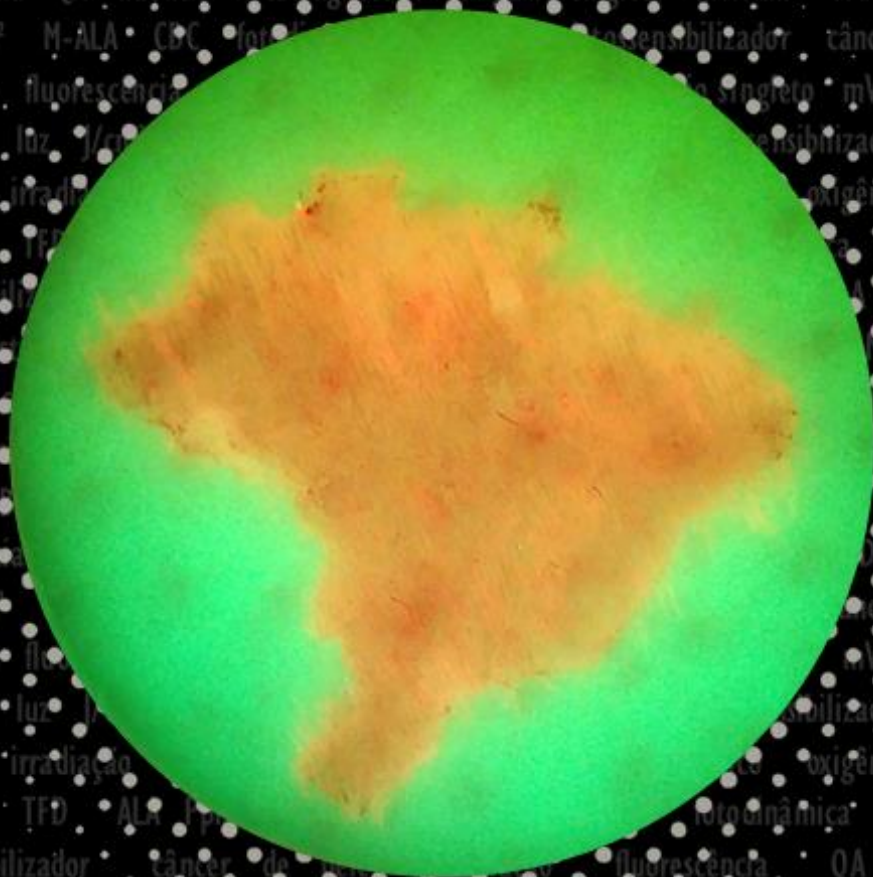


TERAPIA FOTODINÂMICA DERMATOLÓGICA

PROGRAMA TFD BRASIL

VOLUME 2

Iª EDIÇÃO



VANDERLEI S. BAGNATO
MICHELLE B. REQUENA
ORGANIZADORES

Copyright© dos autores

Todos os direitos garantidos. Qualquer parte desta obra pode ser reproduzida, transmitida ou arquivada desde que levados em conta os direitos dos autores.

Vanderlei S. Bagnato e Michelle B. Requena [Organizadores]

Terapia fotodinâmica. São Carlos: Even3 Publicações Editora, 2023. 312 p.

ISBN 978-85-5722-550-3

1. Terapia fotodinâmica. 2. Câncer de pele não melanoma. 3. Lesões pré-malignas. 4. Estudo clínico. 5. Autores. I. Terapia fotodinâmica dermatológica: Programa TFD Brasil

CDD - 610

Capa: Michelle B. Requena. Mirian D. Stringasci, Lilian T. Moriyama e Dianeth Sara L. Bejar

Editor: Michelle Barreto Requena

Editora do e-book: Even3 Publicações

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087

Fundamentos de terapia fotodinâmica

Lilian Tan Moriyama e Clóvis Grecco

Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

A terapia fotodinâmica é uma modalidade terapêutica bem estabelecida aplicada clinicamente na oncologia, oftalmologia, dermatologia, odontologia, entre outras áreas. Essa terapia baseia-se na ativação por luz de um agente fotossensibilizador, resultando na transferência de energia e desencadeando a formação de espécies reativas de oxigênio que são citotóxicas, capazes de induzir células à morte. Para que a terapia fotodinâmica seja corretamente indicada e aplicada no tratamento de doenças, é de extrema importância conhecer os fundamentos envolvidos. Neste capítulo apresentamos os conceitos básicos de interação da luz com tecidos biológicos e da fotoquímica e fotofísica envolvidas na TFD.

doi: 10.29327/terapia-fotodinamica-dermatologica-programa-tfd-brasil-309087.605404

1 Introdução

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma modalidade terapêutica que se baseia em processos fotoquímicos e fotofísicos para induzir células à morte. Esta terapêutica tem sido utilizada no tratamento local de diversas neoplasias e vem conquistando espaço dentre as modalidades de tratamento do câncer no mundo e no Brasil. Para que essas reações fotoquímicas e fotofísicas ocorram, três ingredientes são primordiais: um fotossensibilizador, a luz e o oxigênio molecular presente no tecido.

A primeira etapa para aplicação da TFD é a administração de uma substância conhecida como fotossensibilizador (FS), que pode ser aplicada por via sistêmica, local ou tópica em um paciente que tenha uma lesão neoplásica (que pode ser maligna ou não). Após a administração do fotossensibilizador, aguarda-se um período de tempo para que o FS acumule-se preferencialmente nas células-alvo; em seguida, utilizando uma fonte de luz em comprimento de onda adequado ao FS que está sendo utilizado, é realizada a iluminação da lesão (Figura 1). Durante a iluminação, as moléculas do FS absorvem energia e vão para um estado energético mais alto, e ao retornarem para o estado fundamental, transferem energia para outras moléculas que estão ao seu redor, principalmente o oxigênio molecular, desencadeando a formação de espécies citotóxicas que levam as células e consequentemente o tecido-alvo à morte [1, 2].

Apesar de parecer um procedimento simples, para que a TFD seja um procedimento bem sucedido é importante o estabelecimento de uma correta dosimetria. Existe uma grande variação das propriedades ópticas durante o procedimento devido às interfaces fibra/ar/água/tecido. Quando a luz chega ao tecido, ainda há de se considerar os efeitos de espalhamento e absorção. Além disso, a existência de macromoléculas presentes no constituinte celular, a eficiência de geração de oxigênio singlete e a eficiência de formação de espécies reativas de oxigênio, são fatores importantes a serem considerados para estabelecer a dosimetria da TFD.

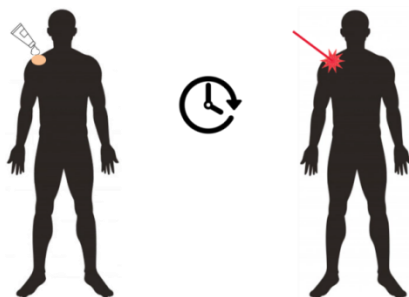


Figura 1. O procedimento padrão da TFD: inicia-se com a fotossensibilização do paciente/lesão, seguido de um tempo de espera para o acúmulo do FS no tecido alvo e finaliza com a iluminação da lesão.

Neste capítulo, serão apresentados: um breve comentário sobre a interação da luz com o tecido biológico, uma visão geral dos processos fotoquímicos que levam a produção de substâncias citotóxicas, e a importância do oxigênio neste processo.

2 Interação da luz com os tecidos biológicos

A luz é o ingrediente que ativa as reações fotodinâmicas. É importante saber que a fonte de luz para a TFD deve ser adequada ao fotossensibilizador utilizado e deve ter algumas características específicas para o estabelecimento da correta dosimetria.

Quando a luz incide em um tecido biológico, diferentes processos podem acontecer: reflexão, refração, transmissão, espalhamento e absorção. A ocorrência destes processos depende das propriedades ópticas do tecido que são intrínsecas de cada tecido biológico. As possíveis interações que podem ocorrer entre luz e o tecido biológico estão representadas na Figura 2.

Sempre que um feixe de luz incide na superfície de um tecido biológico, uma pequena porção dele sofre reflexão especular, isto é, o ângulo do feixe refletido tem o mesmo ângulo do feixe incidente. Ao adentrar o tecido biológico, o feixe sofre o fenômeno da refração, que ocorre devido a diferenças de índice de refração no meio, neste caso, ocorrem

desvios no ângulo de propagação da luz. O espalhamento da luz é o fenômeno cujo efeito é mais evidente, pois é ele que faz com que a luz sofra mudanças na direção de propagação, fazendo com que um volume de tecido seja iluminado. Um exemplo disso ocorre quando iluminamos a ponta do dedo com um *laser pointer* vermelho, o feixe colimado (de poucos milímetros de diâmetro) que atinge a pele propaga-se fazendo com que toda a ponta do dedo fique iluminada.

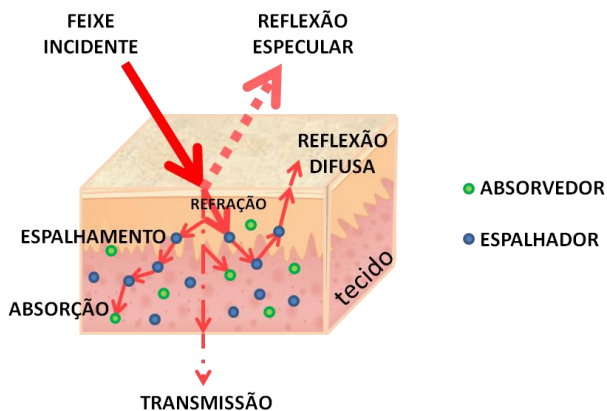


Figura 2. Possíveis interações que podem ocorrer entre a luz e o tecido biológico.

O espalhamento é também um dos grandes responsáveis pela perda de intensidade da luz conforme ela se propaga no tecido. No entanto, a absorção é o evento mais relevante para perda de intensidade de luz e é ela também que limita a profundidade de penetração nos tecidos. É a absorção de luz pelos cromóforos do tecido (água, melanina, oxi e desoxihemoglobina e citocromos) que promovem os efeitos biológicos de qualquer modalidade de fototerapia. Sem absorção de luz, não há efeito terapêutico. A Figura 3 sumariza os principais fenômenos da interação da luz com o tecido biológico e seus respectivos efeitos.

REFLEXÃO	→	Visualização da luz na superfície do tecido;
ESPALHAMENTO	→	Iluminação de um volume de tecido;
ABSORÇÃO	→	Resposta terapêutica

Figura 3. Tipos de interação da luz com o tecido e respectivo efeito promovido.

É importante ressaltar que essas interações dependerão do comprimento de onda da luz e da composição do tecido, de modo que a escolha da fonte de luz dependerá do efeito que se deseja promover no tecido. A Figura 4 mostra a profundidade de penetração da luz na pele para vários comprimentos de onda na região do ultravioleta até o infravermelho próximo.

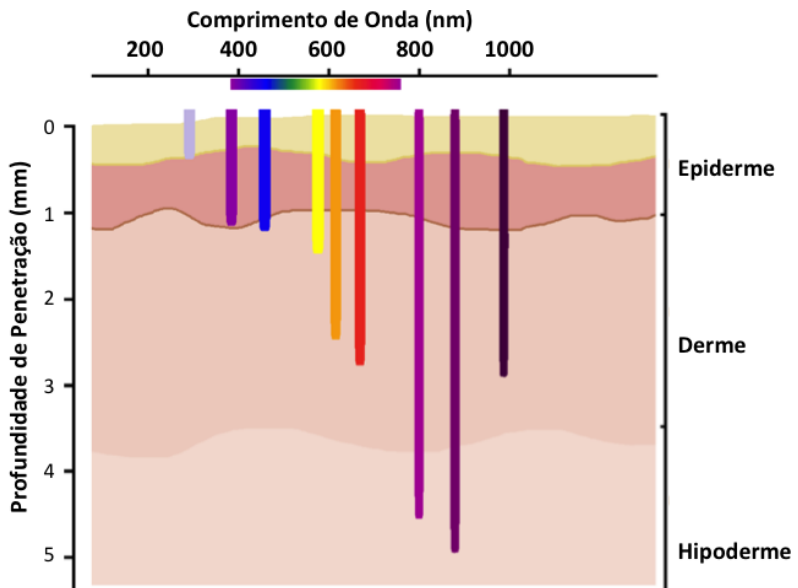


Figura 4. Profundidades de penetração da luz para diferentes comprimentos de onda. Comprimentos de onda menores são absorvidos pelos constituintes do tecido biológico, limitando a penetração da luz.

Observe que luz na região do ultravioleta apresenta penetração muito superficial na pele, restringindo-se apenas às primeiras camadas de célula da epiderme. Conforme se aumenta o comprimento de onda para a região

do vermelho, a penetração aumenta, podendo chegar a cerca de 3 mm de profundidade. Maiores profundidades podem ser alcançadas quando se utiliza comprimentos de onda na região do infravermelho próximo, no intervalo de 800 a 900 nm, aumentando para 1000 nm, a penetração da luz volta a diminuir, devido à alta absorção da água nesta região do espectro (Figura).

Esta penetração da luz na pele está diretamente relacionada aos constituintes do tecido, que absorvem luz de maneira diferente. Tanto a melanina quanto a hemoglobina, possuem alta absorção em comprimentos de onda na região do ultravioleta e azul, sendo pouco absorvedores em comprimentos de onda acima de 600 nm. No entanto, a água sendo um dos principais constituintes dos tecidos, apresenta uma alta absorção acima de 900 nm, de modo que a janela óptica biológica está na faixa de 600 a 1200 nm, onde a penetração da luz nos tecidos é máxima (Figura 5).

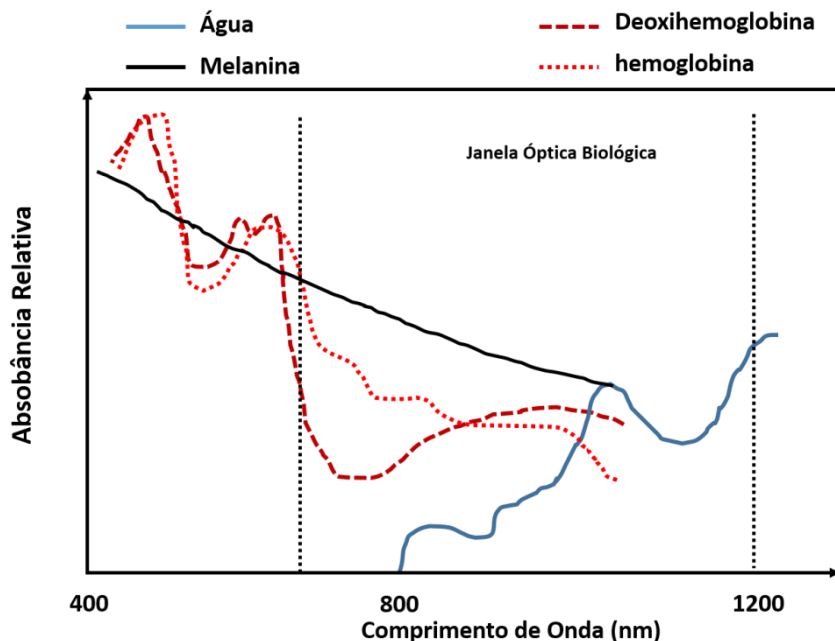


Figura 5. Absorbância relativa em função do comprimento de onda. A região entre as linhas pontilhadas indica a janela óptica, região onde ocorre maior penetração da luz devido a menor absorção pelos constituintes do tecido biológico.

3 Fotoquímica e fotofísica na terapia fotodinâmica

Como falado no início do capítulo, a TFD envolve a interação da luz com um fotossensibilizador e o oxigênio molecular para promover morte celular e tecidual.

A maioria dos fotossensibilizadores atualmente empregados em TFD apresenta alta absorbância na região do ultravioleta, conhecida como banda de absorção de Soret. Em comprimentos de onda mais longos, acima de 500 nm (início da cor verde) até 630 nm (vermelho), outras bandas de absorção aparecem conhecidas como bandas-Q. A Figura 6 mostra os espectros de absorção de dois tipos de fotossensibilizadores utilizados em TFD, um derivado de hematoporfirina e um derivado de clorina. Note que ambos possuem diversas bandas de absorção, o que faz com que possamos escolher diferentes comprimentos de onda para desencadear as reações fotodinâmicas, no entanto, quando se deseja promover um tratamento em maior profundidade possível, opta-se pelo uso de uma fonte de luz na região de 630 nm para o derivado de hematoporfirina e na região de 660 nm para o derivado de clorina.

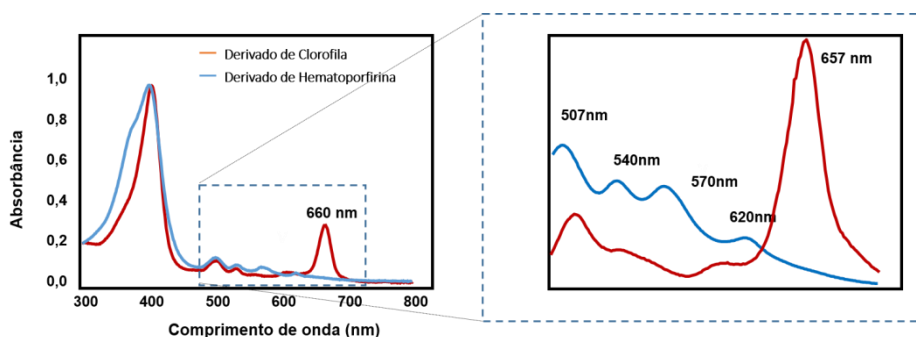


Figura 6. Exemplos de espectros de absorbância de fotossensibilizadores empregados na TFD: um derivado de hematoporfirina e um derivado de clorina. Em destaque, as bandas de absorbância destes FSs, próximas à janela óptica biológica.

Novos FS têm sido sintetizados com a finalidade de aumentar ou deslocar bandas de absorbância para a região do infravermelho (janela

óptica biológica) onde há maior penetração da luz no tecido, de modo que um maior volume de lesão pode ser tratado.

Para melhor compreender os eventos fotoquímicos e fotofísicos da TFD, podemos observar o diagrama de Jablonski adaptado, mostrado na Figura 7, onde estão representados os níveis energéticos do fotossensibilizador e os eventos que podem ocorrer quando uma molécula de FS absorve energia a partir de um fóton. Observe que o estado fundamental do FS é o estado singlete (S_0), que ao absorver um fóton é excitado para um estado eletrônico de maior energia e de curto tempo de vida.

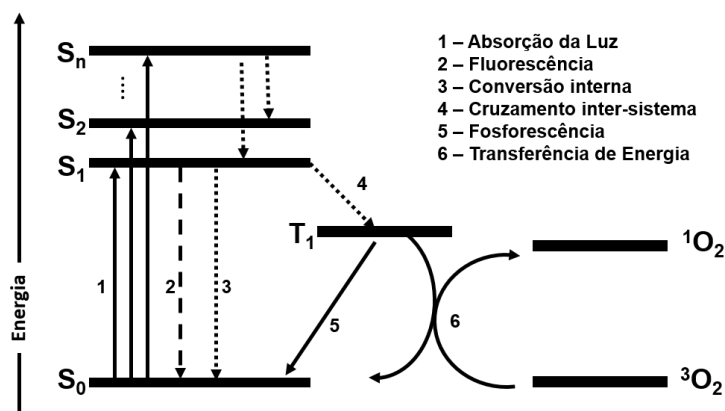


Figura 7. Diagrama de Jablonski adaptado, mostrando os possíveis níveis de energia que a molécula pode alcançar após absorção de energia e a transferência de energia para o oxigênio molecular.

Para cada nível eletrônico existente (S_n) em uma molécula há vários níveis vibracionais, ao ser excitado para um desses níveis, o elétron decai rapidamente para o menor nível vibracional do referido estado excitado. Este fenômeno é chamado de relaxação vibracional, e é muito mais rápido (da ordem de 10^{-12} s) que o decaimento entre estados eletrônicos. Após alcançar o menor nível vibracional do estado eletrônico S_1 , o FS pode voltar ao estado S_0 emitindo fluorescência ou interagindo com outras moléculas, por um processo não radiativo chamado conversão interna (CI).

No estado S_1 , o FS pode transferir carga elétrica para os constituintes do meio gerando espécies oxidativas [3].

Neste estado S_1 , há a probabilidade do FS realizar uma transição chamada de cruzamento intersistema (ISC, do inglês *intersystem crossing*), para um estado tripleto (T_1) metaestável de tempo de vida mais longo. O tempo de vida neste estado é da ordem de microssegundos a milissegundos, que pode resultar no retorno diretamente para o estado fundamental, por emissão de fosforescência ou através de meios não radiativos. No estado tripleto, a molécula pode sofrer *quenching* (supressão), doando energia para o O_2 presente na célula e retornando para o estado fundamental. A molécula de O_2 que recebe esta energia vai de um estado fundamental tripleto para um estado singleto, o qual é por sua vez, altamente citotóxico, por seu alto potencial reativo, desencadeando uma cascata de eventos que resulta na morte da célula (Figura 8) [3].

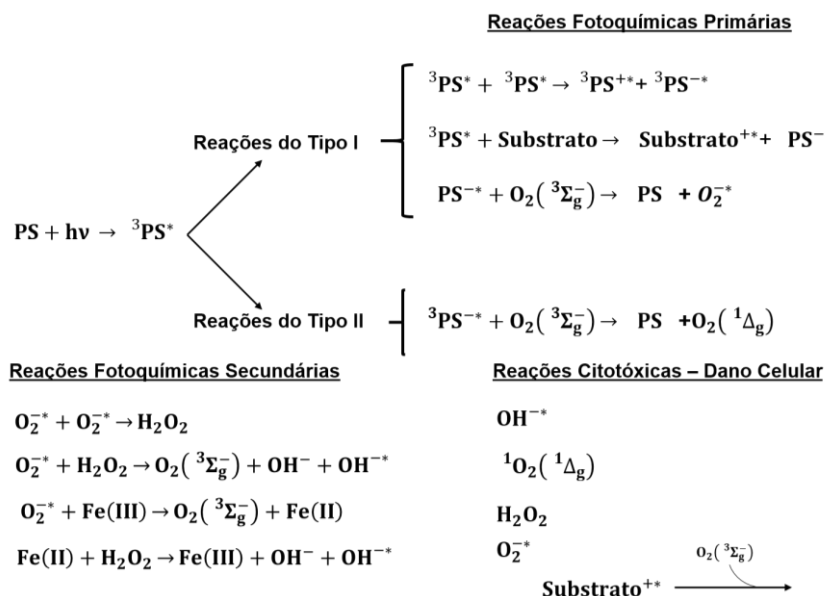


Figura 8. Reações fotoquímicas primárias e secundárias que ocorrem da absorção da energia luminosa pelo fotossensibilizador promovendo uma cascata de eventos que geram reações químicas que resultam na morte celular.

Vê-se, então, que o sucesso da TFD depende fundamentalmente da oxigenação do tecido durante a terapia. Considerando a importância da quantidade de O_2 nesta técnica, surge a necessidade de olhar com mais atenção para a quantidade de oxigênio consumida. Além disso, o oxigênio molecular (O_2) é o oxidante primário nas funções vitais de seres vivos, tendo participação importante na produção de energia na cadeia respiratória da mitocôndria. A insuficiência de O_2 intramitocondrial resulta na dificuldade da produção energética da célula, levando-a a morte [4].

A quantidade de oxigênio disponível no tecido torna-se um fator limitante para a produção de oxigênio singleto, e consequentemente para a TFD. É por isso que lesões hipóxicas não são indicadas para o tratamento devido à probabilidade de recidivas ou metástases.

Além das reações fotodinâmicas serem dependentes de oxigênio, a própria TFD possui um efeito sobre a oxigenação do tecido-alvo. Numa primeira etapa, as reações oxidativas promovidas pela TFD levam à depleção de oxigênio no sítio de tratamento. Em uma segunda etapa, alterações promovidas pela terapia podem levar à oclusão de vasos sanguíneos que consequentemente compromete a oxigenação tecidual.

Na literatura, há diversos trabalhos que relatam a relação entre a intensidade de luz utilizada (em mW/cm^2) com os danos vasculares induzidos. O uso de intensidades mais baixas, menores que $100 mW/cm^2$ em geral promovem danos vasculares de forma tardia, o que faz com que haja aporte sanguíneo e de oxigênio durante a terapia; enquanto que o uso de intensidades mais altas leva a um rápido dano vascular e consequentemente rápida depleção de oxigênio no sítio de tratamento [5–8].

Há mais de 50 anos que a TFD foi usada pela primeira vez em tratamentos oncológicos, desde então seu potencial tem sido amplamente explorado, principalmente, em tratamentos dermatológicos e oftalmológicos.

A escolha do tipo de droga e sua dose, o comprimento de onda de ativação, e o intervalo droga-luz, podem aumentar a efetividade e também reduzir os efeitos colaterais da terapia, para isso, o protocolo de tratamento deve ser otimizado e padronizado. Os pesquisadores da área de TFD não devem estar focados apenas em desenvolver novos fotossensibilizadores, ou novos equipamentos, mas sim em pacotes de tratamentos completos que consistem do FS, a fonte de luz e o protocolo específico otimizado para uma aplicação em particular.

A avaliação cuidadosa dos campos de aplicação para a TFD e a otimização e padronização de protocolos clínicos para determinados tipos de lesão, podem contribuir para o estabelecimento da TFD para o tratamento de câncer.

Referências bibliográficas

- [1] Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, *et al.* Photodynamic Therapy. *JNCI J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 889–905.
- [2] Bagnato VS. *Terapia Fotodinâmica Dermatológica: Programa TFD Brasil*. São Carlos: Compacta grafica e editora, 2015.
- [3] Wilson BC, Patterson MS. The physics, biophysics and technology of photodynamic therapy. *Physics in Medicine and Biology*. Epub ahead of print 2008. DOI: 10.1088/0031-9155/53/9/R01.
- [4] Fuchs J, Thiele J. The role of oxygen in cutaneous photodynamic therapy. *Free Radical Biology and Medicine* 1998; 24: 835–847.
- [5] Xu T, Li Y, Wu X. Application of lower fluence rate for less microvasculature damage and greater cell-killing during photodynamic therapy. 2004; 150–154.
- [6] Sitnik TM, Henderson BW. The Effect of Fluence Rate on Tumor and Normal Tissue Responses. 1998; 67: 462–466.
- [7] Henderson BW, Busch TM, Snyder JW. Fluence Rate as a Modulator of PDT Mechanisms. 2006; 1–5.
- [8] Veenhuizen RB, Stewart F a. The importance of fluence rate in photodynamic therapy: is there a parallel with ionizing radiation dose-rate effects? *Radiother Oncol* 1995; 37: 131–5.