermatol Sci* 2002; 30: 129-35.
33. Omi T, Bjerring P, Sato S. 420 nm intense continuous light therapy for acne. *J Cosmet Laser Ther* 2004; 6: 156-62.
34. Tzung TY, Wu KH, Huang ML. Blue light phototherapy in the treatment of acne. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2004; 20: 266-9.
35. Gold MH, Rao J, Goldman MP. A multicenter clinical evaluation of the treatment of mild to moderate inflammatory acne vulgaris of the face with visible blue light in comparison to topical 1% clindamycin antibiotic solution. *J Drugs Dermatol* 2005; 4: 64-70.
36. Wiegell SR, Wulf HC. Photodynamic therapy of acne vulgaris using 5-aminolevulinic acid versus methyl aminolevulinate. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54: 647-51.
37. Chu ES, Wu RW, Yow CM. The cytotoxic and genotoxic potential of 5-aminolevulinic acid on lymphocytes: a comet assay study. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58: 408-14.
38. Orringer JS, Kang S, Hamilton T. Treatment of acne vulgaris with a pulsed dye laser: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 2834-9.
39. Alam M, Dover JS. Treatment of photoaging with topical aminolevulinic acid and light. *Skin Therapy Lett* 2004; 9: 7-9.
40. Webster GF. Laser treatment of acne. *Lancet* 2003; 362: 1342.
41. Mazer JM. Treatment of facial acne with a 1450 nm diode laser: A comparative study. *Lasers Surg Med* 2004; 34: S67.
42. Friedman PM, Jih MH, Kimyai-Asadi A. Treatment of inflammatory facial acne vulgaris with the 1450-nm diode laser: a pilot study. *Dermatol Surg* 2004; 30: 147-51.
43. Glaich AS, Friedman PM, Jih MH, Goldberg LH. Treatment of inflammatory facial acne vulgaris with combination 595-nm pulsed-dye laser with dynamic-cooling-device and 1,450-nm diode laser. *Lasers Surg Med* 2006; 38: 177-80.
44. Kassir M. Er:glass laser for the treatment of facial acne vulgaris. *Lasers Surg Med* 2004; 34:S65.

45. Fritsch C, Ruzicka T. Fluorescence diagnosis and photodynamic therapy in dermatology from experimental state to clinic standard methods. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006; 25: 425-39.
46. Babilas P, Karrer S, Sidoroff A. Photodynamic therapy in dermatology--an update. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2005; 21: 142-9.
47. Nestor MS, Gold MH, Kauvar AN. The use of photodynamic therapy in dermatology: results of a consensus conference. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 140-54.
48. Santoro O, Bandieramonte G, Melloni E. Photodynamic therapy by topical meso-tetraphenylporphinesulfonate tetrasodium salt administration in superficial basal cell carcinomas. *Cancer Res* 1990; 50: 4501-3.
49. Moan J, Peng Q, Evensen JF. Photosensitizing efficiencies, tumor- and cellular uptake of different photosensitizing drugs relevant for photodynamic therapy of cancer. *Photochem Photobiol* 1987; 46: 713-21.
50. Moan J. Properties for optimal PDT sensitizers. *J Photochem Photobiol B* 1990; 5: 521-4.
51. Dolmans DE, Fukumura D, Jain RK. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 380-7.
52. Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. *J Photochem Photobiol B* 1990; 6: 143-8.
53. Kennedy JC, Marcus SL, Pottier RH. Photodynamic therapy (PDT) and photodiagnosis (PD) using endogenous photosensitization induced by 5-aminolevulinic acid (ALA): mechanisms and clinical results. *J Clin Laser Med Surg* 1996; 14: 289-304.
54. Fritsch C, Homey B, Stahl W. Preferential relative porphyrin enrichment in solar keratoses upon topical application of delta-aminolevulinic acid methylester. *Photochem Photobiol* 1998; 68: 218-21.
55. Morton CA, Brown SB, Collins S. Guidelines for topical photodynamic therapy: report of a workshop of the British Photodermatology Group. *Br J Dermatol* 2002; 146: 552-67.
56. Pass HI. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 443-56.
57. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J Photochem Photobiol B* 1997; 39: 1-18.
58. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889-905.

59. Fuchs J, Weber S, Kaufmann R. Genotoxic potential of porphyrin type photosensitizers with particular emphasis on 5-aminolevulinic acid: implications for clinical photodynamic therapy. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 537-48.
60. Liu Y, Viau G, Bissonnette R. Multiple large-surface photodynamic therapy sessions with topical or systemic aminolevulinic acid and blue light in UV-exposed hairless mice. *J Cutan Med Surg* 2004; 8: 131-9.
61. Caty V, Liu Y, Viau G, Bissonnette R. Multiple large surface photodynamic therapy sessions with topical methylaminolaevulinate in PTCH heterozygous mice. *Br J Dermatol* 2006; 154: 740-2.
62. Tuchin VV, Genina EA, Bashkatov AN. A pilot study of ICG laser therapy of acne vulgaris: photodynamic and photothermolysis treatment. *Lasers Surg Med* 2003; 33: 296-310.
63. Klotz LO, Fritsch C, Briviba K. Activation of JNK and p38 but not ERK MAP kinases in human skin cells by 5-aminolevulinate-photodynamic therapy. *Cancer Res* 1998; 58: 4297-300.
64. Furre IE, Moller MT, Shahzidi S. Involvement of both caspase-dependent and -independent pathways in apoptotic induction by hexaminolevulinate-mediated photodynamic therapy in human lymphoma cells. *Apoptosis* 2006; 11: 2031-42.
65. Almeida RD, Manadas BJ, Carvalho AP. Intracellular signaling mechanisms in photodynamic therapy. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1704: 59-86.
66. Nakaseko H, Kobayashi M, Akita Y. Histological changes and involvement of apoptosis after photodynamic therapy for actinic keratoses. *Br J Dermatol* 2003; 148: 122-7.
67. Tsai JC, Wu CL, Chien HF, Chen CT. Reorganization of cytoskeleton induced by 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic therapy and its correlation with mitochondrial dysfunction. *Lasers Surg Med* 2005; 36: 398-408.
68. Gilaberte Y, Serra-Guillen C, de las Heras ME. Photodynamic therapy in dermatology. *Actas Dermosifiliogr* 2006; 97: 83-102.
69. Pandey RK, Kadish KM. Porphyrins as Photosensitizers in Photodynamic Therapy. In "The Porphyrin Handbook". Edit by KM Smith. Academic Press:New York 2000, 157-230.
70. Uehlinger P, Zellweger M, Wagnieres G. 5-Aminolevulinic acid and its derivatives: physical chemical properties and protoporphyrin IX formation in cultured cells. *J Photochem Photobiol B* 2000, 54: 72-80.
71. Taylor EL, Brown SB. The advantages of aminolevulinic acid photodynamic therapy in dermatology. *J Dermatolog Treat* 2002; 13 Suppl 1: S3-11.
72. Morton CA, McKenna KE, Rhodes LE. Guidelines for topical photodynamic therapy: update. *Br J Dermatol* 2008; 159: 1245-66.

73. Fritsch C, Lang K, Neuse W. Photodynamic diagnosis and therapy in dermatology. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 1998; 11: 358-73.
74. Peng Q, Soler AM, Warloe T. Selective distribution of porphyrins in skin thick basal cell carcinoma after topical application of methyl 5-aminolevulinate. *J Photochem Photobiol B* 2001; 62: 140-5.
75. Ahmadi S, McCarron PA, Donnelly RF. Evaluation of the penetration of 5-aminolevulinic acid through basal cell carcinoma: a pilot study. *Exp Dermatol* 2004; 13: 445-51.
76. Szeimies RM, Landthaler M. Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis of skin cancers. *Recent Results Cancer Res* 2002; 160: 240-5.
77. Onuki J, Teixeira PC, Medeiros MH. Is 5-aminolevulinic acid involved in the hepatocellular carcinogenesis of acute intermittent porphyria? *Cell Mol Biol (Noisy -le-grand)* 2002; 48: 17-26.
78. Herman MA, Webber J, Fromm D, Kessel D. Hemodynamic effects of 5-aminolevulinic acid in humans. *J Photochem Photobiol B* 1998; 43: 61-5.
79. Fritsch C, Abels C, Goetz AE. Porphyrins preferentially accumulate in a melanoma following intravenous injection of 5-aminolevulinic acid. *Biol Chem* 1997; 378: 51-7.
80. Webber J, Kessel D, Fromm D. Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid. *J Surg Res* 1997; 68: 31-7.
81. Fritsch C, Verwohlt B, Bolsen K. Influence of topical photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid on porphyrin metabolism. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 517-21.
82. Fijan S, Honigsmann H, Ortel B. Photodynamic therapy of epithelial skin tumours using delta-aminolaevulinic acid and desferrioxamine. *Br J Dermatol* 1995; 133: 282-8.
83. Soler AM, ngell-Petersen E, Warloe T. Photodynamic therapy of superficial basal cell carcinoma with 5-aminolevulinic acid with dimethylsulfoxide and ethylenediaminetetraacetic acid: a comparison of two light sources. *Photochem Photobiol* 2000; 71: 724-9.
84. Rud E, Gederaas O, Hogset A, Berg K. 5-aminolevulinic acid, but not 5-aminolevulinic acid esters, is transported into adenocarcinoma cells by system BETA transporters. *Photochem Photobiol* 2000; 71: 640-7.
85. Alexiades-Armenakas M. Laser-mediated photodynamic therapy. *Clin Dermatol* 2006; 24: 16-25.
86. Brancaleon L, Moseley H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med Sci* 2002; 17: 173-86.

87. I Aldanondo, P Jaén. Mecanismo de acción. Elección del fotosensibilizante y la fuente de luz. *Terapia Fotodinámica* (P Redondo y M Sánchez Viera) 2007, cap 2: 23-36.
88. Lui H, Anderson RR. Photodynamic therapy in dermatology: recent developments. *Dermatol Clin* 1993; 11: 1-13.
89. Muller S, Walt H, Dobler-Girdziunaite D. Enhanced photodynamic effects using fractionated laser light. *J Photochem Photobiol B* 1998; 42: 67-70.
90. Strasswimmer J, Grande DJ. Do pulsed lasers produce an effective photodynamic therapy response? *Lasers Surg Med* 2006; 38: 22-5.
91. Kawauchi S, Morimoto Y, Sato S. Differences between cytotoxicity in photodynamic therapy using a pulsed laser and a continuous wave laser: study of oxygen consumption and photobleaching. *Lasers Med Sci* 2004; 18: 179-83.
92. Fransson J, Ros AM. Clinical and immunohistochemical evaluation of psoriatic plaques treated with topical 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2005; 21: 326-32.
93. Hongcharu W, Taylor CR, Chang Y. Topical ALA-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 183-92.
94. Gniazdowska B, Rueff F, Hillemanns P. Allergic contact dermatitis from delta-aminolevulinic acid used for photodynamic therapy. *Contact Dermatitis* 1998; 38: 348-9.
95. Fritsch C, Goerz G, Ruzicka T. Photodynamic therapy in dermatology. *Arch Dermatol* 1998; 134: 207-14.
96. Orenstein A, Kostenich G, Tsur H. Temperature monitoring during photodynamic therapy of skin tumors with topical 5-aminolevulinic acid application. *Cancer Lett* 1995; 93: 227-32.
97. Grapengiesser S, Ericson M, Gudmundsson F. Pain caused by photodynamic therapy of skin cancer. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 493-7.
98. Sandberg C, Stenquist B, Rosdahl I. Important factors for pain during photodynamic therapy for actinic keratosis. *Acta Derm Venereol* 2006; 86: 404-8.
99. Stender IM, Borgbjerg FM, Villumsen J. Pain induced by photodynamic therapy of warts. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2006; 22: 304-9.
100. Wiegell SR, Stender IM, Na R, Wulf HC. Pain associated with photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid or 5-aminolevulinic acid methylester on tape-stripped normal skin. *Arch Dermatol* 2003; 139: 1173-7.
101. 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: 87-91.
102. Kasche A, Luderschmidt S, Ring J, Hein R. Photodynamic therapy induces less pain in patients treated with methyl aminolevulinate compared to aminolevulinic acid. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 353-6.
 103. Taylor MN, Gonzalez ML. The practicalities of photodynamic therapy in acne vulgaris. *Br J Dermatol* 2009; 23: 1-9.
 104. Langan SM, Collins P. Randomized, double-blind, placebo-controlled prospective study of the efficacy of topical anaesthesia with a eutetic mixture of lignocaine 2.5% and prilocaine 2.5% for topical 5-aminolaevulinic acid-photodynamic therapy for extensive scalp actinic keratoses. *Br J Dermatol* 2006; 154: 146-9.
 105. Lang K, Lehmann P, Bolsen K. Aminolevulinic acid: pharmacological profile and clinical indication. *Expert Opin Investig Drugs* 2001; 10: 1139-56.
 106. Monfrecola G, Procaccini EM, D'Onofrio D. Hyperpigmentation induced by topical 5-aminolaevulinic acid plus visible light. *J Photochem Photobiol B* 2002; 68: 147-55.
 107. Stables GI, Stringer MR, Robinson DJ, Ash DV. Large patches of Bowen's disease treated by topical aminolaevulinic acid photodynamic therapy. *Br J Dermatol* 1997, 136: 957-60.
 108. Morton CA, Whitehurst C, McColl JH. Photodynamic therapy for large or multiple patches of Bowen disease and basal cell carcinoma. *Arch Dermatol* 2001; 137: 319-24.
 109. Stender IM, Bech-Thomsen N, Poulsen T, Wulf HC. Photodynamic therapy with topical delta-aminolevulinic acid delays UV photocarcinogenesis in hairless mice. *Photochem Photobiol* 1997; 66: 493-6.
 110. Chung WY, Lee JM, Lee WY, Surh YJ, Park KK. Protective effects of hemin and tetrakis(4-benzoic acid)porphyrin on bacterial mutagenesis and mouse skin carcinogenesis induced by 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene. *Mutat Res* 2000; 472: 139-45.
 111. Finlan LE, Kernohan NM, Thomson G. Differential effects of 5-aminolaevulinic acid photodynamic therapy and psoralen + ultraviolet A therapy on p53 phosphorylation in normal human skin in vivo. *Br J Dermatol* 2005; 153: 1001-10.
 112. Takahashi H, Nakajima S, Sakata I. ATX-S10(Na)-photodynamic therapy is less carcinogenic for mouse skin compared with ultraviolet B irradiation. *Br J Dermatol* 2005; 153: 1182-6.
 113. Wolf P, Fink-Puches R, Reimann-Weber A. Development of malignant melanoma after repeated topical photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid at the exposed site. *Dermatology* 1997; 194: 53-4.

114. Varma S, Holt PJ, Anstey AV. Erythroplasia of queyrat treated by topical aminolaevulinic acid photodynamic therapy: a cautionary tale. *Br J Dermatol* 2000; 142: 825-6.
115. Maydan E, Nootheti PK, Goldman MP. Development of a keratoacanthoma after topical photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 804-6.
116. Bissonette R, Bergeron A, Liu Y. Large surface photodynamic therapy with aminolevulinic acid: treatment of actinic keratoses and beyond. *J Drugs Dermatol* 2004; 3: S26-S31.
117. Gold MH, Bradshaw VL, Boring MM. The use of a novel intense pulsed light and heat source and ALA-PDT in the treatment of moderate to severe inflammatory acne vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2004; 3: S15-S19.
118. Pollock B, Turner D, Stringer MR. Topical aminolaevulinic acid-photodynamic therapy for the treatment of acne vulgaris: a study of clinical efficacy and mechanism of action. *Br J Dermatol* 2004; 151: 616-22.
119. Itoh Y, Ninomiya Y, Tajima S, Ishibashi A. Photodynamic therapy for acne vulgaris with topical 5-aminolevulinic acid. *Arch Dermatol* 2000; 136: 1093-5.
120. Wiegell SR, Wulf HC. Photodynamic therapy of acne vulgaris using methyl aminolaevulinate: a blinded, randomized, controlled trial. *Br J Dermatol* 2006; 154: 969-76.
121. Yung A, Stables GI, Fernandez C. Microbiological effect of photodynamic therapy (PDT) in healthy volunteers: a comparative study using methyl aminolaevulinate and hexyl aminolaevulinate cream. *Clin Exp Dermatol* 2007; 32: 716-21.
122. Alster TS, Surin-Lord SS. Photodynamic therapy: practical cosmetic applications. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 764-8.
123. Itoh Y, Ninomiya Y, Tajima S, Ishibashi A. Photodynamic therapy of acne vulgaris with topical delta-aminolaevulinic acid and incoherent light in Japanese patients. *Br J Dermatol* 2001; 144: 575-9.
124. Yeung CK, Shek SY, Bjerring P. A comparative study of intense pulsed light alone and its combination with photodynamic therapy for the treatment of facial acne in Asian skin. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 1-6.
125. Santos MA, Belo VG, Santos G. Effectiveness of photodynamic therapy with topical 5-aminolevulinic acid and intense pulsed light versus intense pulsed light alone in the treatment of acne vulgaris: comparative study. *Dermatol Surg* 2005; 31: 910-5.
126. Kim BJ, Lee HG, Woo SM. Pilot study on photodynamic therapy for acne using indocyanine green and diode laser. *J Dermatol* 2009; 36: 17-21.

127. Alexiades-Armenakas M. Long-pulsed dye laser-mediated photodynamic therapy combined with topical therapy for mild to severe comedonal, inflammatory, or cystic acne. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 45-55.
128. Akaraphanth R, Kanjanawanitchkul W, Gritiyarangsarn P. Efficacy of ALA-PDT vs blue light in the treatment of acne. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2007; 23: 186-90.
129. Haedersdal M, Togsverd-Bo K, Wiegell SR. Long-pulsed dye laser versus long-pulsed dye laser-assisted photodynamic therapy for acne vulgaris: A randomized controlled trial. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58: 387-94.
130. Horfelt C, Funk J, Frohm-Nilsson M. Topical methyl aminolaevulinate photodynamic therapy for treatment of facial acne vulgaris: results of a randomized, controlled study. *Br J Dermatol* 2006; 155: 608-13.
131. Horfelt C, Stenquist B, Larko O. Photodynamic therapy for acne vulgaris: a pilot study of the dose-response and mechanism of action. *Acta Derm Venereol* 2007; 87: 325-9.
132. Rojanamatin J, Choawawanich P. Treatment of inflammatory facial acne vulgaris with intense pulsed light and short contact of topical 5-aminolevulinic acid: a pilot study. *Dermatol Surg* 2006; 32: 991-6.
133. Taub AF. Photodynamic therapy for the treatment of acne: a pilot study. *J Drugs Dermatol* 2004; 3: S10-S14.
134. Goldman MP, Boyce SM. A single-center study of aminolevulinic acid and 417 NM photodynamic therapy in the treatment of moderate to severe acne vulgaris. *J Drugs Dermatol* 2003; 2: 393-6.
135. Kimura M, Itoh Y, Tokuoka Y, Kawashima N. Delta-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy for acne on the body. *J Dermatol* 2004; 31: 956-60.
136. Mavilia L, Malara G, Moretti G. Photodynamic therapy of acne using methyl aminolaevulinate diluted to 4% together with low doses of red light. *Br J Dermatol* 2007; 157: 810-1.
137. Ryou JH, Lee SJ, Park YM. Acne-photodynamic therapy with intra-lesional injection of 5-aminolevulinic acid. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2009; 25: 57-8.
138. Uebelhoer NS, Dover JS. Photodynamic therapy for cosmetic applications. *Dermatol Ther* 2005; 18: 242-52.
139. Farah JB. Tratamiento con ALA-TFD de las lesiones cutáneas precancerosas. In: Gold M, ed. *Terapia Fotodinámica* 2006, 33-51.
140. Alexiades-Armenakas M. Aminolevulinic acid photodynamic therapy for actinic keratoses/actinic cheilitis/acne: vascular lasers. *Dermatol Clin* 2007; 25: 25-33.

141. Ortiz A, Van VM, Lask GP, Yamauchi PS. A review of lasers and light sources in the treatment of acne vulgaris. *J Cosmet Laser Ther* 2005; 7: 69-75.
142. Haedersdal M, Togsverd-Bo K, Wulf HC. Evidence-based review of lasers, light sources and photodynamic therapy in the treatment of acne vulgaris. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008; 22: 267-78.
143. Christiansen K, Bjerring P, Troilius A. 5-ALA for photodynamic photorejuvenation--optimization of treatment regime based on normal-skin fluorescence measurements. *Lasers Surg Med* 2007; 39: 302-10.
144. Wiegell SR, Skiveren J, Philipsen PA, Wulf HC. Pain during photodynamic therapy is associated with protoporphyrin IX fluorescence and fluence rate. *Br J Dermatol* 2008; 158: 727-33.
145. Kuijpers DI, Thissen MR, Thissen CA, Neumann MH. Similar effectiveness of methyl aminolevulinate and 5-aminolevulinate in topical photodynamic therapy for nodular basal cell carcinoma. *J Drugs Dermatol* 2006; 5: 642-5.
146. Ericson MB, Sandberg C, Stenquist B. Photodynamic therapy of actinic keratosis at varying fluence rates: assessment of photobleaching, pain and primary clinical outcome. *Br J Dermatol* 2004; 151: 1204-12.