

## **VI. Conclusões**



Deste trabalho, cujo objectivo principal foi sintetizar sensibilizadores do tipo porfirínico e testar a sua aplicabilidade em terapia fotodinâmica para o cancro, podemos tirar várias conclusões.

1. Foi possível sintetizar dois sensibilizadores do tipo porfirínico: 5,10,15,20-*tetrakis*(2-bromo-3-hidroxifenil)porfirina e 5,15-*bis*(2-bromo-3-hidroxifenil)porfirina.
2. A caracterização química das moléculas obtidas confirmou serem potenciais fotossensibilizadores passíveis de ser utilizados em PDT.
3. Os estudos de captação comprovaram que ambos os sensibilizadores são captados pela células humanas de adenocarcinoma colo-rectal WiDr. A captação celular de ambos os sensibilizadores é proporcional à concentração de incubação. As células WiDr captam dezassete vezes mais o sensibilizador TBr4HPP do que BBr2HPP.
4. Dos estudos de microscopia de fluorescência foi possível concluir que a distribuição intracelular, de ambos os sensibilizadores, parece coincidir com a distribuição do complexo mitocondrial.
5. O ensaio do MTT realizado em culturas de adenocarcinoma colo-rectal WiDr submetidas ao tratamento fotodinâmico baseado nos sensibilizadores sintetizados mostrou terem efeitos anti-proliferativos. É possível atingir o IC<sub>50</sub> das células WiDr com o tratamento fotodinâmico com apenas 180nM de BBr2HPP. O IC<sub>50</sub> de

BBr2HPP é obtido com concentração mais baixa que com TBr4HPP (464nM), ambos têm IC50 mais baixo que o composto de referência Photofrin® (666nM).

6. A realização de ensaios de proliferação nos quais se omitiu a activação pela luz permitiu concluir que a irradiação é fundamental para a actividade citotóxica dos sensibilizadores.
7. A PDT com ambos os sensibilizadores têm efeitos sobre a viabilidade celular das culturas celulares WiDr, sendo superior o efeito de BBr2HPP.
8. A principal via de morte induzida pelo tratamento é a necrose.
9. A avaliação do potencial de membrana mitocondrial voltou a implicar a mitocôndria na reacção fotodinâmica.
10. Em relação às ROS avaliadas, não se provou a implicação de peróxido de hidrogénio neste processo fotooxidativo. Verificou-se uma tendência para o aumento da concentração do anião superóxido com o tratamento pelo BBr2HPP.
11. A realização de estudos *in vivo* permitiu concluir que as formulações injectadas não têm toxicidade letal.
12. O tratamento fotodinâmico com ambos os sensibilizadores têm efeito sobre significativo sobre crescimento de xenotransplantes da linha celular humana de adenocarcinoma colo-rectal WiDR em relação ao grupo controlo.

13. Apesar de não haver diferenças significativas nos vários protocolos de PDT analisados, o tratamento com BBr2HPP e irradiação após 72 horas tem efeito mais rápido.
  
14. Os resultados dos estudos *in vivo* sugerem ainda que a PDT com BBr2HPP e TBr4HPP deve ser estudada mais aprofundadamente em modelo animal para conhecer a farmacocinética, eliminação e as condições de otimização do tratamento.
  
15. Este estudo permitiu comparar a PDT com os sensibilizadores BBr2HPP e TBr4HPP e provar que têm efeito fotodinâmico *in vitro* e *in vivo*, induzindo morte celular por necrose na linha celular de adenocarcinoma colo-rectal WiDr.

