

Terapia Fotodinâmica: uma luz na luta contra o câncer

Joselito Nardy Ribeiro, Araceli Verónica Flores

*Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
C.P. 6154, 13083-970, Barão Geraldo, Campinas, São Paulo, Brasil
email:nariber@ig.com.br*

Rickson Coelho Mesquita, Jorge Humberto Nicola, Ester Maria D. Nicola

*Faculdade de Ciências Médicas – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
C.P. 6165, 13083-970, Barão Geraldo, Campinas, São Paulo, Brasil
email:rickson@ifi.unicamp.br*

Resumo

A terapia fotodinâmica é um tratamento clínico utilizado para tratar diversos tipos de câncer e outras patologias. Nessa terapia, moléculas fotossensíveis (fotossensibilizadores) são ativadas por luz visível e geram espécies reativas de oxigênio dentro do tecido tumoral. Tais espécies provocam uma cascata de eventos oxidativos que resultam na morte das células cancerígenas por apoptose e/ou necrose. A proposta dessa revisão é a de apresentar os princípios básicos (físicos, químicos e biológicos) da terapia fotodinâmica, bem como seu potencial de aplicação e as novas pesquisas nessa modalidade de terapia médica.

Abstract

Photodynamic therapy (PDT) is a clinical treatment utilized in the therapy of cancer and others diseases. In this therapy, light-sensitive molecules, called photosensitizers, are activated by visible light generating reactive forms of oxygen. These reactive species initiate a sequence of oxidative events resulting in tumor cell death by apoptosis and/or necrosis. The purpose of this review is to present the basic principles (physical, chemical and biological) of PDT as well as its potential of application and new researches on this modality of medical therapy.

1 Introdução

São diagnosticados anualmente cerca de um milhão de novos casos de câncer evasivo, excluindo-se os cânceres de pele superficiais. Em média, sete milhões de pacientes morrem anualmente dessa doença no mundo. Nos EUA, estima-se que entre 900.000 e 1.200.000 novos casos de câncer de pele são diagnosticados por ano. No Brasil, só o câncer de pulmão (um dos mais mortais no país) fez 12.750 vítimas em 1999. Em 2002, o número de brasileiros portadores de vários tipos de câncer chegou a 400.000, e destes, 130.000 perderam suas vidas [1,2].

Mas, apesar desses dados alarmantes, a visão assombrada da doença parece estar perdendo seu contraponto na realidade. O avanço das pesquisas, que buscam entender e desenvolver tratamentos para a cura desta patologia, aponta para um cenário que desautoriza grandemente o velho conceito de que o câncer é um mal irreversível, uma moléstia sem cura nem explicação [1].

Terapias para tratamento do câncer

No Brasil, como em várias outras partes do mundo, alguns procedimentos têm sido adotados com relativo sucesso no combate ao câncer. Os três tratamentos classicamente utilizados são a quimioterapia, a radioterapia e a cirurgia. A radioterapia emprega um feixe de radiação ionizante para destruir células tumorais; a resposta do tecido à radiação depende de fatores como a sensibilidade do tumor ao tratamento, sua localização e o tempo de irradiação. A quimioterapia é uma técnica que utiliza substâncias químicas que interferem na síntese de enzimas celulares, afetando a função e a proliferação tanto das células normais quanto das cancerígenas. A cirurgia se baseia na remoção do tecido doente e de seus arredores [3].

É bem verdade que esses tratamentos são eficazes contra muitos tipos de tumores e, em muitos casos, proporcionam um considerável aumento no tempo de vida do paciente. Mas, apesar desse relativo sucesso, essas terapias apresentam efeitos colaterais bastante dolorosos. Dentre estes, destacam-se: a desfiguração do paciente, com

prejuízos à sua auto-estima (cirurgia), queda de cabelo, alterações gastrintestinais (náuseas, vômitos e diarreia), cansaço exagerado (quimioterapia e radioterapia), etc. Além disto, a perspectiva de cura nem sempre é eficaz. Assim, tratamentos alternativos vêm sendo cada vez mais utilizados, dentre os quais se inclui a Terapia Fotodinâmica (PDT, do inglês *Photodynamic Therapy*) [3], uma modalidade de tratamento já empregada nos Estados Unidos e Europa, mas que ainda é pouco divulgada no Brasil.

Aspectos históricos da Terapia Fotodinâmica

A PDT teve sua origem em 1900, quando Oscar Raab, em seu trabalho de doutorado, observou que a combinação de luz com o corante acridina era letal para o microorganismo *paramecium* [4]. Em 1903, Herman von Tappeiner, orientador de Oscar Raab, denominou esse efeito da luz de “efeito fotodinâmico”. Foi ele e Jesionek, que nesta mesma época, conduziram os primeiros testes clínicos da PDT. Em um desses testes, observaram que a aplicação tópica do composto eosina, seguida de exposição à luz, servia para tratamento do câncer de pele [5]. Em 1924, Policard observou que porfirinas podiam ser encontradas em elevadas concentrações em tumores malignos. Ele observou também que tais porfirinas eram completamente atóxicas, mas na presença de luz visível e oxigênio, se tornavam altamente prejudiciais ao tecido celular [6]. Quase no fim dos anos 60, Lipson relatou um caso de tratamento bem sucedido de câncer de seio empregando derivados de hematoporfirina (HpD) e irradiação seletiva do tumor com luz visível [7]. Em 1976, Weishaupt e seus colaboradores postularam que o oxigênio singlete (1O_2), gerado na PDT, era o agente citotóxico responsável pela destruição das células tumorais [8]. No fim dos anos 70, a partir dos brilhantes trabalhos de Thomas Dougherty e de seus colaboradores, a PDT passou a ser reconhecida como uma alternativa para o tratamento do câncer, tendo sido empregada com sucesso no tratamento de vários tipos de tumores e de outras patologias [4]. Thomas Dougherty foi um dos principais fundadores do mais avançado centro de terapia fotodinâmica, vinculado ao Roswell Park Cancer Institute, na cidade de Búffalo, nos Estados Unidos.

No Brasil, os estudos em Terapia Fotodinâmica começaram a ganhar espaço a partir de 1987, nas teses de mestrado e doutorado de Denise Maria Zzell [76, 77], orientada por Jorge Humberto Nicola, na Universidade Estadual de Campinas. O trabalho de Valdir Carlos Colussi [78] também contribuiu para o incentivo desta linha de pesquisa no Brasil. Atualmente, a PDT já ocupa um espaço relativamente grande, com alguns grupos em diferentes universidades e centros de pesquisa realizando estudos nessa área. Além disto, o Hospital Amaral de Carvalho, em Jaú-SP, já conta com um centro de terapia fotodinâmica que vem beneficiando muitos pacientes portadores de

câncer. Além desse hospital, a PDT já começa a ser utilizada também pelo Instituto da Visão, ligado à Universidade Federal de São Paulo (Unifesp), para o tratamento da degeneração macular senil, uma doença comum, mas que é considerada a segunda causa de cegueira nos idosos.

2 Princípios básicos da PDT

A PDT é um novo e promissor tratamento clínico que emprega a combinação de luz, oxigênio e um composto fotossensibilizador (FTS) para o tratamento de uma variedade de patologias de caráter oncológico [9], cardiovascular [10], dermatológico [11], oftálmico [12,13] e microbiológico [14]. O processo fotodinâmico é obtido pela ação da luz sob o FTS que, na presença do oxigênio, causa a destruição da célula hospedeira. Essa técnica, que tem sido cada vez mais utilizada no tratamento de câncer, ocorre graças a uma seqüência de eventos físicos, químicos e biológicos:

Sabe-se que o oxigênio molecular (O_2) pode apresentar dois estados físicos possíveis – o singlete (1O_2) e o triplete (3O_2) –, além de radicais como o superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Podemos diferenciar dois tipos de terapia (tipo I e tipo II), dependendo da espécie de oxigênio formado. O triplete é o estado fundamental e estável da molécula, encontrado preferencialmente em qualquer célula. Quimicamente, o oxigênio triplete é pouco reativo, ao contrário do oxigênio singlete, que reage facilmente com outras substâncias, liberando energia. Logo, a transição do oxigênio do seu estado fundamental para o singlete resultaria na destruição da célula hospedeira, devido à oxidação de seus constituintes [15,16]. O mesmo aconteceria no caso da transição para radicais como o superóxido. Essa transição, que corresponde à absorção de um fóton com um certo λ , que depende do FTS utilizado, é, entretanto, proibida por absorção direta, devido às leis de conservação de paridade (spin e momento angular), podendo ocorrer somente por absorção não-radiativa de energia (ressonância de Fermi).

No entanto, existem substâncias capazes de absorver, de forma direta, fótons próximos a esse determinado comprimento de onda, não infringindo as leis de conservação. Com isto, uma dessas moléculas, conhecidas como fotossensibilizadores, quando nas proximidades de um 3O_2 , pode servir como intermediária para o processo de excitação do oxigênio, isto é, a molécula intermediária absorve diretamente o fóton e transfere a energia para o oxigênio [17] (Figura 1).

Entretanto, isto não teria serventia para o tratamento de células cancerígenas se não fosse a existência de outra dádiva da natureza, ou seja, a propriedade apresentada pelas próprias células malignas de manter aprisionadas no seu interior certas substâncias, em particular os FTSs, por tempos muitas vezes maiores do que aqueles observados em células normais.

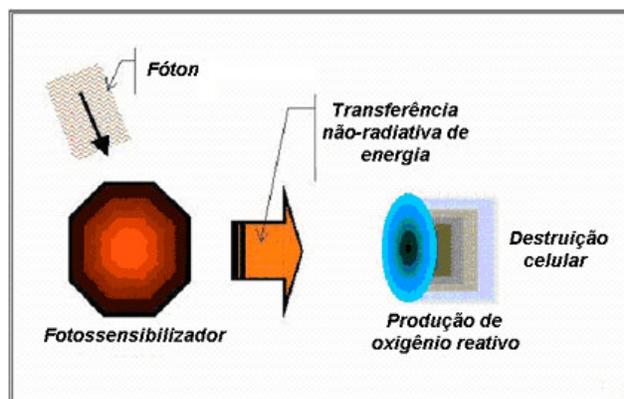


Figura 1: Desenho esquemático do processo fotodinâmico.

Dessa forma, a injeção de um FTS adequado num paciente portador de neoplasia maligna resulta na retenção seletiva dessa substância pelas células cancerígenas. Com isto, somente as moléculas de oxigênio presentes nas células malignas, poderão ser excitadas pelo processo esquematizado, causando morte celular seletiva por necrose ou mesmo por apoptose (morte celular programada).

Espécies Reativas de Oxigênio

Os mecanismos de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*) durante o processo fotodinâmico podem ser do Tipo I e/ou Tipo II. O superóxido é gerado no mecanismo Tipo I, isto é, pela transferência de elétrons do FTS, excitado pela luz, para o estado fundamental do oxigênio (3O_2). Já o oxigênio singlete é gerado no mecanismo Tipo II, ou seja, pela transferência de energia do FTS excitado para o 3O_2 [18] (Figura 2).

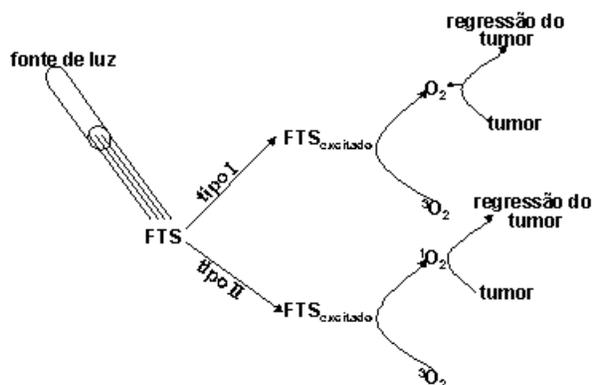


Figura 2: Esquema de excitação do FTS com luz visível. O FTS, no estado triplete excitado, transfere elétrons para o 3O_2 gerando $O_2^{\bullet-}$ (mecanismo tipo I) e/ou transfere energia, também para 3O_2 , gerando 1O_2 (mecanismo tipo II). Este evento ocasiona regressão do tecido tumoral.

O $O_2^{\bullet-}$ pode favorecer o aparecimento de outras espécies, como o radical hidroxila (HO^{\bullet}) e o peroxinitrito

($ONOO^-$). Tais espécies reativas são muito mais agressivas para o tecido tumoral do que o radical superóxido. O surgimento dessas espécies, bem como do 1O_2 , pode induzir a morte das células cancerígenas, principalmente por apoptose [19-22].

A indução da apoptose pela PDT

A apoptose é um tipo de morte celular comum nos organismos multicelulares. Esse tipo de morte se baseia no suicídio de uma célula quando a mesma já não é mais necessária ao organismo. Isto é muito importante, pois controla o número de células de um indivíduo, impedindo um crescimento celular descontrolado (câncer) [23].

Antes de uma célula se dividir para dar origem a outra, ocorre a checagem do seu material genético (DNA), para se ter certeza que prováveis mutações não sejam passadas adiante. Nesse processo de checagem, o gene p53 tem um papel crucial. Tal gene comanda um mecanismo que repara o DNA danificado da célula mãe e a libera para que ocorra a divisão. No entanto, se os erros ou mutações no material genético são muito expressivos e o sistema de reparo é incapaz de repará-los, o gene p53 irá acionar um outro mecanismo que induz a célula mãe ao suicídio (apoptose). Isto impede a geração de mais células mutagênicas, o que evita o aparecimento de tumores. Logo, conclui-se que um defeito nesse mecanismo de apoptose pode ser catastrófico para um organismo multicelular [23].

Em muitos tratamentos com PDT tem se observado que os agentes fotossensibilizadores, depois de excitados pela luz, estimulam a apoptose em células cancerígenas. Muitos desses fotossensibilizadores atuam na mitocôndria. Isto é muito importante, já que essa organela tem um papel fundamental no processo apoptótico [9]. As ROS produzidas na PDT provocam um estresse oxidativo na mitocôndria, fazendo com que a mesma libere, no citosol, proteínas pró-apoptóticas, como o citocromo c e a proteína Smac Diablo. Tais proteínas ativam um grupo de outras proteínas conhecidas como caspases, que por sua vez induzem a fragmentação do DNA da célula cancerígena, provocando sua morte [24,25]. Além disto, as espécies reativas de oxigênio, oriundas da PDT, podem inativar proteínas como a Bcl-2, que protegem as células cancerígenas da apoptose [26]. Relatos destes e outros eventos, provando a ativação da apoptose por tratamentos com PDT, têm sido bem descritos na literatura [27-40].

3 A influência da luz na PDT

É necessário destacar a importância de dois principais agentes diretamente relacionados com a eficiência do processo fotodinâmico: o tipo de radiação utilizada e o fotossensibilizador adequado.

Como visto, para ativar as substâncias fotossensibilizadoras responsáveis pelo processo fotodinâmico é necessário o uso de luz com frequência ressonante com o nível de absorção óptica da referida substância. A Figura 3 mostra a probabilidade P (em %) de transferência de energia do FTS para o oxigênio tripleto, por ressonância de Fermi, numa frequência ressonante ω_0 . Pode-se notar que, de acordo com a figura 3, existe um comprimento de onda $\lambda_0 = \frac{2\pi c}{\omega_0}$, onde c é a velocidade

da luz, no qual a probabilidade da transferência de energia é próxima de 1, caindo drasticamente quando nos afastamos dessa frequência ressonante. Logo, o tipo de luz ideal para ativar o processo fotodinâmico seria uma luz com a densidade de potência adequada, colimada e com comprimento de onda λ_0 .

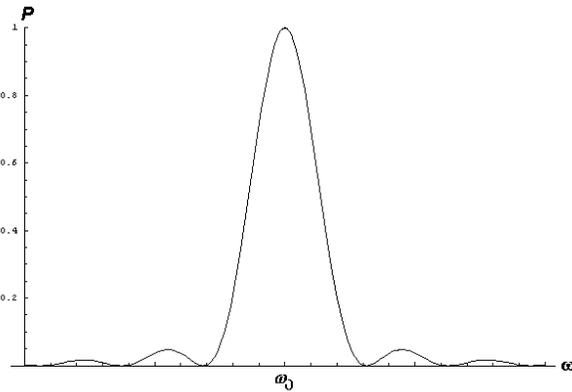


Figura 3: Probabilidade de transferência de energia do FTS para o oxigênio no estado fundamental, em função da frequência.

Utilizando um conjunto óptico com filtros, lentes e/ou espelhos, é possível ativar o processo fotodinâmico com uma fonte de luz comum, embora raros são os trabalhos que o fazem [41,42]. Normalmente, a alta colimação dos feixes laser somados às altas densidades de potência fazem desse equipamento o instrumento ideal para a ativação. Nesse caso, os lasers de vapor metálico, dye-lasers, lasers de semicondutores ou mesmo lasers de He-Ne são os mais utilizados. No entanto, uma das propriedades mais importantes dos lasers, a monocromaticidade, nem sempre é útil na PDT. Afinal, se o espectro de emissão do equipamento tem uma largura muito pequena, poucos serão os comprimentos de onda disponíveis para encontrar o melhor λ_0 , capaz de otimizar o processo de transferência de energia e, conseqüentemente, o processo fotodinâmico¹. Nesse aspecto, é clara a vantagem de uma fonte de luz comum, uma vez que esta tem uma largura de banda relativamente grande (próxima ou superior a 10 nm), embora a densidade de potência seja bem menor, se

¹ Na verdade, existe uma cascata de emissões, e o comprimento de onda que ativa o FTS é, em geral, diferente do laser.

comparada com um laser.

O rápido desenvolvimento dos lasers, com o conseqüente barateamento dos mesmos, desestimula o uso de lâmpadas para a PDT. Entretanto, ainda reside a questão quanto a vantagens econômicas, principalmente quando se trata de tratamento de câncer superficial ou mesmo em situações experimentais, quando o material de experimentação tem uma área muito pequena, possibilitando alta densidade de potência mesmo com fonte de luz comum. Resultados obtidos com um sistema não-laser em laboratórios mostram um efeito de fotodestruição das células tumorais equivalente ao produzido por luz laser, em situação de mesma dose de energia [43]. Esse tipo de sistema é adequado para aplicações da PDT em lesões superficiais do tipo câncer de pele. Para aplicações mais complexas, como tumores internos, o laser é o equipamento ideal – desde que a frequência de emissão do mesmo seja próxima ao da frequência ressonante do FTS. Quando necessário, o uso de fibras ópticas guia a luz até o local onde se quer iluminar, isto é, até a região atingida pelas células malignas.

4 Agentes fotossensibilizadores

Porfirinas, clorinas e bacterioclorinas estão entre os fotossensibilizadores mais estudados para uso em PDT, devido a sua eficiência na geração de ROS (principalmente de ¹O₂). Atualmente, outras classes de fotossensibilizadores como as ftalocianinas também têm sido investigadas. Isto se deve ao fato das mesmas possuírem bandas de absorção melhor localizadas na região do vermelho do que as porfirinas. A absorção no vermelho entre 600 e 800 nm, na chamada “janela fototerapêutica”, torna a PDT mais eficiente, já que evita absorção da luz por parte de substâncias presentes no organismo como, por exemplo, a hemoglobina. Isto permite que a luz penetre mais profundamente no tecido, alcançando mais facilmente o FTS [9,15].

Porfirinas possuem uma grande banda de absorção em torno de 400 nm, conhecida como banda de Soret (Figura 4). Essa banda não pode ser aproveitada para excitar a porfirina num tratamento com PDT, uma vez que a luz com esse comprimento de onda não penetra profundamente no tecido. Ao invés disto, utilizam-se bandas com $\lambda > 600$ nm. Tais bandas são chamadas de bandas-Q e as porfirinas exibem uma banda deste tipo em torno de 630 nm, enquanto que em clorinas e bacterioclorinas elas aparecem em 650 e 710 nm, respectivamente [9].

Requisitos para que um FTS possa ser utilizado em PDT

Para que um agente fotossensibilizador seja considerado ideal para uso clínico, o mesmo deve possuir algumas características importantes, tais como: apresentar

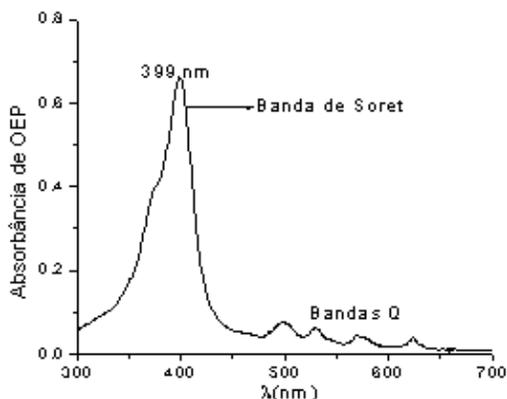


Figura 4: Espectro de absorvância de octaetilporfirina apresentando uma banda de grande intensidade (Banda de Soret) e quatro bandas menores (bandas Q).

baixa toxicidade no escuro, possuir uma certa solubilidade e ser seletivo para o tecido doente, evitando acúmulo em tecidos saudáveis [3]. Deve ser capaz, também, de penetrar na célula tumoral e se acumular em organelas estratégicas como mitocôndria, retículo endoplasmático, lisossomos e complexo de golgi. A geração de ROS, por parte de um FTS excitado, nessas organelas, (principalmente na mitocôndria) pode induzir a morte de células cancerígenas por apoptose [16]. Além disso, o FTS deve apresentar elevada absorvância molar na região espectral da “janela fototerapêutica”, onde a membrana celular apresenta considerável transparência à radiação eletromagnética. Com isso, é possível uma boa penetração da luz em tecidos levemente pigmentados, com risco mínimo de destruição generalizada dos componentes celulares saudáveis [3].

Outro pré-requisito importante é que o FTS possua um longo tempo de vida no estado excitado, dando tempo para que ocorra a transferência de energia e/ou elétrons do FTS para o $^3\text{O}_2$. Assim, a geração de ROS será suficiente para que o tratamento renda bons resultados. No entanto, alguns eventos podem prejudicar essa produção de ROS. Dentre tais eventos destacam-se a formação de agregados e a fotodegradação do FTS [9,44].

A formação de agregados (Figura 5) entre as moléculas do próprio FTS pode prejudicar o processo de geração de ROS, uma vez que ocorrerão decaimentos não-radiativos por conversão interna, dificultando a transferência de energia do FTS para o $^3\text{O}_2$. Tais agregados tendem a formar-se à medida que se aumenta a concentração do agente fotossensibilizador ou quando o mesmo, de caráter hidrofóbico, está presente num meio aquoso [45].

O fotobranqueamento ou fotodegradação de um FTS é a modificação da sua estrutura, geralmente ocasionada por ROS (principalmente $^1\text{O}_2$) produzidas durante o tratamento com PDT pelo próprio FTS (Figura 6). Tal modificação reduz a quantidade de FTS intacto no meio de reação,

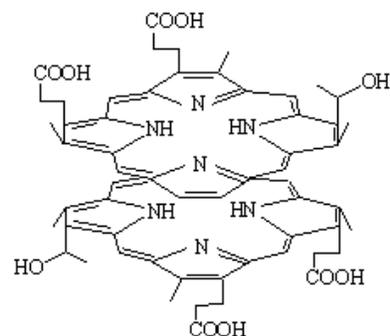


Figura 5: Interação entre as moléculas dos fotossensibilizadores para formar agregados.

provocando uma diminuição na produção de ROS. Este evento provoca perda na eficiência do tratamento, tornando a destruição do tumor incompleta. Para solucionar tal problema, costuma-se administrar altas dosagens do FTS a fim de compensar a sua perda por fotodegradação. Esse procedimento, no entanto, pode ocasionar aumento dos efeitos colaterais provocados pela alta concentração do FTS, além de aumentar o custo do tratamento [45].

Uma maneira de medir o fotobranqueamento de um FTS é irradiá-lo com luz visível num meio saturado com $^3\text{O}_2$ e monitorar sua fluorescência. Caso ocorra fotobranqueamento, o mesmo será detectado através da queda na intensidade de fluorescência do FTS [9,46].

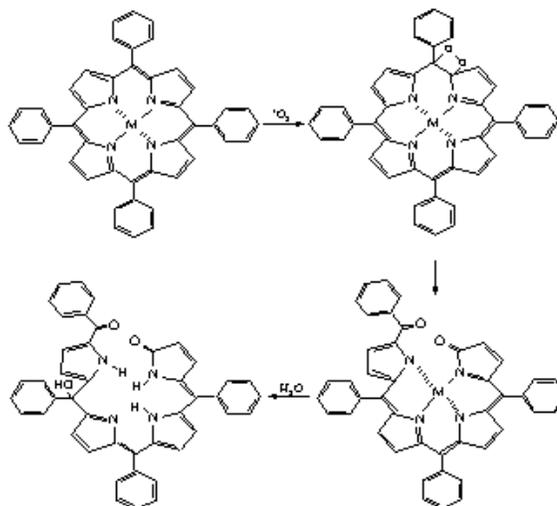


Figura 6: Fotobranqueamento de um composto porfirínico, na presença de oxigênio singlete.

Para melhorar o efeito fotodinâmico de um composto porfirínico, minimizando os problemas como: agregação, pouca ou nenhuma solubilidade, fotobranqueamento exagerado, falta de penetração na célula e baixa seletividade para o tecido tumoral, uma das alternativas é promover o encapsulamento do FTS em sistemas encapsuladores como: ciclodextrinas, lipossomas e nanopartículas. Além disto, o encapsulamento protegeria o

FTS da biotransformação que o mesmo poderia sofrer durante seu trajeto até o tecido tumoral.

Encapsulamento de FTS com ciclodextrinas

As ciclodextrinas (CD's) são oligossacarídeos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações $\alpha(1-4)$. Elas são designadas de α , β e γ ciclodextrinas, contendo 6, 7 e 8 unidades de D-glicose respectivamente [47]. Estudos de raios-X [48], realizados em 1982, revelaram que as CD's possuem formato de um cone (Figura 7). No exterior desse cone, grupos hidroxilas ocupam a parte mais estreita e mais larga da estrutura. Assim, as hidroxilas das extremidades tornam as CD's solúveis em ambiente aquoso. Ao contrário do exterior, o interior da cavidade do cone apresenta caráter hidrofóbico [49].

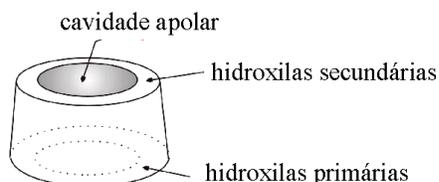


Figura 7: Estrutura, em cone, de uma ciclodextrina. A parte exterior é hidrofílica e a cavidade é hidrofóbica.

Devido à possibilidade de acomodação de moléculas e complexos apolares em sua cavidade, as CD's são muito utilizadas industrialmente, como por exemplo, em produtos farmacêuticos, alimentícios e agrícolas. Nesses produtos, as CD's agem como veículos de solubilização, onde as substâncias apolares podem ser carregadas em meio aquoso [50]. A Figura 8 mostra um agente fotossensibilizador (uma tetrafenilporfirina) com dois de seus grupos fenílicos acomodados nas cavidades hidrofóbicas de duas moléculas de ciclodextrinas.

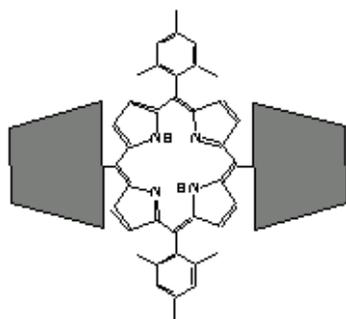


Figura 8: Representação de uma molécula de tetrafenilporfirina com dois de seus grupos fenílicos inclusos nas cavidades apolares de duas moléculas de ciclodextrinas formando um complexo 2:1.

Estudos têm demonstrado que a inclusão de fotossensibilizadores em ciclodextrinas pode melhorar a seletividade desses compostos em relação ao tecido

tumoral, além de diminuir a porcentagem de fotobranqueamento do mesmo. Isto acarretaria em administração de menores dosagens do FTS no paciente, diminuindo efeitos colaterais bem como o custo do tratamento [51,52].

Encapsulamento de FTS com lipossomas

Os lipossomas podem ser definidos como associações coloidais de lipídios anfipáticos, que se organizam espontaneamente em estruturas fechadas do tipo concha esférica. Eles podem ser preparados a partir de misturas lipídicas naturais extraídas e purificadas, ou a partir de lipídios sintéticos, disponíveis comercialmente. Esse tipo de micela pode ser classificado em termos de tamanho, número de lamelas, constituição lipídica, estabilidade e modo de preparo [53]. Destas, a classificação baseada em número e tamanho de bicamadas lipídicas é a mais usada [54]. Assim, podemos ter lipossomas com várias camadas lipídicas (MLV), unilamelares grandes (LUV) e unilamelares pequenas (SUV), além de outras. Tais tipos de estruturas podem ser obtidos inserindo-se um filme lipídico seco em solução aquosa para promover sua hidratação. A posterior agitação leva à formação de estruturas MLV. A extrusão dessas estruturas resulta em LUV. Já a sonificação e homogeneização ocasionam a formação de pequenas vesículas do tipo SUV [55].

Os lipossomas são excelentes transportadores de fotossensibilizadores e outros fármacos. Eles aumentam o potencial terapêutico de um composto, impedindo que este se perca no seu trajeto para um alvo específico, evitando simultaneamente a ocorrência de efeitos secundários nocivos em outras partes do organismo. A riqueza de trabalhos na literatura científica é prova de que este é o tipo de transportador mais utilizado no encapsulamento de fotossensibilizadores para uso em PDT. Seu emprego tem proporcionado excelentes resultados no que diz respeito à melhora da eficiência fotodinâmica de um FTS. Problemas como agregação, fotobranqueamento exagerado e seletividade podem ser minimizados quando se utiliza um lipossoma como agente transportador [56-60].

Encapsulamento de FTS com nanopartículas

As nanopartículas são materiais preparados a base de polímeros, de origem natural ou sintética, que podem ser obtidos através de polimerização de um monômero ou diretamente a partir de co-polímero [61].

As nanopartículas podem ser divididas em nanocápsulas e nanoesferas. As nanocápsulas são constituídas por um invólucro polimérico disposto ao redor de um núcleo oleoso, podendo o fármaco estar dissolvido nesse núcleo e/ou adsorvido na parede polimérica (Figura 9). Por outro lado, as nanoesferas, que não apresentam óleo em sua composição, são formadas por uma matriz

polimérica, onde os fármacos ficam revestindo a superfície ou retidos no interior da esfera [62].

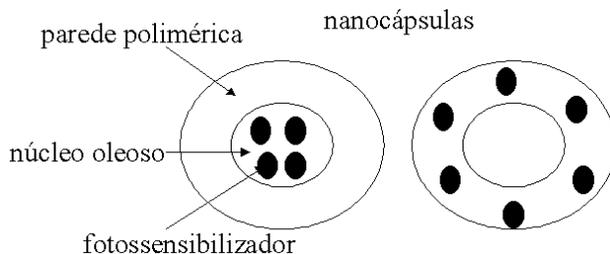


Figura 9: Representação esquemática de nanocápsulas com fotossensibilizador dissolvido em seu núcleo ou adsorvido na sua parede polimérica.

Pesquisadores têm relatado que o emprego de nanopartículas no encapsulamento de fotossensibilizadores torna esses agentes bastante seletivos para o tecido doente e ainda diminui o tempo que o FTS leva para se acumular no tumor. Além disso, as nanopartículas aumentam o poder de acúmulo do FTS em pontos estratégicos da célula cancerígena como, por exemplo, na mitocôndria e nos lisossomos [63,64].

Um procedimento bastante inteligente, que tem sido utilizado para aumentar a seletividade de fotossensibilizadores encapsulados em nanopartículas, é adicionar, na superfície de nanoesferas ou nanocápsulas, substâncias que sejam melhores reconhecidas pelas células tumorais. A adição, por exemplo, de folato na superfície de uma nanopartícula, contendo um FTS no seu interior, aumentaria a seletividade dessa estrutura em relação ao tecido tumoral. Isto ocorre porque o folato é utilizado por todas as células no processo de divisão celular. Como as células cancerígenas se dividem muito mais rapidamente do que as demais, elas requerem mais folato, o que faz com que a nanopartícula, revestida com esse composto, se acumule mais nas células de um tumor [64].

A busca por novos fotossensibilizadores

Até o presente momento, o único FTS aprovado para uso clínico, em pacientes com câncer, é o Photofrin[®]. Esse medicamento tem sido utilizado para tratar câncer de bexiga no Canadá, bem como tumores de pulmão, trato digestivo e urinário na França, Alemanha e Japão. Nos Estados Unidos, o Photofrin[®] foi aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para ser usado no combate ao câncer de esôfago e pulmão [65-68].

Embora o Photofrin[®] represente um importante progresso na pesquisa de novas terapias oncológicas, envolvendo pequenos efeitos colaterais, há algumas desvantagens que precisam ser citadas: 1) esse medicamento apresenta pequena absorção na região da “janela terapêutica”, limitando sua eficiência na PDT; 2) sua eliminação pelo organismo é bastante lenta, o que resulta numa prolongada fotossensibilidade do tecido

irradiado, exigindo que o paciente permaneça protegido da luz por vários dias; 3) é constituído por uma mistura complexa de derivados de hematoporfirinas, de maneira que o isolamento e purificação da droga não é simples nem barato, constituindo-se assim num fotossensibilizador pouco acessível economicamente (75mg de Photofrin[®] custam US\$ 2.200). Além disso, ele é 4) pouco seletivo para o tecido tumoral e 5) seu baixo coeficiente de extinção molar faz com que sejam necessárias altas dosagens do medicamento para se obter uma resposta terapêutica satisfatória. Essas altas dosagens provocam efeitos colaterais como crescimento da frequência urinária e espasmos da bexiga. Estes e outros inconvenientes têm estimulado a busca por novos e mais eficientes fotossensibilizadores para uso em PDT [3,45].

Dentre os compostos mais pesquisados, encontram-se as bacterioclorinas, clorinas, purpurinas e ftalocianinas. Estas substâncias apresentam a mesma estrutura principal das porfirinas, as quais são caracterizadas pelos quatro anéis pirrólicos (Figura 10).

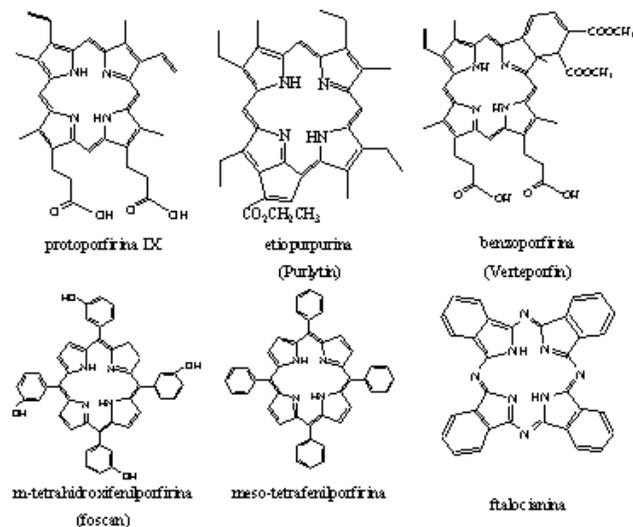


Figura 10: Estrutura de alguns fotossensibilizadores que têm sido estudados para serem utilizados em PDT.

As ftalocianinas, por exemplo, possuem uma alta afinidade pelos tecidos tumorais. Vários complexos de ftalocianinas com elementos como Zn, Al e Si têm apresentado boa atividade anti-tumoral. Além das ftalocianinas, o Foscan[®], uma substância da família das meso-tetrahidroxifenilporfirinas, também apresenta boa atividade anti-neoplásica. Essa substância tem sido investigada para ser utilizada no combate a diferentes tipos de câncer como esofágico, pulmonar, laríngeo, torácico e de pele [15]. Uma outra substância, também conhecida, é a monoaspartilclorina. Seu potencial de combate a tumores tem sido investigado contra adenocarcinoma de seios, carcinoma de células basais e escamosas [69]. E, por último, podemos citar a Purlitina. Esta clorina, que possui

absorção máxima em 650 nm (dentro da janela fototerapêutica), tem sido avaliada no tratamento de câncer de seio recorrente [70] e neovascularização da córnea [71].

Além das substâncias citadas, compostos naturais também têm sido estudados para serem usados em PDT. A clorofila e bacterioclorofila são exemplos de compostos naturais que têm sido investigados como possíveis candidatos a fotossensibilizadores. No entanto, essas substâncias são muito instáveis, sendo necessárias modificações em suas estruturas, a fim de torná-las mais adequadas para uso em PDT. A clorofila, por exemplo, pode ser empregada na síntese de clorinas que possuem moderada atividade *in vivo* [15,72].

Extratos de plantas também têm sido estudados como fonte de substâncias com potencial fotossensibilizador. Extratos de *Hypericum perforatum*, por exemplo, têm apresentado alta atividade fototóxica [73]. A mesma atividade tem sido verificada em pigmento verde isolado de *Psychotria acuminata*, uma planta originária de Belize, América Central, que demonstra um promissor potencial fototerapêutico [74]. Mais recentemente, também foi verificado que extrato etanólico de bambu pode induzir a morte celular programada (apoptose) de células leucêmicas rapidamente, na presença de luz e oxigênio. Essa propriedade fototóxica foi atribuída a duas substâncias, presentes no bambu, conhecidas como hidroxipurinas [75].

5 Considerações Finais

Desde o trabalho de Oscar Raab, em 1900, e dos esforços de Thomas Dougherty e tantos outros estudiosos, a PDT vem se tornando cada vez mais popular. É bem verdade que, no Brasil, ela ainda tem sido pouco difundida. No entanto com o surgimento de excelentes grupos de pesquisa e com a implantação de centros especializados nesse tipo de tratamento, como o do Hospital Amaral de Carvalho, em Jaú-SP, a PDT vem ganhando espaço em várias partes do país. Prova disto foi a realização do primeiro Congresso Brasileiro de Terapia Fotodinâmica, realizado em 2002, na cidade de São Pedro-SP. Nesse evento, os participantes puderam perceber o grande avanço que essa modalidade de tratamento tem sofrido. A busca de fotossensibilizadores cada vez mais eficientes e com menos efeitos colaterais, a utilização de sistemas encapsuladores para melhorar a atividade fotodinâmica desses agentes fototerapêuticos, a utilização de modernas fontes de luz bem como a implantação de novos e modernos centros de tratamento são provas de que esse tipo de terapia chegou para ficar. No entanto, é extremamente necessário que profissionais da área de física, química, medicina, biologia etc. unam seus esforços para dar continuidade ao desenvolvimento desta nova e revolucionária modalidade de tratamento médico.

6 Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer às agências financiadoras CAPES, FAPESP e CNPq pelo apoio ao nosso trabalho com PDT. Somos gratos também ao Prof. Dr. Antonio Cláudio Tedesco do Laboratório de Fotofísica e Fotobiologia da USP de Ribeirão Preto-SP pelas valiosas sugestões e contribuições que tem dado. Por fim, gostaríamos de agradecer aos vários colegas de laboratório que, com suas valiosas sugestões, ajudaram a construir essa revisão.

Referências

- [1] F. Dieguez, Super Interessante, ano **15**, n.1, 40 (2001).
- [2] M. Pivetta, Pesquisa Fapesp **99**, 46 (2004).
- [3] A.E.H. Machado, Quím. Nova **23**, n.2, 237 (2000).
- [4] O.Z. Raab, Biol. **39**, 524 (1900).
- [5] H. Tappeiner, A. Jesionek, Muench. Med. Wochenschr. **50**, 72 (1903).
- [6] A. Policard, Compt. Rend. Soc. Biol. **91**, 1423 (1924).
- [7] R.L. Lipson, Proc. 9th International Cancer Congress, 1966, Tokyo, Japan. p.393.
- [8] K.R. Weishaupt, C.J. Gomer, T.J. Dougherty, Cancer Res. **36**, 2326 (1976).
- [9] I.J. MacDonald, T.J. Dougherty, J. Porphyrins and Phthalocyan. **5**, 105 (2001).
- [10] J.G. Levy, Trends in Biotechnol. **13**, 14 (1995).
- [11] http://www.dermatologia.net/estetica/acne_mulher.htm. Julho de 2004.
- [12] <http://www.unifesp.br/comunicação/jpta/ed140/assis1.htm>. Julho de 2004.
- [13] <http://www.drvisao.com.br/leia/artigos/0001/n.asp>. Julho de 2004.
- [14] A. Segalla, C.D. Borsarelli, S.E. Braslavsky, J.D. Spikes, G. Roncucci, D. Dei, G. Chiti, G. Jori, E. Reddi, Photoch. Photobiol. Sci. **1**, 641 (2002).
- [15] R. Bonnett, Chem. Soc. Rev. **24** (1), 19 (1995).
- [16] N.L. Oleinick, R.L. Morris, I. Belichenko, Photoch. Photobiol. Sci. **1**, 1 (2002).

- [17] J.H. Nicola, E.M.D. Nicola, V.C. Colussi. In *Optical Methods for Tumor Treatment and Detection : Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy VI*, Thomas J. Dougherty, Editor, Proceedings of SPIE, v. 2972, p. 88, 1997.
- [18] C.S. Foote, *Photochem. Photobiol.* **54 (5)**, 659 (1991).
- [19] J.S. Beckman, T.W. Beckman, J. Chen, P.A. Marshall, B.A. Freeman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **87**, 1620 (1990).
- [20] J.S. Beckman, W.H. Koppenol, *Am. J. Physiol.* **271**, 1424 (1996).
- [21] J.S. Beckman, *Ann. NY Acad. Sci.* **738**, 69 (1994).
- [22] J.S. Beckman, H. Chen, *Methods Enzymol.* **233**, 229 (1994).
- [23] L.G. Sraels, E.D. Israels, *Stem Cells.* **17**, 306 (1999).
- [24] J. Usuda, S.M. Chiu, K. Azizuddin, L.Y. Xue, M. Lam, A.L. Nieminen, N.L. Oleinick, *Photochem. Photobiol.* **76(2)**, 217 (2002).
- [25] J.J. Reiners, J.A. Caruso, P. Mathieu, B. Chelladurai, X.M. Yin, D. Kessel, *Cell Death Differ.* **9(9)**, 934 (2002).
- [26] L.Y. Xue, S.M. Chiu, N.L. Oleinick, *Oncogene* **20(26)**, 3420 (2001).
- [27] R. Li, *Apoptosis* **8(3)**, 269 (2003).
- [28] S.G. Zhuang, M.C. Lynch, I.E. Kochevar, *Experiment. Cell Res.* **250(1)**, 203 (1999).
- [29] W.H. Chan, J.S. Yu, S.D. Yang, *Biochem. J.* **351**, 221 (2000).
- [30] M. Lam, N.L. Oleinick, A.L. Nieminen, *J. Biol. Chem.* **276**, 47379 (2001).
- [31] D. Kessel, M. Castelli, *Photochem. Photobiol.* **74(2)**, 318 (2001).
- [32] D.J. Granville, B.A. Cassidy, D.O. Ruehlmann, J.C. Choy, C. Brenner, G. Kroemer, C. van Breemen, P. Margaron, D.W. Hunt, B.M. McManus, *Am. J. Pathol.* **159(1)**, 305 (2001).
- [33] S.M. Ali, S.K. Chee, G.Y. Yuen, M. Olivo, *Int. J. Mol. Med.* **9(6)**, 601 (2002).
- [34] D. Grebenova, K. Kuzelova, K. Smetana, M. Pluskalova, H. Cajthamlova, I. Marinov, O. Fuchs, J. Soucek, P. Jarolim, Z. Hrkal, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology.* **69(2)**, 71 (2003).
- [35] K.K. Kim, Y. Kawano, Y. Yamazaki, *Anticancer Res.* **23(3B)**, 2355 (2003).
- [36] X.W. Cai, Y. Gu, T.C.Y. Liu, X.M. Ding, F.G. Liu, *Lasers in Surg. and Med.* **141**, 45 (2004).
- [37] M. Barberi-Heyob, P.O. Veldrine, J.L. Merlin, R. Millon, J. Abecassis, M.F. Poupon, F. Guillemin, *Inter. J. Oncol.* **24(4)**, 951 (2004).
- [38] M. Nonaka, H. Ikeda, T. Inokuchi, *Photochem. Photobiol.* **79(1)**, 94 (2004).
- [39] J. Barge, R. Decreau, M. Julliard, J.C. Hubaud, A.S. Sabatier, J.J. Grob, P. Verrando, *Experiment. Dermatol.* **13(1)**, 33 (2004).
- [40] S.D.R.M. Ferreira, A.C. Tedesco, G. Sousa, R.A. Zangaro, N.S. Silva, M.T.T. Pacheco, *C. Lasers Med. Sci.* **18(4)**, 207 (2004).
- [41] J.S. McCaughan, J.T. Guy, P. Hawley, W. Hicks, W. Inglis, L. Laufman, E. May, T.A. Nims, R. Sherman, *Lasers in Surgery and Medicine* **3**, 199 (1983).
- [42] W.J. Beyer, *Photochem. Photobiol. B: Biology* **36**, 153 (1996).
- [43] R.C. Mesquita, ER. Reis, J.H. Nicola, E.M.D. Nicola, *Acta Cirurgica Brasileira* (to be published).
- [44] J.N. Ribeiro, R.A. Jorge, *Anais da ABQ*, **2(52)**, 2004 (in press).
- [45] A.R. Silva, *Análise das propriedades fotossensibilizantes do In(III)-meso-tetrafenilporfirina para uso em Terapia Fotodinâmica*. Campinas: UNICAMP, IQ, 2003. (Dissertação de Mestrado).
- [46] J.N. Ribeiro, R.A. Jorge, *Analytica* **2(10)**, 43 (2004).
- [47] K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, *Chem. Rev.* **98**, 2045 (1998).
- [48] K. Lindner, W. Saenger, *Carbohydr. Res.* **99**, 103 (1982).
- [49] J. Szejtli, *Chem. Rev.* **98**, 1743 (1998).
- [50] A.R. Hedges, *Chem. Rev.* **98**, 2035 (1998).

- [51] D. Kessel, A. Morgan, G.M. Garbo, *Photochem. Photobiol.* **54(2)**, 193 (1991).
- [52] M. Bonchio, T. Carofiglio, M. Carraro, R. Fornasier, U. Tonellato, *Org. Lett.* **4(26)**, 4635 (2002).
- [53] D. Lichtenberg, Y. Barenholz, *Method Biochem. Anal.* **33**, 337 (1988).
- [54] F. Szoka Jr., D. Papahadjopoulos, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* **9**, 467 (1980).
- [55] <http://www.avantilipids.com>. Maio de 2004.
- [56] S.M.T. Nunes, F.S. Sguilla, A.C. Tedesco, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **36**, 587 (2003).
- [57] F. Jiang, L. Lilge, B. Logie, Y. Li, M. Chopp, *Photochem. Photobiol.* **65(4)**, 701 (1997).
- [58] L. Bourré, S. Thibaut, M. Fimiani, Y. Ferrand, G. Simonneaux, T. Patrice, *Pharmacol. Res.* **47(3)**, 253 (2003).
- [59] M.E. Rodriguez, J. Awruch, L.J. Dicelio, *Porphy. Phthalocya.* **6(2)**, 122 (2002).
- [60] B. Kristian, J. Moan, *Photochem. Photobiol.* **65(3)**, 403 (1997).
- [61] <http://www.ineti.pt/proj/cienciaviva/unfab/sistemaspolimericos.html>. Novembro de 2003.
- [62] S.R. Schaffazick, S.S.U. Guterres, L.D. Freitas, A.R. Pohlmann, *Quim. Nova.* **26(5)**, 726 (2003).
- [63] R. Bachor, C.R. Shea, R. Gillies, T.P. Hasan, *Natl. Acad. Sci. USA.* **88**, 1580 (1991).
- [64] Y.N. Konan, J. Chevallier, R. Gurny, E. Allemann, *Photochem. Photobiol.* **77(6)**, 638 (2003).
- [65] P.J. Stevens, M. Sekido, R.J. Lee, *Anticancer Res.* **24(1)**, 161 (2004).
- [66] T.J. Dougherty, C.J. Gomer, B.W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korblik, J. Moan, Q.J. Peng, *Nat. Cancer Inst.* **90**, 889 (1998).
- [67] <http://209.41.253.5:80/pdt@lmrf>. Janeiro de 2004.
- [68] <http://cancernet.nci.nih.gov>. Janeiro de 2004.
- [69] S.W. Taber, V.H. Fingar, C.T. Coots, T.J. Wieman, *Clin. Cancer. Res.* **4**, 2741 (1998).
- [70] T.S. Mang, R. Allison, G. Hewston, W. Snider, R. Moskowitz, *Cancer J. Sci. Am.* **4**, 378 (1998).
- [71] G.B. Primbs, R. Casey, K. Wamser, W.J. Snyder, D.H. Crean, *Ophthalmic Surg. Lasers* **29**, 832 (1998).
- [72] G.A. Kostenich, I.N. Zhuravkin, E.A. Zhavrid, J. *Photochem. Photobiol B: Biology* **22**, 211 (1994).
- [73] K. Hostanska, J. Reichling, S. Bommer, M. Weber, R. Saller, *Pharmazie* **57(5)**, 323 (2002).
- [74] J.A. Glinski, E. David, G. Hansen, S.F. Leonard, P. Pitner, S. Pav, R. Arvigo, M.J. Balick, E. Panti, P.M. Grob, *Photochem. Photobiol.* **62(1)**, 144 (1995).
- [75] K.K. Kim, Y. Kawano, Y. Yamazaki, *Anticancer Res.* **23(23B)**, 2355 (2003).
- [76] D.M. Zezell, Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas (1987).
- [77] D.M. Zezell, Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas (1991).
- [78] V.C. Colussi, Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas (1997).