

Nuno Guilherme Monteiro Rodrigues

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Terapia Fotodinâmica no Tratamento do Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Sofia Ferreira, da Dra. Ana Baptista e do Professor Doutor João Leitão e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Nuno Guilherme Monteiro Rodrigues

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Terapia Fotodinâmica no Tratamento do Cancro” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação, respetivamente, da Dra. Sofia Ferreira, da Dra. Ana Baptista e do Professor Doutor João Leitão e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Índice

Parte I – Relatório de Estágio de Indústria Farmacêutica e Farmácia Comunitária

| | |
|--|----|
| 1. Introdução | 2 |
| 2. Análise SWOT | 4 |
| 2.1. Análise SWOT – Indústria Farmacêutica | 5 |
| 2.1.1. Pontos Fortes | 5 |
| 2.1.2. Pontos Fracos | 6 |
| 2.1.3. Oportunidades | 7 |
| 2.1.4. Ameaças | 8 |
| 2.2. Análise SWOT – Farmácia Comunitária | 9 |
| 2.2.1. Pontos Fortes | 9 |
| 2.2.2. Pontos Fracos | 12 |
| 2.2.3. Oportunidades | 13 |
| 2.2.4. Ameaças | 14 |
| 3. Conclusão | 15 |
| 4. Referência Bibliográficas | 16 |
| 5. Anexos | 17 |

Parte II – Monografia intitulada: "Terapia Fotodinâmica no Tratamento do Cancro"

| | |
|---|----|
| 1. Introdução | 20 |
| 2. Desenvolvimento da Terapia Fotodinâmica | 21 |
| 3. Mecanismo de Ação | 22 |
| 4. Destrução Tumoral | 24 |
| 4.1. Efeito Direto sobre as Células Tumorais | 25 |
| 4.1.1. Apoptose | 25 |
| 4.1.2. Necrose | 25 |
| 4.1.3. Autofagia | 26 |
| 4.2. Efeito Vascular | 26 |
| 4.3. Efeito sobre o Sistema Imunitário | 27 |
| 5. Elementos Essenciais na Terapia Fotodinâmica | 29 |
| 5.1. Fotossensibilizador | 29 |
| 5.2. Oxigénio | 30 |
| 5.3. Luz | 31 |
| 6. Utilização Clínica e Protocolo Terapêutico | 33 |
| 7. Vantagens e Limitações da Terapia Fotodinâmica | 34 |
| 8. Fotossensibilizadores em Utilização Clínica | 36 |

| | | |
|------|--|----|
| 8.1. | Porfímero Sódico..... | 37 |
| 8.2. | Ácido 5-aminolevulínico (ALA) e Aminolevulinato de metilo (MAL)..... | 37 |
| 8.3. | Temoporfina | 37 |
| 8.4. | Ftalocianina Tetrasulfonada de Alumínio | 38 |
| 8.5. | Verteporfina..... | 38 |
| 9. | Perspetivas Futuras..... | 39 |
| 10. | Conclusão | 42 |
| 11. | Referência Bibliográficas | 43 |

Agradecimentos

À minha mãe, pelo o esforço, pela dedicação e por todo o amor que todos os dias alegra a
minha vida.

Ao meu irmão, por todos os momentos, boa disposição e conselhos dados.

Ao meu pai e ao Manuel Bento que sei que estão a olhar por mim e a apoiar-me
incondicionalmente.

À restante família, namorada e todos os meus amigos por todos os momentos passados e
alegrias que levo para o resto da vida.

À Imperial TAFFUC, pelos ensinamentos, amigos, viagens e momentos que levarei para
sempre no coração.

À equipa do Planeamento e Gestão da Produção e orientadora, Dr.^a Ana Sofia Ferreira pela
oportunidade, receção, amizade e dedicação durante o meu estágio em indústria.

A toda equipa da Farmácia Santa Isabel e orientadora, Dr.^a Ana Sofia Baptista pela
oportunidade de estágios, pela transmissão de conhecimentos, incentivo e amizade, bem
como pelos bons momentos passados.

Ao Professor Doutor João Leitão, um agradecimento muito especial, por toda a ajuda, por
todos os conselhos, por toda a paciência, e pela disponibilidade.

Resumo – Relatório de Estágios

O Estágio Curricular, inserido no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, representa o fim da jornada acadêmica e o início da vida profissional. Nesta unidade curricular, tive a possibilidade de realizar o estágio na Bluepharma Indústria Farmacêutica e na Farmácia Santa Isabel. O presente relatório representa uma reflexão da minha experiência pessoal que será abordada sob a forma de uma análise SWOT. Nesta análise SWOT irei referir os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças que surgiram no decorrer dos sete meses de estágio em indústria farmacêutica e farmácia comunitária de modo a avaliar a minha formação e experiência adquirida.

Palavras-chave: Relatório de Estágios, Indústria Farmacêutica, Farmácia Comunitária, Análise SWOT.

Abstract

The Curricular Internship, part of the Integrated Master's degree in Pharmaceutical Sciences' study plan, represents the end of the academic journey and the beginning of professional life. In this course, I had the possibility to do the internship at Bluepharma Indústria Farmacêutica and at Farmácia Santa Isabel. This report represents a reflection of my personal experience which will be presented in the form of a SWOT analysis. In this SWOT analysis I will describe the strengths, weaknesses, opportunities and threats that I have faced during the seven-month internship in pharmaceutical industry and community pharmacy, evaluating my training and my experience.

Keywords: Internship Report, Pharmaceutical Industry, Community Pharmacy, SWOT analysis.

Resumo – Monografia

O cancro é uma doença que consiste na proliferação anormal de células devido a mutações ocorridas no DNA. É uma das maiores causas de morte no mundo e a sua incidência e a taxa de mortalidade tende a aumentar a cada ano que passa. Tal levou a um grande interesse por parte dos investigadores no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas de maneira a contrariar esta tendência.

A Terapia Fotodinâmica (PDT) é uma terapia considerada segura desenvolvida em alternativa às terapias denominadas tradicionais (radioterapia, cirurgia e quimioterapia). Esta terapia baseia-se numa reação fotoquímica, devida à interação simultânea entre um fotossensibilizador (PS), luz e oxigénio, permitindo a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS). Estas promovem o desencadeamento de diversos mecanismos de morte celular, permitindo a destruição do tecido e da vasculatura tumoral e a estimulação do sistema imunitário. Comparada a outras terapias oncológicas, a PDT apresenta diversas vantagens como a grande seletividade tumoral, bom perfil de tolerabilidade e ausência de efeitos secundários e de mecanismos de resistência específicos presentes nas terapias tradicionais.

No entanto, os PS atualmente aprovados ainda apresentam uma eficácia limitada e fotossensibilidade cutânea prolongada, existindo um longo caminho na melhoria e desenvolvimento da PDT. Este desenvolvimento deve incidir na descoberta de novos PS, com propriedades o mais próximo possível do PS ideal, bem como em novas estratégias e protocolos com o intuito de retirar a potencialidade máxima desta terapia.

A presente monografia tem como objetivo uma revisão da literatura sobre a PDT, os seus mecanismos, indicações e utilizações clínicas atuais, vantagens e limitações e perspetivas futuras desta terapia.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica, Cancro, Fotossensibilizador, Luz, Oxigénio.

Abstract

Cancer is a disease that consists in abnormal cells proliferation due to mutations in the DNA. This disease is one of the main causes of death in the world and its incidence and mortality rate tends to increase each year. This has led to a great deal of interest from researchers in developing new therapeutic approaches to counter this trend.

Photodynamic Therapy (PDT) is a safe therapy developed as an alternative to traditional therapies (radiotherapy, surgery and chemotherapy). This therapy is based on a photochemical reaction, due to the simultaneously interaction between a photosensitizer (PS), light and oxygen, allowing the formation of reactive oxygen species (ROS). These promote the triggering of various mechanisms of cell death, allowing destruction of tissue and tumor vasculature and stimulation of the immune system. Compared to other oncological therapies, PDT has several advantages such as high tumor selectivity, good tolerability profile and lack of side effects and specific resistance mechanisms present in traditional therapies.

However, the currently approved PS still have limited efficacy and prolonged skin photosensitivity, demonstrating that there is a long way to improve and develop this therapy. This development should focus on the discovery of new PS, with properties as close as possible to the ideal photosensitizer, as well in new strategies and protocols in order to withdraw the maximum potential of this therapy.

This monograph aims to review the literature on PDT, its mechanisms, indications and current clinical uses, advantages and limitations and future perspectives of this therapy.

Keywords: Photodynamic Therapy, Cancer, Photosensitizer, Light, Oxygen.

Abreviaturas

AIF – *Apoptosis-inducing factor* – Fator indutor de apoptose

ALA – Ácido 5-aminolevulínico

AMD – *Age-related macular degeneration* – Degeneração macular relacionada com a idade

ATP – Adenosina trifosfato

c.d.o. – Comprimento de onda

DIM – Delegados de Informação Médica

DISC – *Death-inducing signaling complex* – Complexo de sinalização indutor de morte

DLI – *Drug Light Interval* – Intervalo fármaco-luz

DNA – *Deoxyribonucleic acid* – Ácido desoxirribonucleico

EPR – *Enhanced permeability and retention* – Maior permeabilidade e retenção

HPD – *Hematoporphin derived* – derivado de hematoporfirina

HPPH – *2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyropheophorbide- α*

HPV – Papiloma vírus humano

HPS – *Heat-shock proteins* – Proteínas de choque térmico

IV – Infravermelho

LED – *Light emitting diodes*

MAL – Aminolevulinato de Metilo

MB – *Molecular beacons*

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MM – Medicamentos Manipulados

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM – Medicamentos sujeitos a Receita Médica

nm – Nanómetros

PDT – *Photodynamic Therapy* – Terapia Fotodinâmica

PGP – Planeamento e Gestão da Produção

PMB – *Photodynamic Therapy molecular beacons*

PS – *Photosensitizer* - Fotossensibilizador

ROS – *Reactive oxygen species* - Espécies reativas de oxigênio

SNC – Sistema Nervoso Central

SOD – *Superoxide dismutase* – superóxido dismutase

SWOT – *Strengths, weaknesses, opportunities, threats*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral-alfa

VTP – *Vascular targeted photodynamic therapy*

UV – Ultravioleta

PARTE I

Relatório de Estágios de Indústria Farmacêutica e Farmácia Comunitária

I. Introdução

A realização do estágio curricular é contemplada no atual plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), sendo a ligação entre os 5 anos de estudos na faculdade e o mercado de trabalho. Consiste no finalizar de uma etapa enquanto estudantes e o início de outra enquanto profissionais, sendo realizado em Farmácia Comunitária e, opcionalmente, Análises Clínicas, Distribuição, Investigação e Indústria Farmacêutica.

No meu caso, tive oportunidade de realizar o estágio curricular, inicialmente, na Bluepharma Indústria Farmacêutica SA, sediada em Coimbra, com a duração de 3 meses, no período entre janeiro e abril de 2017, orientado pela Dr.^a Sofia Ferreira. Este estágio possibilitou-me o contacto direto com o quotidiano laboral e com a atividade farmacêutica numa indústria, proporcionando novos desafios e novas realidades, das quais não possuía conhecimento, contribuindo deste modo para a valorização do meu *Curriculum Vitae*. Durante este período, colaborei com o Departamento de Planeamento e Gestão da Produção (PGP), nomeadamente na unidade de Planeamento e Compras onde obtive a perceção de todo o trabalho realizado desde a encomenda realizada por um cliente até à entrega do produto final ao mesmo, da forma mais rápida e adequada, evitando ao máximo erros e satisfazendo as necessidades do cliente, tendo sempre em vista a melhoria contínua do processo. A minha função consistiu na colaboração da análise de fornecedores de matérias-primas e de materiais de embalagem, durante a qual procedi à análise de dados tais como volumes de negócio, quantidades encomendadas, quais os princípios ativos e excipientes que são mais utilizados, desvios de qualidade e quantidade, número de fornecedores e a sua importância, correlações entre preços e quantidades, tempos de entrega, entre outros, averiguando se existia conformidade. Por conseguinte, reuni e compilei todos os dados e ainda realizei uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) dos fornecedores de modo a avaliar se existiam falhas que possam ser críticas para o funcionamento do processo de produção ou de embalagem ou que economicamente não estão a cumprir com os requisitos e com a política da empresa. As imagens no anexo I representam exemplos de como foi apresentada a análise supracitada.

O segundo estágio, no âmbito de farmácia comunitária, decorreu entre abril e agosto na Farmácia Santa Isabel sob orientação da Dr.^a Ana Baptista. Na farmácia comunitária, cabe ao farmacêutico, enquanto agente de saúde pública e especialista do medicamento, interagir diretamente com o utente, desempenhando um papel importante na promoção da saúde, na

prevenção da doença e no uso racional do medicamento. Desta forma, deve disponibilizar um aconselhamento qualificado com o objetivo de prestar o melhor serviço, de modo a satisfazer as necessidades do utente. Apesar da minha experiência anterior nesta farmácia, no decorrer de estágios de verão, existiu a necessidade de perceber as alterações ocorridas, bem como assimilação de novas informações. As primeiras funções são fulcrais para a noção de métodos de trabalho e do funcionamento da farmácia bem como para preparação de situações que poderiam ocorrer no atendimento público, de modo a evitar erros e proporcionar um atendimento personalizado e com a melhor qualidade possível, tendo sempre em foco as necessidades e o bem-estar do doente. Estas primeiras funções consistiram na receção de encomendas e no armazenamento de medicamentos e outros produtos, no estudo de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM), de medicamentos de uso veterinário e de produtos de dermocosmética, na gestão de devoluções e na organização documental. Todas as funções atribuídas e dúvidas presentes no decorrer do estágio tiveram supervisão da Dr.^a Ana Baptista e Dr.^a Ana Vaz.

O presente relatório de estágio visa apresentar a análise SWOT relativa aos estágios curriculares realizados refletindo e avaliando os pontos fortes, pontos fracos oportunidades e ameaças que considerei presentes no decorrer dos mesmos.

2. Análise SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta direcionada para a gestão e para o planeamento estratégico de uma organização que identifica forças, fraquezas, oportunidades e ameaças. Como já referido anteriormente, utilizei esta ferramenta durante o meu estágio curricular, uma vez que é amplamente utilizada no âmbito empresarial. A sigla SWOT deriva dos termos ingleses *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças).^{1,2}

O objetivo desta análise SWOT consiste na elaboração de uma síntese das análises do ambiente interno (Forças e Fraquezas) e do ambiente externo (Oportunidades e Ameaças) tendo em vista a preparação de opções estratégicas de modo a detetar riscos e problemas a resolver, identificar situações de crescimento e melhoramento e fortalecer os pontos positivos.^{1,2}

De seguida serão apresentadas as análises SWOT dos estágios curriculares de farmácia comunitária e indústria farmacêutica, respetivamente, identificando os pontos fortes, pontos fracos, as oportunidades e as ameaças que caracterizaram o meu trabalho.

2.1. Análise SWOT – Indústria Farmacêutica

Tabela I - Matriz SWOT de Indústria Farmacêutica.

| Pontos Fortes | Pontos Fracos |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Ambiente de trabalho entre os colaboradores; - Aprendizagem multidisciplinar; - Existência de seleção por entrevista; - Formação inicial e contínua. | <ul style="list-style-type: none"> - Duração curta do estágio; - Lacunas na formação relativas a indústria farmacêutica; - Pouco conhecimento de ferramentas essenciais de trabalho. |
| Oportunidades | Ameaças |
| <ul style="list-style-type: none"> - Necessidade de farmacêutico em indústria; - Possibilidade de realização de estágio na indústria. | <ul style="list-style-type: none"> - Competitividade entre diferentes profissionais; - Necessidade de competências extracurriculares. |

2.1.1. Pontos Fortes

➤ Ambiente de trabalho entre os colaboradores

Este é um ponto que considero extremamente importante, uma vez que influenciou o meu trabalho durante o período de estágio. A minha integração na equipa de trabalho foi sublime e célere, que se refletiu numa predisposição para me ajudar e integrar nos moldes e métodos de trabalho. A minha experiência foi muito positiva e enriquecedora devido ao fantástico grupo de trabalho onde fui integrado. A equipa sempre demonstrou uma grande interajuda, confiança, cumplicidade e estima, que desde o início me recebeu de modo a poder ser produtivo e de me fazer sentir como parte do departamento, dando-me uma grande motivação, desafiando-me a aprender cada vez mais e a fazer sempre o melhor possível.

➤ Aprendizagem multidisciplinar

A aprendizagem multidisciplinar constitui um dos pontos mais positivos do meu estágio curricular, devido à integração de um departamento que está em contacto com imensos conteúdos e tarefas relacionados com o medicamento, desde a encomenda efetuada até à libertação de lote. Assim, pude perceber o funcionamento total da empresa já que

quase todas as operações passam por este departamento. Para além disso, tive possibilidade de contactar com pessoas que possuem imensos conhecimentos noutras áreas tais como gestão, engenharia e química o que considero uma mais valia para a minha formação enquanto profissional, proporcionando um aumento a minha área de conhecimentos.

➤ Existência de seleção por entrevista

A entrevista consiste num processo de conhecimento e seleção dos candidatos que pretendam um determinado posto. Visto que no futuro a grande maioria terá que passar por esta fase, considero um ponto importante poder ter tido esta experiência de maneira a obter o primeiro contacto e perceber como estas se procedem. Mesmo que não ocorra seleção do candidato, considero igualmente um ponto forte, já que possibilita uma melhor preparação e um modo diferente de abordar esta fase e poder concretizá-la com maior sucesso.

➤ Formação inicial e contínua

Com o início do estágio foram estabelecidas formações internas com o objetivo de aquisição de conceitos e sobre o funcionamento da empresa. Com a entrada de um novo colaborador impõe-se estas formações iniciais padrão focadas na segurança, nos métodos e instrumentos de trabalho, nas possíveis situações a encontrar durante o estágio (como auditorias e inspeções) e quais os ideais pelos quais a empresa se rege. Para além destas formações iniciais, também tive a oportunidade de assistir a várias formações contínuas durante o período do estágio, mais direcionadas para o departamento no qual fui integrado, por forma a ter uma visão mais correta e mais direcionada para as funções que exerce.

Estas formações permitiram-me, enquanto estagiário, consolidar conhecimentos e adquirir novos, de forma a perceber qual o trabalho e dever que me foi incutido e com a finalidade de estar constantemente atualizado sobre possíveis alterações e novas metodologias implementadas pela empresa.

2.1.2. Pontos Fracos

➤ Duração curta do estágio

A duração do estágio em indústria farmacêutica foi de 3 meses, sendo um tempo curto para ocorrer a integração nos quadros da empresa e poder executar projetos de longa duração, ficando, logo à partida, confinado a determinadas tarefas de curta duração.

Inicialmente, é necessário tempo de integração e de aprendizagem para o estagiário perceber toda a metodologia inerente ao funcionamento da empresa e do seu departamento. Após este tempo, a colaboração autónoma e total demonstrou-se relativamente curta, não justificando a execução de diversas funções devido à incompatibilidade com a duração do estágio. Desta forma, considero que a aprendizagem e potencialidade do estagiário fica condicionada, impedindo a oportunidade de mostrar as suas capacidades de trabalho e comprometendo os benefícios que a indústria poderia obter com a presença de estagiários.

➤ Lacunas na formação relativas a indústria farmacêutica

Apesar do vasto conhecimento adquirido durante o percurso académico, considero que a abordagem das temáticas de indústria possui algumas lacunas notadas durante a realização do estágio. Enquanto aluno, considero que não existe a noção da quantidade de funções que possam ser desempenhadas, nem a perceção do funcionamento de uma indústria farmacêutica. Apesar de ser louvável o contínuo trabalho realizado pela Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra por forma a combater estas lacunas, considero seria vantajoso uma abordagem mais extensiva por forma a elucidar e preparar o estudante para esta vertente farmacêutica.

➤ Pouco conhecimento de ferramentas essenciais de trabalho

Durante o meu estágio curricular, existiu a necessidade de utilizar diversas ferramentas de trabalho que permitiam a execução das tarefas que me foram atribuídas. No entanto, a realização das tarefas foi dificultada pelo desconhecimento de funcionamento das ferramentas necessárias, sendo essencial despende tempo para a aprendizagem total destas, de modo a desempenhar o trabalho de forma correta e profissional. Considero que este ponto fraco foi bem ultrapassado, enriquecendo os meus métodos de trabalho, sendo que poderão ser aplicáveis noutras tarefas que me sejam apresentadas futuramente.

2.1.3. Oportunidades

➤ Necessidade de farmacêutico na indústria

Ao longo do meu estágio, foi salientada a necessidade de farmacêuticos em determinados departamentos para realização de funções relacionadas com o medicamento, como por exemplo para a autorização de libertação de lotes, coordenação de equipas de

investigação, reunião de informação científica, entre outras. Esta necessidade está relacionada com o vasto conhecimento nas diversas áreas da saúde e do medicamento possuído pelo farmacêutico, diferenciando-o de outras profissões. Deste modo, considero que esta necessidade se revela como uma enorme oportunidade para o desenvolvimento de uma carreira profissional na área de indústria farmacêutica.

➤ Possibilidade de realização de estágio na indústria

A realização de estágio em indústria demonstrou-se um desafio enriquecedor que me permitiu a oportunidade de experienciar e descobrir em que consiste a função do farmacêutico na área industrial. Esta experiência foi o primeiro contacto com área de indústria farmacêutica possibilitando vivenciar as ações de um farmacêutico e como estas podem influenciar o desenvolvimento de uma empresa integrada na área do medicamento.

Considero que a realização de estágio curricular em indústria farmacêutica promove o desenvolvimento do estagiário enquanto profissional, mas também constitui uma porta de entrada para o mercado de trabalho numa área que, pessoalmente, julgo se enquadrar com as minhas capacidades.

2.1.4. Ameaças

➤ Competitividade entre diferentes profissionais

No decorrer do meu estágio, estive em contacto com profissionais de diferentes formações, incluindo engenheiros, químicos, biólogos, economistas, farmacêuticos, entre outros. É perceptível que, no “mundo” da indústria farmacêutica, muitos profissionais que não apresentam por base a formação na área do medicamento, mas possuem a capacidade de corresponder às necessidades requeridas pela indústria. Assim, é de notar a enorme competitividade e a concorrência existente neste setor industrial, colocando em causa a permanência do farmacêutico em indústria. Por sua vez, é necessário a afirmação do farmacêutico através da sua especialização e formação contínua, aproveitando o seu vasto conhecimento nas várias áreas do medicamento.

➤ Necessidade de competências extracurriculares

Na indústria farmacêutica, é fundamental a aplicação de um grande número de competências extracurriculares pelo farmacêutico, de modo a estar atualizado e adaptado a este setor. Para além do conhecimento técnico-científico que o farmacêutico adquire

durante o seu percurso académico, existe a necessidade de investir na sua formação a nível técnico e social, como por exemplo, competências linguísticas ou técnicas de comunicação. Este investimento visa potenciar as suas capacidades de forma a possibilitar a candidatura a uma determinada função que requer certas aptidões que só são adquiridas pela formação externa ao percurso académico. Deste modo, considero que o não investimento nas competências extracurriculares poderá comprometer a minha integração no mercado de trabalho, sendo que as atuais empresas procuram profissionais cada vez mais dotados de conhecimentos de áreas diversificadas.

2.2. Análise SWOT – Farmácia Comunitária

Tabela 2 - Matriz SWOT de Farmácia Comunitária.

| Pontos Fortes | Pontos Fracos |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Aconselhamento em Preparações de uso veterinário; - Ambiente de trabalho entre os colaboradores; - Armazenamento e organização; - Fidelização e acompanhamento do doente; - Preparação de medicamentos manipulados; - Serviços farmacêuticos. | <ul style="list-style-type: none"> - Dificuldade na aplicação de regimes de comparticipação; - Dificuldades no aconselhamento de produtos dermocosméticos e ortopedia; - Dificuldade de interpretação de receitas manuais; - Visão do estagiário para o utente. |
| Oportunidades | Ameaças |
| <ul style="list-style-type: none"> - Acordos com instituições de solidariedade; - Formação contínua. | <ul style="list-style-type: none"> - Informação possuía pelo utente; - Pontos de venda de MNSRM. |

2.2.1. Pontos Fortes

➤ Aconselhamento em preparações de uso veterinário

Atualmente as preparações de uso veterinária constituem um ponto importante nas funções do Farmacêutico enquanto profissional de saúde. Cada vez mais a sociedade se apresenta ciente do impacto da saúde animal no quotidiano humano, quer seja relativa a animais de estimação ou a animais de consumo humano. Assim, é necessário um conhecimento pormenorizado sobre estas preparações e sobre os protocolos de utilização

destas, permitindo uma escolha adequada à situação que é apresentada. No quotidiano da farmácia, surgem inúmeras situações relativas a doenças de animais incluindo dermatites, alergias, infeções. Para além das doenças referidas, também surgiram situações como a desparasitação interna e externa de animais de estimação e de consumo, de suplementação, doenças respiratórias e profilaxia de outras doenças para as quais o farmacêutico deve apresentar um conhecimento aprofundado de maneira a poder apresentar uma solução adequada ao problema em questão. Considero que o surgimento destes casos é fulcral para a formação e consolidação de conhecimentos nesta área preparando-me para situações idênticas no futuro.

➤ Ambiente de trabalho entre colaboradores

A Farmácia Santa Isabel é constituída por uma equipa profissional, dinâmica, exigente e com um grande espírito de equipa. Enquanto estagiário, considero que toda a equipa foi incansável na transmissão de conhecimentos e de ensinamentos, para além da boa disposição e empatia com que me acolheram e mostravam no dia a dia. Todos estes pontos se mostraram revelantes para a minha motivação e aprendizagem, promovendo o sucesso da minha formação, bem como o sucesso da própria instituição.

➤ Armazenamento e organização

A grande diversidade de produtos atualmente no mercado requiere uma boa organização e correto armazenamento de maneira a garantir a qualidade dos produtos, bem como para facilitar o funcionamento da farmácia e o atendimento ao público. Assim, considero que as tarefas iniciais de receção e armazenamento são fulcrais para a aprendizagem do estagiário permitindo, por outro lado, o conhecimento de alguns produtos e nomes comerciais.

Para além da organização do armazém, considero também um ponto positivo o facto de todas as tarefas estarem atribuídas a cada um dos colaboradores, determinando uma metodologia de trabalho promovendo o funcionamento adequado de maneira a permitir um trabalho eficaz e de qualidade por parte de todos os colaboradores, incluindo o do estagiário.

➤ Fidelização e acompanhamento do utente

A Farmácia Santa Isabel possui uma estratégia de fidelização que envolve a aquisição de um cartão de fidelidade. Este cartão permite a acumulação de pontos que posteriormente

poderão ser descontados em produtos que não sejam Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM). Esta estratégia visa não só uma estratégia com fins monetários, mas também uma maneira de manter um histórico de medicação do utente, permitindo um acesso, por qualquer colaborador, à ficha individual, facilitando a consulta de medicação previamente utilizada. Considero que este acompanhamento é essencial para questões de aconselhamento e de segurança bem como para um atendimento personalizado a cada pessoa, contribuindo para a sua satisfação.

➤ Preparação de medicamentos manipulados

Os medicamentos manipulados (MM) resultam da necessidade de medicamentos dirigidos a grupos especiais de doentes, cujo armazenamento e processos de produção sejam invalidados a escala industrial. Assim, é da responsabilidade do farmacêutico a preparação e a garantia de qualidade destes medicamentos por forma a responder às necessidades especiais requeridas pelo doente.^{3,4} Os MM são preparados em laboratório seguindo os procedimentos ostentados no Formulário Galénico Português ou, em caso de ausência do protocolo no documento referido, seguindo os procedimentos fornecidos pelo Laboratório de Estudos Farmacêuticos, garantindo a eficácia e segurança da preparação produzida. Enquanto estagiário, tive a possibilidade de auxiliar a preparação de vários MM, considerando um ponto forte devido ao facto de existir a necessidade de o farmacêutico realizar manipulação de medicamentos que não se encontram no mercado, satisfazendo a necessidade requerida pelo doente que não poderia ser obtida de outra forma.

➤ Serviços farmacêuticos

Dois dos objetivos do farmacêutico consistem na promoção da saúde e prevenção da doença. A monitorização de parâmetros bioquímicos, como medição de pressão arterial, colesterol e glicémica, constituem uma mais valia para o controlo dos valores em doentes crónicos e para uma deteção de fatores que possam desenvolver uma situação grave por forma a prevenir situações de risco. Desde início do meu estágio, tive oportunidade de realizar estes serviços, contribuindo para o desenvolvimento das minhas capacidades individuais (como a comunicação com o doente) e permitindo avaliar certos casos que requeriam um aconselhamento por parte do farmacêutico, desde adaptar uma dieta saudável à necessidade de ir a um médico para verificar o porquê de valores alterados.

2.2.2. Pontos Fracos

➤ Dificuldade na aplicação de regimes de comparticipação

Os regimes de comparticipação são aplicados quando existe a apresentação de uma receita médica válida e de documentos necessários para a dispensa desta. Para além da comparticipação atribuída pelo Estado português, existem outros subsistemas de saúde como Sindicato dos Bancários do Centro, serviços militares, SAVIDA, entre outros.

No entanto, ostentava dificuldades quando surgia uma situação inerente à aplicação dos subsistemas supracitados necessitando de auxílio por parte dos colaboradores da farmácia, proporcionando um atendimento demorado e um desconforto em alguns utentes atendidos. Assim, considero importante a inclusão de regimes de comparticipação e subsistemas de saúde no plano de estudos, possibilitando a aprendizagem da metodologia e distinção de cada um.

Por outro lado, considero que as receitas deveriam conter o subsistema associado ao utente em questão, pois atualmente existe a necessidade de obter essa informação através do utente. Julgo que a aplicação do subsistema na receita promove a diminuição de erros durante atendimento, como por exemplo, a anulação de uma venda (requerendo a repetição desta) por falta de aplicação do subsistema devido ao esquecimento do utente referir que possui esse benefício.

➤ Dificuldades no aconselhamento de produtos dermocosméticos e ortopedia

No decorrer do meu estágio curricular, muitos casos surgiram, no balcão de atendimento, relativos a produtos de dermocosmética e de ortopedia. Perante a situação apresentada, senti imensas dificuldades no aconselhamento e esclarecimento de dúvidas dos utentes devido a lacunas no conhecimento das áreas, sendo necessária a ajuda dos colaboradores da farmácia para resolução do caso. Apesar de algumas destas lacunas serem combatidas por formações ou delegados de informação médica, não considero que sejam suficientes para corresponder as necessidades do estagiário. Assim, julgo que é necessário a transmissão ao aluno de conhecimentos mais aprofundados inerentes a estas duas áreas durante os cinco anos de estudos de maneira a possibilitar segurança e destreza no aconselhamento de produtos dermocosméticos e ortopedia.

➤ Dificuldade de interpretação das receitas manuais

Atualmente, as receitas eletrônicas materializadas e desmaterializadas são as mais apresentadas pelos utentes com intuito de obter um determinado medicamento que é bem definido e determinado pelo sistema informático utilizado. No entanto, ocorrem situações de apresentação de receitas manuais que em certos casos dificultaram a minha interpretação devido à dificuldade de leitura da caligrafia apresentada e por erros ou falta de elementos essenciais para a correta cedência do medicamento.

➤ Visão do estagiário para o utente

Sendo o estágio curricular o finalizar do percurso académico, assume-se que os alunos se apresentem devidamente preparados para todas as situações e diversas problemáticas que possam surgir no seu quotidiano na farmácia. No entanto, considero que muitos utentes se mostravam insatisfeitos e relutantes por estarem a lidar com um estagiário, desacreditando nas capacidades do mesmo no aconselhamento farmacêutico e na resolução de problemas associados à medicação ou saúde. No meu entendimento, julgo que estas situações podem ser prejudiciais para o desenvolvimento do estagiário, enquanto profissional de saúde, promovendo situações de desmotivação e desconcentração que possam por em causa a execução correta das suas tarefas.

2.2.3. Oportunidades

➤ Acordos com instituições de solidariedade

As instituições de solidariedade, como por exemplo lares, possui um grande consumo de medicamentos por parte dos seus utentes, sendo a aquisição dos medicamentos realizada pela administração da instituição. Considero que os acordos realizados entre as instituições e a farmácia constituem uma oportunidade para o alargamento da rede de utentes da farmácia, bem como a atribuição de serviços farmacêuticos à instituição promove a saúde (através de rastreios) e o uso racional do medicamento possibilitando uma maior eficácia e segurança da terapia aplicada a cada utente.

➤ Formação contínua

Os atuais desenvolvimentos a nível de novos medicamentos, terapêuticas inovadoras e novos produtos de venda exclusiva na farmácia requerem a constante formação do farmacêutico visando o esclarecimento de dúvidas apresentadas pelos utentes e o melhor

aconselhamento para estes. Para além de formações a nível técnico-científico, o desenvolvimento das características pessoais é um ponto importante que determina um bom profissional de saúde no dia a dia. Considero que as formações disponibilizadas por diversas entidades (Associação Nacional das Farmácias e laboratórios farmacêuticos) são uma mais valia para a enriquecimento de conhecimentos que são exigidos pelo atual crescimento tecnológico e para uma melhor promoção da saúde.

Outra fonte de formação provém dos delegados de informação médica (DIM) que promovem as inovações atuais de fármacos, dispositivos médicos e terapias. No meu entendimento, os DIM são essenciais, através da divulgação de informação e de formação das equipas nas farmácias, para a existência de um farmacêutico de excelência que necessita de constante atualização de conhecimentos e para esclarecer todo o tipo de dúvidas que surjam no quotidiano da farmácia.

2.2.4. Ameaças

➤ Informação possuída pelo utente

Atualmente, a internet e os meios de comunicação social promovem uma extensa disseminação de informação de saúde para a população. Para além desta disseminação, o aconselhamento familiar ou de conhecidos também é notada quando existe uma apresentação de um caso numa farmácia. Muitas vezes, as informações que o utente possui são erradas ou falsas constituindo um perigo para a saúde do utente. Cabe ao farmacêutico, informar e aconselhar de maneira mais correta o utente com o propósito de elucidar os problemas associados e as incoerências apresentas nestas situações. No entanto, julgo que a tarefa não é facilitada, devido ao facto de os utentes considerarem que toda a informação obtida está correta, apresentando-se relutantes quando o farmacêutico expõe o seu conhecimento para uma informação clara e cientificamente comprovada.

➤ Locais de venda de MNSRM

Em Portugal, existe a possibilidade de adquirir MNSRM em diversos locais incluindo parafarmácias e estabelecimentos comerciais. Normalmente, os MNSRM constituem uma necessidade adicional de aconselhamento uma vez que não existe uma prescrição médica prévia. Na maioria destes locais, o responsável pela cedência destes medicamentos não possui as qualificações mínimas necessárias para transmitir informações que promovam uma utilização correta do medicamento podendo por em risco a saúde do utente.

3. Conclusão

A unidade Estágio Curricular foi o finalizar de uma etapa que consistiu na aplicação prática de todos os conhecimentos adquiridos ao longo de todo o plano do MICF. Ambos os estágios realizados surgem como oportunidades de consolidar esses conhecimentos e de desenvolver competências por forma a completar a formação de um profissional capaz e de sucesso.

A realização do estágio em indústria farmacêutica permitiu-me descobrir o funcionamento de uma indústria e quais os papéis e funções desempenhadas por um farmacêutico nesta vertente. Para além deste aspeto, considero que esta experiência confirmou as minhas expectativas acerca desta área, permitindo o desenvolvimento de competências, quer profissionais quer pessoais, que me serão úteis no futuro. Ao fim de três meses, sinto que esta oportunidade foi extremamente enriquecedora a todos os níveis devido a todos os profissionais presentes que me ensinaram, desafiaram e apoiaram, possibilitando um estágio fantástico numa área onde gostaria de iniciar a minha carreira profissional.

O estágio em farmácia comunitária surge como uma experiência para aplicação de todos conhecimentos adquiridos na faculdade e para perceber o papel e o impacto de um farmacêutico na população. Com esta experiência, percebi que a atividade farmacêutica não se resume somente à dispensa do medicamento, mas sim no aconselhamento e ligação interpessoal por forma a promover a saúde e prevenir a doença. Durante os quatro meses, considero que o estágio curricular em farmácia comunitária é fulcral para a formação de um futuro farmacêutico competente e capaz de responder aos desafios do quotidiano da farmácia.

Com o final desta última etapa enquanto estudante, gostaria de agradecer a todos os docentes e funcionários da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e aos profissionais que estiveram presentes nos meus estágios por toda a disponibilidade, paciência e dedicação que demonstraram para me formarem enquanto profissional e pessoa, tornando-me capaz de superar os desafios que se avizinham.

4. Referência Bibliográficas

1. PORTAL DA ADMINISTRAÇÃO – **Análise SWOT (Matriz): Conceito e aplicação** [acedido a 30 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.portal-administracao.com/2014/01/analise-swot-conceito-e-aplicacao.html>
2. ECONOMIAS – **Análise SWOT: o que é e para que serve?** [acedido a 30 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.economias.pt/analise-swot-o-que-e-e-para-que-serve/>
3. INFARMED – **Medicamentos Manipulados** [acedido a 31 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/inspecao/inspecaomedicamentos/medicamentos-manipulados>
4. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Boas Práticas Farmacêuticas para a farmácia comunitária** [acedido a 31 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Doc3082.pdf
5. MSD ANIMAL HEALTH – **Cães: RCM do Medicamento Veterinário – Bravecto** [acedido a 1 de setembro de 2017]. Disponível na Internet: http://www.msd-animal-health.pt/Binaries/Bravecto_tcm61-162281.pdf
6. ÍNDICE – **Daflon 500: RCM – Resumo das características do medicamento** [acedido a 1 de setembro de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.indice.eu/pt/medicamentos/medicamentos/daflon-500/rcm>

5. Anexos

Anexo I – Imagens

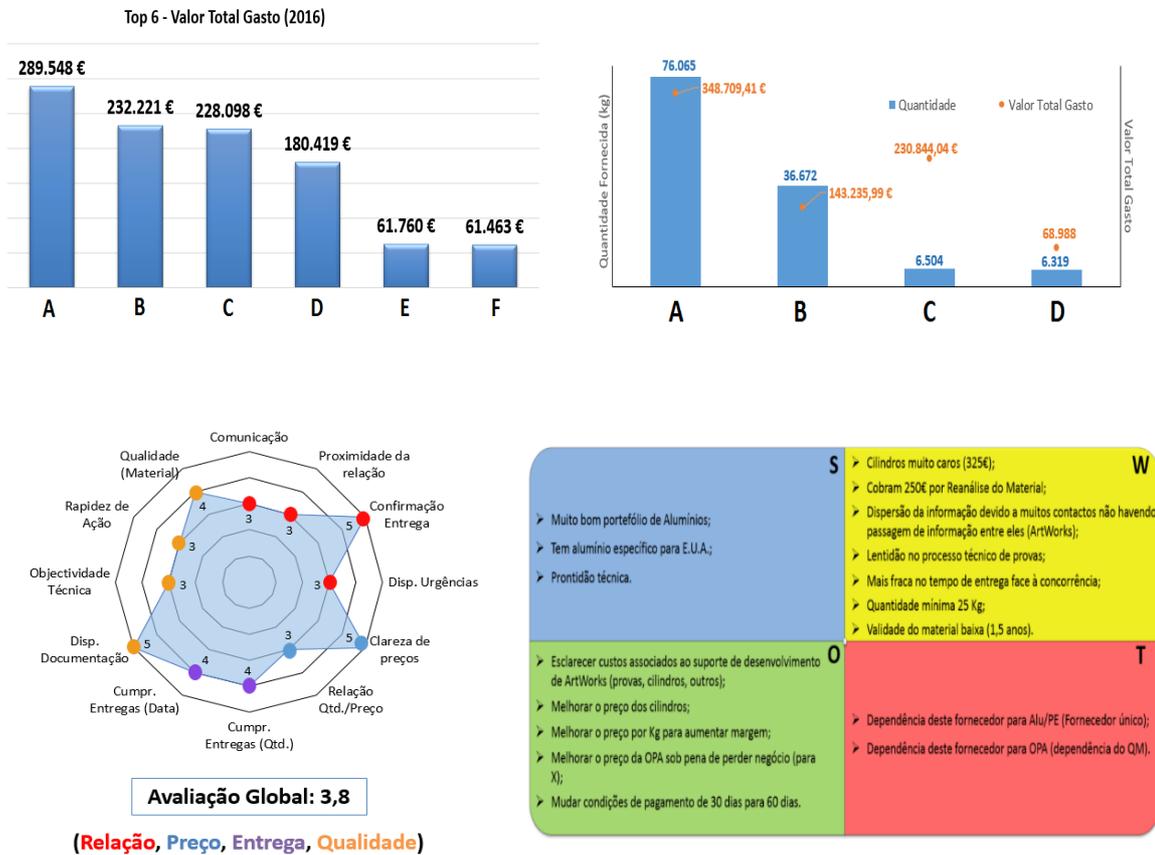


Figura I- Métodos de análise e avaliação de dados.

Anexo II – Casos Clínicos – Farmácia Comunitária

Senhor solicita um produto para eliminar as pulgas e carraças do seu cão.

Após a solicitação feita pelo senhor, foi necessário questionar sobre a idade e o peso do cão em questão, ao qual respondeu que era um cão de grande porte, cerca de 30 kg, e com 5 anos de idade. Foi perguntado se já alguma vez tinha efetuado desparasitação respondendo que só fazia normalmente a desparasitação interna. Perante esta situação, dispensei uma embalagem de Bravecto® 1000 mg (>20-40 kg), que possui um comprimido mastigável. Este medicamento veterinário é um inseticida e acaricida sistémico que é utilizado para o tratamento de infestações por pulgas e carraças durante um período de 12 semanas.⁵ Foi aconselhado que a administração fosse feita durante a refeição observando se realmente o comprimido foi engolido. Por fim, também foi aconselhado a proceder a este tratamento de 12 em 12 semanas por forma a obter um ótimo controlo das infestações provocadas por pulgas e carraças.

Senhora de 40 anos queixa-se de comichão, dor e refere a existência de prolapso na região perianal.

Sendo esta senhora cliente habitual da farmácia, constatou-se pelo historial clínico que tinha doença hemorroidária. Após análise do histórico e de algumas questões, constatou-se que a senhora apresentava uma crise hemorroidária. Neste caso, foi dispensado Daflon® 500, visto que a senhora referiu que as pomadas que utilizou não estavam a fazer qualquer feito. Este medicamento está indicado para o tratamento de sintomas e sinais relacionados com a insuficiência venosa e para o tratamento da crise hemorroidária.⁶ Sendo uma crise hemorroidária, foi aconselhado a administração de 6 comprimidos repartidos por três tomas diárias durante os primeiros 4 dias e nos 3 dias seguintes a administração de 4 comprimidos repartidos por duas tomas diárias. Para além disso, foi indicado que seria útil a realização de banhos de assento com água morna por forma a aliviar a sintomatologia.

PARTE II

Monografia

“Terapia Fotodinâmica no Tratamento do Cancro”

I. Introdução

O cancro é uma doença caracterizada pelo crescimento e disseminação incontrolavelmente de células que adquirem características de invasão de outros tecidos, permitindo a sua proliferação pelo organismo através do sistema linfático e circulatório, originando metástases. ¹ Esta doença é a segunda maior causa de mortalidade a nível mundial, tendo surgido cerca de 14 milhões de novos casos em 2012 e provocado a morte 8,8 milhões de pessoas em 2015, ou seja, uma em cada seis mortes é devida ao cancro. Existem diversos fatores de risco como o tabaco, álcool, dieta pouco saudável e o sedentarismo para além de determinadas doenças crónicas como o papiloma vírus humano (HPV) e hepatite B e C. Cerca de 30 a 50% dos cancros podem ser prevenidos evitando os fatores de risco e implementando estratégias de prevenção como, por exemplo, a vacinação contra o HPV e hepatite B e a redução da exposição a radiação ultravioleta (UV) e ionizante.²

Quando o cancro já se encontra instalado, um diagnóstico precoce é uma mais valia para a eficácia do tratamento. Atualmente, as terapias mais utilizadas (quimioterapia, radioterapia, cirurgia) demonstram uma taxa de cura elevada para alguns tipos de cancro. No entanto, os efeitos secundários apresentados e a baixa eficácia em determinados casos motivaram a procura de terapias alternativas. Devido ao elevado número de novos casos e de mortes todos os anos, esta doença constitui um dos principais focos de muitos investigadores, proporcionando um maior conhecimento sobre a origem e evolução do cancro e permitindo o surgimento de várias terapias alternativas para determinados tipos de doentes ou cancros que apresentam uma eficácia e segurança superior às terapias mais utilizadas anteriormente indicadas.

A presente monografia tem como objetivo apresentar uma das estratégias alternativas às terapias convencionais no tratamento do cancro, a terapia fotodinâmica (PDT). Assim, será apresentado o mecanismo de ação desta terapia bem como os constituintes necessários para a sua realização. Face à sua situação atual, constam na monografia fotossensibilizadores já utilizados na prática clínica e uma perspetiva futura demonstrando a potencialidade desta estratégia alternativa.

2. Desenvolvimento da Terapia Fotodinâmica

Desde há milhares de anos que a luz é um dos elementos utilizados no tratamento de diversas doenças. Os povos egípcios, indianos e chineses utilizaram a luz no tratamento de doenças da pele, tais como psoríase, vitiligo e cancro através da combinação de psolarenos e de luz solar.³ No final do século XIX, o dinamarquês Niels Finsen desenvolveu a fototerapia, descobrindo que a exposição à luz vermelha prevenia a formação de pústulas de varíola, podendo ser usada como cura desta doença.⁴ Para além desta descoberta, Niels Finsen utilizou a luz UV do sol no tratamento da tuberculose cutânea, sendo premiado com o Prémio Nobel em 1903.³

No início do século XX, durante o trabalho com o professor Herman von Tappeiner, Oscar Raab, observou que a combinação de certas substâncias químicas com a incidência de radiação induzia a morte celular.⁵ Na mesma altura, o neurologista Jean Prime verificou que os doentes com epilepsia tratados com eosina por via oral desenvolviam dermatites em locais que estavam expostos à luz solar. Este facto, proporcionou a primeira aplicação médica no tratamento de tumores da pele utilizando eosina e luz branca. Mais tarde, em 1907, Herman von Tappeiner conjuntamente com Albert Joldbauer demonstraram a necessidade do oxigénio para a ocorrência das reações fotossensibilizantes, descrevendo este fenómeno com o termo “ação fotodinâmica”.^{3,5}

O desenvolvimento da PDT estagnou durante anos e só em meados de 1960 o interesse por esta terapia foi retomado com a utilização de um derivado de hematoporfirina (HPD).⁵ Lipson e Baldes, demonstraram com a utilização de animais, que o HPD utilizado em reduzidas doses apresentava maior eficácia na localização e diferenciação de células tumorais que a hematoporfirina.³

Um dos maiores marcos no desenvolvimento da PDT ocorreu em 1975, quando Dougherty e os seus colegas alcançaram a cura completa de tumores mamários malignos em ratos e, mais tarde, em doentes com tumores da mama, cólon, pele e próstata administrando HPD ativada por luz vermelha.^{3,4,5}

Apesar deste último desenvolvimento, só no início dos anos 90 foi aprovado no Canadá, o primeiro fotossensibilizador (PS) para o tratamento do cancro da bexiga, o Photofrin®.^{4,6} Mais tarde, obteve aprovação noutros países para o tratamento de outros tumores como o subsequente ao esófago de Barret, cancro esofágico e cancro brônquico. Apesar deste PS de primeira geração ter demonstrado a sua eficácia em vários tipos de cancro, apresenta alguns inconvenientes como a baixa seletividade tumoral, a fraca

penetração da luz no tumor e o efeito de fotossensibilidade da pele. Devido à necessidade de melhorar a eficácia e reduzir dos efeitos secundários apareceram vários PS de segunda geração, como é o exemplo da temoporfina (Foscan[®]) e a verteporfina (Visudyne[®]) respetivamente indicados para o tratamento do cancro da cabeça e pescoço e da degeneração macular relacionada com a idade (AMD).^{7,8,9}

Recentemente, investigadores têm trabalhado no desenvolvimento de PS de terceira geração que possam ser ativados por luz de comprimento de onda (c.d.o.) superior, que sejam seletivos para o tecido tumoral e em que ocorra a redução ou eliminação da fotossensibilidade nos doentes.⁶ A redaporfina é um desses PS de terceira geração que se encontra na fase clínica I/II, mas que já possui o estatuto de medicamento órfão para o tratamento de colangiocarcinoma, um cancro severo que afeta as vias biliares.

3. Mecanismo de Ação

O grande objetivo da PDT é a destruição seletiva do tecido alvo minimizando os danos colaterais dos tecidos normais adjacentes. Para que ocorra este efeito, é necessário a existência simultânea no alvo de três componentes essenciais: luz visível, oxigénio molecular e o PS.⁷

Após a administração do PS e da sua acumulação no tecido alvo, ocorre a reação fotodinâmica iniciada pela irradiação e posterior absorção da luz pelo PS originando uma série de reações fotoquímicas que levam à produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) que provocam danos no tecido alvo.^{4,7}

O PS no estado fundamental possui dois eletrões com orientação de *spin* oposta (estado fundamental singuleto). Como representado na Figura 1, após absorção da luz, o PS é excitado (estado excitado singuleto). Após a excitação, o PS pode voltar ao estado fundamental com emissão de radiação por fluorescência ou de calor ou então sofre o fenómeno de cruzamento intersistemas. O retorno ao estado fundamental através da emissão de radiação por fluorescência ou calor pode permitir desenvolvimento de técnicas de determinação da concentração de PS nos tecidos. O fenómeno de cruzamento intersistemas, que consiste na inversão do *spin* de um eletrão no estado excitado originando o estado excitado tripleto com um maior tempo de vida do que o estado excitado singuleto, é neste estado que o PS irá interagir com o oxigénio molecular e iniciar o processo de formação de ROS.^{4,7}

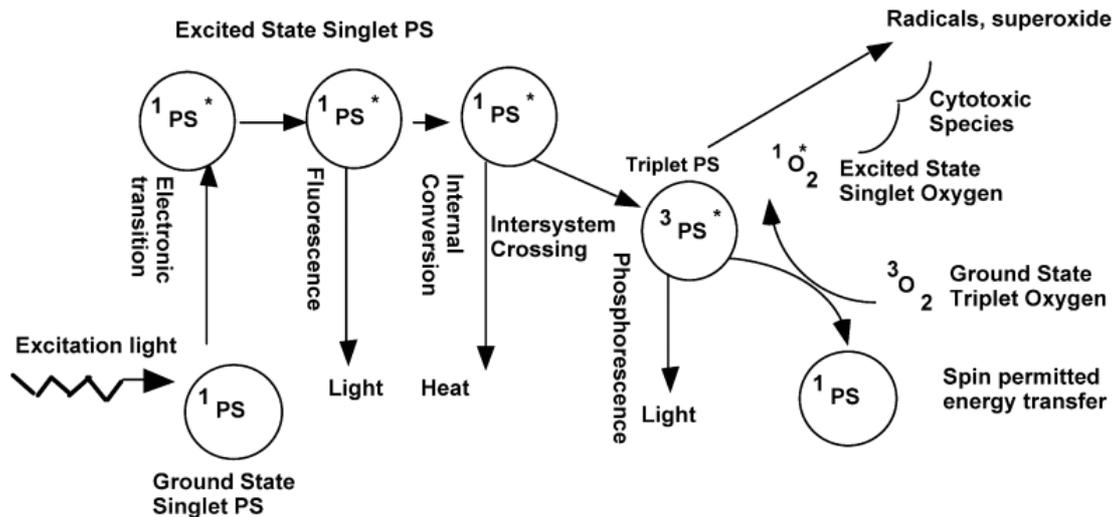


Figura 1 – Representação esquemática da reação fotoquímica da PDT. [Retirado de 7]

A formação de ROS pode acontecer através de dois tipos de reações:

1. Tipo I – reação direta com o O_2 ou com uma molécula orgânica originando a formação do anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$) ou transferência de um próton ou eletrão, originando um radical anião ou próton.
2. Tipo II – transferência de energia para o O_2 no estado fundamental (tripleto) formando o O_2 excitado (oxigénio singuleto, 1O_2).^{7,10}

A reação tipo I, inicialmente, forma o $O_2^{\bullet-}$, mas este por si só não é muito reativo e não causa danos oxidativos significativos, mas pode originar o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) através da reação de dismutação que é catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD). Para além da dismutação, o $O_2^{\bullet-}$ é importante no início da cadeia de formação de ROS, através da redução de iões metálicos (como o Fe^{3+}) que catalisam a conversão de H_2O_2 , por quebra das ligações de oxigénio em ião hidróxido (OH^-) e radical hidroxilo (HO^\bullet) – reação de Fenton. O superóxido também pode reagir com o radical hidroxilo formando o oxigénio singuleto ou com o óxido nítrico produzindo outra espécie muito reativa, o peroxinitrito ($ONOO^-$).⁷

Na reação tipo II, o mecanismo é muito simples ocorrendo a transferência direta de energia para o O_2 formando o 1O_2 que é muito reativo. Esta reação tende a ocorrer preferencialmente à reação tipo I pelo seu mecanismo mais simples e por ser termodinamicamente favorecida explicando o porquê do 1O_2 ser o maior mediador desta terapia.¹¹

As ROS formadas por estas reações afetam muitas biomoléculas (ácido desoxirribonucleico (DNA), lípidos ou proteínas) próximas da área de origem devido à sua grande reatividade e baixo tempo de semi-vida, como é o caso do $^1\text{O}_2$ e do HO^\bullet . Exemplos de biomoléculas que sofrem oxidação são resíduos proteicos de aminoácidos como a tirosina, triptofano, metionina, cisteína e histidina, lípidos insaturados das membranas celulares e de outros organelos e nucleótidos, nomeadamente a guanina, provocando a rutura do DNA e induzindo a morte celular.^{7,12}

As reações tipo I e tipo II podem ocorrer simultaneamente, existindo uma resposta amplificada à terapia. No entanto, a extensão do mecanismo tipo I ou II vai ser definida pelo tipo de PS, pela presença de oxigénio, pela afinidade do PS ao tecido alvo e pela quantidade do tecido alvo.¹² Os danos causados também dependem da quantidade de oxigénio e do tipo de PS, para além de outros fatores como a dose total administrada, o tempo de exposição à luz e o tempo entre a administração e a exposição à luz (*drug light interval*, DLI), sendo todos estes fatores interdependentes.⁴

4. Destruição Tumoral

Sendo o principal objetivo da PDT a erradicação do tumor, foram identificados três mecanismos de destruição tumoral que constituem um papel fulcral para que esse objetivo seja atingido. Estes mecanismos parecem estar interligados e consistem num efeito direto sobre as células tumorais, num efeito vascular ou num efeito sobre o sistema imunitário, como representando na Figura 2.

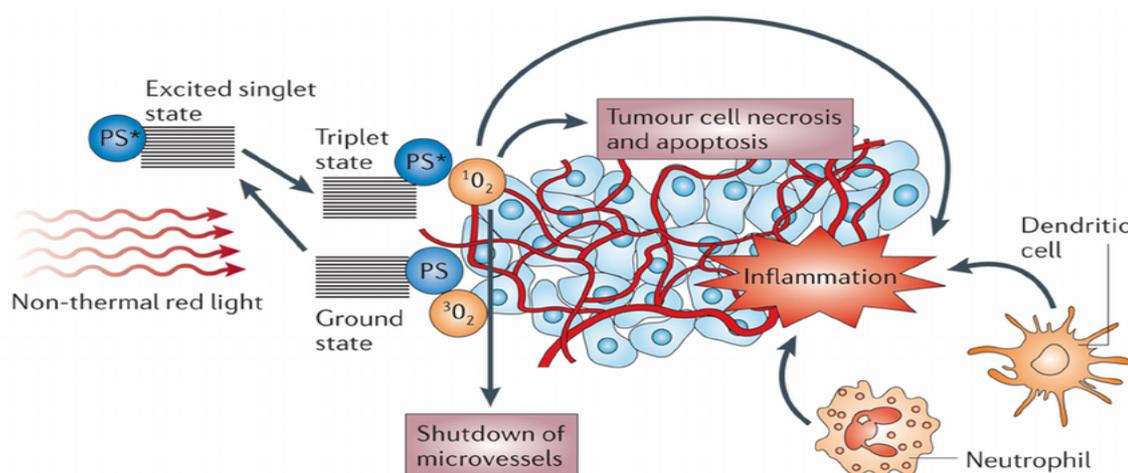


Figura 2 – **Mecanismos de destruição tumoral na Terapia Fotodinâmica.** As espécies reativas de oxigénio produzidas pela reação fotodinâmica podem promover a destruição tumoral por indução de apoptose e/ou necrose, podem causar a destruição da vasculatura tumoral e iniciar uma resposta inflamatória que atrai células do sistema imunitário. [Retirado de 18]

4.1. Efeito Direto sobre as Células Tumorais

Os danos oxidativos irreversíveis causados pelas ROS em biomoléculas e em estruturas celulares desencadeiam diversos mecanismos de morte celular: apoptose, necrose e autofagia.¹³ O modo e a extensão da morte celular são influenciados pelas propriedades físico-químicas, concentração e localização do PS, bem como pela concentração de oxigênio e pela intensidade e c.d.o. da fonte de radiação utilizada.¹⁴

4.1.1. Apoptose

A apoptose é um mecanismo programado de morte celular, dependente de energia, caracterizado pela condensação nuclear, clivagem do DNA cromossomal, contração celular, formação de corpos apoptóticos e exposição à fosfatidilserina no lado externo da membrana celular. Este mecanismo implica a ativação das caspases, responsáveis pela maioria das alterações descritas, que atuam por uma via extrínseca e intrínseca. Na via extrínseca, ocorre a ligação de indutores de apoptose (como o Fator de Necrose Tumoral-alfa, TNF- α) aos seus recetores. Após esta ligação, ocorre a formação do complexo de sinalização indutor de morte (DISC) que iniciará a ativação do iniciador procaspase-8. Posteriormente, a caspase-8 originará a ativação proteolítica das caspases-3 e 7 ocorrendo a apoptose. Na via intrínseca ou mitocondrial, a mitocôndria liberta para o citosol diversas proteínas apoptóticas como o citocromo C, o fator indutor de apoptose (AIF) e a endonuclease G. Estas duas últimas proteínas deslocam-se para o núcleo da célula mediando a condensação da cromatina e a fragmentação do DNA, independentemente da sinalização das caspases. Já o citocromo C, originará a formação do apoptossoma que, por sua vez, ativa o iniciador caspase-9. Este iniciador, tal como a caspase-8, ativa as caspases-3 e 7 que desencadeiam a apoptose. Outro mecanismo consiste na destruição da proteína anti-apoptótica Bcl-2 presente no retículo endoplasmático e mitocôndria.¹³

Estas sinalizações produzem alterações morfológicas já referidas e, para além disso, as células apoptóticas libertam moléculas que atraem células fagocíticas que eliminam os corpos apoptóticos, evitando um processo inflamatório e ativando o sistema imunitário.¹⁴

4.1.2. Necrose

A necrose é caracterizada pela expansão do citoplasma e desintegração da membrana celular desencadeando uma resposta inflamatória devido à libertação dos componentes celulares e das moléculas pró-inflamatórias.¹⁵ Este mecanismo é descrito como sendo uma catástrofe bioenergética passiva e incontrolável resultante da eliminação de adenosina

trifosfato (ATP) que é incompatível com a viabilidade da célula. No entanto, existem evidências recentes que demonstram que o mecanismo da necrose pode ser ativada a partir de uma via de sinalização, com moduladores que são comuns à apoptose.^{12,13}

Os protocolos de PDT mais agressivos, com elevadas doses de PS e/ou de luz, favorecem este mecanismo, sendo que em tumores sólidos o mecanismo de morte celular não é homogêneo, pois a dose de luz será mais elevada numa região mais superficial do tumor comparada a uma região mais profunda.¹⁵

4.1.3. Autofagia

A autofagia é um mecanismo catabólico iniciado nas células eucarióticas que permite a sobrevivência celular removendo metabolitos tóxicos, agentes patogênicos ou organelos danificados. No entanto, também pode promover a morte celular por degradação de constituintes celulares e por autodigestão.^{13,15}

Este mecanismo inicia-se com a formação de uma membrana dupla que sequestra os componentes citoplasmáticos e os organelos formando, posteriormente, os autofagossomas. A membrana externa do autofagossoma funde-se com um lipossoma, originando um autolisossoma que contém hidrólases que degradam o seu conteúdo.¹³

O contributo para a morte celular ainda é incerto, já que em determinadas condições, a autofagia funciona como um reparador das células danificadas, quando a apoptose é o mecanismo mais presente, permitindo a redução da eficácia da terapia. Por outro lado, quando as células apoptóticas são destruídas pela PDT, existe um aumento da atividade autofágica levando à destruição tumoral. No entanto, ainda é desconhecido o mecanismo responsável pela atividade protetora e a destrutiva.^{16,17}

4.2. Efeito Vascular

O efeito vascular é uma consequência indireta que envolve a iniciação de uma resposta imune contra as células tumorais e a destruição da vasculatura tumoral, promovendo, deste modo, a morte do tecido tumoral por privação de nutrientes e oxigénio provenientes dos vasos sanguíneos adjacentes ao tumor.¹⁹

Este efeito está relacionado com o dano das células endoteliais que é provocado pela reação fotodinâmica quando os fotossensibilizadores ainda se encontram em circulação. Após estes danos, sucedem-se uma série de eventos fisiológicos incluindo a agregação

plaquetária, a liberação de moléculas vasoativas, adesão de leucócitos, aumento da permeabilidade vascular e vasoconstrição.^{20,21}

A combinação da terapia fotodinâmica e a estratégia de seletividade da vasculatura tumoral, denominada *vascular targeted photodynamic therapy* (VTP) constitui um protocolo que possibilita um aumento da eficácia do tratamento do tumor e possui as seguintes vantagens:

- As células endoteliais do tumor são facilmente alcançáveis pelo PS administrado por via intravenosa;
- Existe em circulação o oxigênio necessário para a reação fotoquímica;
- Como os capilares fornecem os nutrientes e oxigênio necessário para a sobrevivência celular, a oclusão do vaso leva a um efeito amplificado nas células tumorais;
- Os vasos tumorais partilham a mesma morfologia e propriedades bioquímicas, sendo que esta estratégia constitui uma possibilidade no tratamento de diversos tipos de tumores.¹⁹

Estas vantagens promovem uma eficácia melhorada da PDT, mantendo a seletividade devido à precisão na incidência da fonte de luz sobre o tumor e evitando assim a irradiação dos tecidos saudáveis adjacentes.¹⁹

4.3. Efeito sobre o Sistema Imunitário

A terapia fotodinâmica produz a destruição celular através do mecanismo de morte celular já descritos anteriormente. A necrose, caracterizada pela desintegração da membrana plasmática e liberação do conteúdo citoplasmático, causa a exposição dos antígenos tumorais que se encontram no meio intracelular. Como representado na Figura 3, esta modificação da integridade e da homeostase das células, promove a liberação de mediadores pró-inflamatórios como as *heat-shock proteins* (HSP), derivados do ácido araquínico e citocinas (TNF- α , interleucina-6 e interleucina-1), iniciando uma resposta inflamatória. Estes mediadores atraem as células do sistema imunitário inato, desencadeando a deslocação de neutrófilos, mastócitos, macrófagos e células dendríticas que penetram o tecido danificado e repõem a homeostase. Estas células promovem a fagocitose das células danificadas e são fundamentais para a ativação posterior da resposta adaptativa do sistema imunitário.^{16,18}

As células dendríticas constituem um elemento essencial na ligação entre a imunidade inata e a adaptativa, devido ao facto de captarem os antígenos tumorais e de os transportarem para os nódulos linfáticos mais próximos, expondo o antígeno às células T CD4+ que se tornam ativas. Por sua vez, estimulam os linfócitos T CD8+ citotóxicos que adquirem a capacidade de reconhecimento das células tumorais, destruindo-as. Estes linfócitos permanecem na circulação durante longos períodos de tempo, assegurando a resposta imune anti-tumoral.^{16,18,21}

O efeito sobre o sistema imunitário é um elemento fundamental para o aumento da eficácia da terapia fotodinâmica a longo prazo, completando o efeito das ROS na destruição de células tumorais.

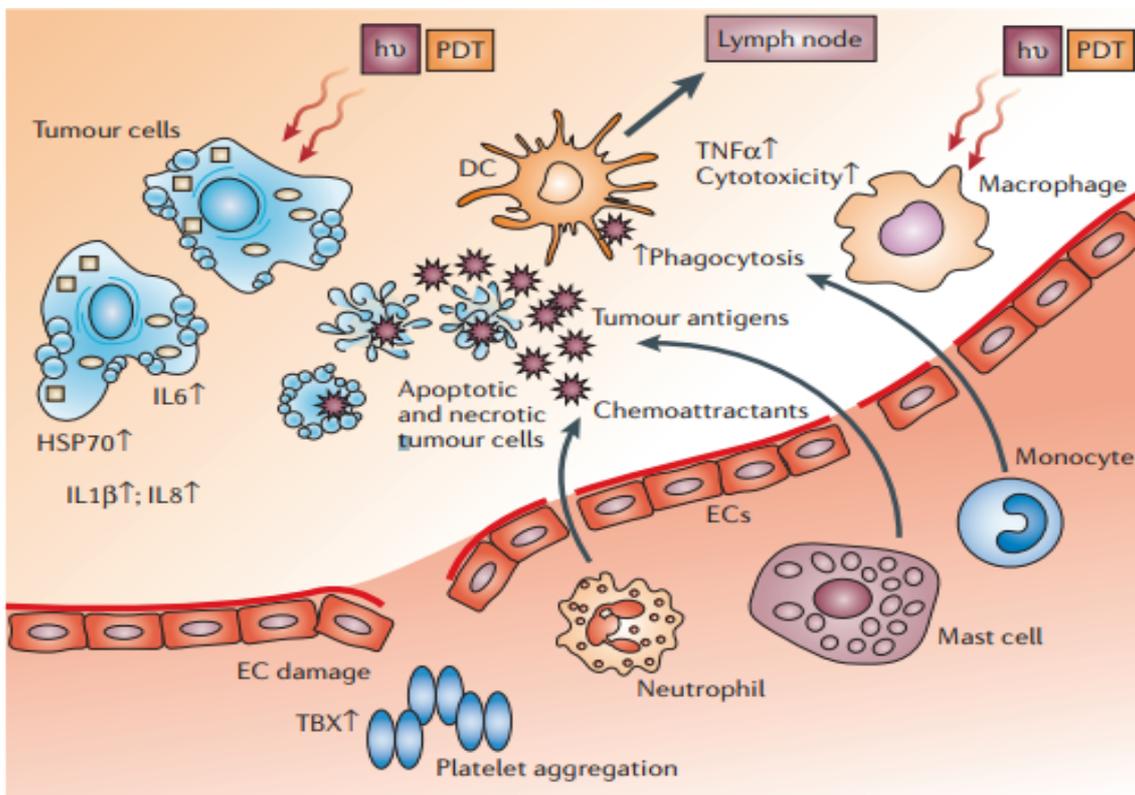


Figura 3 – Ativação do sistema imunitário através da PDT. [Retirado de 18]

5. Elementos Essenciais na Terapia Fotodinâmica

Na PDT é necessário um conjunto de elementos presentes em simultâneo para que a reação fotodinâmica ocorra. Esses elementos são o PS, o oxigênio e a luz.

5.1. Fotossensibilizador

Os PS são, geralmente, porfirinas ou derivados reduzidos que têm em comum o anel tetrapirrólico que é o elemento que vai induzir as reações de produção de ROS.²² Os PS podem ser classificados atendendo ao seu desenvolvimento, sua pureza, seu alvo preferencial e sua estrutura química.²³

A classificação baseada no desenvolvimento dos PS divide-os em diferentes gerações que dependem da altura em que os fotossensibilizadores foram descobertos. Até agora existem três gerações, sendo que os de terceira geração e muitos da segunda, de desenvolvimento mais recente, ainda não se encontram comercializados. Os PS de primeira geração foram os primeiros a ser descobertos e incluem a hematoporfirina e o HPD. Os de segunda geração incluem derivados da clorofila e porfirinas e foram desenvolvidos a partir das limitações apresentadas pelos PS de primeira geração. Relativamente ao grupo de PS de terceira geração, este é constituído por PS de primeira e segunda geração associados a modificadores, tais como anticorpos e nanopartículas.²³

Quanto à classificação baseada no grau de pureza dos PS depende da composição do PS que irá ter o efeito terapêutico. Esta classificação é revelante para empresas farmacêuticas ou químicos sintéticos que procuram uma fabricação com o grau de pureza mais elevado possível e a aprovação do fármaco.²³

Relativamente à classificação por alvo preferencial, esta consiste na preferência do PS para se acumular no tecido alvo ou atuar a nível vascular. Os PS podem ser classificados também com base no alvo específico, tais como em membranas celulares, membranas subcelulares ou outros componentes celulares, onde se irá acumular e atuar.²³

Por fim, a classificação por estrutura química não tem grande relevância clínica, sendo que só tem interesse para a sua definição química. A maioria dos PS possuem anéis tetrapirrólicos como as porfirinas, clorinas e bacterioclorinas.²³

Como já referido, o PS é um dos elementos cruciais para a o início da reação fotodinâmica de forma a produzir uma resposta clínica apropriada. As características de um

PS ideal são consensuais entre os investigadores e encontram-se descritas em diversos artigos. Assim, as características de um PS ideal são as seguintes:

- Ser quimicamente puro, de composição conhecida e com baixo custo de produção;
- Poder ser administrado em fórmulas biocompatíveis e ter um bom perfil farmacocinético;
- Possuir a capacidade de acumulação, preferencialmente, no tecido alvo;
- Apresentar uma forte absorção de luz a c.d.o. elevados dentro da janela terapêutica (600-800 nm);
- Demonstrar resistência adequada à fotodecomposição;
- Exibir elevada capacidade de produção de ROS no tecido alvo;
- Apresentar um efeito citotóxico apenas na presença de luz e ter baixa toxicidade na ausência desta;
- Possuir uma rápida eliminação do organismo, minimizando a toxicidade sistêmica.^{7,24}

5.2. Oxigênio

O oxigênio constitui um dos elementos essenciais na terapia fotodinâmica exibindo um papel fundamental no efeito citotóxico devido à formação de ROS. Sem a presença de oxigênio molecular o tratamento através desta terapia não teria qualquer efeito no tecido tumoral.

A concentração de oxigênio pode variar de tumor para tumor e até em certas partes do tumor dependendo do seu fornecimento e densidade vascular, existindo tumores com microambientes hipóxicos e até anóxicos, devido à falta de oxigênio, que limitam o tratamento. Para além deste aspeto, a irradiação com luz de elevada potência poderá levar ao esgotamento local do oxigênio, pois ocorre um consumo maior que a taxa de difusão o que causará a interrupção da formação de ROS, diminuindo assim a eficácia de tratamento.²⁵

Na tentativa de contrariar a diminuição ou ausência de oxigênio no tumor têm vindo a ser desenvolvidas e estudadas várias estratégias por forma a melhorar o protocolo desta terapia. Algumas dessas estratégias estão relacionadas com o ajuste da potência da luz incidente aumentando o tempo de incidência para ocorrer compensação e manter dose total de luz fornecida. Uma das estratégias baseia-se no fracionamento da dose de luz, ou seja, na aplicação intermitente de luz, que permite que a razão de consumo de O₂ iguale a razão de difusão evitando o esgotamento de oxigênio no local. Através da monitorização dos níveis de O₂ é possível definir a dose correta ou o procedimento a seguir para a realização do

fracionamento.^{26,27,28} Outra estratégia consiste na oxigenação do tumor, incluindo zonas onde já exista um ambiente hipóxico ou este ambiente foi induzido pela radiação da luz, existindo a compensação do oxigénio eliminado por difusão.²⁹

5.3. Luz

Sendo a luz um componente essencial da PDT, é necessário fazê-la chegar ao PS de forma precisa e com a quantidade adequada para que este seja ativado. É necessário ter em conta o espectro de absorção do PS, as características do tumor (tamanho e localização) e os custos respetivos ao sistema de iluminação usados para a prática clínica.³⁰

Inicialmente, os lasers de árgon e de vapor metálico constituíam a escolha preferencial da PDT, uma vez que apresentam alta potência, são facilmente acoplados às fibras óticas para serem usadas com endoscópios e possuem capacidade de excitar as porfirinas. O laser de árgon apresenta um espectro de emissão entre 488 a 514 nm e outro entre 600 a 650 nm, sendo este último equivalente ao espectro de absorção de porfirinas. Os lasers de vapor metálico possuem um espectro de emissão variável que é dependente da mistura de metais da sua composição. Estes dois lasers são indicados para PDT endoscópica já que são facilmente acoplados a fibras óticas, como já referido anteriormente, tendo sido utilizados no tratamento do cancro do pulmão, esofágico, bexiga e no pré-tumor oral. No entanto, os lasers de árgon não estão aconselhados para o tratamento de lesões da pele de larga escala e de lesões orais, devido ao facto de necessitar da aplicação de um expansor de feixe que, para além de ser um incómodo para o doente, reduz a potência da luz incidente. Já os lasers de vapor metálico não necessitam de expansor podendo ser utilizados para as lesões orais e de pele.³⁰

Um outro tipo de lasers possui osciladores paramétricos óticos que, devido à duplicação de frequência e de mistura de ondas, originam um grande número de ondas monocromáticas desde a região do UV até próximo da zona do infravermelho (IV). Estes lasers são aplicados em lesões da pele e também no cancro esofágico, oral, pulmonar e da bexiga. Uma das futuras vantagens deste tipo de laser é apresentarem uma emissão perto do IV podendo levar ao desenvolvimento de PS capazes de serem excitados a este c.d.o., permitindo o tratamento de tumores mais profundos devido à penetração da radiação IV nos tecidos.³⁰

Por fim, os lasers díodo são os que, previsivelmente, serão mais amplamente utilizados no futuro devido à sua facilidade de utilização e manuseamento, quer em

laboratório quer em utilização clínica. São normalmente acoplados a fibras óticas para PDT endoscópica e são geralmente usados no tratamento de lesões da pele, cavidade oral, no olho e na AMD.³⁰

No entanto, os lasers não são a única opção para a terapia fotodinâmica existindo alternativas, tais como as lâmpadas de alta potência. Estas são fáceis de utilizar e possuem vantagem relativamente aos lasers por emitirem um espectro mais largo, para além da sua manutenção ser mais fácil e barata. Por outro lado, existe a desvantagem de não poderem ser facilmente acopladas a fibras óticas devido à elevada perda de potência não sendo utilizadas em PDT endoscópica. Devido a este facto, as lâmpadas são limitadas ao tratamento de lesões da pele. Atualmente, são utilizadas lâmpadas de tungsténio, de xénon, de iodetos metálicos, de sódio revestida com fósforo e as fluorescentes, sendo estas últimas as mais relevantes devido ao espectro de emissão ser correspondente à região em que os PS possuem o máximo de absorção e por conseguirem penetrar mais profundamente os tecidos.³⁰

Com a constante evolução nesta área tecnológica, nos últimos anos surgiu outra fonte de luz, o *light emitting diodes* (LED). Estas fontes de radiação possuem muitas vantagens tais como o espectro de emissão ser de 350 nm a 1100 nm, possuir um custo mais baixo que as outras fontes de luz já descritas, apresentar a possibilidade de irradiação de grandes áreas e por poderem ser alimentadas por baterias tornando-a numa fonte portátil.³⁰

As fontes de luz são extremamente importantes para que a PDT ocorra com a maior eficácia possível com o intuito de melhorar a condição do doente ou até mesmo eliminar a lesão por completo. No entanto, é necessário selecionar a fonte mais adequada ao tipo de lesão presente e ter em conta o PS utilizado devido ao seu espectro de absorção.

6. Utilização Clínica e Protocolo Terapêutico

O objetivo da PDT consiste na eliminação seletiva de um tecido alvo possuindo diversas aplicações clínicas, incluindo doenças dermatológicas, oftalmológicas, cardiovasculares e diversos tipos de tumores não metastizados que possam ser atingidos por uma fonte de luz.³¹

No caso das doenças dermatológicas, existe grande acessibilidade à lesão por parte do PS e da luz por consistir numa aplicação tópica, existindo, também, a possibilidade de tratamento de várias lesões em simultâneo. Uma das aplicações com maior sucesso foi o tratamento de tumores não melanómicos da pele, tais como o carcinoma basocelular, o carcinoma espinocelular ou lesões pré-cancerosas, como por exemplo a queratose actínica.³¹

As doenças oftalmológicas também podem constituir um alvo de tratamento, como por exemplo no caso da AMD. O PS (neste caso a verteporfina) é administrado por via intravenosa com posterior incidência de luz enquanto este ainda se encontra em circulação. Estudos clínicos realizados na América do Norte e na Europa demonstraram que os doentes, aos quais esta terapia foi implementada, apresentaram uma visão mais estabilizada do que o grupo placebo. Esta terapia com verteporfina também se demonstrou eficaz na prevenção da perda visual severa para outras patologias tais como a neovascularização coroideia (já com guidelines publicadas), miopia patológica e síndrome da histoplasiose ocular.³¹

Na área oncológica, já existem diversos PS aprovados para o tratamento do cancro esofágico, da cabeça e pescoço, carcinoma brônquico e também existem atualmente em desenvolvimento PS para tumores da bexiga, cérebro, pâncreas, fígado, ductos biliares e colo uterino.³¹

Relativamente ao protocolo clínico, representado na Figura 4, consiste na administração do PS e fazê-lo chegar ao local pretendido, com posterior irradiação do tecido alvo através de uma fonte de luz a um c.d.o. adequado ao PS em utilização. O PS pode ser administrado topicamente ou por via intravenosa, dependendo do tumor a tratar. Após a administração, é necessário que ocorra o DLI. Este intervalo consiste no tempo entre a administração do PS, até à sua acumulação e início de irradiação. Este intervalo depende do tipo de PS, da sua distribuição e farmacocinética. No decorrer da irradiação, as ROS vão-se formar e atuam a nível do tecido alvo, provocando danos oxidativos a biomoléculas e estruturas celulares, originando a morte celular e, porventura a destruição do tumor.^{32,33}

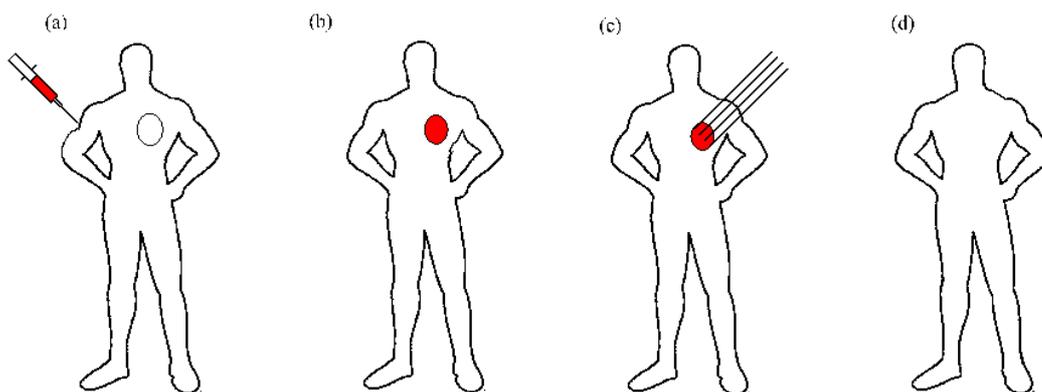


Figura 4 - **Protocolo clínico da PDT.** (a) - administração do fotossensibilizador; (b) - Intervalo fármaco-luz (DLI); (c) - Irradiação do fotossensibilizador; (d) - Eliminação da lesão. [Retirado de 32]

No entanto, a eficácia da PDT depende da conjugação precisa de diversos fatores como a presença de oxigénio, da luz aplicada, do tipo de PS, sendo, por isso, um grande desafio obter um protocolo terapêutico ideal.¹³

7. Vantagens e Limitações da Terapia Fotodinâmica

Uma das maiores vantagens apresentadas pela PDT relativamente a outras opções terapêuticas é a capacidade de destruição seletiva de um tecido alvo, não afetando o tecido saudável circundante. Esta seletividade deve-se à capacidade de muitos PS se acumularem, preferencialmente, no tecido tumoral e de a radiação incidir somente no local a tratar.³⁴ A acumulação do PS no caso de tratamento de lesões tópicas é facilitada devido à aplicação direta nas áreas de lesão. No entanto, quando administrada por via intravenosa necessita de algum tempo em circulação para que ocorra a acumulação no tumor (DLI). A maioria dos tumores sólidos apresentam capilares sanguíneos fenestrados, pH baixo e reduzida drenagem linfática, originando o efeito de *Enhanced permeability and retention* (maior permeabilidade e retenção, EPR), favorecendo a passagem e acumulação do PS no tecido alvo. Para além da acumulação e da exposição da luz local, a seletividade é reforçada pela curta semivida do $^1\text{O}_2$ e do HO^\bullet , limitando a área dos danos oxidativos e evitando que estas reações ocorram nos tecidos saudáveis adjacentes.^{21,35}

A elevada seletividade proporciona reduzidos efeitos secundários e a inexistência de mecanismos de resistência à PDT, resultando na possibilidade da repetição do tratamento quando necessário, como por exemplo em casos de lesões múltiplas ou em situações de recorrência. Outra vantagem desta terapia consiste na ausência de sequelas significativas e de efeitos dermatológicos, que ocorrem noutras terapias (por exemplo cicatrizes pós-cirurgias),

apesar de os doentes frequentemente indicarem a sensação de queimadura durante a incidência da luz. A integridade e a funcionalidade dos tecidos também são mantidas durante a utilização da PDT.^{34,36}

Para tumores em fase inicial, a PDT pode ser uma alternativa eficaz com apenas um tratamento, podendo ser conjugada a outras terapias como a cirurgia, radioterapia e quimioterapia, visto não interferir com os seus mecanismos permitindo, assim, uma ação sinérgica.³⁶ No entanto, quando existe um caso de cancro avançado, ou seja, quando o tumor geralmente apresenta maior dimensões, a penetração da luz nos tecidos é limitada, sendo que a terapia fica condicionada a um tratamento paliativo, isto é, a tentativa da delimitação da progressão da doença e aumento da qualidade de vida do doente. Por sua vez, uma limitação que advém de uma vantagem, é o facto da seletividade desta terapia não permitir o tratamento de tumores metastizados.^{6, 37}

O efeito adverso mais significativo nesta terapia são as reações de fotossensibilidade prolongadas da pele que são originadas pela acumulação de PS na pele que, por ação da iluminação artificial ou solar, podem iniciar a reação fotodinâmica permitindo o aparecimento de lesões cutâneas de fotossensibilidade. Para evitar este efeito, é aconselhado a que os doentes fiquem em casa ou protegidos da luz solar ou de qualquer iluminação forte durante um determinado tempo definido pelo PS utilizado. No caso do Photofrin[®], o tempo de proteção possui uma duração de 4 a 12 semanas, enquanto para o Foscan[®] é 2 a 4 semanas. Devido a este fator, esta terapia não é aceite pelos doentes nem pelos médicos, demonstrando a fraca utilização da PDT na prática clínica. Atualmente, alguns PS de terceira geração em desenvolvimento são caracterizados pela rápida eliminação levando a uma redução da acumulação do PS na pele que, por sua vez, leva a uma diminuição dos efeitos de fotossensibilidade e que pode futuramente permitir uma melhor aceitação e maior utilização da PDT.^{4,23}

8. Fotossensibilizadores em Utilização Clínica

Os PS representam um dos elementos essenciais no tratamento de tumores na terapia fotodinâmica. No entanto, é necessária a sua aprovação clínica pelas agências responsáveis pelo medicamento. Na Tabela I são indicados os PS aprovados, o nome comercial, o tipo de cancro para o qual estão indicados e o país onde foi obtida aprovação para utilização clínica.

Tabela 3- Fotossensibilizadores aprovados para o tratamento de tumores. ^{6,9,39}

| Fotossensibilizador | Nome comercial | Tipo de cancro | País aprovado |
|---|----------------|--|---|
| Porfímero sódico | Photofrin | Esófago de Barret com displasia de alto grau | Canadá, E.U.A.*, Reino Unido e UE* |
| | | Cancro cervical | Japão |
| | | Cancro endobronquial | Alemanha, Canadá, Dinamarca, E.U.A., Finlândia, França, Holanda, Irlanda, Japão, Reino Unido. |
| | | Cancro esofágico | Canadá, Dinamarca, E.U.A., Finlândia, França, Holanda, Irlanda, Japão, Reino Unido. |
| | | Cancro gástrico | Japão |
| | | Cancro da bexiga | Canadá |
| Ácido 5-aminolevulínico (ALA) | Levulan | Queratose actínica | Canadá, E.U.A. |
| | Ameluz | | E.U.A., UE |
| | Gliolan | Glioma maligno | UE |
| Aminolevulinato de metilo (MAL) | Metvix | Queratose actínica | E.U.A., UE |
| | | Carcinoma basocelular | UE |
| Temoporfina | Foscan | Cancro da cabeça e pescoço | UE |
| Ftalocianina tetrasulfonada de alumínio | Photosense | Cancro da cabeça e pescoço | Rússia |
| Verteporfina | Visudyne | AMD | Canadá, E.U.A., UE |

*E.U.A. – Estados Unidos da América; UE – União Europeia

8.1. Porfímero Sódico

O porfímero sódico, um PS de primeira geração foi o primeiro a ser aprovado para a PDT, consiste numa mistura de derivados da hematoporfirina. Este PS, administrado por via intravenosa, necessita de um DLI de 24 a 48 horas para que ocorra a acumulação no tecido alvo, que posteriormente, será irradiado por uma fonte luminosa com c.d.o. de 630 nm. No entanto, a este c.d.o. não possui uma produção elevada de ROS o implica que o tratamento seja mais demorado ou que a dose de luz aplicada seja mais intensa. Outra limitação presente, é facto de ostentar um tempo de *clearance* longo, cerca de 4 a 8 semanas, o que implica mais cuidados devido ao efeito de fotossensibilidade.^{6,23,24}

8.2. Ácido 5-aminolevulínico (ALA) e Aminolevulinato de metilo (MAL)

O ácido 5-aminolevulínico (ALA) e o seu éster mais apolar, o aminolevulinato de metilo (MAL), são dois pró-fármacos convertidos enzimaticamente, no interior das células, no fotossensibilizador ativo de primeira geração, a protoporfirina IX. O ALA e o MAL possuem formulações para administração oral, intravenosa ou tópica. Quando aplicado topicamente, após 18h de DLI, a ação do fotossensibilizador é limitada à área de aplicação com irradiação durante algumas horas com c.d.o. de 410 nm, 510 nm ou 635 nm tendo em conta a profundidade da lesão. A produção de ROS é aumentada a c.d.o. mais baixos quando comparada aos mais elevados. Como especificado na Tabela 1, o ALA está aprovado para o tratamento de queratose actínica e carcinoma basocelular com elevada eficácia e sem lesões cosméticas possuindo uma *clearance* mais rápida que o porfímero sódico (1 a 2 dias), no entanto, o procedimento é reportado como doloroso. O MAL, quando comparado ao ALA, apresenta maior lipossolubilidade permitindo uma maior penetração do fármaco e, por sua vez, uma maior eficácia no tratamento de lesões mais profundas. Estes dois pró-fármacos também demonstram sucesso no tratamento de cancro da cabeça e pescoço, esofágico, bexiga e próstata.^{6,22,23,24}

8.3. Temoporfina

A temoporfina, pertencente à família das clorinas, é um PS de segunda geração puro que se acumula em altas concentrações no tumor e possui elevada fototoxicidade devido à elevada produção de ROS quando irradiado a um comprimento de 652 nm. O tratamento consiste na administração intravenosa do PS seguida de uma irradiação com uma fonte

luminosa após um DLI de 24 a 96 horas. Este PS possui uma eficácia superior ao porfímero sódico permitindo a utilização de dosagens e tempo de tratamento inferiores. No entanto, possui um tempo de *clearance* de 4 a 6 semanas o que provoca um efeito de fotossensibilidade da pele, sendo necessário certas precauções para não existir a ocorrência de danos de tecidos saudáveis.

Para além da eficácia demonstrada no tratamento do cancro da cabeça e pescoço, decorrem estudos clínicos para a aplicação deste PS no tratamento do carcinoma nasofaríngeo e dos ductos biliares, bem como para o cancro esofágico, pulmão, gástrico, pele e próstata.^{6,22,23,24}

8.4. Ftalocianina Tetrasulfonada de Alumínio

O Photosense® é um PS de segunda geração administrado por via intravenosa, por uma injeção no local da lesão, ou por uma formulação de aerossol. Este PS é hidrofóbico existindo a necessidade de encapsulação em lipossomas para que se possa acumular no alvo. Após a acumulação por um período compreendido de 24 a 72 horas, ocorre a incidência de uma luz com c.d.o. de 670 nm iniciando o processo de destruição do tumor. Possui um tempo de eliminação dependente da formulação, em média 24 horas, que é inferior aos fotossensibilizadores anteriormente descritos, minimizando os efeitos de fotossensibilidade. Atualmente, é unicamente comercializado na Rússia existindo estudos clínicos em fase III para o tratamento de cancro do pulmão, da mama, laringe e orofaríngeo.²⁴

8.5. Verteporfina

A verteoporfina, derivado da benzoporfirina, representa um PS hidrofóbico formulado com lipossomas para que a atividade clínica seja atingida. Após 3 a 5 horas de DLI, a ativação da reação fotodinâmica é realizada por uma fonte de luz com c.d.o. de 690 nm permitindo uma maior penetração tecidual melhorando, por sua vez, a eficácia da terapia. O tempo de *clearance* de apenas algumas horas apresenta-se como uma vantagem relativamente a outros PS, limitando o efeito de fotossensibilidade. Este PS atua preferencialmente a nível vascular, demonstrando eficácia no tratamento de lesões com desenvolvimento de novos vasos sanguíneos, tal como acontece na AMD. Atualmente, existem estudos clínicos em fase I/II para aplicação da verteoporfina na psoríase e doenças malignas cutâneas.²⁴

9. Perspetivas Futuras

As perspetivas futuras da PDT na oncologia serão baseadas na continuação do trabalho clínico desenvolvido até agora, explorando novas indicações terapêuticas e melhorando os atuais protocolos terapêuticos.²⁴ Atualmente decorrem estudos que permitirão descoberta de novos PS (com elevada seletividade para o tumor e com elevada produção de ROS a c.d.o. mais elevados), continuando os estudos de novas indicações terapêuticas dos PS já em utilização. Na Tabela 2, encontram-se presente os PS em fase de estudos clínicos para novas indicações oncológicas com o c.d.o. de excitação, indicação terapêutica em estudo e a fase clínica atual.⁴⁰

Tabela 4 - PS em desenvolvimento clínico.⁹

| Molécula | c.d.o. de excitação | Indicação Terapêutica | Fase clínica |
|------------------|---------------------|------------------------------|--------------|
| ALA | 635 nm | Cancro da cabeça e pescoço | I |
| | | Cancro do cólon | II |
| | | Neurofibroma dérmico benigno | I |
| HPPH* | 665 nm | Cancro da cabeça e pescoço | II |
| | | Cancro do pulmão | II |
| | | Mesotelioma | I |
| Padelioporfina | 753 nm | Cancro da próstata | III |
| | | Cancro do rim | II |
| Porfímero Sódico | 630 nm | Cancro da Bexiga | II |
| | | Cancro da cabeça e pescoço | II |
| | | Colangiocarcinoma | III |
| | | Hepatocarcinoma | I |
| | | Mesotelioma | II |
| | | Tumores do SNC* | I |
| Temoporfina | 652 nm | Cancro do pulmão | I |
| Redaporfina | 749 nm | Cancro da cabeça e pescoço | I/II |

*HPPH – 2-(1-hexyloxyethyl)-2-devinyl pyropheophorbide- α ; SNC – Sistema Nervoso Central

Algumas das moléculas presentes na Tabela 2 constituem o grupo dos PS de terceira geração, como é o caso da padeliporfina e da redaporfina. Pertencentes à família das bacterioclorinas, estes PS possuem características próximas ao PS ideal com a ocorrência da reação fotodinâmica na zona do IV (entre 720 e 850 nm), elevada seletividade para o tecido tumoral e reduzida incidência de reações de fotossensibilidade.⁴⁰

Para além da descoberta de novos PS, diversas estratégias inovadoras podem ser exploradas de maneira a aumentar a eficácia da PDT. Uma dessas estratégias é designada por PDT com moléculas farol (*PDT molecular beacons*, PMB), baseada na utilização de moléculas farol (*molecular beacons*, MB) como sondas fluorescentes com elevada especificidade para o alvo biológico. A PMB consiste na conjugação de um PS a um *quencher* e um ligante específico para o tumor em questão. Após interação do ligante com o alvo, o *quencher* e o PS são separados por interação química específica do tumor (clivagem devido a pH ou enzimas, hibridização), ocorrendo a fotoativação e, por sua vez, a reação fotodinâmica. Esta estratégia tem sido desenvolvida rapidamente, no entanto ainda são necessários estudos para a obtenção plena do seu potencial de apresentar somente toxicidade nas células alvo.⁴¹

A manipulação das propriedades farmacocinéticas e da distribuição demonstra um elevado potencial, permitindo a otimização destas propriedades melhorando a biodisponibilidade e a interação com as células e os tecidos. Esta estratégia consiste na encapsulação de PS em nanopartículas, como lipossomas, melhorando os parâmetros farmacocinéticos e o volume de distribuição comparado ao fotossensibilizador isolado. Estas nanopartículas possuem a capacidade de acumulação seletiva no tumor devido ao efeito EPR. No entanto, os protocolos com maior eficácia consistem na destruição vascular tumoral, não existindo a necessidade de acumulação nas células tumorais.^{16,23}

Outra abordagem consiste no uso de PS e de luz em quantidades reduzidas durante um longo período de tempo (horas ou dias). Este procedimento é denominado de *metronomic PDT* e apresenta como objetivo o favorecimento da apoptose específica de células tumorais, minimizando a necrose tecidual. Esta estratégia tem sido utilizada no tratamento do glioma, diminuindo os danos das células cerebrais saudáveis adjacentes e o dano secundário proveniente da resposta inflamatória provocada pela necrose. Não é conhecido se esta estratégia pode ser aplicada noutros órgãos, no entanto, existem evidências que comprovam que a reduzida dose de luz e de PS poderão definir o mecanismo de morte celular quando comparada a uma terapia de elevada dose.^{16,42}

A técnica de *PDT* de duplo fóton é outra estratégia atualmente em desenvolvimento, consistindo na absorção simultânea de dois fótons pelo PS, após irradiação de pulsos de laser de elevada potência. A energia absorvida dos dois fótons é acumulada, possibilitando a utilização de luz com c.d.o. perto da zona IV. A utilização de luz com este c.d.o. permite um aumento da penetração da luz nos tecidos que, por sua vez, possibilita o tratamento de tumores profundos ou de elevadas dimensões. Os danos dos tecidos adjacentes são limitados devido à utilização de um laser pulsado que foca o feixe num determinado ponto, tratando áreas muito pequenas. No entanto, esta estratégia é limitada pela necessidade de descoberta e desenvolvimento PS que iniciem a reação fotodinâmica a estes comprimentos de onda e que apresentem características farmacocinéticas e farmacológicas adequadas.^{16,43}

Outro progresso, consiste na realização da terapia fotodinâmica num único passo através de um sistema que contém a fibra ótica e o PS na ponta da fibra. Após irradiação, ocorre a libertação do PS, enquanto, é fornecido ao mesmo tempo oxigénio molecular, criando um microambiente ótimo para o início da reação fotodinâmica. Esta técnica, avaliada em células tumorais do ovário e do cérebro, demonstrou utilidade na erradicação seletiva de células tumorais residuais em locais críticos como, por exemplo, no cérebro.⁴⁰

10. Conclusão

O cancro é uma doença, que possui a capacidade de afetar todas as partes do organismo com elevado crescimento anormal das células invadindo tecidos adjacentes e com potencialidade de afetar outros órgãos através de metástases.

O tratamento tradicional, através da quimioterapia, cirurgia ou radioterapia, visa a erradicação ou retardamento do tumor, sendo que em determinados casos este efeito não seja possível sendo limitado a um tratamento paliativo, proporcionando uma maior e melhor qualidade de vida. No entanto, estas terapias originam elevada incidência de efeitos secundários severos proporcionando a procura de terapias alternativas com melhor eficácia e segurança.

A terapia fotodinâmica é uma dessas terapias alternativas muito promissora apresentado diversas vantagens ao tratamento tradicional, entre elas, a ausência de efeitos secundários severos e de mecanismos de resistência, a possibilidade repetição de tratamentos e a elevada seletividade para o tecido tumoral.

Com base na pesquisa realizada, conclui-se que existe um longo percurso a percorrer no desenvolvimento e melhoramento desta terapia, na medida em que deve ser investigado novos protocolos terapêuticos bem como a melhoria dos protocolos já implementados. Para além disso, a investigação também deverá incidir na descoberta de novos PS com características ideais de maneira a que esta terapia possa ser considerada como uma das primeiras opções clínicas no tratamento do cancro.

II. Referência Bibliográficas

1. INSTITUTO CUF DE ONCOLOGIA. – **O cancro – O que é o cancro?** Instituto CUF de Oncologia. [acedido a 5 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <https://www.saudecuf.pt/oncologia/o-cancro/o-que-e-o-cancro>
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. – **Media Centre, Fact sheets: Cancer.** World Health Organization, fevereiro 2017. [acedido a 5 de agosto de 2017]. Disponível na Internet: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
3. Ackroyd, Roger, Clive Kelty, Nicola Brown, and Malcolm Reed. **The history of photodetection and photodynamic therapy.** *Photochemistry and Photobiology*, 74, 5 (2001), 656 – 669.
4. Dolmans, D., Fukumura, D., Jain, R. – **Photodynamic therapy for cancer.** *Nature Reviews Cancer*. 3, 5 (2003) 375 – 379.
5. Daniel, M. D., Hill, J. S. - **A history of photodynamic therapy.** *Australian and New Zealand Journal of Surgery*. 61, 5 (1991), 340 – 348.
6. Triesscheijn, M., Baas, P., Schellens J., Stewart, F. – **Photodynamic Therapy in Oncology.** *The Oncologist*. 11, 9 (2006), 1034 – 1044.
7. Castano, A. P., Deminova, T. N., Hamblin, M. R. - **Mechanisms in photodynamic therapy: Part one - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 1, 4 (2004), 279 – 293.
8. Yoon, I., Li, J., Shim, Y. – **Advance in Photosensitizers and Light Delivery for Photodynamic Therapy.** *Clinical Endoscopy*. 46, 1 (2013), 7 – 23.
9. Rocha, L.; Arnaut, L.; Pereira, M.; Almeida, L.; Simões, S. – **Terapia fotodinâmica para o tratamento do cancro.** In: Sousa, H.; Braga, M.; Sosnik, A., *Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados*, Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2015, ISBN: 978-989-26-0880-8. P.638 – 634.
10. Foote, C. – **Definition of type I and type II photosensitized oxidation.** *Photochemistry and photobiology*. 54,5 (1991), 659.
11. Calzavara-Pinton, P., Venturini, M., Sala, R. – **Photodynamic therapy: Update 2006 Part I: Photochemistry and photobiology.** *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 21,3 (2007), 293 – 302.
12. Robertson, C., Evan, D., Abrahamse, H. – **Photodynamic therapy (PDT): A short review on cellular mechanisms and cancer research applications for PDT.** *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*. 96, 1 (2009), 1 – 8.

13. Buytaert, E., Dewaele M.; Agostinis, P. – **Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy.** *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer.* 1776, 1 (2007), 86 – 107.
14. Castano, A. P., Deminova, T. N., Hamblin, M. R. – **Mechanisms in photodynamic therapy: Part two - Photosensitizers, photochemistry and cellular localization.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 2, 1 (2005), 1 – 23.
15. Mroz, P., Yaroslavsky, A., Kharkwal, G., Hamblin, M. – **Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer.** *Cancer.* 3, 2 (2011). 2516 – 2539.
16. Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K., Foster, T., Girotti, A., Gollnick, S., Hahn, S., Hamblin, M., Juzeniene, A., Kessel, D., Korbelik, M., Moan, J., Mroz, P., Nowis, D., Piette, J., Wilson, B. Golab, J. – **Photodynamic Therapy of Cancer: An Update.** *American Cancer Society.* 61, 4 (2011), 250 – 281.
17. Garg, A., Nowis, D., Golab, J., Agostinis, P. – **Photodynamic therapy: illuminating the road from cell death towards anti-tumour immunity.** *Apoptosis.* 15, 9 (2010), 1050 – 1071.
18. Castano, A., Mroz, P., Hamblin, M. – **Photodynamic therapy and anti-tumour immunity.** *Nature Reviews Cancer.* 6,7 (2006), 535 – 545.
19. Kamarulzaman, E.; Benachour, H.; Barberi-Heyob, M.; Frochot, C.; Wahab, H.; Guillemin, F.; Vanderesse, R. – **Vascular-Targeter Photodynamic Therapy (VTP).** In: Gali-Muhtasib, H., *Advances in Cancer Therapy*, InTech, 2011, ISBN: 978-953-307-703-1. P. 99 – 122.
20. Fingar, V. – **Vascular effects of photodynamic therapy.** *Journal of Clinical Laser Medicine and surgery.* 14, 5 (1996), 323 – 328.
21. Castano, A., Deminova, T., Hamblin, M. – **Mechanisms in photodynamic therapy: Part three - Photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and modes of tumor destruction.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 2, 2 (2005), 91 – 106.
22. Yano, S., Hirohara, S., Obata, M., Hagiya, Y., Ogura, S., Ikeda, A., Kataoka, H., Tanaka, M., Joh, T. – **Current states and future views in photodynamic therapy.** *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews.* 12, 1 (2011), 46 – 67.
23. Allison, R., Sibata, C. – **Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: A clinical review.** *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 7, 2 (2010), 61 – 75.

24. Detty, M., Gibson, S., Wagner, S. – **Current clinical and Preclinical Photosensitizers for Use in Photodynamic Therapy.** *Journal of Medicinal Chemistry.* 47, 16 (2004), 3897 – 1915.
25. Maier, A., Tomaselli, F., Anegg, U., Rehak, P., Fell, B., Luznik, S., Pinter, H., Smolle-Jünttner, F. – **Combined photodynamic therapy and hyperbaric oxygenation in carcinoma of the esophagus and the esophago-gastric junction.** *European Journal of Cardio-thoracic Surgery.* 18, 6 (2000), 649 – 655.
26. Henderson, B., Busch, T., Snyder, J. – **Fluence Rate as a Modulator of PDT mechanisms.** *Lasers in Surgery and Medicine.* 38, 5 (2006), 489 – 493.
27. Anand, S., Ortel, B., Pereira, S., Hasan, T., Maytin, E. – **Biomodulatory approaches to photodynamic therapy for solid tumors.** *Cancer Letters.* 326, 1 (2012), 8 – 16.
28. Woodhams, J., MacRobert, A., Bown, S. – **The role of oxygen monitoring during photodynamic therapy and its potential for treatment dosimetry.** *Photochem Photobiol Sci.* 42, 7 (2007), 1246 – 56.
29. Chen, Q., Huang, Z., Chen, H., Shapiro, H., Beckers, J., Hetzel, F. – **Improvement of the tumor response by manipulation of tumor oxygenation during photodynamic therapy.** *Photochemistry and photobiology.* 76, 2 (2002), 197 – 203.
30. Brancaleon, L., Moseley, H. – **Laser and non-laser Light Sources for Photodynamic Therapy.** *Laser in Medical Science.* 17, 3 (2002), 173 – 186.
31. Huang, Z. – **A review of progress in Clinical Photodynamic Therapy.** *Technol Cancer Res Treat.* 4, 3 (2005), 283 – 293.
32. Brown, J., Brown, S., Vernon, D. – **Photosensitising drugs – Their potential in oncology.** *Expert Opinion on Investigational Drugs.* 8,12 (1999), 1967 – 1979.
33. Ormond, A., Freeman, H. – **Dye Sensitizers for Photodynamic Therapy.** *Materials.* 6, 3 (2013), 817 – 840.
34. Brown, S., Brown, E., Walker, I. – **The present and future role of photodynamic therapy in cancer treatment.** *The lancet Oncology.* 5, 8 (2004), 497 – 508.
35. Maeda, H., Nakamura, H., Fang, J. – **The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo.** *Advanced Drug Delivery Reviews.* 65, 1 (2013), 71 – 79.
36. Postiglione, I., Chiaviello, A., Palumbo, G. – **Enhancing Photodynamic Therapy Efficacy by Combination Therapy: Dated, Current and Oncoming Strategies.** *Cancers.* 3, 2 (2011), 2597 – 2629.

37. Martin, L., Otterson, A., Bekaii-Saab, T. – **Photodynamic Therapy (PDT) May Provide Effective Palliation in the Treatment of Primary Tracheal Carcinoma: A Small Case Series.** *Photomedicine and Laser Surgery.* 30, 11 (2012), 668 – 671.
38. Rocha, L.; Arnaut, L.; Pereira, M.; Almeida, L.; Simões, S. – **Terapia fotodinâmica para o tratamento do cancro.** In: Sousa, H.; Braga, M.; Sosnik, A., Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados, Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, 2015, ISBN: 978-989-26-0880-8. P.638 – 634.
39. Schwab, M. – **Encyclopedia of cancer.** 3rd Ed., Heidelberg: Springer, 2012. ISBN 978-3-642-16482-8.
40. Li, B., Lin, L., Lin, H., Wilson, B. – **Photosensitized singlet oxygen generation and detection: Recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy.** *Journal of Biophotonics.* 9, 12 (2016), 1314 – 1325.
41. Bugaj, A. – **Targeted photodynamic therapy – a promising strategy pf tumor treatment.** *Photochemical & Photobiological Sciences.* 10, 7 (2011), 1097.
42. Mathews, M., Angell-Petersen, E., Sanchez, R., Sun, C., Vo, V., Hirschberg, H., Madsen, S. – **The effects of ultra low fluence rate single and repetitive photodynamic therapy on glioma spheroids.** *Lasers in Surgery and Medicine.* 41, 8 (2009), 578 – 584.
43. Starkey, J., Rebane, A., Drobizhev, M., Meng, F., Gong, A., Elliott, A., McInnerney, K., Spangle, C. – **New two-photon activated photodynamic therapy sensitizers induce xenograft tumor regressions after near-IR laser treatment through the body of the host mouse.** *Clinical Cancer Research.* 14,20 (2008), 6564 – 6573.