MECANISMO DE AÇÃO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTINEOPLÁSICA

MARIA IVAIANE BOAVENTURA DE SOBRAL; CAMILA MOURA MAIA DORNELAS; KAREN CHERUBINI; SANDRA APARECIDA MARINHO

RESUMO

Introdução: A terapia fotodinâmica (PDT) antineoplásica é um tratamento de ação localizada, que apresenta efeitos sistêmicos. **Objetivo:** Realizar uma breve revisão de literatura narrativa referente aos mecanismos de ação da PDT diante de neoplasias malignas. **Materiais e Métodos:** Foi realizada uma busca de artigos disponíveis nas bases de dados: *Pubmed*, *Scielo* e *Google Scholar*, sendo selecionados 28 artigos que preencheram os critérios da pesquisa. **Resultados:** Foi verificado que essa abordagem terapêutica se sobressai em relação a outras do gênero, por alcançar e combater os tecidos tumorais sem provocar destruição generalizada de componentes saudáveis da região adjacente e conseguir viabilizar danos irreversíveis às membranas celulares das células tumorais, acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) na região e indução de apoptose, autofagia e também necrose celular. O mecanismo de ação mais comum envolve dano à membrana mitocondrial e indução de apoptose celular, por liberação de citocromo C e caspases. Além disso, ocorre liberação de enzimas lisossomais para o citosol celular, assim como ativação da resposta imunológica, com presença de inflamação aguda e liberação de citocinas, levando a um influxo de leucócitos ao local, para auxiliar na destruição tumoral e também a estimulação do sistema imunológico a reconhecer e destruir células tumorais, mesmo em sítios distantes. **Conclusão:** Os lasers mais utilizados na PDT antineoplásica foram os sistemas de argônio, e os fotossensibilizadores, os derivados substitutivos da porfirina, clorina e bacterioclorina, como o Photofrin®, Ácido Aminolevulínico (ALA) e Foscan®. Ainda são necessários mais estudos clínicos para se consolidar o estabelecimento de um protocolo único de tratamento antineoplásico a partir da terapia fotodinâmica.

Palavras-chave: Fotoquimioterapia; Neoplasias; Fármacos Fotossensibilizantes; Lasers; Resposta Imunológica.

1 INTRODUÇÃO

Os tratamentos das neoplasias malignas, como a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, são imunossupressores. A terapia fotodinâmica (PDT) seria uma terapia ideal, já que representa um processo local capaz de destruir eficazmente o tumor e, ao mesmo tempo, sensibilizar o sistema imunológico para rastrear e destruir metástases (CASTANO *et al.*, 2005a; KWIATKOWSKI *et al*., 2018)

A PDT consiste na associação de luz, sob determinado comprimento de onda, com um agente fotossensibilizador que absorve essa luz, no intuito de formar espécies reativas de oxigênio (EROs), que são citotóxicas. A PDT também pode ser chamada de fotoquimioterapia (GARCEZ *et al.*, 2003), sendo seu efeito proporcional ao produto da concentração do fotossensibilizador e à dose de iluminação (ROTOMSKIS *et al*., 1998). A indução de morte celular pela PDT depende da concentração da droga e da fluência da luz. Produtos da

DOI: 10.51161/conasau/13261

fotossensibilização danificam a membrana plasmática levando à necrose, enquanto doses mais baixas e subletais resultam em apoptose (FICKWEILER *et al.*, 1999). O emprego de luz ou corante isoladamente não apresenta efeito tóxico (WOOD *et al.*,1999). A toxicidade ao paciente desenvolve-se após a exposição do fotossensibilizador à luz e apenas na área exposta (MÜLLER *et al.*, 1998).

Os efeitos da PDT antineoplásica são: ação antivascular, que leva à trombose e hemorragia dos vasos nutrientes tumorais, e também morte tumoral via privação de oxigênio e nutrientes; morte tumoral via apoptose ou necrose, pelas EROs, após ativação do fotossensibilizador; ativação da resposta imunológica, com inflamação aguda e liberação de citocinas, o que pode levar a um influxo de leucócitos que auxiliariam na destruição tumoral e estimulação do sistema imunológico a reconhecer e destruir células, mesmo em sítios distantes (CASTANO *et al.*, 2005b).

O objetivo deste trabalho foi realizar uma breve revisão de literatura narrativa, com intuito de esclarecer o mecanismo de ação da PDT antineoplásica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para esta revisão narrativa, foi realizada uma busca por artigos nas bases de dados *Pubmed*, *Scielo* e *Google Scholar*, referente ao tema terapia fotodinâmica antineoplásica, com inclusão de artigos publicados na língua inglesa e exclusão de artigos não condizentes com o tema.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após leitura dos artigos levantados, foram selecionados aqueles que se referiam ao tema, sendo utilizado um total de 28 artigos e também um livro.

Segundo Mang (2004), os lasers utilizados na PDT antineoplásica são os sistemas de argônio, na forma contínua, com comprimento de onda de 630 nanometros (nm), associado a um agente fotossensibilizador. Esses lasers foram considerados pelo autor como padrão-ouro para PDT clínica. O laser diodo é um aparelho portátil e de custo acessível, porém a potência na ponta da fibra óptica não excede a 2,5 watts (NYMAN; HYNNINEN, 2004). Os lasers de argônio estão entre os mais populares aparelhos indicados para PDT clínica antineoplásica, sendo especialmente indicados para a PDT endoscópica, assim como os lasers de diodo. Em algumas aplicações, um difusor é fixado na extremidade da fibra óptica, para permitir uma irradiação mais uniforme dentro do lúmen do tumor. Já as lâmpadas apresentam a vantagem de serem mais fáceis de manipular, sendo portáteis e de custo acessível, porém o comprimento de onda dos lasers é mais claramente identificável. A fibra óptica acoplada à saída da lâmpada determina limitação da sua potência, em função da pobre qualidade e do tamanho do feixe. Por essa razão, o uso de lâmpadas está limitado a lesões cutâneas de grande extensão, não podendo ser utilizadas para PDT endoscópica. As lâmpadas halógenas com filamento de tungstênio (400 a 1100nm) e as fluorescentes (400 a 450nm) são empregadas principalmente para PDT tópica, de lesões superficiais com ALA. Como o laser tem comprimento de onda único, só pode ser associado a um fotossensibilizador que absorva a energia naquele comprimento de onda específico. Já as lâmpadas fornecem ampla variedade de comprimentos de onda, podendo ser combinadas com uma variedade de fotossensibilizadores, que absorvem a luz dentro de seu espectro de emissão. Já os *Light Emmiting Diode* (LEDs) apresentam baixo custo, alta taxa de fluência (150mW/cm^2) e são versáteis, além de portáteis, mas ainda não têm seu uso totalmente consolidado na PDT (BRANCALEON; MOSELEY, 2002). *Lasers* e lâmpadas têm sido empregados na PDT com a mesma eficácia. Em sítios acessíveis, como pele e cavidade oral, em que a luz pode ser entregue diretamente, as lâmpadas têm a vantagem de dispensarem o

acoplamento de fibra óptica (BRANCALEON; MOSELEY, 2002). A eficácia da PDT depende da dose de luz aplicada, da concentração do fotossensibilizador e da disponibilidade de oxigênio. Para causar morte celular, o efeito deve exceder certo limiar (NYMAN; HYNNINEN, 2004).

De acordo com Dougherty *et al.* (1998), a PDT resulta em uma seqüência de processos fotoquímicos e fotobiológicos, que danifica irreversivelmente os tecidos tumorais. Segundo os autores, o Photofrin® é o fotossensibilizador mais utilizado na PDT clínica, e tem como alvo a mitocôndria, induzindo, portanto, apoptose. Os alvos da PDT antineoplásica incluem as células tumorais, a microvasculatura do leito neoplásico, bem como o sistema imunológico e a reação inflamatória do hospedeiro. A combinação de todos esses componentes é requerida para a cura do tumor. Uma forte reação inflamatória é o evento central do mecanismo de destruição neoplásica pela PDT, com linfócitos eliminando pequenos focos de células tumorais viáveis. Embora seja um tratamento local, a PDT apresenta efeito sistêmico e também pode ser combinada com vários protocolos de imunoterapia. Outro aspecto a se considerar é que os protocolos para tratamento de uma mesma neoplasia podem variar consideravelmente (BRANCALEON; MOSELEY, 2002).

Em relação aos fotossensibilizadores, a maioria dos empregados na PDT antineoplásica são tetrapirróis cíclicos, que compreendem derivados substitutivos da porfirina, clorina e bacterioclorina (GARCEZ *et al.*, 2003; CASTANO *et al.*, 2004; DONOHOE *et al*., 2019). O Photofrin® é um derivado da hematoporfirina e foi o primeiro fotossensibilizador a obter aprovação regular para tratamento de câncer em vários países, inclusive nos Estados Unidos. É fotossensibilizador mais popular utilizado na PDT, sendo relativamente seguro e atóxico, porém os pacientes devem evitar a luz solar de quatro a oito semanas após seu uso, devido a fotossensibilidade cutânea tardia. Contudo, apresenta ação antineoplásica pouco eficaz (CASTANO *et al.*, 2004).

Já o ácido aminolevulínico (ALA) é um precursor da hematoporfirina que, quando aplicado topicamente, não apresenta fotossensibilidade sistêmica. Ele necessita de alta energia ou tratamentos mais longos e apresenta dor durante a aplicação, que deve ser realizada por via tópica quatro horas antes da iluminação (SALVA, 2002). A principal aplicação da PDT tópica com ALA é o tratamento da doença de Bowen, um carcinoma de células basais e também para tratamento da queratose actínica (CLARK *et al.*, 2003). Segundo Uehlinger *et al.* (2000), a administração de ALA leva à formação de protoporfirina IX (PpIX), um precursor do heme, que se forma e acumula preferencialmente em tecidos com *turnover* acelerado. O ALA é hidrofílico, porém seus derivados podem ser hidro ou lipofílicos. De acordo com os autores, o aumento da lipofilicidade aumenta a penetração em profundidade da droga nas lesões-alvo após aplicação tópica, resultando em uma distribuição mais homogênea da mesma.

Já na família das clorinas, pode-se citar o Foscan®, empregado na PDT de neoplasias malignas de cabeça e pescoço (DONOHOE *et al.*, 2009). Sua administração é endovenosa, e a iluminação deve ocorrer apenas quatro dias após a injeção. Nesse período, o paciente deve evitar exposição direta à luz solar e uma semana após o tratamento. O Foscan® também apresenta o inconveniente da dor durante a terapia e a presença da fotossensibilidade ocorre enquanto a droga estiver ativa, mesmo na ausência de luz solar (ALLISON *et al*., 2004).

XIE *et al.* (2022) relataram a possibilidade de uso de uma substância fotoquímica natural, a curcumina (derivada da cúrcuma), e constataram que ela apresentou potencial antineoplásico e demonstrou atividade pró-apoptótica a antioxidante em estudos *in vitro* e experimentos com animais. No entanto, sua limitação está relacionada à biodisponibilidade, uma vez que apresenta baixa absorção intestinal e rápida eliminação metabólica, impossibilitando um estabelecimento de protocolo consistente.

A PDT requer uma fonte de luz para fornecer a energia necessária à produção de oxigênio singleto no local e para promover reações de óxido-redução ou redox

DOI: 10.51161/conasau/13261

(WAINWRIGHT, 1998). As reações de oxidação são mediadas por radicais hidroxila e superóxido, produzidos por reações redox, enquanto o oxigênio singleto é formado pelo oxigênio em seu estado molecular puro, via processo de transferência de energia. Os radicais hidroxila, superóxido e oxigênio singleto são chamados de espécies reativas de oxigênio ou EROs (WAINWRIGHT; CROSSLEY, 2004). As EROs são agentes oxidantes que podem reagir diretamente com muitas biomoléculas. Devido à alta reatividade e à meia-vida curta do oxigênio singleto e dos radicais hidroxila, apenas moléculas e estruturas próximas à área de sua produção, ou seja, nas áreas de localização do fotossensibilizador, são diretamente afetadas pela PDT (CASTANO *et al.*, 2004). As EROs são responsáveis por danos irreversíveis às membranas celulares, incluindo a plasmática, a mitocondrial, a lisossomal e a nuclear, além de causarem alterações protéicas (FERGUSON, 2002; KONAN *et al.*, 2002).

A morte celular também pode ser causada pela redução dos nutrientes que resulta do dano à membrana, ao DNA e às enzimas lisossomais, assim como pela inibição do metabolismo energético da célula. O alvo crítico pode ser distinto em diferentes células, ainda que seja empregado o mesmo fotossensibilizador (DUBBELMAN; PENNING, 1991). O dano ao tecido normal é minimizado pelo acúmulo seletivo do fotossensibilizador no tecido-alvo e aplicação da luz em um espaço confinado e de maneira focada (CASTANO *et al.*, 2004).

Devido a uma resposta ao estresse agudo sofrido pela célula na PDT, há também alterações no metabolismo de cálcio e lipídio e na produção de citocinas. Muitas das respostas celulares estão centradas na mitocôndria. Estes efeitos levam à indução de apoptose via mitocôndria, envolvendo caspases e liberação de citocromo C (KESSEL; LUO, 1999; CASTANO *et al.*, 2005b; NKUNE *et al.*, 2021). A liberação de citocromo C está associada com a perda do potencial de membrana mitocondrial, sendo suficiente para iniciar uma resposta apoptótica (KESSEL; LUO, 1999). Após liberação do citocromo C pela mitocôndria, há a ativação das caspases e subseqüente estágio final de apoptose (MOOR, 2000). O caminho mais comum para apoptose das células tratadas pela PDT envolve citocromo C e as caspases, sendo improvável que haja um único mecanismo para a resposta celular à PDT. As respostas variam com o tipo, genética e metabolismo celulares, assim como a localização intracelular do fotossensibilizador (OLEINICK *et al.*, 2002). Além de estar relacionada à liberação do citocromo C pela mitocôndria, a resposta apoptótica está associada à liberação, pelo lisossomo, de enzimas proteolíticas para o citosol (KESSEL; LUO, 2001).

Como vantagens da PDT antineoplásica podem-se citar: resultados clínicos mais favoráveis, se comparados aos tratamentos-padrão; possibilidade de tratamento simultâneo de lesões múltiplas; tempo de cura relativamente curto; impedimento do crescimento do tumor em pacientes imunocomprometidos; boa tolerância do paciente ao tratamento; bom resultado estético (BABILAS *et al.*, 2005), além de ausência de acúmulo de toxicidade (SIERÓN *et al.*, 2003).

4 CONCLUSÃO

A PDT antineoplásica é uma terapia promissora, porém há grande variedade de protocolos utilizados. Os lasers mais utilizados são o de argônio e os fotossensiblizadores, são os derivados substitutivos da porfirina e da clorina. Seu mecanismo de ação envolve, principalmente a liberação de citocromo C pela mitocôndria, após sua membrana ter sido danificada pelas EROs, e ativação de caspases desencadeando apoptose celular. Além disso, ocorre liberação de enzimas proteolíticas, pelo lisossomo, para o citosol.

REFERÊNCIAS

ALLISON, R.R. et al. Photosensitizers in clinical PDT. **Photodiag. Photodyn. Ther**., v. 1,

n. 1, p. 27-42, 2004.

BABILAS, P. et al. Photodynamic therapy in dermatology- an update. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v. 21, n. 3, p. 142-149, 2005.

BRANCALEON, L.; MOSELEY, H. Laser and non-laser light sources for photodynamic therapy. **Lasers Med. Sci.,** v. 17, n. 3, p.173-186, 2002.

CASTANO, A.P.; DEMIDOVA, T.N.; HAMBLIN, M.R. Mechanisms in photodynamic therapy: part one- photosensitizers, photochemistry and cellular localization. **Phothodiag. Photodyn. Ther.**, v. 1, n. 4, p. 279-293, 2004.

CASTANO, A.P.; DEMIDOVA, T.N.; HAMBLIN, M.R. Mechanisms in photodynamic therapy: part three-photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction. **Phothodiag. Photodyn. Ther.,** v. 2, n. 2, p. 91-106, 2005a.

CASTANO, A.P.; DEMIDOVA, T.N.; HAMBLIN, M.R. Mechanisms in photodynamic therapy: part two- cellular signaling, cell metabolism and modes of cell death. **Phothodiag. Photodyn. Ther.**, v. 2, n. 1, p. 1-23, 2005b.

DONOHOE, C. *et al.* Cell death in photodynamic therapy: From oxidative stress to anti-tumor immunity. **Biochim. Biophys. Acta Rev. Canc.**, v. 1872, n. 2, p. 188-308, 2019.

DOUGHERTY, T.J. et al. Photodynamic therapy. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 90, n. 12, p. 889-905, 1998.

DUBBELMAN, T.M.A.R.; PENNING, L.C. New photosensitizers in photodynamic therapy. Cellular aspects. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 9, n. 3-4, p. 393-395, 1991.

FERGUSON, J. Photosensitivity due to drugs. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.,** v. 18, n. 5, p. 262-269, 2002.

FICKWEILER, S. et al. Photosensitization of human skin cell lines by ATMPn (9-acetoxy- 2,7,12,17-tetrakis-(β-methoxyethyl)-porphycene) in vitro: mechanism of action. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 48, n. 1, p. 27-35, 1999.

GARCEZ, A.A. et al. Terapia fotodinâmica em odontologia: laser de baixa potência para redução microbiana. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, v. 57, n. 3, p. 223-225, 2003.

KESSEL, D.; LUO, Y. Intracellular sites of photodamage as a factor in apoptotic cell death. **J. Porphyrins Phthalocyanines**, v. 5, n. 2, p. 181-184, 2001.

KONAN, Y.N.; GURNY, R.; ALLÉMANN, E. State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 66, n. 2, p. 89-106, 2002

KWIATKOWSKI, S. et al. Photodynamic therapy: mechanisms, photosensitizers and combinations. **Biomed. Pharmacother.**, v. 106, p. 1098-1107, 2018.

MANG, T.S. Lasers and light sources for PDT: past, present and future. **Photodiag.**

Photodyn. Ther., v. 1, n. 1, p. 43-48, 2004.

MOOR, A.C.E. Signaling pathways in cell death and survival after photodynamic therapy. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 57, n. 1, p. 1-13, 2000.

MÜLLER, S. et al. Enhanced photodynamic effects using fractionated laser light. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 42, n. 1, p. 67-70, 1998.

NYMAN, E.S.; HYNNINEN, P.H. Research advances in the use of tetrapyrrolic photosensitizers for photodynamic therapy. J**. Photochem. Photobiol. B**, v. 73, n. 1-2, p. 1-28, 2004.

NKUNE, N. W. *et al*. Photodynamic therapy-mediated immune responses in three-dimensional tumor models. **Int. J. Molec. Sci.**, v. 22, n. 23, p. 12618, 2021.
OLEINICK, N.L.; MORRIS, R.L.; BELICHENKO, I. The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why and how. **Photochem. Photobiol. Sci.**, v. 1, n. 1, p. 1-21, 2002.

ROTOMSKIS, R. *et al.* Phototransformation of sensitisers: 3. Implications for clinical dosimetry. **Lasers Med. Sci., v. 13**, p. 271–278, 1998.

SALVA, K.A. Photodynamic therapy: unapproved uses, dosages or indications. **Clin. Dermatol.**, v. 20, n. 5, p. 571-581, 2002.

SIERÓN, A. et al. Photodynamic therapy (PDT) using topically applied δaminolevulinic acid (ALA) for the treatment of oral leukoplakia. **J. Oral Pathol. Med.**, v. 32, n. 6, p. 330-336, 2003.
UEHLINGER, P. et al. 5-Aminolevulinic acid and its derivatives: physical chemical properties and protoporphyrin IX formation in cultured cells. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 54, n. 1, p. 72-80, 2000.

XIE, L. *et al.* Curcumin combined with photodynamic therapy, promising therapies for the treatment of cancer. **Biomed. Pharmacother.**, v. 146, n. 112567, p. 112-567, 2022.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 42, n. 1, p. 13-28, 1998.

WAINWRIGHT, M.; CROSSLEY, K.B. Photosensitising agents-circumventing resistance and breaking down biofilms: a review. **Int. Biodeterior. Biodegradation**, v. 53, n. 2, p. 119- 126, 2004.

WOOD, S. et al. An in vitro study of the use of photodynamic therapy for the treatment of natural oral plaque biofilms formed in vivo. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 50, n. 1, p. 1-7, 1999.