

Drug delivery assistido por lasers: revisão

Laser assisted drug delivery: a review

DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201683873>

RESUMO

A via tópica de entrega de medicamentos é essencial na dermatologia. O *drug delivery* otimiza a penetração de medicamentos e, realizado por lasers, ocorre de forma uniforme e controlada. O grau de evidência do *drug delivery* está em investigação para diversos medicamentos. Além disso, a técnica é excelente associação com a atuação dos lasers para rejuvenescimento e para tratamento de doenças dermatológicas.

Conclusão: O uso de lasers para *drug delivery* é promissor: enquanto algumas substâncias possuem estudos clínicos que permitem indicar sua realização, outras necessitam de estudos controlados e com maior tempo de seguimento para sua avaliação.

Palavras-chave: lasers; administração cutânea; absorção cutânea; sistemas de liberação de medicamentos; vias de administração de medicamentos

ABSTRACT

The topical route for the delivery of drugs is essential in dermatology: it optimizes the penetration of medications, and when performed with the assistance of lasers, it takes place in a uniform and controlled manner. The degree of evidence of drug delivery is being investigated for many drugs. Moreover, the technique combines outstandingly with lasers for rejuvenation and treatment of skin diseases. It is therefore possible to conclude that the use of lasers for drug delivery is promising. While there are clinical studies on some substances that allow their indication and use, others require further controlled analyses, with longer follow-up periods, aimed at allowing thorough evaluations.

Keywords: lasers; administration, cutaneous; skin absorption; drug delivery systems; drug administration routes

Educação Médica Continuada



Autores:

Célia Kalil¹
Valéria Campos²
Clarissa Prieto Herman Reinehr²
Christine Rachele Prescendo Chaves³

¹ Preceptora e responsável pelo Ambulatório de Cosmiatria do Serviço de Dermatologia da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre (RS), Brasil.

² Dermatologista em clínica privada – Jundiaí (SP), Brasil.

³ Diretora técnica da Farmatec – Porto Alegre (RS) Brasil.

Correspondência para:

Clinica Célia Kalil
Avenida Padre Chagas, 230/cj 01 –
Bairro Moinhos de Vento
90570-080 – Porto Alegre – RS
E-mail: clinicaceliakalil@via-rs.net

Data de recebimento: 28/07/2016

Data de aprovação: 26/08/2016

Trabalho realizado em clínica privada dos autores – Porto Alegre (RS), Brasil.

Suporte Financeiro: Nenhum.

Conflito de Interesses: Nenhum

INTRODUÇÃO

A via tópica de entrega de medicamentos é essencial na dermatologia. Além disso, é de extrema importância que o medicamento aplicado sobre a pele consiga penetrar e atingir sua estrutura-alvo. Mostra numerosas vantagens em relação às vias sistêmicas oral, intramuscular e intravenosa, pois não apresenta metabolismo de primeira passagem, reduz os efeitos colaterais decorrentes do uso sistêmico e aumenta a aderência do paciente ao tratamento.¹ A função de barreira da epiderme é mantida pela dupla camada lipídica do estrato córneo, que é o principal limitante para a entrega de medicamentos aplicados sobre a pele.² A penetração dos medicamentos através do estrato córneo intacto ocorre por difusão e, em menor grau, através dos anexos cutâneos, e pode ser realizada por via transcelular ou intracelular.¹ Somente moléculas lipofílicas e inferiores a 500Da conseguem penetrar o estrato córneo intacto.¹ Além disso, apenas de um a 5% do medicamento aplicado sobre a pele é absorvido e se torna biodisponível para exercer seu efeito terapêutico.

A técnica denominada *drug delivery* consiste em encontrar métodos para otimizar a penetração cutânea de medicamentos, e esse objetivo pode ser alcançado através de métodos químicos, mecânicos e físicos.¹ O uso de lasers como promotores de *drug delivery* foi descrito em 1987 com o uso de equipamento ablativo não fracionado.³ Em 2004, Anderson introduziu o conceito da fototermólise fracionada, em que áreas de pele são mantidas entre as áreas de dano térmico ocasionadas pelo laser fracionado ablativo, denominadas microzonas térmicas (MTZ), revolucionando o uso dos lasers ablativos.⁴ O uso de lasers permite a entrega de medicamentos de forma uniforme e controlada.⁵

Lasers promovem *drug delivery* por meio de três formas: 1- ablação tecidual, que remove o estrato córneo e as camadas mais superficiais da epiderme; 2- ondas fotomecânicas, resultantes da conversão da energia luminosa em energia mecânica; e 3- resurfacing não ablativo, em que as injúrias térmica e física ocasionam rupturas na barreira cutânea promovendo a entrega dos medicamentos.⁶ O grau de evidência da técnica de *drug delivery* está sendo investigado para diversos medicamentos, e encontra diferentes graus de recomendação conforme a substância estudada. Enquanto alguns medicamentos já possuem ensaios clínicos randomizados comparando a técnica com métodos tradicionais, alguns ainda necessitam de maior número de estudos para elucidar seu grau de evidência e de indicação clínica.

Em relação ao produto utilizado para *drug delivery*, algumas diferenças são recomendadas de acordo com o método utilizado. Os lasers ablativos e Q-switched devem ser preferidos quando são utilizados veículos hidrofílicos. Já com lasers não ablativos e com luz intensa pulsada (LIP), ativos lipofílicos devem ser escolhidos.⁷ Quanto mais fluido for o veículo utilizado melhor será a penetração dos ativos. A presença de co-solventes na formulação aumenta significativamente a penetração dos ativos do *drug delivery* com lasers.⁷ Formulações anidras dificultam a proliferação de microrganismos e não causam ardência, sensibilidade ou comedões durante a aplicação.⁷

Embora seja ponto de controvérsia, o uso de produtos estéreis é questionável, pois a contaminação com microrganismos localizados na superfície cutânea pode ocorrer mesmo após correta antisepsia da área tratada e com o uso de fórmulas estéreis. Além disso, a maioria dos estudos utilizou produtos não estéreis para *drug delivery*, e não foram descritas complicações ou efeitos colaterais graves nos estudos avaliados.

Este artigo tem como objetivo revisar o conhecimento atual sobre a técnica de *drug delivery* assistida por lasers.

PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

Foi realizada a pesquisa bibliográfica nas bases MEDLINE, Cochrane e Lilacs-Scielo utilizando as palavras-chave: (*fractional laser OR ablative fractional laser*) AND (*drug delivery OR transdermal delivery OR topical administration*), (*laser AND (drug delivery OR transdermal delivery OR topical administration)*) e (*non ablative fractional laser*) AND (*drug delivery OR transdermal delivery OR topical administration*). Após seleção dos artigos com base nos títulos e *abstracts* os artigos foram lidos, e aqueles pertinentes ao estudo, incluídos. Os estudos *in vivo* foram classificados em ensaios clínicos randomizados ou não randomizados.

EVIDÊNCIAS DE ESTUDOS COM LASER FRACIONADO ABLATIVO PARA DRUG DELIVERY

Os principais lasers fracionados ablativos são o Er:YAG 2940nm e o laser de CO₂ 10600nm, que operam na faixa do infravermelho e têm como cromóforo-alvo a água.⁶ O laser Er:YAG 2940nm possui maior afinidade pela água e, por esse motivo, é absorvido pela água da epiderme, permitindo penetração mais superficial e mínima produção de calor. Já o laser de CO₂ 10600nm penetra mais profundamente e produz maior quantidade de calor. Ambos os lasers facilitam o *drug delivery* tanto através das microzonas térmicas (MTZ) quanto através do efeito térmico no tecido a elas adjacente.^{8,9} A característica dos lasers fracionados ablativos é atuar através de colunas de ablação tecidual circundadas por tecido de coagulação, as MTZ, que podem ser moduladas de acordo com o tipo e com a energia do laser utilizado. Esses canais penetram o estrato córneo e garantem acesso direto às camadas inferiores viáveis, facilitando o *drug delivery* dos medicamentos aplicados sobre a pele. As MTZ podem ser manipuladas mediante dois parâmetros: densidade, isto é, a quantidade de microporos por determinada área, e profundidade, controlada pela fluência utilizada.⁶ O tipo de onda e a duração de pulso utilizados com o laser fracionado ablativo permitem modular o grau de ablação e a espessura da coluna de coagulação adjacente às MTZ: se for muito espessa, essa coluna de coagulação prejudica a difusão do medicamento aplicado no *drug delivery* para as áreas adjacentes às MTZ.¹⁰ Além disso o uso de energias muito altas provoca lesões mais profundas, que podem atingir os vasos, e com isso o ativo utilizado pode entrar na corrente sanguínea, efeito, esse, não desejado para drogas que agem na pele. Ao comparar o laser fracionado ablativo de CO₂ com o Er:YAG 2940nm, a coluna de coagulação é menor com o laser Er:YAG, devido à sua maior afinidade com a água, o que

favorece o surgimento de pontos de sangramento nas MTZ e prejudica a permeação dos ativos aplicados sobre a área. Esse fato pode ser minimizado com o uso de energia menor, específica para *drug delivery*, como já existe em alguns aparelhos de laser.¹⁰

Estudos *in vitro* avaliaram a influência do número de poros e da profundidade dos mesmos para *drug delivery* nos lasers fracionados ablativos e observaram que a entrega do medicamento era dependente do número de poros na área avaliada.¹¹ No entanto, uma vez atingida determinada densidade de MTZ aumentos subsequentes na densidade não promovem aumento da permeação do medicamento, por dano térmico excessivo ao tecido adjacente às MTZ.¹⁰ Em geral substâncias com moléculas hidrofílicas dependem da profundidade das MTZ para ser absorvidas, o que não acontece com moléculas lipofílicas.⁶

Drug delivery de ácido aminolevulínico (ALA) e ácido metil-aminolevulínico (MAL) com lasers fracionados ablativos

O *drug delivery* assistido por lasers fracionados ablativos para entrega de MAL e ALA é um dos mais analisados, com numerosos estudos pré-clínicos e clínicos, comparando-o com a técnica tradicional e com o uso de outros métodos para entrega de medicamentos; seu uso já foi descrito nas ceratoses actínicas, na doença de Bowen, no carcinoma basocelular, na queilite actínica e na onicomiose.^{8,10,12-19}

A entrega de MAL após pré-tratamento com laser de CO₂ ablativo fracionado em pele de porco foi estudada por Haederstal et al. em 2010.¹⁰ Os resultados do estudo demonstraram que o pré-tratamento com laser permitia a distribuição profunda e uniforme do medicamento devido à difusão radial do produto depositado nas MTZ. Os mesmos autores, em 2014, avaliaram a aplicação do laser de CO₂ 10.600nm seguida da aplicação ALA e MAL, e observaram aumento da fluorescência de protoporfirina IX de até 1,8mm de profundidade da pele pré-tratada com laser. Além disso, foi observada difusão radial de MAL pela fluorescência uniforme até 1,5mm distante dos microporos do laser.¹²

Em 2013, Ko et al. avaliaram o uso de laser fracionado ablativo Er:YAG 2940nm seguido da aplicação de MAL para tratamento de 236 ceratoses actínicas faciais de todos os graus em 45 pacientes, que foram randomizados para receber somente terapia fotodinâmica ou para receber a técnica com pré-tratamento com laser. A terapia fotodinâmica assistida por laser foi mais efetiva no tratamento das lesões, especialmente as mais hiperkeratóticas ($p = 0,001$).¹³

Em 2015, o uso de laser fracionado ablativo Er:YAG 2940nm seguido da aplicação de MAL foi avaliado para tratamento de queilite actínica em um ensaio clínico randomizado. O estudo selecionou 33 pacientes com queilite actínica, confirmada por exame histopatológico, que foram randomizados para receber uma sessão de laser fracionado ablativo Er:YAG 2940nm seguido imediatamente por terapia fotodinâmica ou para receber duas sessões de terapia fotodinâmica tradicional, com intervalo de sete dias entre elas. O grupo pré-tratado com laser apresentou resposta mais efetiva no seguimento de três meses (92% *versus*

59% de cura completa, $p = 0,04$) e de 12 meses (85% *versus* 29%), além de apresentar menor recorrência em 12 meses ($p = 0,029$).¹⁴ Os efeitos adversos variaram de leves a moderados e nenhum efeito sistêmico foi reportado. Utilizando a mesma comparação de técnicas, em estudo posterior, os autores trataram 440 ceratoses actínicas de face e couro cabeludo em 93 pacientes.¹⁶ Nesse estudo o tempo de incubação do MAL foi modulado. O medicamento foi incubado durante duas ou três horas. Os resultados demonstraram superioridade da técnica de incubação durante três horas associada ao laser em relação às demais, e essa superioridade foi mantida no seguimento de 12 meses com significância estatística.¹⁶

Estudo *in vivo* de 2016 avaliou cinco pacientes quanto à absorção de ALA.⁸ O medicamento foi aplicado no braço de cada paciente em quatro áreas: na primeira foi realizada aplicação tópica isolada, na segunda a aplicação foi realizada após o uso do laser de CO₂ fracionado, na terceira foi combinado o uso do laser de CO₂ fracionado com ondas acústicas transdérmicas de alta pressão, e na quarta área foi realizada a aplicação com ondas acústicas transdérmicas de alta pressão. O ALA foi mantido ocluído durante 30 minutos para incubação nas quatro áreas. Após esse período foi realizada biópsia de todas as áreas. Os melhores resultados na profundidade de penetração e na difusão lateral do ALA foram encontrados com a associação das duas técnicas (laser de CO₂ fracionado combinado com ondas acústicas transdérmicas de alta pressão).

Drug delivery de diclofenaco com lasers fracionados ablativos

Bachhav et al., em 2011, avaliaram o uso do laser Er:YAG 2940nm aplicado sobre pele de porcino seguido da aplicação de diclofenaco gel e em solução aquosa.²⁰ Tanto a forma aquosa quanto a em gel do diclofenaco tiveram sua entrega aumentada (13 vezes) com o uso do laser; além disso a fluência influenciou a permeação, mas não a deposição de diclofenaco na pele.

Drug delivery de lidocaína com lasers fracionados ablativos

Bachhav et al., em 2010, avaliaram a aplicação do laser Er:YAG 2940nm sobre pele de porcino e pele humana para entrega de lidocaína. A entrega do medicamento foi dependente do número de poros, mas não foi influenciada pela profundidade desses poros.¹¹

Drug delivery de corticoides com lasers fracionados ablativos

Li et al., em 2015, avaliaram como simétrico e estável o efeito do laser de CO₂ como promotor de *drug delivery* de corticoides tópicos para tratamento de vitiligo de extremidades. Foram tratados 25 pacientes: nas lesões de um hemisfério foi realizada aplicação do laser seguida da aplicação de solução de betametasona e de fototerapia UVB de banda estreita, enquanto no outro hemisfério foi aplicado o laser seguido de fototerapia (controle). O lado em que foi aplicada a solução de betametasona imediatamente após o procedimento apresentou maior repigmentação do que o lado-controle, com valores de 40%

versus 8% dos pacientes apresentando repigmentação maior do que 50% ($p < 0,05$).²¹ Os efeitos adversos foram leves, incluíram edema, eritema e sensação de queimação, e foram bem tolerados. Nenhum paciente apresentou piora do vitiligo, fenômeno de Koebner ou infecção local. O *drug delivery* de propionato de clobetasol creme 0,05% imediatamente após aplicação de laser de CO₂ fracionado ablativo e associado à fototerapia com UVB banda estreita também foi avaliado para tratamento de vitiligo em 26 pacientes.²² Os escores de melhora média foram significativamente superiores quando foi feita associação da fototerapia com *drug delivery* de clobetasol. Não foram relatados efeitos adversos significativos como fenômeno de Koebner, atrofia cutânea, telangiectasias ou cicatrizes hipertróficas.

A figura 1 mostra o resultado obtido pelos autores no tratamento de um paciente com vitiligo. Foram realizadas três sessões com laser de CO₂ fracionado ablativo seguidas de *drug delivery* com desonida.

Waibel et al., em 2013, trataram 15 pacientes com cicatrizes hipertróficas em uma série de casos.²³ Foram realizadas três a cinco sessões de laser de CO₂ fracionado ablativo, com intervalos de dois a três meses entre as sessões, e imediatamente após foi aplicado *drug delivery* contendo acetônio de triancinolona 10–20mg/ml. A melhora das cicatrizes após seis meses avaliando os parâmetros melhora global, bem como na atrofia, na discromia e no contorno foi de 2,73 no escore modificado de Manchester, cujo escore máximo é três. O parâmetro textura foi o que apresentou melhores resultados, e o parâmetro discromia obteve os menores escores de melhora. Cavalie et al. avaliaram o *drug delivery* de betametasona após aplicação de laser Er:YAG 2940nm para tratamento de 70 queloides e observaram melhora média de 50% nas lesões; em oito meses 22% das lesões recidivaram.²⁴ Há relato de caso de dermatofibroma tratado com laser de CO₂ fracionado e *drug delivery* de fluocinolona 0,05% pomada com bom resultado.²⁵

A figura 2 exemplifica o tratamento de queloide com o uso do laser fracionado ablativo Er:YAG 2940nm associado ao *drug delivery* com triancinolona, com bons resultados, após apenas uma sessão de tratamento.

Drug delivery de ácido tranexâmico com lasers fracionados ablativos

Estudo avaliou *in vitro* na pele de porcos a entrega de ácido tranexâmico após tratamento da pele com laser de CO₂

fracionado ou convencional. O laser fracionado foi tão efetivo quanto o tradicional para entrega do medicamento com menor dano à epiderme.²⁶

Drug delivery de metotrexate com lasers fracionados ablativos

Em 2008, Lee et al. avaliaram *in vitro* a permeação de metotrexate com uso de laser Er:YAG 2940nm ou de eletroporação em pele sã de roedor (*nude mouse*), e observaram que o uso do laser promoveu aumento da absorção do medicamento que variou de três a 80 vezes, de acordo com a fluência utilizada.²⁷ Estudo posterior, também *in vitro*, em pele de porcino, demonstrou que o tratamento com laser Er:YAG 2940nm para entrega de metotrexate é dependente da profundidade das MTZ: quando elas atingiram a epiderme a absorção aumentou seis vezes, quando atingiram a derme superficial aumentou nove vezes e quando atingiram a derme média aumentou 11 vezes.²⁸

Drug delivery de vitamina C com lasers fracionados ablativos

Estudos *in vitro* avaliaram tanto o uso do laser de CO₂ 10600nm quanto do Er:YAG 2940nm com diferentes formulações contendo vitamina C mostrando aumento de até 277 vezes na permeação em relação à pele íntegra.²⁹ Hsiao et al. avaliaram a permeação de ácido ascórbico após a aplicação de laser de CO₂ ablativo, fracionado ou convencional, e observaram resultados semelhantes na permeação do ativo com as duas modalidades do laser.²⁹ Estudo similar foi conduzido por Huang et al., em 2013, com três diferentes formas de vitamina C estabilizada.³⁰

Waibel et al., em estudo *split-face* de 2016, que contou com a participação de uma das autoras deste artigo, avaliando o uso do laser de CO₂ para *drug delivery* de uma formulação não estéril contendo vitamina C 15%, vitamina E 1% e ácido ferúlico 0,5% em veículo sérum demonstraram que a hemiface em que a fórmula foi aplicada teve a cicatrização acelerada, embora esse resultado não tenha obtido diferença estatisticamente significativa.⁵ A análise molecular de fragmentos de biópsia cinco dias após o tratamento demonstrou aumento de fator de crescimento de fibroblasto, que estimula o reparo tecidual, na hemiface submetida ao *drug delivery*. Não foram descritos efeitos irritativos decorrentes da formulação aplicada.



FIGURA 1: Vitiligo tratado com laser de CO₂ fracionado seguido da aplicação de desonida: antes (foto à esquerda) e após três sessões (direita), excelente resposta

Fonte: Acervo dos autores

A figura 3 mostra o resultado obtido pelos autores no tratamento de um paciente para rejuvenescimento em uma sessão com laser de CO₂ fracionado ablativo seguido de *drug delivery* com vitamina C.

Drug delivery de 5-fluorouracil (5-FU) com lasers fracionados ablativos

O uso de laser de CO₂ fracionado ablativo associado ao *drug delivery* de 5-fluorouracil (5-FU) a 5% sob oclusão para tratamento de carcinoma basocelular superficial e carcinoma espinocelular *in situ* do tronco e extremidades foi avaliado em 30 lesões por Nguyen et al. O 5-FU foi aplicado diariamente durante os sete primeiros dias após o tratamento, sob oclusão. Biópsias da área tratada de quatro a oito semanas após o tratamento confirmaram cura histológica em 87% das lesões tratadas. Os efeitos adversos foram leves e incluíram eritema e erosão, não tendo sido observadas infecções locais.³¹

O uso de *drug delivery* de 5-fluorouracil (5-FU) a 5% foi também avaliado no tratamento do vitiligo não segmentar, pré-

tratado com laser fracionado ablativo Er:YAG 2940nm e seguido de fototerapia UVB banda estreita mediante estudo prospectivo comparativo direita/esquerda.³² Quando foi associada terapia com *drug delivery* por laser à fototerapia, a repigmentação ocorreu em 78% versus 23,4% no grupo que recebeu fototerapia isolada.

Drug delivery de imiquimode com lasers fracionados ablativos

Lee et al. realizaram estudo *in vitro* com laser Er:YAG 2940nm e *drug delivery* de imiquimode; houve aumento da permeabilidade do imiquimode com uso do laser, que foi dependente da fluência e do número de passadas na área tratada.³³

Drug delivery de mebutato de ingenol com lasers fracionados ablativos

O pré-tratamento da pele com laser Er:YAG 2940nm aumentou a permeação dérmica de mebutato de ingenol de acordo com estudo *in vitro*; essa penetração foi influenciada pela densidade utilizada, mas não pela profundidade das



FIGURA 2: Quelóide tratado com uma sessão de laser Er:YAG 2940nm seguido da aplicação de triancinolona: antes (esquerda) e depois (direita), resultado satisfatório

Fonte: Acervo dos autores



FIGURA 3: Paciente tratado para rejuvenescimento facial com laser de CO₂ fracionado seguido da aplicação de vitamina C no *drug delivery*: antes (esquerda) e depois (direita), resultado excelente

Fonte: Acervo dos autores

MTZ.³⁴ Braun et al avaliaram esse efeito em um relato de caso, em estudo *split-face*, para tratamento de campo de cancerização: após aplicação do laser Er:YAG 2940nm foi aplicado o mebutato de ingenol 0,015%, mantido durante três dias consecutivos. O lado pré-tratado com laser apresentou a reação inflamatória esperada com o medicamento mais intensa do que o lado não tratado.³⁵

Drug delivery de tretinoína com lasers fracionados ablativos

Estudo *in vitro* avaliando *drug delivery* de tretinoína demonstrou que há aumento da permeação com uso prévio de laser fracionado ablativo; além disso essa permeação é dependente da fluência e da densidade da aplicação do laser.³⁶

Drug delivery de antifúngicos tópicos com lasers fracionados ablativos

O tratamento da onicomicose foi descrito associando lasers fracionados ablativos com antifúngicos tópicos, como terbinafina e amorolfina creme. As MTZ produzidas geram canais sobre a unha que removem tecido ungueal contendo fungos e promovem *drug delivery* de produtos aplicados sobre a unha.³⁷⁻³⁹

Estudo de Yang et al. avaliando o uso de laser fracionado ablativo para *drug delivery* na lâmina ungueal utilizou tomografia de coerência óptica para identificar parâmetros ideais para não lesar os tecidos abaixo da lâmina ungueal; e concluiu que o uso da tomografia é eficaz em realizar essa análise e garantir a segurança do procedimento.⁴⁰

Drug delivery de ácido polilático com lasers fracionados ablativos

Rkein et al. avaliaram a aplicação tópica de ácido poli-l-láctico após laser de CO₂ fracionado para tratamento de cicatrizes atróficas em 10 pacientes.⁴¹ Após três meses 95% das cicatrizes obtiveram, em escala de zero a três, o escore de melhora de 2,18.

Drug delivery de toxina botulínica com lasers fracionados ablativos

Em 2015, Mahmoud et al. descreveram o uso de laser de CO₂ fracionado seguido de aplicação de toxina botulínica de forma tópica como *drug delivery* na área periorbitária em estudo *split-face* em dez pacientes. A avaliação 30 dias após demonstrou melhora significativa no lado em que foi associada a aplicação de toxina botulínica ($p = 0,027$).⁴² Resultados similares foram descritos por Zhu et al. em 2016; a aplicação tópica da toxina botulínica como *drug delivery* após laser de CO₂ fracionado nas áreas faciais escolhidas por randomização foi comparada à aplicação de solução salina após o laser.⁴³ O tratamento combinado mostrou, 12 semanas após o tratamento, melhora de 2,70 nas rugas, na hidratação e na elasticidade, relativa a escore de 0 a 3 ($p \leq 0,05$).

Drug delivery de plasma rico em plaquetas (PRP) e células-tronco do tecido adiposo com lasers fracionados ablativos

Em 2016, Zhou et al. estudaram o efeito da aplicação de células-tronco do tecido adiposo após o laser de CO₂ fracionado ablativo em comparação à hemiface tratada apenas com o laser. O tratamento combinado aumentou a satisfação do paciente, além de melhorar a elasticidade e a hidratação e de diminuir a perda de água transepidérmica, as ríntides e o índice de melanina. Tais resultados foram observados tanto nos grupos de pacientes tratados para rejuvenescimento quanto no grupo para tratamento de cicatrizes de acne.⁴⁴

A avaliação do uso do PRP como *drug delivery* após o laser fracionado ablativo foi conduzida em 2012 por Shin et al. O PRP combinado com o laser aumentou a elasticidade e diminuiu o índice de eritema. Também foram observados aumento da espessura da junção dermoepidérmica, do conteúdo de colágeno e do número de fibroblastos.⁴⁵

Drug delivery de minoxidil e difenciprona com lasers fracionados ablativos

Utilizando pele de rato e porcino, o laser Er:YAG fracionado ablativo foi utilizado para facilitar a permeação tópica de minoxidil, de difenciprona e de peptídeos; houve aumento da permeação de todos os ativos, inclusive nos folículos pilosos. A micrografia evidenciou o *drug delivery* nos folículos e no espaço intercelular.⁴⁶

Drug delivery de fatores de crescimento com lasers fracionados ablativos

A figura 4 mostra o resultado obtido pelos autores no tratamento de um paciente com placa única de alopecia areata tratada com laser Er:YAG 2940nm seguido da aplicação de fórmula contendo fatores de crescimento.

Outros usos

Outros usos dos lasers ablativos para *drug delivery* incluem a entrega de anticorpos, vacinas, oligonucleotídeos, analgésicos.

Requisitos ideais das formulações para drug delivery com lasers fracionados ablativos⁷

- Veículos de baixa viscosidade são superiores a emulsões, géis ou séruns.
- A presença de cossolventes na formulação promove difusão lateral (adjacente às MTZs) e aumenta a deposição da droga.
- A oclusão (que pode ser uma característica do veículo) aumenta o *drug delivery*.
- Ativos hidrofílicos têm sua permeação facilitada pelos lasers fracionados ablativos, assim como os ativos nanoencapsulados, lipossomados ou vetorizados.
- Evitar o uso de propilenoglicol e de álcool nas formulações, pois eles diminuem a penetração dos ativos.
- A permeação dos ativos ocorre até a completa restauração da função de barreira, mesmo que diminuindo ao

longo dessa recuperação. Por esse motivo a fórmula de *drug delivery* poderá ser utilizada pelo paciente durante dois ou três dias após o procedimento.

- Veículos de natureza anidra e de origem mineral, sem conservantes e corantes, diminuem o risco de reações alérgicas e não geram desconforto (ardência) durante a aplicação imediata pós-procedimento.

EVIDÊNCIAS DE ESTUDOS COM LASER NÃO ABLATIVO PARA DRUG DELIVERY

Lasers não ablativos promovem *drug delivery* por meio do efeito térmico, como no caso do Nd:YAG 1064nm pulso longo, Erbium fracionado não ablativo e da luz intensa pulsada (LIP) ou por ondas fotomecânicas, devido à alta amplitude de pressão transitória, observadas nos lasers Q(quality)-switched.⁴⁷ Lee et al., em 1998, demonstraram em modelos animais que mesmo macromoléculas de 40KDa (dextran, por exemplo) poderiam permear na profundidade de 400µm pela pele *in vivo*. A exposição da pele a ondas fotomecânicas gera expansão do espaço extracelular até as camadas mais profundas do estrato córneo, mas o estrato granuloso permanece inalterado. A adição de um cossolvente ao veículo resulta em dilatação no espaço extracelular em larga escala, incluindo rupturas intercelulares na camada granulosa. A adição de um cossolvente ao veículo utilizado para *drug delivery* atua seletivamente sobre os lipídeos lamelares.⁴⁸

Os lasers de pulso longo, o Erbium fracionado não ablativo e a LIP elevam a temperatura da superfície da pele em até 13°C, com desestruturação transitória da queratina, e com isso tornam os corneócitos frágeis e esfoliativos. Já o laser Q-switched (532 e 1064nm) rompe completamente a queratina e os corneócitos formando microporos no estrato córneo, com mínimas elevações de temperatura.⁴⁷ O aumento da permeação promovido pelos lasers Q-switched é da magnitude de 12 vezes

e pode persistir durante até uma semana sem risco de infecção, aumentando, aliás, a permeação de moléculas hidrofílicas.⁴⁷ Já o aumento da permeação promovido pelos lasers Nd:YAG de pulso longo, Erbium fracionado não ablativo e LIP é em torno de 6,8 vezes e perdura por 15 a 30 minutos.⁷

Diferentes fontes de luz, com diversas doses, foram estudadas como promotores de *drug delivery*. Os resultados demonstram que todos os métodos utilizados (lasers, como CO₂, Nd:YAG 532 e 1064nm e LIP entre 400-700 e 560-950nm) para permeação do glicerol quando comparados ao grupo-controle aumentam significativamente a entrega transdérmica do ativo estudado.⁴⁹ O aumento da perda de água transepidermal após o tratamento com os lasers fracionados não ablativos demonstra o aumento da permeabilidade cutânea induzida pelos lasers.⁵⁰

Os lasers fracionados não ablativos promovem aquecimento dérmico em colunas, de forma similar às MTZ, porém sem ocasionar dano significativo à epiderme sobrejacente e, por esse motivo, são associados a menos desconforto e a tempo de recuperação mais curto do que os lasers fracionados ablativos.^{51,52}

Drug delivery de ácido aminolevulínico (ALA) e ácido metil-aminolevulínico (MAL) com lasers não ablativos

Lim et al. avaliaram dez pacientes pré-tratadas com laser fracionado não ablativo Er:glass 1550nm e após com terapia fotodinâmica com ALA, deixado em incubação durante 30, 60 ou 180 minutos, sob oclusão. Cada paciente teve 12 áreas no dorso tratadas. Os resultados do estudo demonstraram aumento na penetração de ALA na áreas pré-tratadas com laser. Além disso a absorção de ALA visualizada sob fluorescência foi proporcional ao tempo de incubação.⁵¹ Lee et al., em 2016, demonstraram aumento na permeação de ALA na pele pré-tratada com laser fracionado não ablativo Er:glass 1550nm de até 1.200 vezes, em comparação com a pele íntegra.⁵⁰



FIGURA 4: Placa única de alopecia areata tratada com laser Er:YAG 2940nm seguido da aplicação de fórmula contendo fatores de crescimento: antes (esquerda) e depois (direita), com repilação da área afetada

Fonte: Acervo dos autores

Drug delivery de antifúngicos tópicos com lasers não ablativos

Kim et al. avaliaram a eficácia do laser Nd:YAG 1064nm para tratamento de onicomicose e dividiram os pacientes em três grupos tratados: grupo 1- só com laser; grupo 2- com laser e antifúngico tópico; grupo 3 – só com antifúngico. O laser foi realizado mensalmente, totalizando três ou quatro sessões. Desfechos clínicos e micológicos demonstraram resultados superiores no tratamento com laser, isolado ou combinado com tratamento tópico, em relação ao tratamento com antifúngicos tópicos. Além disso, a adição do antifúngico tópico pareceu prevenir a reinfeção nos pacientes que receberam a combinação dos tratamentos.⁵³

Drug delivery de tretinoína com lasers não ablativos

Lee et al., em 2016, avaliaram *in vitro* a permeação de tretinoína na pele pré-tratada com laser fracionado não ablativo Er:glass 1550nm e observaram aumento de duas vezes na permeação, em comparação com a pele íntegra.⁵⁰

Drug delivery de 5-fluorouracil (5-FU) com lasers Q-switched

O uso de laser Nd:YAG Q-switched 1064nm para *drug delivery* de 5-FU demonstrou ser efetivo para promover permeação do medicamento em estudo com animais.⁵⁴

Drug delivery de vitamina C com lasers Q-switched

Zhou et al. avaliaram o uso do laser de rubi Q-switched 694nm associado à sonoforese e *drug delivery* com loção de vitamina C para tratamento de melasma, em 26 pacientes, e observaram redução inicial do Masi (*Melasma Area and Severity Index*) de 35% após três meses de seguimento.⁵⁵ Lee et al., 2013, também avaliaram o uso da vitamina C a 20% com ultrassom após o laser Q-switched. Os resultados mostram melhora significativa na hemiface em que foi realizado o *drug delivery*, segundo a escala analógica visual no tratamento do melasma.⁵⁶

Drug delivery de cosmecêuticos com lasers Q-switched (laser toning)

Kalil et al. descreveram melhora da acne, manchas, poros, textura e índice UV quando utilizada uma fórmula contendo Hyaxel®, Hidroxiprolisilane®, DMAE Pidolato®, Nano Vit C® e Matrixyl 3000® em comparação ao grupo placebo.⁵⁷

Drug delivery de cosmecêuticos com lasers não ablativos

Na experiência dos autores, o laser fracionado não ablativo Er:YAG 1340nm foi associado ao *drug delivery* contendo fatores de crescimento (IGF (insulin growth factor) e EGF (epidermal growth factor)) para tratamento de cicatriz perioral, com excelente resultado (Figura 5).

Drug delivery de minoxidil com lasers não ablativos

Na experiência dos autores, o laser fracionado não ablativo Er:YAG 1340nm foi associado ao *drug delivery* de minoxidil para o tratamento de alopecia androgenética, com excelente resultado (Figura 6).

Requisitos ideais das formulações para drug delivery com lasers Q-switched^{7,48}

- Veículos de baixa viscosidade e de natureza hidrofílica são melhores que emulsões, géis ou sérums.
- A presença de cossolventes na formulação promove dilatação no espaço extracelular aumentando a difusão dos ativos pela pele. Também aumenta o tempo que a barreira cutânea leva para se reestabelecer.
- Ativos hidrofílicos têm sua permeação facilitada pelos lasers Q-switched.
- O uso de propilenoglicol e álcool nas formulações deve ser evitado, pois eles diminuem a penetração dos ativos.
- A permeação dos ativos é aumentada em pelo menos 12 vezes, e esse efeito permanece por até uma semana. Logo, a fórmula de *drug delivery* poderá ser utilizada pelo paciente durante esse período.

Requisitos ideais das formulações para drug delivery com lasers fracionados não ablativos e LIP^{7,49}

- Veículos de baixa viscosidade são melhores do que emulsões, géis ou sérums.
- A presença de cossolventes na formulação promove maior desestruturação transitória da queratina e aumenta os espaços intercelulares.
- Ativos lipofílicos têm sua permeação facilitada pelos laser Nd:YAG de pulso longo, Erbium fracionado não ablativo e LIP.
- O uso de propilenoglicol e álcool nas formulações deve ser evitado, pois eles diminuem a penetração dos ativos.
- A permeação dos ativos é aumentada em pelo menos 6,8 vezes, porém esse efeito é efêmero e dura em torno de 15 a 30 minutos; por isso o *drug delivery* deve ser realizado imediatamente após o procedimento.

EFEITOS ADVERSOS RELACIONADOS COM DRUG DELIVERY

Até o momento não foram descritas infecções secundárias ao procedimento de *drug delivery* realizado com lasers.

Soltani-Arabshahi et al. descreveram dois casos de reação de corpo estranho após microagulhamento e *drug delivery* com produto comercial para uso domiciliar contendo vitamina C (Vita C Serum; Sanitas Skincare), confirmadas por biópsia e com culturas negativas da amostra biopsiada.⁵⁸ Outro estudo descrevendo reações de corpo estranho foi observado após eletroporação.⁵⁹ Embora os relatos não tenham sido com o uso de lasers, deve-se dar atenção à fórmula utilizada para *drug delivery*; algumas fórmulas prontas indicadas para uso diário domiciliar contêm conservantes e corantes, que podem estar relacionados com efeitos adversos observados.

Lee et al., em estudo de 2016, avaliaram o risco de permeação das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* após o tratamento da pele com laser fracionado não ablativo Er:glass 1550nm e observaram que não houve aumento do risco de infecção bacteriana após a aplicação do laser em comparação com a pele íntegra.⁵⁰



FIGURA 5: Cicatriz perioral tratada com seis sessões de laser Er:YAG 1340nm e drug delivery com fatores de crescimento: antes (esquerda) e depois (direita), com excelente resposta
Fonte: Acervo dos autores



FIGURA 6: Alopecia androgenética tratada com seis sessões de laser Er:YAG 1340nm com drug delivery de minoxidil: antes (esquerda) e depois (direita), boa resposta
Fonte: Acervo dos autores

CONCLUSÃO

O uso de lasers para promoção de *drug delivery* é promissor, embora necessite de maior número de estudos controlados e com mais tempo de seguimento para avaliar algumas das substâncias estudadas, que ainda não possuem grau de evidência para que seu uso seja indicado. A padronização da energia e densidade utilizadas no laser, além da padronização da concentração de cada substância a ser aplicada no *drug delivery*, demanda maior número de estudos, visto que muitos artigos discutem o uso de menores concentrações do ativo já que a permeação está aumentada.^{6,9} O uso de menores concentrações dos ativos aumenta a segurança do procedimento e reduz o risco de efeitos colaterais.

Apesar disso, questões relacionadas à segurança do procedimento, como o risco potencial de efeitos adversos secundários à absorção sistêmica dos medicamentos e o risco de infecção e de sensibilização imunológica, demandam maior número de estudos relacionados à necessidade ou não de utilização de fórmulas estéreis para *drug delivery*, embora o estudo

de Lee et al. de 2016 tenha demonstrado segurança para o uso de fórmulas não estéreis com laser fracionado não ablativo.⁵⁰ Apesar de existirem inúmeras formulações tópicas, é necessário determinar quais são apropriadas ou não para uso como *drug delivery*.⁶ O custo relacionado ao procedimento representa uma limitação para sua implantação na prática diária, sendo necessário discutir com o paciente o custo/benefício do procedimento.⁹

O conhecimento atual demonstrou segurança nas substâncias estudadas para o uso de lasers para promoção de *drug delivery*, desde que os procedimentos sejam realizados em ambiente médico seguindo protocolos de antisepsia adequados pré-procedimento. Além de promissora, a técnica acrescenta um novo uso aos lasers, permitindo ampliar sua atuação não apenas para tratamentos de rejuvenescimento, mas também para o tratamento de doenças dermatológicas, permitindo reduzir a toxicidade dos ativos, os custos de drogas mais caras e aumentar a resposta terapêutica. ●

REFERÊNCIAS

1. Leite-Silva VR, de Almeida MM, Fradin A, Grice JE, Roberts MS. Delivery of drugs applied topically to the skin. *Expert Rev Dermatol*. 2012;7(4):383-97.
2. Purdon CH, Azzi CG, Zhang J, Smith EW, Maibach HI. Penetration enhancement of transdermal delivery--current permutations and limitations. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2004;21(2):97-132.
3. Jacques SL, McAuliffe DJ, Blank IH, Parrish JA. Controlled removal of human stratum corneum by pulsed laser. *J Invest Dermatol*. 1987;88(1):88-93.
4. Manstein D, Herron GS, Sink RK, Tanner H, Anderson RR. Fractional Photothermolysis: A New Concept for Cutaneous Remodeling Using Microscopic Patterns of Thermal Injury. *Lasers Surg Med*. 2004;34(5):426-38.
5. Waibel JS, Mi Q-S, Ozog D, Qu L, Zhou L, Rudnick A, et al. Laser-assisted delivery of vitamin C, vitamin E, and ferulic acid formula serum decreases fractional laser postoperative recovery by increased beta fibroblast growth factor expression. *Lasers Surg Med*. 2016;48(3):238-44.
6. Haedersdal M, Erendsson AM, Paasch U, Anderson RR. Translational medicine in the field of ablative fractional laser (AFXL)-assisted drug delivery: A critical review from basics to current clinical status. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(5):981-1004.
7. Lin C-H, Aljuffali IA, Fang J-Y. Lasers as an approach for promoting drug delivery via skin. *Expert Opin Drug Deliv*. 2014;11(4):599-614.
8. Waibel JS, Rudnick A, Nousari C, Bhanusali DG. Fractional Ablative Laser Followed by Transdermal Acoustic Pressure Wave Device to Enhance the Drug Delivery of Aminolevulinic Acid: In Vivo Fluorescence Microscopy Study. *J Drugs Dermatol*. 2016;15(1):14-21.
9. Sklar LR, Burnett CT, Waibel JS, Moy RL, Ozog DM. Laser assisted drug delivery: a review of an evolving technology. *Lasers Surg Med*. 2014;46(4):249-62.
10. Haedersdal M, Sakamoto FH, Farinelli WA, Doukas AG, Tam J, Anderson RR. Fractional CO2 laser-assisted drug delivery. *Lasers Surg Med*. 2010;42(2):113-22.
11. Bachhav YG, Summer S, Heinrich A, Bragagna T, Böhler C, Kalia YN. Effect of controlled laser microporation on drug transport kinetics into and across the skin. *J Controlled Release*. 2010;146(1):31-6.
12. Haedersdal M, Sakamoto FH, Farinelli WA, Doukas AG, Tam J, Anderson RR. Pretreatment with ablative fractional laser changes kinetics and biodistribution of topical 5-aminolevulinic acid (ALA) and methyl aminolevulinate (MAL). *Lasers Surg Med*. 2014;46(6):462-9.
13. Ko D-Y, Jeon S-Y, Kim K-H, Song K-H. Fractional erbium: YAG laser-assisted photodynamic therapy for facial actinic keratoses: a randomized, comparative, prospective study. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2014;28(11):1529-39.
14. Choi SH, Kim KH, Song K-H. Efficacy of ablative fractional laser-assisted photodynamic therapy for the treatment of actinic cheilitis: 12-month follow-up results of a prospective, randomized, comparative trial. *Br J Dermatol*. 2015;173(1):184-91.
15. Cai H, Wang Y, Zheng J-C, Sun P, Yang Z, Li Y, et al. Photodynamic therapy in combination with CO2 laser for the treatment of Bowen's disease. *Lasers Med Sci*. 2015;30(5):1505-10.
16. Choi SH, Kim KH, Song KH. Efficacy of ablative fractional laser-assisted photodynamic therapy with short-incubation time for the treatment of facial and scalp actinic keratosis: 12-month follow-up results of a randomized, prospective, comparative trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2015;29(8):1598-605.
17. Oliveira GB de, Antonio JR, Antonio CR, Tomé FA. The association of fractional CO2 laser 10.600nm and photodynamic therapy in the treatment of onychomycosis. *An Bras Dermatol*. 2015;90(4):468-71.
18. Haak CS, Christiansen K, Erendsson AM, Taudorf EH, Thaysen-Petersen D, Wulf HC, et al. Ablative fractional laser enhances MAL-induced PpIX accumulation: Impact of laser channel density, incubation time and drug concentration. *J Photochem Photobiol B*. 2016;159:42-8.
19. Fang J-Y, Lee W-R, Shen S-C, Fang Y-P, Hu C-H. Enhancement of topical 5-aminolevulinic acid delivery by erbium:YAG laser and microdermabrasion: a comparison with iontophoresis and electroporation. *Br J Dermatol*. 2004;151(1):132-40.
20. Bachhav YG, Heinrich A, Kalia YN. Using laser microporation to improve transdermal delivery of diclofenac: Increasing bioavailability and the range of therapeutic applications. *Eur J Pharm Biopharm*. 2011;78(3):408-14.
21. Li L, Wu Y, Li L, Sun Y, Qiu L, Gao X-H. Triple combination treatment with fractional CO2 laser plus topical betamethasone solution and narrowband ultraviolet B for refractory vitiligo: a prospective, randomized half-body, comparative study. *Dermatol Ther*. 2015;28(3):131-4.
22. Vachiramon V, Chaiyabutr C, Rattanaumpawan P, Kanokrunsee S. Effects of a preceding fractional carbon dioxide laser on the outcome of combined local narrowband ultraviolet B and topical steroids in patients with vitiligo in difficult-to-treat areas. *Lasers Surg Med*. 2016;48(2):197-202.
23. Waibel JS, Wulkan AJ, Shumaker PR. Treatment of hypertrophic scars using laser and laser assisted corticosteroid delivery. *Lasers Surg Med*. 2013;45(3):135-40.
24. Cavalíé M, Sillard L, Montaudié H, Bahadoran P, Lacour J-P, Passeron T. Treatment of keloids with laser-assisted topical steroid delivery: a retrospective study of 23 cases: A retrospective study of 23 cases. *Dermatol Ther*. 2015;28(2):74-8.
25. Wang AS, Larsen L, Chang S, Phan T, Jagdeo J. Treatment of a symptomatic dermatofibroma with fractionated carbon dioxide laser and topical corticosteroids. *J Drugs Dermatol*. 2013;12(12):1483-4.
26. Hsiao C-Y, Sung H-C, Hu S, Huang C-H. Fractional CO2 Laser Treatment to Enhance Skin Permeation of Tranexamic Acid with Minimal Skin Disruption. *Dermatology*. 2015;230(3):269-75.
27. Lee W-R, Shen S-C, Fang C-L, Zhuo R-Z, Fang J-Y. Topical delivery of methotrexate via skin pretreated with physical enhancement techniques: low-fluence erbium:YAG laser and electroporation. *Lasers Surg Med*. 2008;40(7):468-76.
28. Taudorf EH, Lerche CM, Erendsson AM, Philipsen PA, Hansen SH, Janfelt C, et al. Fractional laser-assisted drug delivery: Laser channel depth influences biodistribution and skin deposition of methotrexate. *Lasers Surg Med*. 2016;48(5):519-29.
29. Hsiao C-Y, Huang C-H, Hu S, Ko Y-S, Sung H-C, Huang S-Y. Skin pretreatment with lasers promotes the transdermal delivery of vitamin C derivatives. *Lasers Med Sci*. 2011;26(3):369-76.
30. Huang C-H, Sung H-C, Hsiao C-Y, Hu S, Ko Y-S. Transdermal delivery of three vitamin C derivatives by Er:YAG and carbon dioxide laser pretreatment. *Lasers Med Sci*. 2013;28(3):807-14.
31. Nguyen BT, Gan SD, Konnikov N, Liang CA. Treatment of superficial basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma in situ on the trunk and extremities with ablative fractional laser-assisted delivery of topical fluorouracil. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(3):558-60.

32. Anbar TS, Westerhof W, Abdel-Rahman AT, Ewis AA, El-Khayyat MA. Effect of one session of ER:YAG laser ablation plus topical 5Fluorouracil on the outcome of short-term NB-UVB phototherapy in the treatment of non-segmental vitiligo: a left-right comparative study. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2008;24(6):322-9.
33. Lee W-R, Shen S-C, Al-Suwayeh SA, Yang H-H, Yuan C-Y, Fang J-Y. Laser-assisted topical drug delivery by using a low-fluence fractional laser: Imiquimod and macromolecules. *J Controlled Release*. 2011;153(3):240-8.
34. Cozzi S-J, Ogbourne SM, James C, Rebel HG, de Gruijl FR, Ferguson B, et al. Ingenol mebutate field-directed treatment of UVB-damaged skin reduces lesion formation and removes mutant p53 patches. *J Invest Dermatol*. 2012;132(4):1263-71.
35. Braun SA, Hevezi P, Homey B, Gerber PA. Laser-assisted drug delivery: Enhanced response to ingenol mebutate after ablative fractional laser treatment. *J Am Acad Dermatol*. 2015;72(2):364-5.
36. Chen W-Y, Fang C-L, Al-Suwayeh SA, Yang H-H, Li Y-C, Fang J-Y. Risk assessment of excess drug and sunscreen absorption via skin with ablative fractional laser resurfacing: optimization of the applied dose for postoperative care. *Lasers Med Sci*. 2013;28(5):1363-74.
37. Bhatta AK, Keyal U, Huang X, Zhao JJ. Fractional carbon-dioxide (CO₂) laser-assisted topical therapy for the treatment of onychomycosis. *J Am Acad Dermatol*. 2016;74(5):916-23.
38. Lim E-H, Kim H, Park Y-O, Lee Y, Seo Y-J, Kim C-D, et al. Toenail onychomycosis treated with a fractional carbon-dioxide laser and topical antifungal cream. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(5):918-23.
39. Zhang J, Lu S, Huang H, Li X, Cai W, Ma J, et al. Combination therapy for onychomycosis using a fractional 2940-nm Er:YAG laser and 5% amorolfine lacquer. *Lasers Med Sci*. 2016 Jun 23. [Epub ahead of print].
40. Yang C-H, Tsai M-T, Shen S-C, Ng CY, Jung S-M. Feasibility of ablative fractional laser-assisted drug delivery with optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2014;5(11):3949-59.
41. Rkein A, Ozog D, Waibel JS. Treatment of atrophic scars with fractionated CO₂ laser facilitating delivery of topically applied poly-L-lactic acid. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 2014;40(6):624-31.
42. Mahmoud BH, Burnett C, Ozog D. Prospective randomized controlled study to determine the effect of topical application of botulinum toxin A for crow's feet after treatment with ablative fractional CO₂ laser. *Dermatol Surg Off Publ Am Soc Dermatol Surg Al*. 2015;41(Suppl 1):S75-81.
43. Zhu J, Ji X, Li M, Chen X, Liu J, Zhang J, et al. The Efficacy and Safety of Fractional CO₂ Laser Combined with Topical Type A Botulinum Toxin for Facial Rejuvenation: A Randomized Controlled Split-Face Study. *BioMed Res Int*. 2016;2016:3853754.
44. Zhou B, Zhang T, Bin Jameel AA, Xu Y, Xu Y, Guo S, et al. The efficacy of conditioned media of adipose-derived stem cells combined with ablative carbon dioxide fractional resurfacing for atrophic acne scars and skin rejuvenation. *J Cosmet Laser Ther*. 2016;18(3):138-48.
45. Shin M-K, Lee J-H, Lee S-J, Kim N-I. Platelet-Rich Plasma Combined with Fractional Laser Therapy for Skin Rejuvenation: *Dermatol Surg*. 2012;38(4):623-30.
46. Lee W, Shen S, Aljuffali IA, Li Y, Fang J. Erbium-Yttrium-Aluminum-Garnet Laser Irradiation Ameliorates Skin Permeation and Follicular Delivery of Antialopecia Drugs. *J Pharm Sci*. 2014;103(11):3542-52.
47. Liu C, Zhang J, Yue Y, Luo Q, Zhu D. 1064 nm-Nd:YAG lasers with different output modes enhancing transdermal delivery: physical and physiological mechanisms. *J Biomed Opt*. 2013;18(6):61228.
48. Menon GK, Kollias N, Doukas AG. Ultrastructural evidence of stratum corneum permeabilization induced by photomechanical waves. *J Invest Dermatol*. 2003;121(1):104-9.
49. Liu C, Zhi Z, Tuchin VV, Luo Q, Zhu D. Enhancement of skin optical clearing efficacy using photo-irradiation. *Lasers Surg Med*. 2010;42(2):132-40.
50. Lee W-R, Shen S-C, Aljuffali IA, Lin Y-K, Huang C-W, Fang J-Y. Non-ablative fractional laser assists cutaneous delivery of small- and macro-molecules with minimal bacterial infection risk. *Eur J Pharm Sci*. 2016;92:1-10.
51. Lim HK, Jeong KH, Kim NI, Shin MK. Nonablative fractional laser as a tool to facilitate skin penetration of 5-aminolaevulinic acid with minimal skin disruption: a preliminary study. *Br J Dermatol*. 2014;170(6):1336-40.
52. Bloom BS. Laser-assisted drug delivery: beyond ablative devices. *Br J Dermatol*. 2014;170(6):1217-8.
53. Kim TI, Shin MK, Jeong K-H, Suh DH, Lee SJ, Oh I-H, et al. A randomised comparative study of 1064 nm Neodymium-doped yttrium aluminium garnet (Nd:YAG) laser and topical antifungal treatment of onychomycosis. *Mycoses*. 2016. [Epub ahead of print]
54. Gómez C, Costela A, García-Moreno I, Llanes F, Teijón JM, Blanco D. Laser treatments on skin enhancing and controlling transdermal delivery of 5-fluorouracil. *Lasers Surg Med*. 2008;40(1):6-12.
55. Zhou HL, Hu B, Zhang C. Efficacy of 694-nm fractional Q-switched ruby laser (QSRL) combined with sonophoresis on levorotatory vitamin C for treatment of melasma in Chinese patients. *Lasers Med Sci*. 2016;31(5):991-5.
56. Lee M-C, Chang C-S, Huang Y-L, Chang S-L, Chang C-H, Lin Y-F, et al. Treatment of melasma with mixed parameters of 1,064-nm Q-switched Nd:YAG laser toning and an enhanced effect of ultrasonic application of vitamin C: a split-face study. *Lasers Med Sci*. 2015;30(1):159-63.
57. Kalil CL, Campos V, Reinehr CPH, Chaves CRP. Laser toning and drug delivery: a pilot study using laser Q-switched laser 1064nm. *Surg Cosmet Dermatol*. 2016;8(2):142-6
58. Soltani-Arabshahi R, Wong JW, Duffy KL, Powell DL. Facial Allergic Granulomatous Reaction and Systemic Hypersensitivity Associated With Micro-needle Therapy for Skin Rejuvenation. *JAMA Dermatol*. 2014;150(1):68-72.
59. De Simone C, Sisto T, Vallone S, Carbone A, Rotoli M, Amerio P. Granulomatous reaction after an aesthetic electroporation procedure. *Eur J Dermatol*. 2010;20(1):135-6.