

**Filipa Baptista Neto Viegas de Carvalho**

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas  
e Cancro da Cavidade Oral**

**Universidade Fernando Pessoa**

**Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2015**



**Filipa Baptista Neto Viegas de Carvalho**

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas  
e Cancro da Cavidade Oral**

**Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2015**

**Filipa Baptista Neto Viegas de Carvalho**

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas  
e Cancro da Cavidade Oral**

Assinatura

---

(Filipa Baptista Neto Viegas de Carvalho)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do grau de  
Mestre em Medicina Dentária.

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral

### Resumo

A terapia fotodinâmica (PDT, do inglês, *photodynamic therapy*) é uma opção terapêutica recente e valiosa, dirigida para a destruição das células tumorais, com potencial para ser incluída no tratamento principal de combate ao cancro, bem como adjuvante de outras terapêuticas. Atualmente é considerada uma estratégia terapêutica de sucesso, clinicamente, aprovada para o tratamento de lesões potencialmente malignas (LPM) e malignas da cavernidade oral. A PDT envolve a administração de um fotossensibilizador (PS, do inglês, *photosensitizer*) que, por si só, não possui efeito farmacológico. Contudo, este é, posteriormente ativado por irradiação, com luz visível de comprimento de onda ( $\lambda$ ) adequado ao local a tratar. Com a foto-ativação do PS ocorre a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*) que dão início à morte celular. O processo está associado com a indução de uma forte reação inflamatória local, potenciando a resposta imunitária e conduzindo à destruição efetiva das células tumorais. O efeito citotóxico ocorre, apenas, no local de ativação da luz e o PS acumula-se preferencialmente nas células malignas, pelo que esta terapêutica apresenta elevada seletividade e um baixo número de efeitos secundários. No contexto clínico, a PDT é utilizada em diversas áreas da medicina como a oftalmologia, a dermatologia e a oncologia, entre outras. No entanto, a sua utilização no tratamento do cancro ainda é limitada.

**Palavras-Chave:** terapia fotodinâmica, cancro oral, cancro da cabeça e pescoço, fotossensibilizadores, carcinoma espinocelular da cavernidade oral, tratamento do carcinoma espinocelular da cavernidade oral, lesões pré-malignas orais, ácido 5-aminolevulínico, protoporfirina IX, oncologia, apoptose, quimioterapia, radioterapia, terapia de indução, HPV, fatores de risco do cancro oral, mucosite oral, diagnóstico de cancro oral, tomografia computadorizada e ressonância magnética.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**Abstract**

Photodynamic therapy (PDT) is a new and valuable therapeutic option, directed to the destruction of tumor cells, with the potential to be included in the primary treatment to combat cancer, as well as an adjunct to other therapies. A successful therapeutic strategy, clinically approved for the treatment of premalignant lesions (LPM) and malignant oral cavity is considered currently. PDT involves the administration of a photosensitizer (PS) which, by itself, does not possess pharmacological effect. However, this is subsequently activated by irradiation with visible light of wavelength ( $\lambda$ ) appropriate to the site to be treated. With the photo-activation of the PS occurs the production of reactive oxygen species (ROS, English, reactive oxygen species) that give beginning to cell death. The process is associated with the induction of a strong local inflammatory response, enhancing the immune response and leading to the effective destruction of tumor cells. The cytotoxic effect occurs only in the light activation site and the PS accumulates preferentially in malignant cells, whereby this treatment has high selectivity and a low number of side effects. In the clinical context, PDT is used in many areas of medicine such as ophthalmology, dermatology and oncology, among others. However, their use in cancer treatment is still limited.

**Key-Words:** *photodynamic therapy, oral cancer, head and neck cancer, photosensitizers, oral squamous cancer cell, oral squamous cancer cell treatment, oral premalignant lesions, 5-aminolevulinic acid, protoporphyrin IX, oncology, apoptosis, chemotherapy, radiotherapy, induction therapy, HPV, oral cancer risk factors, oral mucositis, oral cancer diagnosis, computed tomography and resonance imaging.*

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**Dedicatória**

Aos meus Avós com saudade

Aos meus Pais com grande amor

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

### **Agradecimentos**

Ao meu Pai, em primeiro lugar, pelo seu esforço diário, estímulo e maior incentivo para realizar este curso.

À minha Mãe, um exemplo para mim de que com trabalho e dedicação tudo se consegue. Pelo seu amor incondicional.

À minha irmã Madalena, pela sua grande amizade e por me lembrar e dizer com frequência - “vai mas é estudar!” Sendo também um exemplo para mim.

Ao Ivo, pelo amor, amizade, suporte e incentivo.

Aos meus Familiares e Amigos que acompanharam mais uma aventura.

Aos meus colegas de trabalho da Farmácia Castanheira pela ajuda e compreensão nos momentos de “correria” do dia-a-dia e nas ausências.

À Universidade Fernando Pessoa, aos Professores e Funcionários, em especial ao Sr. Sousa, ao Eduardo, ao Nuno, à Clara, à Martinha, à D. Filomena e ao Waldino.

Ao meu orientador, Professor Doutor Lúcio Lara Santos, pela disponibilidade manifestada, estímulo e apoio no decorrer desta Monografia.

À Luísa Ribeiro, bibliotecária no IPO do Porto, pela preciosa ajuda na pesquisa e disponibilidade demonstrada na aquisição dos artigos necessários à realização deste trabalho.

Aos meus Colegas, em especial, à Fernanda Alves sempre atenta e disponível e aos meus Binómios, Ana Isabel Abreu e André Saleiro, com os quais partilhei muitos momentos.

À Cristiana Costa com quem vivi grande parte deste percurso académico.

Um destaque especial, como não poderia deixar de ser, à Ana Filipa Gonçalves colega e grande amiga, um pilar fundamental durante o curso, com quem partilhei muitas vivências e aventuras!

**A todos, o meu muito Obrigada!**

## Índice Geral

<b>Resumo</b>	<b>V</b>
<b>Abstract</b>	<b>VI</b>
<b>Dedicatória</b>	<b>VII</b>
<b>Agradecimentos</b>	<b>VIII</b>
<b>Índice Geral</b>	<b>IX</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>XI</b>
<b>Símbolos, Abreviaturas e Fórmulas</b>	<b>XIII</b>
<b>Glossário</b>	<b>XVII</b>
<b>I. Introdução</b>	<b>1</b>
<b>II. Desenvolvimento</b>	<b>5</b>
2.1 Material e Métodos	5
2.2 Epidemiologia	6
2.3 Fatores de Risco	10
2.4 Diagnóstico	12
2.5 Modalidades Terapêuticas e Algoritmo de Atuação	17
2.5.1 Cirurgia	18
2.5.2 Radioterapia	19
2.5.3 Quimioterapia	21
2.5.4 Complicações na Cavidade Oral	25

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

<b>III.</b>	<b>Terapia Fotodinâmica</b>	<b>27</b>
3.1	Fundamentos e Potencialidades	27
3.2	Princípios	30
3.3	Fontes de Luz	34
3.4	Fotossensibilizadores	37
3.4.1	<b>Tipos de Fotossensibilizadores</b>	<b>38</b>
3.4.1.1	Porfirinas	38
3.4.1.2	Percursos da porfirina - Ácido 5-aminolevulínico e seus ésteres	42
3.4.1.3	Clorinas	46
3.4.1.4	Ftalocianinas	48
3.4.1.5	Bacterioclorinas	52
<b>IV.</b>	<b>Mecanismos de Ação da Terapia Fotodinâmica</b>	<b>54</b>
4.1	Mecanismos de Citotoxicidade	54
4.1.1	Apoptose	55
4.1.2	Necrose	56
4.1.3	Autofagia	57
4.2	Mecanismos Citoprotetores	58
4.3	Inflamação e Imunidade	60
4.4	Associação da PDT com Outras Estratégias Terapêuticas	63
<b>V.</b>	<b>Conclusões</b>	<b>66</b>
<b>VI.</b>	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>69</b>

## **Índice de Figuras**

**Figura n.º 1** - As seis características biológicas de destaque de um cancro (adaptado do artigo Hanahan e Weinberg, 2011).

**Figura n.º 2** - Leucoplasia (**2A**) e Carcinoma do Rebordo Alveolar (**2B**) (fonte: <http://www.ond.pt/pt/2/1/publico/cancro-oral>).

**Figura n.º 3** - Princípios da Terapia Fotodinâmica (PDT) (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

**Figura n.º 4** - Processo de Fotosensibilização (adaptado do Diagrama Jablonski Modificado *cit in.* Agostinis *et al.*, 2011 e Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 5** - Espectro Eletromagnético com evidência para região do UV-Vis (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 6** - Propagação da Luz Através dos Tecidos (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

**Figura n.º 7** - Estrutura Química Geral de uma Porfirina (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 8** - Espectro de Absorção de uma Porfirina na região do UV-Vis (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 9** - Estrutura Química de uma HP (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 10** - Estrutura Química do HPD (Photofrin<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 11** - Estrutura Química do ALA (Levulan<sup>®</sup>) ([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aminolevulinic\\_acid.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aminolevulinic_acid.svg)).

**Figura n.º 12** - Estrutura Química da Protoporfirina IX (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 13** - Estrutura Química dos Ésteres do ALA (Metvix<sup>®</sup>) (11A) e (Hexvix<sup>®</sup>) (11B) (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 14** - Estrutura Química da mTHPC (Foscan<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**Figura n.º 15** - Estrutura Química do BPD-MA (Visudyne<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 16** - Estrutura Química da NPe6 (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 17** - Espectro de Absorção na Região do UV-Vis dos Derivados Ftalocianínicos (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 18** - Estrutura Química das Ftalocianinas Presentes no Photosens<sup>®</sup> (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 19** - Estrutura Química da Pc4 (**19A**) e do ZnPc CGP55847 (**19B**) (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 20** - Interações do Tipo  $\pi$ -stacking em Ftalocianinas (Oliveira *et al.*, 2015).

**Figura n.º 21** - Estrutura Química de uma Ftalocianina Metalo-Sulfonada (M = metal; R = SO<sub>3</sub><sup>-</sup>/H) (Matei *et al.*, 2015).

**Figura n.º 22** - Modelo da Molécula de Redaporfin<sup>®</sup> (<http://noticias.uc.pt/universo-uc/molecula-patenteada-pela-uc-para-terapia-inovadora-no-tratamento-de-varios-tipos-de-cancro-revela-a-eficacia-desejada/>).

**Figura n.º 23** - Efeito Vascular da PDT (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

**Figura n.º 24** - As Três Modalidades Principais de Morte Celular (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

**Figura n.º 25** - Efeitos Induzidos pela PDT (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

## **Símbolos, Abreviaturas e Fórmulas**

**$^1\text{O}_2$**  - oxigénio *singlet*.

**5-FU** - 5-fluoruracilo.

**ABCG2** - *ATP-binding cassette transporter G2*.

**ADN** - ácido desoxirribonucleico.

**Ag** - prata.

**Al** - alumínio.

**ALA** - ácido 5-aminolevulinico.

**ALA-hx** - ácido 5-aminolevulinico-hexenilo.

**AlS<sub>2</sub>Pc** - ftalocianina de alumínio di-sulfonada.

**ARMD** - *age-related macular degeneration*.

**ARN** - ácido ribonucleico.

**ATP** - adenosina trifosfato.

**BPD-MA** - derivado mono-ácido da benzoporfirina.

**CAL** - calcipotriol.

**CBM** - combinação de cisplatina com bleomicina e metotrexato.

**CCO** - cancro da cavidade oral.

**CCP** - cancro da cabeça e pescoço.

**CDAMPs** - *cell death associated molecular patterns*.

**CDs** - células dendríticas.

**CEC** - carcinoma espinocelular.

**CECO** - carcinoma espinocelular da cavidade oral.

**CECP** - carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**CECs** - carcinomas espinocelulares.

**CLR** - controlo loco-regional.

**CO** - cavidade oral.

**CR** - cirurgia.

**CSCs** - *cancer stem cells*.

**CTLs** - *cytotoxic T lymphocytes*.

**DAMPs** - *damage-associated molecular pattern molecules*.

**DLIs** - *drug-to-light intervals*.

**EGF** - *epidermal growth factor*.

**ERK** - *extracellular-signal regulated kinase*.

**FDA** - *food and drug administration*.

**FECH** - *ferrochelatase*.

**FGF2** - *fibroblast growth factor-2*.

**Gy** - *grays*.

**H-ALA** - hexaminolevulinato.

**HIF-1** - *hypoxia-inducible factor 1*.

**HO<sup>•</sup>** - radical hidroxilo.

**HO-1** - heme-oxigenase.

**HP** - hematoporfirina.

**HPD** - *hematoporphyrin derivative*.

**HPV** - papilomavírus humano.

**HSPs** - *heat shock proteins*.

**In** - índio.

**J/cm<sup>2</sup>** - joules por centímetro quadrado.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**LEDs** - *light emitting diodes*.

**LPM** - lesões potencialmente malignas.

**M-ALA** - metilaminolevulinato.

**MAP** - *mitogen-activated protein*.

**MHC-I** - *major histocompatibility complex class I molecules*.

**MO** - mucosite oral.

**m-THPC** - meso-tetra(3-hidrofenil)clorina.

**MTX** - metotrexato.

**Nd:YAG** - *neodymium-doped yttrium aluminium garnet*.

**NK** - *natural killer cells*.

**nm** - nanómetros.

**NPe6** - clorina e6 N-aspartil.

**Nrf2** - sinal de transdução do fator nuclear do tipo 2.

**O<sub>2</sub>** - oxigénio.

**O<sub>2</sub><sup>•-</sup>** - radical aniónico superóxido.

**OFNASET** - teste nanosensor de fluído oral.

**OMD** - ordem dos médicos dentistas.

**OMS** - organização mundial de saúde.

**p38** - p38 *mitogen-activated protein kinases*.

**PDT** - *photodynamic therapy*.

**PET** - *positron emission tomography*.

**PpIX** - protoporfirina IX.

**PS** - *photosensitizer*.

**PSs** - *photosensitizers*.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

**QRT** - quimiorradioterapia.

**QT** - quimioterapia.

**REGF** - *receptor of the epidermal growth factor*.

**RMN** - ressonância magnética nuclear.

**Roreno** - registo oncológico regional do norte.

**ROS** - *reactive oxygen species*.

**RT** - radioterapia.

**S<sub>0</sub>** - estado fundamental.

**S<sub>1</sub>** - estado excitado.

**SCC4** - *squamous-cell carcinoma cell line of human tongue*.

**SI** - sistema imunitário.

**SOD** - superóxido dismutase.

**T<sub>1</sub>** - estado excitado *triplet*.

**t<sub>1/2</sub>** - tempo de semi-vida.

**TC** - tomografia computadorizada.

**TGF-β** - *transforming growth factor beta*.

**TNM** - classificação clínica pré-tratamento.

**TPF** - combinação tripla de docetaxel, cisplatina e 5-fluoruracilo.

**UCLA** - universidade da califórnia.

**UV-Vis** - ultravioleta-visível.

**VEGF** - *vascular endothelial growth factor*.

**Zn** - zinco.

**δ** - profundidade de penetração ótica.

**Φ<sub>A</sub>** - rendimento quântico.

## **Glossário**

**Chaperone** - proteína que participa no enovelamento de novas proteínas sintetizadas ou no desnovelar destas numa conformação tridimensional particular.

**Cruzamento Intersistemas** - processo de menor energia na qual o estado eletrónico do singlete excitado faz uma transição para um estado excitado tripleto.

**Damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs)** - proteínas intracelulares que, quando libertadas fora da célula após a sua lesão, podem iniciar ou sustentar uma resposta imunitária na resposta inflamatória não infecciosa.

**Estado Fundamental** - menor estado de energia das partículas no seu estado elementar.

**Estado Tripleto (T1)** - estado de uma molécula ou de um radical livre na qual há dois eletrões desemparelhados.

**Fotobleaching** - destruição do PS durante a iluminação. Esta propriedade pode tornar a dosimetria de luz menos crítica.

**Fotossensibilizador (PS)** - composto que absorve luz iniciando uma reação fotoquímica ou fotofísica.

**Major histocompatibility complex class I molecules (MHC-I)** - glicoproteínas transmembranares que se ligam a péptidos com 8-11 aminoácidos de comprimento reconhecidos por recetores de células T.

**Oxigénio singlete ( $^1\text{O}_2$ )** - forma excitada de oxigénio molecular caracterizada pelo spin oposto de um par de eletrões que é menos estável e mais reativo do que o oxigénio tripleto normal ( $\text{O}_2$ ).

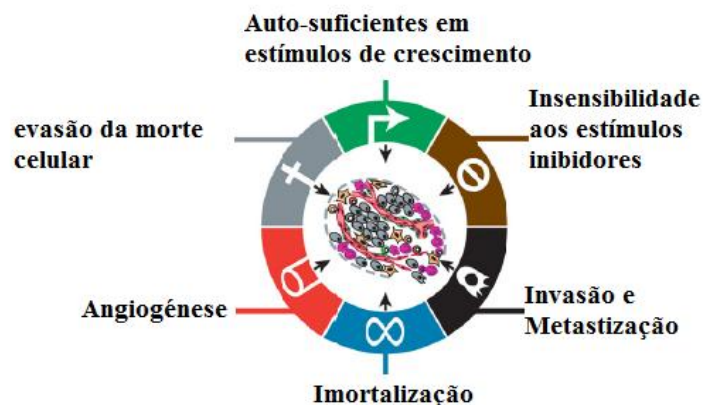
**Taxa de fluência** - o número de partículas que intercetam uma unidade de área num determinado período de tempo ( $\text{W}/\text{m}^2$ ).

**Via da ubiquitina proteossoma** - a maior via intracelular para a degradação de proteínas.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da  
Cavidade Oral**

## I. Introdução

O cancro é uma palavra singular que inclui uma diversidade de doenças que têm em comum uma divisão celular descontrolada provocada por mutações do ADN (Ácido Desoxirribonucleico) (Hong *et al.*, 2010 *cit in.* Cândido, 2014; Bower, 2006). Este distingue-se pela independência às restrições presentes nos tecidos normais (Hong *et al.*, 2010 *cit in.* Cândido, 2014). A célula tumoral não obedece às regras complexas de arquitetura e função que orientam a morfologia habitual e comportamento celular num tecido, sendo insensível às barreiras anatómicas das membranas celulares adjacentes e membranas basais (Hong *et al.*, 2010 *cit in.* Cândido, 2014). O cancro é definido por várias características histopatológicas, nomeadamente a invasão e a metastização (Bower e Waxman, 2006). Como parte do seu comportamento invasivo, as células tumorais ao atingir um vaso linfático ou capilar são capazes de penetrar na sua parede, migrar para locais longínquos onde a possibilidade de extravasamento, aderência e colonização permita a formação de metástase (Hong *et al.*, 2010). O cancro compreende seis características biológicas adquiridas durante as várias etapas do desenvolvimento de tumores humanos (**Figura n.º 1**). Estas características, incluem sustentar a sinalização proliferativa, escapar aos fatores supressores de crescimento, resistir à morte celular, possibilitando a imortalidade replicativa, induzir a angiogénese, e a ativação da invasão e metastização (Hanahan e Weinberg, 2011; Bower e Waxman, 2006).



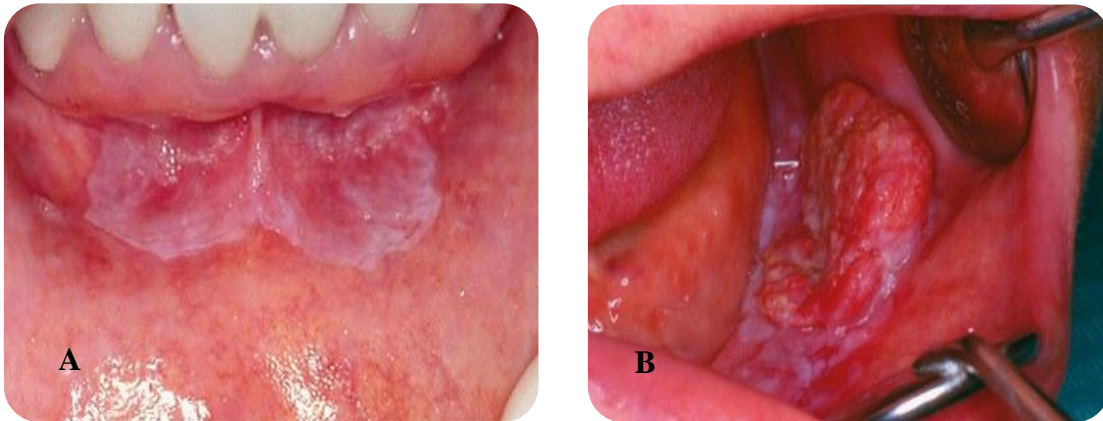
**Figura n.º 1** - As seis características biológicas de destaque de um cancro (adaptado do artigo Hanahan e Weinberg, 2011).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Implícito a estas características encontram-se a instabilidade genómica, que origina a diversidade genética que acelera a sua aquisição e a inflamação (Hanahan e Weinberg, 2011). A transformação de uma célula normal numa célula maligna é um processo que envolve várias etapas que dependem da interação da genética de cada indivíduo com três categorias principais de carcinogéneos, nomeadamente, físicos, como a luz ultravioleta ou a radiação ionizante, químicos, como alguns componentes do tabaco ou de alguns alimentos, e biológicos, derivados de algumas infeções bacterianas ou virais. Os principais fatores de risco para o desenvolvimento de cancro são os hábitos tabágicos, dietas alimentares pobres e desequilibradas, consumo de álcool, adoção de estilos de vida sedentários ou infeções crónicas como hepatite B ou C, entre outras (OMS, 2014; Murphy *et al.*, 2012 *cit in*. Cândido, 2014). O cancro pode desenvolver-se em qualquer idade, tecido ou órgão. A maioria dos cancros detetados num estágio inicial são potencialmente curáveis. A gestão e reabilitação de pacientes com cancro requerem uma abordagem multidisciplinar, desde oncologistas, otorrinolaringologistas, radiologistas, histopatologistas, enfermeiros, psicólogos, nutricionistas, fisioterapeutas, terapeutas da fala, técnicos de prótese, entre outros (Bower e Waxman, 2006).

O cancro da cavidade oral (CCO) é definido pela Classificação Internacional de Doenças como o conjunto de tumores malignos que afetam qualquer localização da CO, dos lábios à garganta (incluindo as amígdalas e a faringe) (OMD). O carcinoma espinocelular (CEC) é o tipo histológico mais comum, correspondendo a 90% dos casos dos carcinomas que ocorrem na cavidade oral (CO) (Omar, 2015; Macey *et al.*, 2015; Krishna *et al.*, 2014; Santos e Teixeira, 2011; Hogan *et al.*, 2005 e Antunes *et al.*, 2003 *cit in*. Filho, 2009). Os médicos dentistas assumem um papel fundamental no exame da mucosa oral pois podem diagnosticar uma LPM (leucoplasia, eritroplasia, eritroleucoplasia oral, hiperplasia verrucosa oral, fibrose submucosa e queratose actínica) ou maligna num estágio ainda precoce e possivelmente curável. Na prática clínica, quando se observam, na mucosa oral, lesões que sugiram a possibilidade de estar perante uma LPM ou neoplasia maligna (**Figura n.º 2**), deve-se procurar a confirmação dessa suspeita, através de biopsia incisional ou de referenciação do doente para um centro com experiência no tratamento desta patologia (Teixeira e Santos, 2011; Bower e Waxman, 2006).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral



**Figura n.º 2** - Leucoplasia (**2A**) e Carcinoma do Rebordo Alveolar (**2B**) (fonte: <http://www.omd.pt/pt/2/1/publico/cancro-oral>).

A PDT é uma opção terapêutica preciosa para associar com outras terapêuticas. Esta tem potencial para ser incluída como tratamento principal no combate ao cancro (Agostinis *et al.*, 2011). Foi no princípio do século XX, em Munique que se iniciou a investigação da reação fotodinâmica, quando o estudante de medicina Oscar Raab orientado pelo Professor Herman Von Tappeiner, acidentalmente, verificou que a combinação de luz de elevada intensidade com um corante como o laranja de acridina, sobre uma preparação de paramécias, provocava a morte (Ackroyd *et al.*, 2001 *cit in.* Cândido, 2014; Torezan *et al.*, 2009). Simultaneamente, Raab e os seus professores verificaram que este acontecimento se devia a uma reação fotoquímica dependente do oxigénio (O<sub>2</sub>) (Allison, 2014 *cit in.* Cândido, 2014). Em poucos anos foram descritos os primeiros estudos clínicos da aplicação da PDT, tendo por base moléculas corantes, no tratamento principalmente de cancro da cabeça e pescoço (CCP) ou da pele (Triesscheijn *et al.*, 2006 *cit in.* Cândido, 2014). Apesar do sucesso com que estes estudos foram descritos, o interesse na PDT diminuiu, com o decréscimo do número de publicações. No entanto, neste período, foi descrita também a possibilidade de usar a fluorescência do PS para tornar o tumor visível e, portanto, a possibilidade de aplicar a reação fotodinâmica para diagnóstico (Allison, 2014 *cit in.* Cândido, 2014). Foi a partir dos anos 70 que Dougherty redescobriu a PDT e redefiniu esta terapêutica com ensaios clínicos bem-sucedidos. Os resultados da administração de derivados da hematoporfirina (HPD, do inglês, *hematoporphyrin derivative*) ou porfímero de sódio, seguida de iluminação com luz vermelha, em mais de 100 doentes com cancros da pele e da bexiga, constituíram evidências que contribuíram para a aceitação e generalização

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral**

desta terapêutica (Allison, 2014; Triesscheijn *et al.*, 2006 *cit in.* Cândia, 2014). Assim, há cerca de duas décadas, esta foi a primeira terapêutica aprovada que consiste na combinação de um fármaco com um dispositivo (Agostinis *et al.*, 2011).

A escolha do tema do trabalho surgiu da breve abordagem do Professor Lúcio, no decorrer de uma aula de medicina oral especial sobre esta terapêutica, ainda recente, o que me motivou a aprofundar mais sobre esta temática.

O objetivo desta monografia suportada numa revisão bibliográfica é disponibilizar um sumário atualizado da PDT, fazendo referencia aos fundamentos principais desta terapêutica, bem como, a alguns dos fotossensibilizadores (PSs, do inglês, *photosensitizers*) mais comuns e dados que indicam que esta pode ser uma opção terapêutica credível, como adjuvante e no tratamento principal de LPM e malignas da CO.

## **II. Desenvolvimento**

### **2.1 Material e Métodos**

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica através da consulta à base de dados *PubMed* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) na sua maioria, no *Google* (<https://www.google.pt/>), no *site* (<http://www.ond.pt/pt/2/1/publico/cancro-oral>) da Ordem dos Médicos Dentistas (OMD), no Repositório Institucional da Universidade Fernando Pessoa (<http://bdigital.ufp.pt/>), na biblioteca do Edifício das Clínicas Pedagógicas da Universidade Fernando Pessoa, na biblioteca do IPO do Porto e, igualmente, de livros académicos, bem como de artigos cedidos pelo meu Orientador.

Na consulta da base de dados da *PubMed* e *Google* recorreu-se às palavras-chave *photodynamic therapy, oral cancer, head and neck cancer, photosensitizers, oral squamous cancer cell, oral squamous cancer cell treatment, oral premalignant lesion, 5-aminolevulinic acid, protoporphyrin IX, oncology, apoptosis, chemotherapy, radiotherapy, induction therapy, HPV, oral cancer risk factors, oral mucositis, oral cancer diagnosis, computed tomography* e *resonance imaging*.

As 41 referências bibliográficas pesquisadas, desde livros a artigos tiveram como limites temporais os anos entre 1997 a 2015, nos idiomas inglês e português. Os critérios de inclusão para os artigos foram direcionados para o tema em questão que aborda o tratamento de doentes com LPM e cancro da CO em que a PDT era incluída; referindo indicações, efeitos adversos e resultados; artigos mais recentes quer os de acesso livre quer os de acesso restrito. Os únicos critérios de exclusão foram artigos que não se enquadrassem no tema e que não fossem muito recentes.

## **2.2 Epidemiologia**

Os CCO e da faringe são um dos principais problemas na saúde pública mundial (Monteiro *et al.*, 2012). Estes cancros, em conjunto, estão classificados em sexto lugar de entre os mais prevalentes no mundo (Chen *et al.*, 2015; Monteiro *et al.*, 2012). No ano de 2008, a incidência estimada para o cancro oral e da faringe a nível mundial foi de 399.600 novos casos (Monteiro *et al.*, 2012). O Programa Nacional de Registro de Cancro do Conselho Indiano de Pesquisa Médica relatou um maior número de CCO em todo o mundo com 80.000 novos casos anuais (ICMR-NCRP, 2011 *cit in.* Krishna *et al.*, 2014). Em Portugal, a incidência estimada de CCO e faríngeo foi de 1468 novos casos, para o ano de 2008, sendo o sexto cancro mais comum em homens com 1194 casos e o décimo sexto em mulheres com 274 casos por ano (Monteiro *et al.*, 2012).

As variações nas tendências da ocorrência de CCO e faríngeos têm sido relatadas internacionalmente. Verificou-se que em alguns países como a Dinamarca, a Holanda, o Japão, a Inglaterra e a Escócia há uma incidência gradual nas últimas décadas e um declínio noutros países como o Sri Lanka, a Tailândia ou a Espanha. Em Portugal, não tem sido realizada uma análise comparativa detalhada das tendências do CCO e da orofaringe (Monteiro *et al.*, 2012).

As taxas de incidência e mortalidade variam de um país para o outro, devido a diferenças a nível dos hábitos, especialmente, no que se refere ao consumo de tabaco e álcool, bem como dos fatores ambientais e do acesso a cuidados médicos de qualidade (Paiva *et al.*, 2011). As taxas de incidência e sobrevivência de cancro estão visivelmente ligadas a fatores socioeconómicos, a baixos rendimentos e grupos desfavorecidos (Krishna *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2012). Madani *et al.* (2010) reportaram que o risco de CCO é inversamente proporcional ao aumento do nível de escolaridade e de uma situação financeira favorável (*cit in.* Krishna *et al.*, 2014).

O Carcinoma Espinocelular da Cavidade Oral (CECO) mostra uma variação geográfica em relação à idade, local, sexo e hábitos da população (Krishna *et al.*, 2014). A incidência deste cancro oscila a nível mundial (cerca de 20 vezes), retratando as variações na prevalência de fatores de risco específicos de cada região (Monteiro *et al.*, 2012). Doentes com CECP (carcinoma espinocelular da cabeça e pescoço) têm uma

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

sobrevivência de 5 anos de aproximadamente 50% (Lohaus *et al.*, 2014). A taxa de sobrevivência relativa de 5 anos para o cancro da CO é de 63% quando todos os estádios estão reunidos (Posner *et al.*, 2007 *cit in.* Chhatui *et al.*, 2015). Em doentes com CCO nos estádios III e IV, a sobrevivência aos 5 anos é reduzida (Santos e Teixeira, 2011).

Num estudo realizado por Monteiro *et al.* (2012), entre 1998-2007, verificou-se que de 9623 casos de doentes com cancro do lábio, oral e orofaríngeo, 7565 (78.6%) são homens e 2058 (21.4%) são mulheres, com uma proporção de homem: mulher de 3.7:1 respetivamente.

Os cancros do lábio, da CO e o orofaríngeo são mais comuns nos adultos com idade superior a 45 anos, representando 89.2% de todos os tumores em 2007. A incidência mais elevada foi notada na faixa etária acima dos 75 anos para ambos os sexos em conjunto e para as mulheres individualmente, embora nos homens a faixa etária mais afetada se situe entre os 60 e os 64 anos (Monteiro *et al.*, 2012). A prevalência do CECO é significativamente elevada em grupos de meia-idade (45-50 e 51-60 anos) (Krishna *et al.*, 2014). O pico de incidência do CECO situa-se entre os 45-75 anos de idade (Omar, 2015). Gangane *et al.* (2007) relataram que a prevalência das lesões malignas orais surgem maioritariamente em pessoas com idade entre os 50-59 anos (*cit in.* Krishna *et al.*, 2014). Halboub *et al.* (2011) mencionaram que cerca de 17% dos doentes mais jovens têm uma idade abaixo dos 40 anos (*cit in.* Krishna *et al.*, 2014).

O local de maior incidência de CCO é a língua (local correntemente associado ao HPV) (Chhatui *et al.*, 2015; Krishna *et al.*, 2014; Monteiro *et al.*, 2012; Santos e Teixeira, 2011) seguindo-se o cancro da orofaringe (Monteiro *et al.*, 2012). O cancro do lábio no início do primeiro ano do estudo (1998) teve a segunda maior taxa de incidência, mas em 2007 já ocupava a quarta posição depois do palato e de outros sítios inespecíficos da CO (C05 e C06) (Monteiro *et al.*, 2012). Segundo, os dados do registo oncológico regional do norte de Portugal (roreno, 2006), a localização da CO com maior taxa de incidência foi a língua, seguida dos lábios, à semelhança do resto do país (Santos e Teixeira, 2011). As principais zonas anatómicas do CECO são a língua, pavimento da boca, gengivas, palato, mucosa oral e outros sítios da CO. As zonas anatómicas ou locais afetados variam de acordo com as áreas geográficas (Hernandez *et al.*, 2013 *cit in.* Krishna *et al.*, 2014).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Karim-Kos *et al.* (2008) observaram uma estimada diminuição no CCO e faríngeo em associação entre os homens dos países da Irlanda, França, Suíça, Itália, Espanha e Eslovénia (*cit in.* Monteiro *et al.*, 2012). Os autores Monteiro *et al.* (2012) verificaram que os seus dados para as mulheres são coincidentes com o aumento das tendências observadas na maioria dos países Europeus, incluindo o Norte da Europa (Inglaterra, Escócia e Dinamarca), a França e a Holanda. Estes autores, com base na sua análise, verificaram que a incidência de CCO (C01-C06) aumentou em ambos os sexos (1.96%/ano), especialmente, no sexo feminino (4.34%/ano). Outros estudos confirmaram a mesma tendência, sendo que no estudo realizado por Braakhuis *et al.* (2009), estes observaram um aumento do CCO na Holanda de 0.5% e 2.0% por ano em homens e mulheres respetivamente. No estudo de Ligier *et al.* (2011) constatou-se um aumento significativo na incidência de CCO nas mulheres francesas e uma diminuição nos homens (Monteiro *et al.*, 2012). Hernandez *et al.* (2013) num estudo efetuado na Cidade do México revelou uma prevalência de CECO de 58.4% nos homens e de 41.6% no grupo de mulheres e homens: proporção feminina 1,4:1. Alguns estudos anteriores de institutos de estudos na Índia mencionaram que o CCO ocorre 2-4 vezes com maior frequência nos homens do que nas mulheres (Sharma *et al.*, 2010; Aruna *et al.*, 2011; Arvind e Vijayalakshmi, 2013 *cit in.* Krishna *et al.*, 2014).

O CCO é mais frequente no sexo masculino, mas o número de casos no sexo feminino têm vindo a aumentar em todo o mundo (Santos e Teixeira, 2011). Estas evidências podem estar relacionadas com as diferentes práticas de consumo de álcool e de tabaco entre homens e mulheres nas últimas décadas (Monteiro *et al.*, 2012).

Em 2005, Portugal foi classificado em quarto lugar a nível mundial como o país de maior consumo de vinho *per capita* (Monteiro *et al.*, 2012). Em 2001, Mello *et al.* constataram que o consumo de cerveja e bebidas destiladas aumentou sobretudo nas mulheres e que em Portugal se verificou um aumento no consumo excessivo de álcool (*cit in.* Monteiro *et al.*, 2012).

Os resultados de vários estudos efetuados em todo o mundo sugerem que a incidência de CCO está a crescer nos jovens (Monteiro *et al.*, 2012). Geralmente, os doentes com o sistema imunitário (SI) debilitado são quem desenvolve a doença em idades inferiores (Santos e Teixeira, 2011). Llewellyn *et al.* (2001) sugerem que na população jovem podem estar implicados outros fatores no desenvolvimento do CCO

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral**

para além do álcool e do tabaco, nomeadamente o HPV (Lohaus *et al.*, 2014; *cit in*. Monteiro *et al.*, 2012). Apesar disso, após a mucosa oral ser infetada por alto risco de HPV pode levar mais de 20 anos para o desenvolvimento da transformação maligna (Monteiro *et al.*, 2012). Nos resultados do estudo de Monteiro *et al.* (2012) não foi evidente ou diferente um aumento de CCO na população jovem em comparação com a população adulta. Porém, a percentagem de CCO em doentes com idade inferior a 45 anos de idade foi mais elevada (10.8%) na presente data do que 6% observados em vários registos de cancro relatados na literatura (Monteiro *et al.*, 2012). Santos e Teixeira (2011) referem que a incidência de CCO aumenta com a idade e difere de acordo com a região geográfica. Nos países ocidentais, cerca de 98% dos cancros surgem a partir dos 40 anos de idade.

Toporcov *et al.* (2015) mencionaram que um aumento da incidência de CCP em adultos jovens tem sido reportado. Comprovaram também que os casos de grupos jovens (com idade  $\leq$  45 anos) apresentaram uma maior proporção de cancro da língua (16% nas mulheres; 11.0% nos homens) e nos cancros da orofaringe/locais inespecíficos da CO (16.2%; 11.1%) do que em casos de adultos de meia idade (com idade  $>$  45 anos). As proporções dos que nunca fumaram ou dos que não beberam entre casos do sexo feminino foi maior do que entre os casos masculinos, em ambas as faixas etárias (*cit in*. Monteiro *et al.*, 2012).

Monteiro *et al.* (2012) e Blomberg *et al.* (2011) observaram ambos uma diminuição, apenas, na taxa de incidência do cancro do lábio comparado com o oral e oro-faríngeo (*cit in*. Monteiro *et al.*, 2012).

Monteiro *et al.* (2012) concluíram que durante o período de 1998 a 2007 houve um crescimento do CCO e oro-faríngeo em Portugal. Esta tendência de crescimento foi mais evidente nas mulheres para o CCO e nos homens para o cancro oro-faríngeo.

### **2.3 Fatores de Risco**

O CCO é um processo multifatorial associado a vários fatores de risco para o seu desenvolvimento. O tabaco, o álcool e uma higiene oral pobre são fatores de risco bem estabelecidos para o desenvolvimento do CCO (Vohra *et al.*, 2015; Bower e Waxman, 2006). O consumo de tabaco e álcool estão diretamente relacionados com a frequência diária e a duração (Krishna *et al.*, 2014; Raspall, 1997). O hábito de fumar, o consumo de álcool, produtos de tabaco sem fumo (do inglês, *smokeless*) e o HPV são os fatores de risco principais, com um risco atribuído de 80% tanto para o tabaco como para o álcool (Monteiro *et al.*, 2012). Um estudo reportou um elevado risco de CECO na zona retromolar seguido pelo pavimento da boca e mucosa oral para os fumadores de tabaco enquanto os consumidores de álcool apresentam um risco maior de CECO no pavimento da boca e língua (Schmidt *et al.*, 2004; Jovanovich *et al.*, 1993 *cit in.* Krishna *et al.*, 2014).

A Agência Internacional para Pesquisa sobre o Cancro confirmou que o consumo de tabaco sem fumo causa CCO (Cogliano *et al.*, 2004 *cit in.* Krishna *et al.*, 2014). O mascar nozes de betel está associado ao CCO e orofaríngeo na Ásia (Krishna *et al.*, 2014; Bower e Waxman, 2006; Raspall, 1997). O início precoce do uso de tabaco especialmente na forma de mascar, devido à sua fácil disponibilidade, baixo custo e aceitação sócio-cultural está associada ao CCO. O tabaco de mascar é mais prevalente nas regiões do Nordeste, Centro e Oriental e o tabagismo é relativamente mais comum em regiões do Norte (Krishna *et al.*, 2014). Os carcinógenos exógenos, tabaco, álcool e betel, podem induzir danos no ADN que levam a uma alteração da expressão do gene p53 ou apoptose resultando em instabilidade genómica (Hou *et al.*, 2015). Os CECO relacionados com o HPV mostram menos mutações do gene p53, em comparação com o fumo e o álcool (Lohaus *et al.*, 2014).

Tem sido sugerido uma associação entre o CCO e o vírus herpes simplex tipo I e também o HPV (Raspall, 1997). Estudos têm revelado que a presença de certos oncotipos do HPV estão associados com a estimulação e aumento do número de células epiteliais malignas (Sadighi *et al.*, 2014). A oncoproteína E6 codificada por dois tipos de HPV de alto risco denominados HPV-16 e HPV-18 pode induzir a degradação da

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

função do gene p53 pela via da ubiquitina proteossoma (Hou *et al.*, 2015). Tumores HPV-positivos geralmente têm origem na orofaringe (Lohaus *et al.*, 2014). Nos tumores da CO HPV-positivos o tipo 16 está presente em 90% dos casos (Santos e Teixeira, 2011). Os oncogenes E6 e E7 de HPV têm sido apontados para guiar a carcinogénese, que é acompanhada por inativação do gene p53 e da degradação da proteína RB respetivamente (Bower e Waxman, 2006; Lohaus *et al.*, 2014) e da sobre-expressão de p16, devido à perda de supressão da transcrição (Lohaus *et al.*, 2014). Hou *et al.* (2015) demonstraram que o polimorfismo do codão 72 do gene p53, arginina (p53 Arg72Pro) em conjunto com a infeção pelo HPV pode alterar a suscetibilidade do indivíduo para o risco de CCO e contribuir parcialmente para a patogénese de desenvolvimento do CCO. O HPV tem sido relacionado com a apresentação de CCO nos jovens (Shiboski *et al.*, 2005 *cit in*. Monteiro *et al.*, 2012), estando associado a práticas sexuais com múltiplos parceiros e sexo oral (Santos e Teixeira, 2011). O comportamento sexual e as mudanças nos hábitos sexuais nas últimas décadas podem estar relacionados com o cancro orofaríngeo (Monteiro *et al.*, 2012).

O consumo de álcool, tabaco, dietas pouco saudáveis, estilos de vida sedentários e infeções virais são fatores de risco para o desenvolvimento do cancro (Krishna *et al.*, 2014). Outros fatores de risco como os fatores nutricionais em que se verifica um baixo consumo de frutas e vegetais (Monteiro *et al.*, 2012) e também a deficiência em ferro e o Síndrome de *Plummer-Vinson* podem contribuir para o aumento do CCO, sobretudo no sexo feminino (Santos e Teixeira, 2011). Doentes com CCP estão frequentemente mal nutridos no momento do diagnóstico e antes do início do tratamento (Bossola *et al.*, 2015).

Fatores infecciosos provocados pelo fungo *Candida albicans*, fatores físicos, como a radiação ultravioleta, fatores traumáticos, tais como próteses desajustadas, dentes fraturados e com bordos cortantes, são regularmente associados ao CCO (Santos e Teixeira, 2011).

## **2.4 Diagnóstico**

O estudo do doente com CCO exige uma adequada história clínica, através de uma observação extra-oral e intra-oral acompanhada da realização de exames complementares de diagnóstico, desde análises hematológicas e bioquímicas, Ortopantomografia, Tomografia Computarizada (TC) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) (Raspall, 1997).

A elaboração da história clínica deve iniciar-se questionando o doente sobre o motivo da consulta, os antecedentes médicos e cirúrgicos, averiguando se este teve anteriormente alguma patologia neoplásica ou não neoplásica, bem como doenças venéreas, medicação atual, estado nutricional e hábitos de consumo de tabaco e/ou álcool (Raspall, 1997). Em seguida, procede-se à inspeção da face e da região cervical (exame extra-oral). Deve-se ter em atenção deformidades, assimetrias faciais, alterações da pele e pigmentações. A região cervical é de especial importância, pois algumas lesões evidenciam-se como adenopatias (Santos e Teixeira, 2011). Posteriormente, no exame intra-oral a observação da CO é feita de forma direta ou indireta através de um espelho iluminado por luz frontal, efetuando a palpação da CO e da orofaringe (Raspall, 1997). Santos e Teixeira (2011) sugerem a seguinte sequência para avaliação da CO: avaliação dos fundos vestibulares superiores e inferiores, fazendo a eversão dos lábios; avaliação das regiões jugais; avaliação da língua observando-a em repouso e em protrusão para verificar a mobilidade lingual, como retrações e desvios, que são indicadores de cancro. Deve-se pedir ao doente para colocar a ponta da língua no palato e avaliar a mobilidade nos movimentos laterais; avaliação do pavimento da CO, do palato duro e mole, da orofaringe e dos pilares amigdalianos.

No estudo da extensão da lesão primária na CO existem 3 aspetos importantes: 1) o estado da mucosa oral, o CECO está, muitas vezes, associado a mudanças leucoplásicas e eritroplásicas da mucosa na vizinhança do tumor que devem ser controlados; 2) a profundidade de infiltração para a qual se realiza uma palpação digital e nos casos de carcinoma da língua avalia-se a anquilose e a mobilidade lingual. Recorre-se igualmente à TC ou RMN; 3) a relação com a mandíbula em tumores da língua, palato e crista alveolar inferior. A avaliação do estado da mandíbula tem grande

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

importância para o prognóstico e planificação do tratamento. A relação entre o tumor e a mandíbula é avaliada por palpação bimanual (Raspall, 1997).

Os sintomas e sinais que os doentes apresentam e que podem ser indicadores de CCP são: desconforto oral, dor oral (aguda/crónica) que pode localizar-se no local da invasão tumoral e/ou irradiar a outras estruturas (nomeadamente ao ouvido); disфония que persiste mais de 6 semanas; hemorragia; ulceração da mucosa oral, tumefações da CO e da região cervical e ainda disfagia, todas elas, persistindo por mais de 3 semanas; LPM; obstrução nasal; odinofagia; mobilidade dentária não associada a doença periodontal; halitose; neuropatias cranianas, tumefações orbitárias ou cervicais e trismo (Santos e Teixeira, 2011; Bower e Waxman, 2006; Raspall, 1997). Segundo Bower e Waxman (2006), os tumores orais apresentam-se como úlceras que não curam e com otalgia ipsilateral.

O CCO é diagnosticado após a observação clínica, a biópsia, o exame anatomopatológico da lesão e o diagnóstico por imagem (TC e RMN) terem sido realizados. Estes são necessários para o estadiamento dos doentes com CCO (Paiva *et al.*, 2011). A extensão da CR é determinada com base na TC inicial e RMN (Sadighi *et al.*, 2014). Num estudo realizado por Kurokawa *et al.* (2015) o estágio do tumor em pacientes com CECO foi determinado com base no exame físico, faringo-laringoscopia, e métodos radiográficos como TC ou RMN, e tomografia com emissão de positrões (PET, do inglês, *positron emission tomography*)/TC, se disponível.

O relatório histopatológico da biópsia deve incluir as características patológicas como o tamanho do tumor, o número e tamanho dos gânglios linfáticos examinados, bem como os dados microscópicos: o grau do tumor, a arquitetura, a taxa mitótica, o envolvimento da margem e a invasão linfovascular (Bower e Waxman, 2006). Macey *et al.* (2015) constataram que entre os métodos adicionais a uma observação visual para deteção de CECO tais como, mancha vital (do inglês, *vital stain*), deteção baseada em luz e citologia oral, esta última foi a mais precisa entre os três testes mas o melhor método continua a ser a biópsia cirúrgica, considerada o método de diagnóstico *standard*. Omar (2015) refere que a biópsia cirúrgica é demorada, desconfortável, induz *stress* no doente e o procedimento é relativamente dispendioso. Os avanços nas tecnologias de diagnóstico oral à base de saliva e biópsia ótica são prometedores para o

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

futuro desenvolvimento de métodos não-invasivos mais eficazes para diagnosticar o CECO. Estes são fáceis de executar clinicamente em consultórios médicos dentários.

Uma das técnicas não invasivas mais antigas é a aplicação de azul de toluidina, que tem uma afinidade para ácidos nucleicos e, portanto, liga-se ao material nuclear em tecidos com um elevado conteúdo de ADN e ARN (ácido ribonucleico). É uma técnica altamente sensível e moderadamente específica para lesões malignas, podendo ser usada para o rastreio e para exclusão de áreas suspeitas. Contudo, atendendo a que é uma técnica altamente subjetiva, os profissionais com pouca experiência clínica não devem utilizar esta técnica para diagnosticar CECO (Omar, 2015).

Atualmente, o único dispositivo comercializado para o diagnóstico de CECO por citologia esfoliativa é a escova de biópsia OralCDx<sup>®</sup> (ou BrushTest<sup>®</sup>) com análise assistida por computador. Este teste mostrou ser, pelo menos, tão sensível quanto a biópsia cirúrgica na identificação de displasia ou cancro (Omar, 2015).

Vários estudos têm sugerido que diferentes tecnologias de biópsia ótica são quase tão precisas quanto a biópsia cirúrgica. Um exemplo de biópsia ótica é o sistema VELscope<sup>®</sup> utilizado na observação direta de autofluorescência da CO e diagnóstico de carcinoma oral. Este já foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), *Health Canada* e a Organização Mundial da Saúde (OMS). As indicações para a sua utilização podem ajudar a detetar: CCO e displasia; irregularidades nas mucosas que podem não ser visíveis ou evidentes a olho nu; tecido doente à volta de uma lesão clinicamente aparente para auxiliar na determinação da margem de excisão cirúrgica adequada. Contudo, o sistema VELscope<sup>®</sup> não dispensa a observação extra-oral e intra-oral. O procedimento é rápido (cerca de 2 minutos) e não requer a utilização de corantes. Poh *et al.* (2006) realizaram um estudo, no qual colaboraram 20 doentes e efetuaram 122 biópsias da mucosa oral, utilizando o VELscope<sup>®</sup>. Constataram que este sistema conseguiu identificar neoplasias orais com uma sensibilidade de 97% e especificidade de 94% (*cit in.* Omar, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Os componentes da saliva são utilizados como marcadores de várias doenças e para monitorizar a saúde em geral. As células tumorais podem inibir ou produzir substâncias bioquímicas mencionadas como marcadores tumorais que podem estar presentes na saliva. Um dispositivo que testa saliva para detetar o CCO foi desenvolvido pela Universidade da Califórnia (UCLA), denominado Teste Nanosensor de Fluido Oral (OFNASET), mas este ainda não foi comercializado. Estima-se a sua aprovação pela FDA e comercialização entre 2016-2017. Este aparelho efetua a deteção eletroquímica de proteínas salivares e ácidos nucleicos e pode medir até oito biomarcadores diferentes de doenças num único ensaio em menos de 15 minutos (Omar, 2015).

A exploração radiológica é tradicionalmente utilizada para a determinação da invasão óssea neoplásica e compreende quatro técnicas de imagem *standard*, nomeadamente a PET, a TC, a RMN e o Ultra-Som (Raspall, 1997; Loeffelbein *et al.*, 2015). Loeffelbein *et al.* (2015), referem que das quatro técnicas de imagem *standard* acima mencionadas a TC e a RMN, hoje em dia, são ferramentas altamente eficientes no diagnóstico primário e no cuidado pós-terapêutico. De acordo com Weber *et al.* (2003) e Scully e Bagan (2009), a TC e a RMN parecem ser as ferramentas de diagnóstico mais importantes no estabelecimento pré-terapêutico de CCP, porque fornecem informações da extensão da lesão, infiltração de grandes vasos e metástases dos nódulos linfáticos cervicais facilitando assim o planeamento do tratamento e prognóstico (*cit in.* Paiva *et al.*, 2011). Sun *et al.* (2015) referem igualmente que estes métodos de imagem são comuns para a deteção de metástases dos nódulos linfáticos cervicais do CCP. A realização de TC ou RMN encontra-se estabelecida na prática de rotina para avaliação de doentes com CCP, mas não é adequado recorrer à sua utilização em simultâneo (Sun *et al.*, 2015).

A TC é a técnica *standard* de diagnóstico de imagem para a avaliação de tumores malignos da CO. Esta apresenta muito boa definição óssea, sendo especialmente útil em detetar a invasão cortical precoce adjacente à área de tumor primário (Paiva *et al.*, 2011; Raspall, 1997). A TC é essencial para a avaliação da lesão primária de CECO e fornece uma melhor avaliação do envolvimento dos nódulos linfáticos cervicais (Paiva *et al.*, 2011). Em situações de doentes irrequietos ou em que o

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

objetivo da exploração seja apenas avaliar o compromisso ósseo recomenda-se a TC (Raspall, 1997).

A RMN tem melhor capacidade de diferenciação dos tecidos moles afetados pela lesão comparativamente com a TC e permite um diagnóstico de lesões pequenas (Sun *et al.*, 2015; Paiva *et al.*, 2011; Raspall, 1997). Possui igualmente maior sensibilidade para detetar o envolvimento da medula óssea e da invasão perineural (Paiva *et al.*, 2011; Raspall, 1997). Uma desvantagem é a sua má resolução dos defeitos da cortical óssea. A RMN geralmente é melhor do que a TC em doentes cooperantes para a determinação da extensão tumoral no CCO (Raspall, 1997). A RMN é útil para fornecer uma melhor avaliação do estágio TNM (do inglês, *Tumor-Nodes-Metastasis* que representa a classificação clínica pré-tratamento) (Paiva *et al.*, 2011).

Sun *et al.* (2015) verificaram que a TC teve uma sensibilidade maior do que a RMN quando o nódulo foi utilizado como unidade de análise; a RMN tinha uma especificidade maior quando o nível do pescoço foi usado como unidade de análise. Descobertas sugerem que a RMN é superior à TC no diagnóstico de metástases nos nódulos linfáticos cervicais, especialmente na confirmação do diagnóstico. Enquanto a TC tem uma melhor eficácia na exclusão do diagnóstico (Sun *et al.*, 2015).

Loeffelbein *et al.* (2015) estabeleceram uma metodologia com base no tempo e nas técnicas de imagem para o *follow-up* do doente em pós-operatório de CECO, recomendando um período de *follow-up* de 6 semanas durante a primeira metade do ano após alta do hospital, através de *check-ups* clínicos alternados com TC ou RMN. Na segunda metade do ano, efetuam-se *check-ups* clínicos e radiológicos a cada 3 meses. No segundo ano, os autores recomendam um intervalo de 3 meses no *follow-up* realizando-se apenas *check-ups* clínicos alternados com os mesmos combinados com TC ou RMN. No terceiro ano, os autores recomendam um rastreio clínico e de imagem a cada 6 meses. A partir do quinto ano e nos anos seguintes, recomenda-se uma observação clínica e de imagem a cada 6-12 meses, dependendo dos fatores de risco do doente e da evolução da doença.

O estágio de um tumor ou a extensão do alastramento é um critério importante nas decisões terapêuticas. Baseia-se no exame clínico e nos exames complementares de diagnóstico. Recorre-se a um sistema uniforme de determinação do estágio denominado

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

sistema TNM. Esta classificação deve determinar-se antes de dar início a qualquer tratamento e todos os casos devem estar confirmados histologicamente mediante biopsia (por excisão ou por incisão) ou citologia (realiza-se nos casos em que não existe uma lesão na mucosa mas apenas um nódulo cervical) (Santos e Teixeira, 2011; Raspall, 1997). O sistema TNM é baseado na determinação de 3 parâmetros: o tamanho ou extensão do tumor primário (T), gânglios linfáticos regionais (N) e metástases à distância (M) (Paiva *et al.*, 2011; Raspall, 1997). O estabelecimento de um adequado estágio de uma lesão é essencial para a seleção do tipo de tratamento, comparar resultados, efetuar uma previsão do prognóstico e decidir como realizar o acompanhamento do doente de forma a garantir uma maior esperança de vida e de cura (Paiva *et al.*, 2011; Santos e Teixeira, 2011).

### **2.5 Modalidades Terapêuticas e Algoritmo de Atuação**

Os objetivos do tratamento devem ser definidos antes de dar início a um determinado tipo de tratamento (Bower e Waxman, 2006). A decisão sobre a técnica de tratamento a utilizar prende-se com o local a tratar, a extensão loco-regional da doença e o objetivo do tratamento (Santos e Teixeira, 2011). O tratamento pode ser curativo, com o objetivo de salvar ou prolongar a vida, ou paliativo para melhorar a qualidade de vida. A terapia adjuvante aplica-se após remoção cirúrgica do tumor primário e na ausência de doença residual detetável. A terapia neoadjuvante, geralmente, a quimioterapia (QT) ou a terapia endócrina, é administrada antes da cirurgia (CR) ou da radioterapia (RT) para diminuir o tamanho do tumor, reduzindo potencialmente a extensão da ressecção cirúrgica (Bower e Waxman, 2006).

A abordagem a seguir é estipulada pelos estádios TNM (Bower e Waxman, 2006). Nos estádios iniciais, deve realizar-se um controlo loco-regional (CLR) da doença e a preservação funcional dos órgãos afetados (Santos e Teixeira, 2011). Os tumores de estágio I e II devem ser tratados com CR e/ou RT (Santos e Teixeira, 2011; Bower e Waxman, 2006). Nos estádios III/IV podem ser empregues a CR e a RT (cujo objetivo é o CLR da doença); a QT e os novos fármacos dirigidos contra alvos

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

moleculares específicos (para tratamento sistémico) (Santos e Teixeira, 2011). O objetivo primordial no CLR do CECO agressivo é a preservação dos órgãos reduzindo as complicações agudas/crónicas do tratamento, levando a uma melhor qualidade de vida, bem como prolongando a sobrevida global e livre de progressão (Sadighi *et al.*, 2014).

A recomendação de rotina para o tratamento de CECO localmente avançado é o tratamento cirúrgico do tumor primário e do pescoço seguido de RT pós-operatória (Zhong *et al.*, 2015; Bower e Waxman, 2006) ou quimiorradioterapia (QRT) dependendo da presença de características de risco médio/alto (Zhong *et al.*, 2015).

Nos tumores irressecáveis, a RT é o tratamento de escolha, pois a QT tem um papel insuficiente (Santos e Teixeira, 2011). A QRT é considerada um tratamento padrão no caso de doença irressecável (Bower e Waxman, 2006; Chhatui *et al.*, 2015). Outra opção válida neste caso é a QT de indução seguida de QRT (Chhatui *et al.*, 2015).

A PDT é uma modalidade de tratamento contemporânea para o tratamento das condições orais inflamatórias. O tratamento de LPM utilizando a PDT como um adjuvante para outros regimes terapêuticos incluindo a aplicação tópica de fármacos (tais como, antioxidantes - vitamina A, C e E; análogos da vitamina A e  $\beta$ -caroteno; antibióticos e esteróides), ablação do laser, crioterapia, eletrocauterização e excisão cirúrgica são mais eficazes para erradicar a lesão e prevenir recorrências (Vohra *et al.*, 2015; Chhatui *et al.*, 2015).

### **2.5.1 Cirurgia**

A CR tem como objetivos principais em relação ao cancro: diagnosticar, avaliar o estágio, curar e aliviar os seus sintomas. Vai desde a ressecção de metástases, até à fixação de fraturas patológicas, à colocação de aparelhos de acesso vascular, e em conjunto com a CR plástica desenvolveu-se a CR reconstrutiva para reduzir alguns efeitos das ressecções tumorais. A ressecção de tumores de grandes dimensões pode

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

deixar defeitos de tamanho considerável, requerendo *flaps* miocutâneos (Bower e Waxman, 2006).

A CR pode ser radical, paliativa e citorrredutora. A CR radical tem por objetivo a eliminação total da doença tratada e aplica-se ao tumor primário e/ou a extensões ganglionares (Raspall, 1997). A extensão da CR é determinada pelo tamanho do tumor primário (Sadighi *et al.*, 2014). A CR paliativa procura melhorar a sintomatologia, mas não cura a doença. A CR citorrredutora, pouco comum para tratar CCP, elimina uma determinada porção de massa tumoral, sendo o restante tratado com RT e/ou QT (Raspall, 1997).

A CR é a terapêutica de excelência para o CECO. O tratamento padrão de tumores da CO no estágio III e IV ainda é a CR (Sadighi *et al.*, 2014). A extensão da CR é variável e pode representar a CR oral, transcervical ou ambas. O esvaziamento ganglionar cervical pode estar indicado em caso de suspeita clínica de gânglios cervicais metastizados ou nos tumores iniciais espessos ( $\geq 3\text{mm}$ ). Esclarecer a doença ressecável é essencial para não comprometer a eficácia no controlo local da doença. A excisão do tumor primário com intenção curativa (R0) abrange a remoção completa com margens livres, a remoção das áreas de drenagem linfática e a utilização do princípio *no-touch technique*. Nos tumores ressecáveis, a CR é o tratamento de eleição (Santos e Teixeira, 2011). A taxa de recorrência seguinte de tratamento do CECO pela CR primária é de aproximadamente 10-26% (Loeffelbein *et al.*, 2015).

### 2.5.2 Radioterapia

A RT requer o uso de radiação ionizante de alta energia, para provocar uma lesão no ADN e, em consequência, a morte celular que pode ocorrer por apoptose ou, mais frequentemente, por morte mitótica, manifestada após várias mitoses. A lesão induzida pela radiação ionizante pode ser letal, sub-letal ou potencialmente letal para as células tumorais (Santos e Teixeira, 2011; Bower e Waxman, 2006).

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

A dose de RT é definida como a quantidade de energia depositada nos tecidos e é medida em *Grays (Gy)* (absorção de um joule por quilograma de matéria). A radiação pode ter efeito em qualquer fase do ciclo celular, apesar de ser, apenas, no momento da mitose que ocorre a morte celular. Deste modo, pode haver um intervalo de tempo de dias, semanas, ou meses entre a terapia e a manifestação dos efeitos completos da radiação (Santos e Teixeira, 2011; Bower e Waxman, 2006).

Para os CCP, a RT está indicada nos estádios iniciais, nos tumores em estádios avançados (não ressecáveis) ou para proteção do órgão. A RT com propósito radical pode ser realizada isoladamente ou em conjunto com a QT de radiosensibilização, e também em situações em que há indicação para tratamento no pós-operatório (Santos e Teixeira, 2011).

A RT pós-operatória com cisplatina concomitante tornou-se um modelo para o tratamento adjuvante de doentes com ressecção de CECP localmente avançado. Esta em comparação apenas com a RT pós-operatória mostra um CLR superior e melhora as taxas de sobrevivência (Lohaus *et al.*, 2014).

O HPV-16 parece ser um forte prognosticador de CLR pós-operatório após QRT com cisplatina de um carcinoma orofaríngeo localmente avançado e é, portanto, um promissor biomarcador para estratificação do doente e prescrição individualizada de RT pós-operatória (Lohaus *et al.*, 2014).

A dose de RT é definida como a quantidade de energia depositada nos tecidos e é medida em *Grays (Gy)* (absorção de um joule por quilograma de matéria). A radiação pode ter efeito em qualquer fase do ciclo celular, apesar de ser, apenas, no momento da mitose que ocorre a morte celular. Deste modo, pode haver um intervalo de tempo de dias, semanas, ou meses entre a terapia e a manifestação dos efeitos completos da radiação (Santos e Teixeira, 2011; Bower e Waxman, 2006).

Na RT externa é utilizada uma fonte de energia localizada, geralmente, um acelerador linear, externo ao doente (Santos e Teixeira, 2011). Na braquiterapia (radioterapia interna) utilizam-se fontes de radionuclídeos seladas (emite raios gama) colocadas dentro do tumor ou na cavidade corporal para fornecer RT localizada.

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

Exemplos de braquiterapia incluem agulhas ou fios de irídio-192 radioativo implantados nos tumores da mama, da língua e do pavimento da boca (Bower e Waxman, 2006).

### **2.5.3 Quimioterapia**

A QT utiliza fármacos citotóxicos ou citostáticos, também designados de antineoplásicos, que são usados no tratamento de neoplasias malignas em doentes com recidiva local nos quais os tratamentos de CR e RT não são possíveis ou ineficazes. E ainda como tratamento paliativo dos sintomas ou como forma de prolongar a vida do doente (Bower e Waxman, 2006; INFARMED, 2012). A QT está indicada nas situações de tumores avançados em que a ressecabilidade não pode ser efetuada, nas recidivas e nos tumores com metastização à distância. Atualmente, a forma de prevenir o crescimento de micro-metástases é a QT (Sadighi *et al.*, 2014).

A QT provoca efeitos citotóxicos (não específicos) nas células do epitélio da camada basal, causando dano no ADN das células epiteliais progenitoras e indução da apoptose que leva ao estreitamento do epitélio e insuficiência da regeneração da mucosa, o que posteriormente origina complicações orais (Rahnama *et al.*, 2015).

O tipo de QT pode ser simples baseando-se num único agente quimioterápico ou combinada que concilia vários agentes quimioterápicos (Raspall, 1997). A primeira cura de cancro utilizando apenas a QT foi alcançada com o metotrexato (MTX) para o coriocarcinoma, em 1963. A utilização apenas do MTX é o tratamento de eleição para o CCP. Os fármacos citotóxicos são raramente empregues como agentes únicos, sendo por norma administrados em associação com o objetivo de melhorar a eficácia do tratamento, pela redução dos mecanismos de resistência (Bower e Waxman, 2006).

Em muitos casos os mecanismos de resistência envolvem alterações a nível genético por parte das células neoplásicas, resultando em resistência a um ou a vários fármacos. Os mecanismos de resistência abrangem: o aumento da reparação do ADN; a formação de substâncias que podem inativar o fármaco; alterações na estrutura da

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

enzima-alvo; decréscimo na ativação de pró-fármacos; decréscimo na acumulação do fármaco (INFARMED, 2012).

Recorrendo à combinação de fármacos, consegue-se um maior número de células mortas e, nalguns casos, são alcançados efeitos sinérgicos. A combinação de fármacos permite um efeito citotóxico numa população heterogénea de células neoplásicas prevenindo desta forma o desenvolvimento de clones resistentes (INFARMED, 2012).

Só os fármacos que provaram ter atividade como agentes únicos é que devem ser utilizados, elegendo-se os que não apresentem sobreposição de toxicidades, que tenham mecanismos de ação diversos e cuja resistência cruzada seja mínima (Bower e Waxman, 2006; INFARMED, 2012).

Os fármacos com atividade no tratamento do CCO são o MTX, os sais de platina (cisplatina ou carboplatina), o paclitaxel, o docetaxel, o pemetrexed, o irinotecano, a gemcitabina e a vinorelbina (Santos e Teixeira, 2011).

A terapia farmacológica leva à modificação da flora bacteriana na CO e à deficiência do SI o que origina um aumento da secreção de fatores pró-inflamatórios e redução da eficácia do SI. O número de neutrófilos e de linfócitos, em particular linfócitos CD<sub>4</sub><sup>+</sup> é reduzido (Hanahan e Weinberg, 2011).

No caso de tumores avançados que requerem ressecção completa da língua ou da faringe, podem ser realizadas em primeiro lugar tratamentos de preservação de órgãos, tais como: QT inicial e ou QRT (Sadighi *et al.*, 2014).

A QT de indução sistémica (ou neoadjuvante) é um tipo de QT que é administrada previamente ao CLR (Bower e Waxman, 2006). Furness e Glenney (2011) referem que a QT de indução sistémica reduz a taxa de recorrência distante de 38% para 14% nos estádios III e IV do CECO ao contrário da QRT que só diminui a taxa de recidiva local e não parece exercer qualquer efeito sobre metástases à distância (*cit in.* Sadighi *et al.*, 2014). Esta QT propõe-se a reduzir o tamanho do tumor, o risco cirúrgico, a possibilidade de recorrência local e metástases à distância. Este tipo de tratamento aumenta a possibilidade de preservação do órgão (Sadighi *et al.*, 2014).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Sadighi *et al.* (2014) concluem que o método de tratamento de QT de indução é mais eficaz num grupo de tumores com potencial metastásico.

A QT adjuvante é a e inclui duas modalidades: a QT adjuvante clássica e a QT adjuvante depois da QT de indução. Em estudos experimentais demonstrou-se o efeito máximo da QT, administrada no pós-operatório (Raspall, 1997). A QT usada num contexto de QT adjuvante é cada vez mais utilizada (Bower e Waxman, 2006).

A QRT adjuvante reduziu significativamente a taxa de recidiva local sendo indicada nos doentes que foram submetidos a CR como primeira opção terapêutica e que apresentam margens positivas ou diminutas (< 5 mm) ou com extensão da doença ganglionar na região extracapsular. Na escolha desta terapêutica deve-se ter em conta o estado geral do doente que necessita de ser bom e a ausência de fatores de comorbilidade importantes (Santos e Teixeira, 2011).

Os fármacos citotóxicos mais eficazes são: cisplatina, MTX, 5-fluoruracilo (5-FU) e a bleomicina. A combinação destes agentes nomeadamente a que contém cisplatina permite obter melhores respostas, embora não se traduza numa maior sobrevivência do doente. As combinações com bons resultados são a de cisplatina com bleomicina, a de cisplatina com bleomicina e MTX (CBM) e a de cisplatina com 5-FU. Um estudo comparativo de tratamentos, utilizando CBM e 5-FU não revelou diferenças na taxa de resposta (Raspall, 1997). A associação da QT com sais de platina (cisplatina ou carboplatina) com 5-FU e cetuximab é, atualmente, o método *standard* na situação de presença de metástases à distância ou doença recidivada em doentes, previamente, tratados. Como tratamento de segunda linha, os agentes mais utilizados, continuam a ser o MTX, o paclitaxel e o navelbine (Santos e Teixeira, 2011).

A combinação tripla de docetaxel, cisplatina e 5-FU (TPF) está a ser utilizada nos estádios III e IV de CECO. A TPF que é um novo regime de QT está agora disponível com efeitos colaterais mínimos e uma rápida eliminação dos sintomas locais, bem como dos distúrbios alimentares (Sadighi *et al.*, 2014). Zhong *et al.* (2015) verificaram que a QT de indução com TPF não melhorou a sobrevida a longo prazo em relação à CR inicial em doentes com CECO de estágio III e IV. Santos e Teixeira (2011) referem que a TPF, denominada de tratamento sequencial utilizada em associação com a QRT no pós-operatório e nos doentes que apresentaram uma diminuição no tamanho do

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

tumor, reduziu o aparecimento de metástases à distância e aumentou a sobrevivência global (Santos e Teixeira, 2011). A QT de indução com cisplatina e 5-FU em conjunto com o interferão  $\alpha$ -2b (modulador do SI), seguida de QRT concomitante pode oferecer um CLR superior para o carcinoma oral avançado da língua quando comparado com a QRT sozinha (Chhatui *et al.*, 2015).

Os recetores do fator de crescimento epidérmico (REGF, do inglês *receptor of the epidermal growth factor*) são altamente expressos no CCP. Têm sido encontradas respostas promissoras para o tratamento com anticorpos dirigidos para estes recetores (Kurokawa *et al.*, 2015; Bower e Waxman, 2006). O cetuximab (anticorpo monoclonal anti- REGF), em combinação com a RT, possibilitou um melhor CLR da doença e da sobrevivência, comparado com a RT isolada para a doença localmente avançada (Santos e Teixeira, 2011). Os agentes de terapia-alvo, como o cetuximab são dirigidos seletivamente a um alvo específico, uma combinação destes agentes e a RT é considerada ser melhor tolerada do que a QT convencional (Kurokawa *et al.*, 2015). Esta opção de tratamento é destinada aos doentes com um estado geral mais debilitado e que sejam portadores de outras doenças associadas (Santos e Teixeira, 2011).

Os retinóides (derivados sintéticos da vitamina A) utilizados como quimiopreventivos podem reduzir o risco de recorrência de segundos tumores primários do trato digestivo e respiratório nos doentes e podem, ainda, reduzir a transformação maligna em LPM como a leucoplasia (Raspall, 1997; Bower e Waxman, 2006; Vohra *et al.*, 2015). Os retinóides aplicados de forma tópica ou sistémica inibem a queratinização e a diferenciação anómala do epitélio, devendo ser utilizados com precaução devido à sua elevada toxicidade. Previamente à sua administração deve realizar-se um estudo analítico (hemograma completo, estudo das funções hepática e renal e doseamento do colesterol e triglicéridos) e os resultados obtidos comparados com os resultados apresentados ao longo do tratamento, na tentativa de detetar efeitos adversos. Exemplos de retinóides são a Acitretina (Neotigason<sup>®</sup>), retinóide sistémico mais utilizado e está indicado nas leucoplasias extensas do pavimento da boca nas quais não é possível realizar CR e, também, como profilático; a Tretinoína (Locacid<sup>®</sup> loção) para aplicação tópica no tratamento de situações recorrentes de leucoplasia e como profilático apresentado menos efeitos adversos do que as formas sistémicas (Santos e Teixeira, 2011).

#### **2.5.4 Complicações na Cavidade Oral**

À medida que os tratamentos oncológicos se tornam mais fortes e concretos os efeitos nos tecidos vão-se fazendo sentir. A CO é um local suscetível de sofrer efeitos secundários (Raspall, 1997). As complicações podem ser agudas e/ou crónicas sendo dolorosas, diminuindo a qualidade de vida e podem dificultar a adesão à terapêutica (Raspall, 1997; Gussgard *et al.*, 2015). Em alguns casos, torna-se necessário suspender a terapêutica até que as mesmas se resolvam (Raspall, 1997). A incidência da mucosite oral (MO) leva a intervalos e atrasos maiores inesperados na administração da RT (Bernier *et al.*, 2004 e Lin *et al.*, 2005 *cit in.* Bossola, 2015).

Na CR a exérese pode prejudicar a função oral a vários níveis (Raspall, 1997). A dor oral pode estar relacionada com a disseminação do tumor original, devido à CR, ou pelo desenvolvimento de MO como um efeito secundário da RT ou da QT (Gussgard *et al.*, 2015).

As inflamações orais podem levar a infeções sistémicas perigosas em pacientes cujo SI está comprometido por agentes citotóxicos. A QT sistémica diminui a secreção de saliva pelas glândulas salivares (em particular as glândulas parótidas). A saliva funciona como uma barreira contra fatores mecânicos e microrganismos patogénicos e é essencial no processo de identificação do paladar. A insuficiente hidratação das membranas da mucosa, consequência da diminuição do fluxo salivar tem uma grande influência na exacerbação de todos os processos inflamatórios da CO e elevada incidência de danos mecânicos da mucosa; altera igualmente a perceção dos estímulos do paladar. A ação de defesa da saliva é baixa nos doentes oncológicos devido à falta na sua constituição de imunoglobulinas, lisozima, lactoferrina e outras substâncias antibacterianas. A taxa e a quantidade de fluxo salivar regressa à normalidade cerca de um ano ou mais após o término da QT (Rahnama *et al.*, 2015). Os pacientes oncológicos apresentam uma elevada taxa de equimose que pode ser resultado da influência negativa de fármacos citotóxicos nas células da medula óssea. A equimose pode ser um sinal de um baixo nível de plaquetas durante a terapia. A presença de eritema é comum resultado da falha do SI e aumento do processo inflamatório nas bolsas periodontais (Rahnama *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Uma importante e frequente complicação é a candidíase oral. As infecções fúngicas são promovidas pela redução da salivagem, neutropenia, desordens linfocitárias e mudanças a nível da flora bacteriana da CO (Deslauriers *et al.*, 1995 *cit in.* Rahnama *et al.*, 2015). Existe uma relação entre certas estirpes de bactérias em particular os *Streptococcus* e os *Staphylococcus aureus* e o fungo *Candida albicans* (Silverman *et al.*, 2010 e Shirliff *et al.*, 2009 *cit in.* Rahnama *et al.*, 2015). As complicações orais da QT incluem a xerostomia; distúrbios do paladar; náusea e vômitos; dor; queimadura e secura designadas como “ulceração oral” (do inglês, *sore mouth syndrome*); e disfagia (Rahnama *et al.*, 2015).

Na RT as complicações orais são as seguintes: alterações no desenvolvimento, xerostomia, cáries, MO, perda de paladar, osteorradição, infecção (bacteriana, fúngica ou vírica), dermatite, trismos (Kowalski *et al.*, 2002 e Ferlito *et al.*, 2003 *cit in.* Filho, 2009; Bower e Waxman, 2006 e Raspall, 1997) disfagia e toxicidades hematológicas (Bossola *et al.*, 2015).

A QRT adjuvante está associada com a MO aguda, disfagia, náuseas, vômitos, rouquidão, dermatite e complicações de longo prazo, tais como estenose do esófago, hipotireoidismo, osteorradição, xerostomia e fibrose subcutânea (Sadighi *et al.*, 2014).

Os distúrbios no paladar levam à redução do apetite nos pacientes. Náuseas, vômitos e falta de apetite podem resultar em malnutrição e a deficiência de nutrientes pode agravar a condição do doente elevando os efeitos secundários da QT. A severidade dos sintomas pode mesmo impedir a ingestão de comida sólida (Rahnama *et al.*, 2015). A QRT provoca ou agrava os sintomas, tais como a alteração ou a perda do paladar, MO, xerostomia, fadiga, náuseas e vômitos, com conseqüente agravamento da desnutrição (Bossola *et al.*, 2015).

O tratamento de doentes com CCP através de RT, QRT ou RT em conjunto com cetuximab podem afetar ainda mais a função de deglutição, conduzindo à dependência na alimentação por sonda (Staar *et al.*, 2001 e Ang *et al.*, 2005 *cit in.* Wopken *et al.*, 2014). Se o cancro obstrui e/ou a MO interfere com a deglutição, a nutrição enteral deve ser realizada por tubo nasogástrico ou gastrostomia percutânea (Bossola *et al.*, 2015).

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral**

Uma estratégia para prevenir a disfunção da deglutição é reduzir a dose para as estruturas anatômicas que são importantes na deglutição através da utilização de técnicas de entrega de radiação avançada tais como, a RT de intensidade modulada (Eisbruch *et al.*, 2004 e Amin *et al.*, 2012 *cit in.* Wopken *et al.*, 2014).

### **III. Terapia Fotodinâmica**

#### **3.1 Fundamentos e Potencialidades**

A PDT é uma abordagem terapêutica dirigida para a destruição das células tumorais, de utilização crescente em diversas áreas da medicina (Matei *et al.*, 2014). Esta terapêutica foi a primeira associação fármaco/dispositivo a ser aprovado pela FDA há praticamente duas décadas, contudo a sua utilização clínica ainda é escassa (Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT é considerada um procedimento terapêutico alternativo minimamente invasivo e bem tolerado (Chen *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2014 e Agostinis *et al.*, 2011). A remoção de uma extensa área de tecido da CO pode resultar num defeito facial considerável que irá afetar a qualidade de vida do paciente (Yang *et al.*, 2014). Esta tem sido empregue com êxito no tratamento dos carcinomas iniciais da CO, faringe, laringe, conservando o tecido normal e funções vitais da fala e da deglutição (Agostinis *et al.*, 2011). Deste modo é justificado o uso da PDT como tratamento de LPM (Vohra *et al.*, 2015 e Yang *et al.*, 2014) e malignas orais (Yang *et al.*, 2014). Na revisão realizada por Vohra *et al.* (2015) aproximadamente 92% dos estudos incluídos revelaram que a PDT foi utilizada como tratamento único de LPM orais.

É amplamente utilizado na dermatologia, no tratamento de vários tumores mucocutâneos, tais como o carcinoma celular basal e escamoso, doença de Bowen, leucoplasia e displasia oral (Matei *et al.*, 2014) e ainda em lesões não malignas (psoríase, doença de Darier, sarcoidose e necrobiose lipóidica) (Agostinis *et al.*, 2011; Torezan *et al.*, 2009).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

A PDT é uma modalidade de tratamento atual no manuseamento de condições inflamatórias orais tais como periodontite, peri-implantite e infecções endodônticas (Vohra *et al.*, 2015).

Estudos clínicos revelaram que a PDT pode ser curativa, sobretudo nos estádios tumorais iniciais. Pode ainda prolongar a sobrevivência em pacientes com cancros inoperáveis e melhora significativamente a qualidade de vida (Agostinis *et al.*, 2011). É útil em pacientes onde a CR está contra-indicada ou naqueles que possuem *pacemakers* e desordens sanguíneas (Selvam *et al.*, 2015). A PDT é um tratamento com potencial para ser um adjuvante terapêutico na CR de cancros em estado avançado do sistema digestivo (Guyon *et al.*, 2014). Esta terapia é usada como adjuvante em protocolos terapêuticos convencionais (tais como desbridamento mecânico de superfícies infetadas) (Vohra *et al.*, 2015). Os autores Agostinis *et al.* (2011) referem que é uma opção terapêutica preciosa para associar com outras terapêuticas, tendo potencial para ser incluída no tratamento principal de combate ao cancro. Beckerath *et al.* (2014) referem que a PDT tem sido utilizada com sucesso no tratamento do cancro em vários locais da cabeça e pescoço.

A PDT pode ser utilizada antes ou após a QT, RT ou CR sem as prejudicar (Agostinis *et al.*, 2011). Esta é uma alternativa atrativa às estratégias de tratamentos convencionais apoiados na CR seguida de QT intravenosa (Guyon *et al.*, 2014). É considerada mais eficaz e melhor tolerada do que os agentes de QT devido à expectável seletividade dos PSs (Guyon *et al.*, 2014).

A eficácia clínica e segurança da PDT dependem: da dose de luz total, do  $\lambda$ , do tempo de exposição à luz, do modo de entrega da luz (único *vs* fracionado ou mesmo metronómico), da taxa de fluência, das condições de administração dos PSs, sobretudo da sua dose e tipo (Guyon *et al.*, 2014; Agostinis *et al.*, 2011).

Os efeitos produzidos pela PDT são sobretudo superficiais, pois a penetração de luz através dos tecidos é limitada e a profundidade de destruição do tumor varia entre poucos milímetros a um centímetro. Esta aparente desvantagem pode ser favoravelmente explorada no tratamento de doenças superficiais, tais como LPM, carcinoma *in situ*, ou tumores superficiais (mesotelioma pleural maligno ou carcinomatose disseminada intraperitoneal) (Agostinis *et al.*, 2011). Num estudo

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

realizado por Yang *et al.* (2014) observou-se que o epitélio displásico pode reter mais calcipotriol (CAL) ou ácido 5-aminolevulinico (ALA) do que um epitélio não displásico. Observou-se ainda que a fina camada de queratina superficial do epitélio displásico pode ter apenas um efeito mínimo na redução da penetração e intensidade da luz.

As LPM displásicas orais apresentam uma superfície de queratina fina, permeabilidade epitelial aumentada e divisão celular epitelial acelerada. Estas características permitem uma difusão e retenção melhorada do PS e destruição das células pela PDT. A eficácia da PDT no tratamento de LPM orais depende de vários fatores incluindo displasia, tipo, tamanho e características da superfície da lesão (Vohra *et al.*, 2015).

A PDT apresenta uma toxicidade mínima nos tecidos sãos, com efeitos sistémicos mínimos, morbidade muito reduzida a longo prazo, e sem mecanismos de resistência intrínsecos ou adquiridos (Agostinis *et al.*, 2011). Não apresenta toxicidade cumulativa (Selvam *et al.*, 2015).

Muitos procedimentos desta terapia podem ser realizados em doentes em ambulatório promovendo redução de custos e uma melhor adesão à terapêutica por parte dos pacientes (Agostinis *et al.*, 2011). Segundo Yang *et al.* (2014), as grandes vantagens da PDT estão relacionadas com um menor número de efeitos secundários, bem como o fato de ser repetível e de resultar numa mínima ou nenhuma formação de cicatriz. A PDT poupa a arquitetura dos tecidos pois não danifica o colagénio e a elastina e preserva a matriz que serve de suporte à regeneração do tecido, o que permite também a recuperação sem formação de cicatriz (Grant *et al.*, 1997; Verrico *et al.*, 2001 *cit in.* Cândido, 2014). Produz bons resultados cosméticos (Selvam *et al.*, 2015).

Os efeitos adversos da PDT estão relacionados com a dor durante alguns protocolos de tratamento e a persistente fotossensibilização da pele (Agostinis *et al.*, 2011). Há necessidade dos doentes permanecerem num ambiente com luz fraca durante algum período de tempo e evitarem a exposição direta aos raios solares (Plaetzer *et al.*, 2009 *cit in.* Cândido, 2014).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

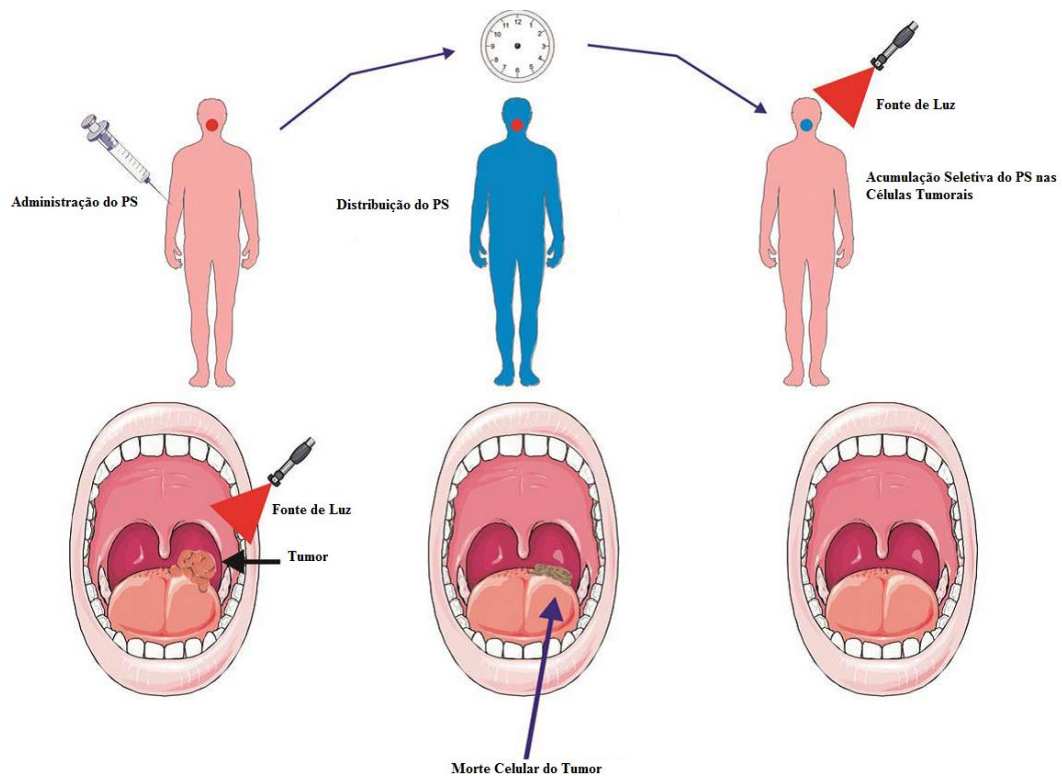
A recorrência do tumor continua a ser uma das principais limitações desta terapêutica. Provavelmente, os fatores que influenciam negativamente a ação da PDT são a distribuição não homogênea da luz e a acumulação insuficiente de PS nas células tumorais (Ferrario *et al.*, 2000, 2002; Vittar *et al.*, 2013 *cit in.* Cândido, 2014).

### 3.2 Princípios

A PDT envolve a interação entre uma fonte de luz e um corante químico ou PS na presença de O<sub>2</sub> (Vohra *et al.*, 2015; Agostinis *et al.*, 2011). Individualmente nenhum destes elementos é tóxico, mas combinados, iniciam uma reação fotoquímica que dá origem a um produto altamente reativo e que causa toxicidade significativa, denominado oxigénio singleto (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, do inglês, *singlet*) (Agostinis *et al.*, 2011).

No decurso do processo terapêutico é administrado ao paciente um agente PS e de seguida uma irradiação a um  $\lambda$ , correspondendo a uma banda de absorvância do PS que após algum tempo de distribuição sistémica se vai acumular seletivamente no tumor (Oliveira *et al.*, 2015; Agostinis *et al.*, 2011) (**Figura n.º 3**). A PDT utiliza uma fonte de luz adequada capaz de foto-ativar um composto químico que age como PS e na presença de O<sub>2</sub> dá-se uma reação fotoquímica que origina o <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (Matei *et al.*, 2014; Agostinis *et al.*, 2011). O PS também vai foto-estimular as células sãs localizadas à volta da lesão que não são destruídas, sendo estas estimuladas a reproduzirem-se e a recuperarem mais rapidamente a zona afetada (Oliveira *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral



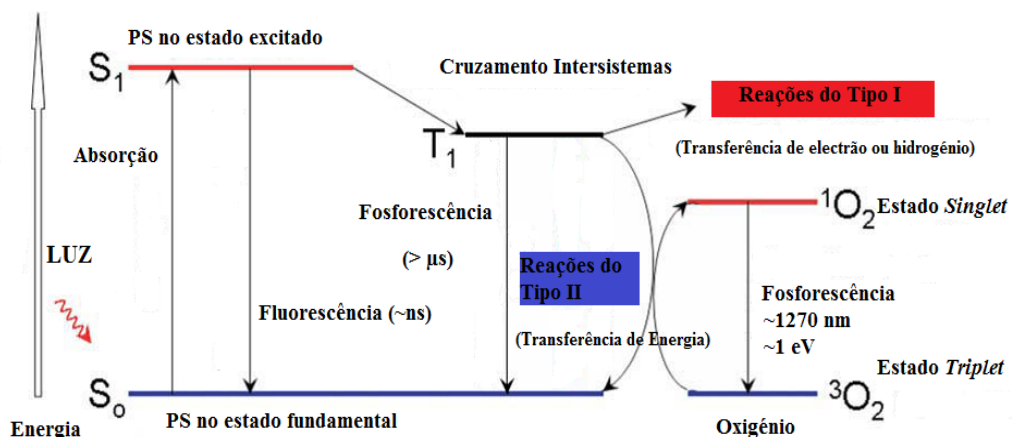
**Figura n.º 3** - Princípios da Terapia Fotodinâmica (PDT) (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

O mecanismo de foto-estimulação resulta da interação da luz com os tecidos por intermédio de foto-aceptores celulares (cromóforos) presentes nos diferentes compartimentos celulares (desde o citoplasma até à membrana plasmática), sendo eles proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e porfirinas. Por absorção de energia os cromóforos estimulam as mitocôndrias que vão acelerar o metabolismo celular. Em simultâneo, ocorre uma cascata de processos bioquímicos que conduzem a vários efeitos terapêuticos como: ação anti-inflamatória, regeneração dos tecidos ósseos, muscular, neural e, principalmente, o cutâneo onde se verifica o aumento da proliferação de fibroblastos que vão produzir colagénio (Oliveira *et al.*, 2015).

No estado fundamental ( $S_0$ ) muitos PSs têm dois eletrões com spins opostos que estão localizados numa órbita molecular energeticamente mais favorável. A absorção de luz pelo PS leva à transferência de um eletrão para o estado excitado ( $S_1$ ). Este PS no  $S_1$  é muito instável e emite o excesso de energia sob a forma de fluorescência e/ou calor. Alternativamente, a molécula no  $S_1$  pode sofrer um cruzamento inter-sistemas (processo de inversão de spin) para formar um estado excitado tripleto ( $T_1$ , do inglês, *triplet*) mais estável (Oliveira *et al.*, 2015; Agostinis *et al.*, 2011).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

O PS no  $T_1$  pode descer ao  $S_0$  ou seguir duas vias: uma consiste em transferir a sua energia para o  $O_2$ , levando à formação do  $^1O_2$  sendo esta reação denominada reação via Tipo II. A outra é a reação via Tipo I em que o PS reage diretamente com uma molécula orgânica num microambiente celular, adquirindo um átomo de hidrogénio ou eletrão para formar radicais (**Figura n.º 4**). A posterior auto-oxidação do PS reduzido produz um radical aniónico superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ). A dismutação ou redução de um eletrão de um  $O_2^{\cdot-}$  dá origem ao peróxido de hidrogénio, que em troca pode sofrer uma redução de um eletrão formando-se o radical hidroxilo ( $HO^{\cdot}$ ) (Agostinis *et al.*, 2011). O PS excitado transfere energia ou eletrões para o oxigénio originando  $^1O_2$  ou  $HO^{\cdot}$  que desencadeiam vários mecanismos biológicos (encerramento vascular, apoptose/necrose de células tumorais e morte de células imunogénicas) conduzindo eventualmente para a remissão do tumor (Rocha *et al.*, 2015).



**Figura n.º 4** - Processo de Fotossensibilização (adaptado do Diagrama Jablonski Modificado *cit in.* Agostinis *et al.*, 2011 e Oliveira *et al.*, 2015).

Em ambas as reações (via Tipo I e via Tipo II) são formadas ROS e admite-se que muitos PSs atuem segundo a via Tipo II (Agostinis *et al.*, 2011; Chen *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015), pois esta é mecanicamente mais simples do que a via Tipo I (Agostinis *et al.*, 2011).

O  $O_2$  é um dos três elementos chave da PDT, que ocorre à custa do gasto desta molécula, pelo que o aparecimento de áreas hipoxicas após a PDT é possível. A PDT pode lesar diretamente o tecido tumoral com o consumo concomitante de  $O_2$  ou provocar danos indiretamente através de destruição vascular o que pode levar a uma redução do nível de  $O_2$ . A presença de hipoxia no microambiente tumoral promove um

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral

sinal, habitualmente mediado pelo fator de transcrição induzido pela hipoxia 1 (HIF-1, do inglês hypoxia-inducible factor 1), que auxilia a produção do fator de crescimento vascular endotelial (VEGF, do inglês, *Vascular Endotelial Growth Factor*), o qual constitui um interruptor da angiognese. A expressão de HIF-1 contribui para a menor eficácia da PDT. Uma elevada expressão intrínseca de HIF-1, foi associada a uma baixa taxa de resposta completa após a PDT. Surpreendentemente, mesmo na ausência de hipoxia, podem ocorrer efeitos mediados pela ativação do fator induzido pela hipoxia 1 alfa, os quais podem estar relacionados com o aumento das ROS. Este aumento das ROS está também envolvido na regulação do HIF-1, através da ativação dos componentes da sinalização a montante, tais como a p38 (do inglês, *p38 mitogen-activated protein kinases*) e a ERK/MAP (do inglês, *extracellular-signal regulated kinase/mitogen-activated protein*), o que leva a um aumento na sua transcrição. Do ponto de vista da investigação fundamental, o HIF-1 está no centro de uma via de sinalização que condiciona a dinâmica do microambiente do tumor e que pode ter um impacto importante no resultado clínico da PDT. A combinação da PDT com inibidores da angiognese demonstrou em estudos pr-clínicos, o aumento do efeito terapêutico (Vittar *et al.*, 2013 *cit in.* Cândido, 2014).

### 3.3 Fontes de Luz

A escolha da fonte de luz deve ser baseada nos seguintes fatores: absorção do PS (fluorescência à excitação e espectro de ação), doença (localização, tamanho das lesões, acessibilidade e características do tecido), custos e tamanho (Agostinis *et al.*, 2011).

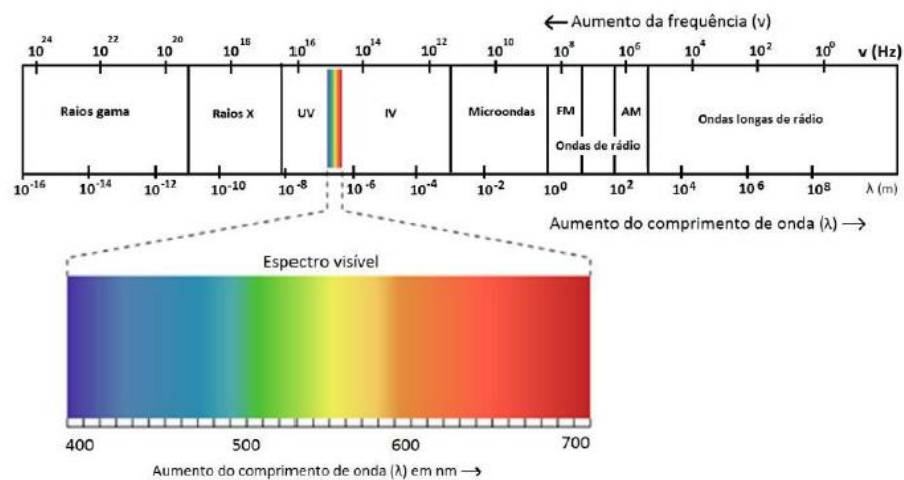


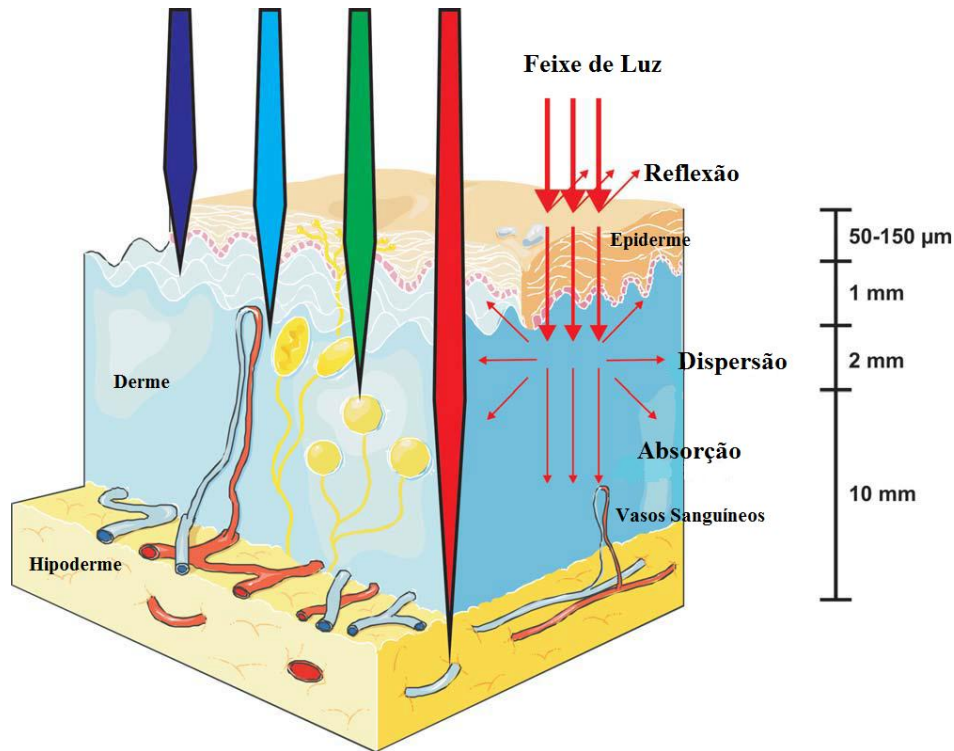
Figura n.º 5 - Espectro Eletromagnético com evidência para região do UV-Vis (Oliveira *et al.*, 2015).

A região entre os 600-1200 nm é frequentemente denominada “janela terapêutica” do tecido (Figura n.º 5). Apesar disso, a luz aproximadamente até aos 800 nm pode gerar <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, porque λ longos não têm energia suficiente para iniciar uma reação fotodinâmica (Agostinis *et al.*, 2011). Em λ superiores a 800 nm, a água presente nos tecidos passa a absorver energia térmica (Oliveira *et al.*, 2015).

A luz azul é a luz que penetra menos eficazmente através do tecido, ao contrário das radiações vermelhas e infravermelhas que penetram com mais profundidade (Agostinis *et al.*, 2011). Os PSs que absorvem luz próximo do infravermelho, onde os tecidos têm maiores profundidades de penetração óticas ( $\delta = 2.3$  mm a 750 nm) aumentam a profundidade de tratamento (Bashkatov *et al.*, 2005 cit in. Rocha *et al.*, 2015). As maiores irradiâncias na PDT produzem uma resposta vascular aguda a uma profundidade maior do tumor e permitem uma hipoxia vigorosa após a PDT, a qual está correlacionada com a sua eficácia (Krzykawska *et al.*, 2014 cit in. Rocha *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

A luz verde é menos tóxica do que a luz vermelha, devido à sua penetração reduzida nos tecidos (Guyon *et al.*, 2014) (**Figura n.º 6**).



**Figura n.º 6** - Propagação da Luz Através dos Tecidos (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

A irradiação pode ser feita em praticamente qualquer órgão do corpo pela utilização de dispositivos flexíveis de fibra ótica (Agostinis *et al.*, 2011 *cit in.* Cândido, 2014). Os  $\lambda$  utilizados na PDT podem induzir morte celular num raio máximo de 10 mm da zona iluminada (Triesscheijn *et al.*, 2006 *cit in.* Cândido, 2014).

Existem três fontes de luz adequadas para a PDT: lâmpadas de amplo espectro (alta pressão ou fluorescentes), lâmpadas de diodo e lasers. A sua ação depende fundamentalmente do espectro de emissão, da irradiância, da distribuição espacial da luz e da potência do aparelho (Torezan *et al.*, 2009).

As lâmpadas de amplo espectro abrangem quase toda a luz UV-Vis e início do infravermelho, evitando praticamente toda a radiação ultravioleta. As lâmpadas halogéneas metálicas são largamente utilizadas, pois são mais baratas e têm alta

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

irradiância, exposição da luz constante fomentando uma PDT não muito prolongada. A lâmpada fluorescente mais utilizada atua na faixa de luz azul aos 407 nm (banda de Soret), sendo suficiente para promover a ativação fotodinâmica do ALA (Torezan *et al.*, 2009).

Ao contrário das lâmpadas, os lasers fornecem luz num  $\lambda$  específico que pode ser compatível com o espectro de absorção principal do PS e o feixe de luz é homogêneo. Vários lasers já foram utilizados na PDT como o *árgon dye laser*, Nd:YAG, *copper vapour dye*, *gold vapour* e o *diode laser* (Torezan *et al.*, 2009). A sua utilização permite uma rápida realização da PDT devido à emissão de alta fluência de luz monocromática que corresponde ao pico de absorção do agente. Contudo, são aparelhos mais caros (Torezan *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2014), não são portáteis, exigem mais assistência técnica e iluminam apenas pequenas áreas de superfície (Torezan *et al.*, 2009).

Os lasers de díodo (do inglês, *diode laser*) estão a ser especificamente designados para a PDT. Estes são pequenos, de simples instalação e possuem boa relação custo-benefício, bem como apresentam uma dosimetria automatizada, características de calibração e de longa duração ao contrário dos lasers de corante bombeado (do inglês, *pumped dye lasers*) que são largos e ineficientes (Agostinis *et al.*, 2011).

Os díodos emissores de luz (LEDs, do inglês, *light emitting diodes*) são aparelhos compostos por semi-condutores sólidos ligados entre si e que geram luz. Fornecem uma fonte de luz confiável, de alta potência, com uma banda espectral relativamente estreita (20-50 nm) e uma elevada taxa de fluência. São fontes de luz opcionais e podem ser distribuídos em painéis para promover a iluminação de uma superfície ampla e homogênea, sendo de utilização fácil e de meia vida longa (Agostinis *et al.*, 2011; Torezan *et al.*, 2009). O LED é uma fonte de luz que cobre um amplo espectro que combina os picos de absorção dos PSs geralmente utilizados (Yang *et al.*, 2014).

A irradiância e a uniformidade da irradiação devem ser constantemente verificadas durante a PDT. As irradiâncias utilizadas na PDT oscilam entre os 50-150 nW/cm<sup>2</sup>. Irradiâncias muito baixas indicam que o tempo de exposição à fonte de luz pode ser muito longo e em irradiâncias muito altas pode ocorrer um efeito térmico

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral

aditivo na PDT. Durante a irradiação do tumor ocorre um processo conhecido como foto-inativação do PS (do inglês, *photobleaching*), isto é, à medida que o tumor é destruído pela ativação fotodinâmica acontece simultaneamente a inativação do PS pela absorção de luz (Agostinis *et al.*, 2011; Torezan *et al.*, 2009). A conjugação das fontes de luz, dos PSs, e dos parâmetros de tratamento é essencial para o sucesso da PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

### 3.4 Fotossensibilizadores

Os requisitos a que um PS ideal deve obedecer são os seguintes: ser um composto simples e puro para permitir baixos custos de produção e boa estabilidade de armazenamento; ter um pico de absorção entre os 600-800 nm (vermelho a vermelho escuro) porque a absorção dos fótons com  $\lambda$  superiores a 800 nm não fornece energia suficiente para excitar o O<sub>2</sub> ao estado singleto e, conseqüentemente formar um número significativo de ROS; não exibir toxicidade no escuro; e possuir uma *clearance* relativamente rápida dos tecidos normais, diminuindo a fototoxicidade (Agostinis *et al.*, 2011). Deve igualmente, para além de todas as características anteriores mencionadas exibir seletividade e baixa agregação em soluções sobretudo aquosas/biológicas (Oliveira *et al.*, 2015).

São pretendidas moléculas que apresentem bandas de absorção numa região compreendida entre os 600-750 nm, pois as irradiações por fontes de luz nestes comprimentos de onda promovem um efeito terapêutico adequado com penetrações que variam entre os 5-20 mm (Oliveira *et al.*, 2015).

Alguns dos compostos mais eficazes ligam-se preferencialmente a lipoproteínas de baixa densidade, sugerindo que os recetores aumentados destas lipoproteínas presentes nas células do tumor podem ser importantes (Agostinis *et al.*, 2011).

Na PDT o PS é administrado por via sistémica ou tópica (na forma de emulsão, gel ou creme) (Vohra *et al.*, 2015; Agostinis *et al.*, 2011). A PDT tópica tem um efeito imunossupressor por indução da migração celular para os nódulos linfáticos (Kim *et al.*,

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

2012). Os PSs podem alcançar as células sanguíneas, mesmo quando não são administrados via intravenosa (Guyon *et al.*, 2014).

Nenhum dos PSs clinicamente aprovados fica acumulado no núcleo celular o que limita o dano do ADN que pode ser carcinogéneo ou levar ao desenvolvimento de clones resistentes (Agostinis *et al.*, 2011). Em princípio, a PDT tem como alvo preferencial a membrana comparativamente ao núcleo celular, mas *in vitro* a utilização de diferentes PSs pode induzir dano no ADN e quebras na cadeia simples (Kim *et al.*, 2012).

### 3.4.1 Tipos de Fotosensibilizadores

A maioria dos PSs são sobretudo precursores da porfirina e derivados. Estes tais como as ftalocianinas apresentam, uma estrutura aromática tetrapirrólica, análoga à estrutura da porfirina contida na hemoglobina (Agostinis *et al.*, 2011; Matei *et al.*, 2014).

Compostos do tipo porfirinas, clorinas e ftalocianinas apresentam características fotofísicas adequadas para o uso na PDT. As porfirinas e as clorinas têm sido as mais empregues (Oliveira *et al.*, 2015).

#### 3.4.1.1 Porfirinas

As porfirinas são heterocíclicos aromáticos, constituídas por 4 unidades pirrólicas unidas através de pontes meso-metínicas e apresentam bandas de absorção características na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) (Oliveira *et al.*, 2015) (**Figura n.º 7**).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

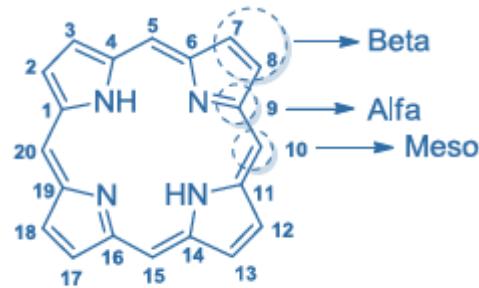


Figura n.º 7 - Estrutura Química Geral de uma Porfirina (Oliveira *et al.*, 2015).

Estes compostos geralmente possuem uma banda de maior intensidade na região de 400 nm (banda Soret) e outras bandas de menor intensidade (bandas Q) na região dos 500-650 nm, em comprimentos de onda maiores (Oliveira *et al.*, 2015; Torezan *et al.*, 2009) (Figura n.º 8).

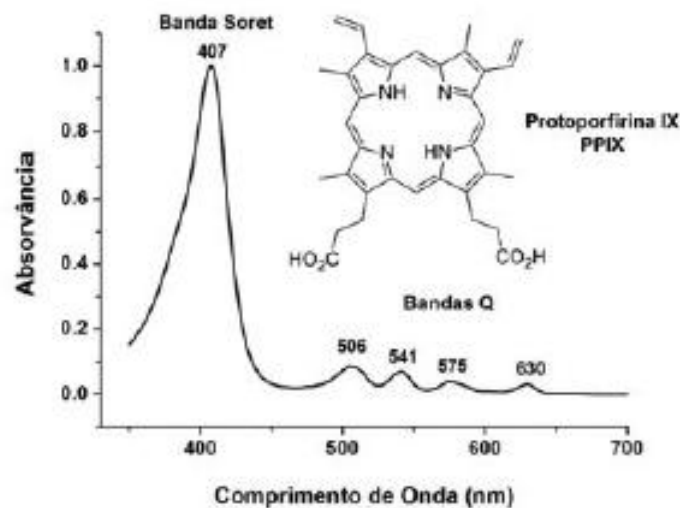


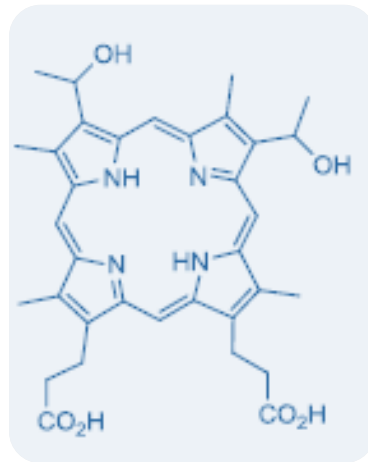
Figura n.º 8 - Espectro de Absorção de uma Porfirina na região do UV-Vis (Oliveira *et al.*, 2015).

O Photofrin<sup>®</sup>, o Photogem<sup>®</sup> e o Photosan<sup>®</sup> são os PSs de 1.<sup>a</sup> geração e diferem entre si no número de unidades monoméricas, diméricas e oligoméricas de hematoporfirina (HP). O processo de produção é o que distingue estas marcas comerciais que apresentam diferenças na fotoestabilidade e citotoxicidade, justificando o seu comportamento distinto em tratamentos de PDT (Oliveira *et al.*, 2015).

A HP é um eficiente PS a uma baixa concentração e tratamentos com HP têm mostrado que a apoptose induzida pela PDT está relacionada com a ativação da proteína

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

apoptótica (**Figura n.º 9**). Uma elevada concentração de HP induz ativação da proteína apoptótica numa curta duração (Kim *et al.*, 2012).



**Figura n.º 9** - Estrutura Química de uma HP (Oliveira *et al.*, 2015).

A HP pode ser obtida diretamente da desfibrilação dos glóbulos vermelhos do sangue de animais e tratado em condições ácidas (Oliveira *et al.*, 2015). Clinicamente tem sido o PS mais largamente utilizado e os seus efeitos no CCP têm sido reportados (Kim *et al.*, 2012).

A morte celular por apoptose induzida por HP mediada pela PDT através da ativação de caspases (-3, -8 e -9) nas células de CCO tem sido demonstrada numa fase inicial (passadas 3 horas) (Kim *et al.*, 2012).

O primeiro PS a ser utilizado em clinica no tratamento do cancro foi uma mistura de éteres de porfirina solúveis em água com padrões de localização variável principalmente associadas a membranas de lípidos. Essa mistura é denominada HPD, mais tarde denominada Photofrin<sup>®</sup> (Agostinis *et al.*, 2011) (**Figura n.º 10**).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Caverna Oral

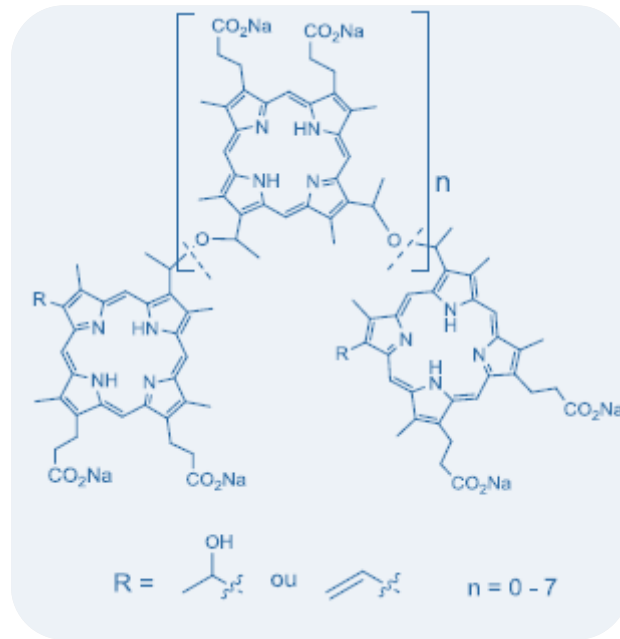


Figura n.º 10 - Estrutura Química do HPD (Photofrin<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

O Photofrin<sup>®</sup> é um dos mais antigos e utilizados PSs, o qual é conhecido por ter pouca seletividade nas lesões tumorais (Guyon *et al.*, 2014; Agostinis *et al.*, 2011). As suas desvantagens são fotossensibilidade na pele de longa duração e uma absorvância relativamente baixa (630 nm) (Agostinis *et al.*, 2011).

Star *et al.* (1963) utilizaram o Photofrin<sup>®</sup> mediado pela PDT em ratos com tumor mamário implantado e posteriormente observaram uma vasoconstrição dos vasos tumorais seguindo-se de uma estase completa do fluxo sanguíneo, hemorragia e, em alguns vasos maiores a formação de agregados plaquetários (Agostinis *et al.*, 2011).

Em 1993, a PDT baseada em HPD foi aprovada pela primeira vez no Canadá, para o tratamento de cancro da bexiga, tendo sido posteriormente aprovada também nos Estados Unidos da América e na Europa (Plaetzer *et al.*, 2009 *cit in.* Cândido, 2014).

Biel (1998) relatou os efeitos do Photofrin<sup>®</sup> mediado pela PDT de tratamento único num grupo de 138 pacientes com CECO *in situ* utilizando o seguinte protocolo de tratamento: administração de 2,0mg/Kg de porfímero de sódio 48 horas antes da irradiação com 630 nm de luz a partir do laser Nd:YAG (do inglês, *neodymium-doped yttrium aluminium garnet*). A fluência de luz entregue variou entre os 50-75 Joules por centímetro quadrado (J/cm<sup>2</sup>) para a CO. Os pacientes foram acompanhados mais de 211 meses e a taxa de cura aos 5 anos permaneceu nos 100% para todos os pacientes. Esta

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

terapêutica foi igualmente utilizada para pacientes com estádios mais avançados de lesões da CO. Em 52 pacientes com T2N0 e T3N0 de CECs também receberam um único tratamento de PDT que conduziu a uma resposta clínica e patológica completa, proporcionando uma cura de 100% aos 3 anos (Agostinis *et al.*, 2011).

O Photogen<sup>®</sup> tem apresentado bons resultados em tratamentos mediados por PDT para a candidíase oral provocada em geral, pela *Candida albicans* (Oliveira *et al.*, 2015).

O Photosan<sup>®</sup> é uma mistura de oligómeros de porfirina convertido intracelularmente no PS ativo, a protoporfirina IX (PpIX), nas células epiteliais (Chen *et al.*, 2015). Tem sido aplicado em tratamentos do CCP, mas o seu uso revelou como efeito secundário fotossensibilidade cutânea prolongada com duração até 3 meses, o que constitui um fator limitante para a sua utilização (Oliveira *et al.*, 2015; Dunn *et al.*, 2013). O Photosan<sup>®</sup> mediado por PDT para CCP é usualmente administrado por injeção intravenosa (2mg/Kg) 48H antes do tratamento com luz (dose total de luz, 100 J/cm<sup>2</sup>) (Chen *et al.*, 2015) e aplicado topicamente demonstrou ser uma modalidade de tratamento efetiva para o tratamento de LPM orais, contudo, são necessários mais de 5 tratamentos para lesões relativamente extensas (Chen *et al.*, 2015).

Um estudo clínico realizado por Feyh (1996) demonstrou que 6 de 7 pacientes com carcinoma orofaríngeo mostraram uma resposta completa confirmada histologicamente para um único curso de PDT, com administração sistémica de Photosan<sup>®</sup> num período de 13-71 meses de *follow-up* (Chen *et al.*, 2015).

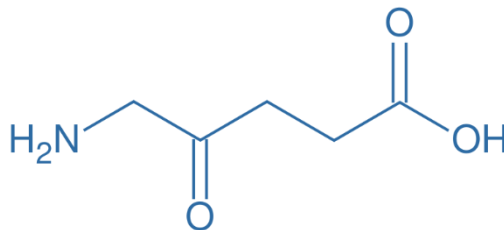
### **3.4.1.2 Percursos da Porfirina - Ácido 5-aminolevulínico e seus ésteres**

Alguns dos efeitos indesejáveis acima descritos incitaram o desenvolvimento de PSs de segunda geração, sobretudo mais eficientes e com menor tempo de permanência nas células (Oliveira *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Estes PSs apresentam bandas de absorção para  $\lambda$  superiores a 650 nm (por norma as clorinas), o que permite a utilização de fontes de luz com maior poder de penetração nos tecidos. Para além disso, começaram a ser projetados para possuir melhor solubilidade em meios fisiológicos (Oliveira *et al.*, 2015).

O ALA (Levulan<sup>®</sup>) e os seus ésteres são precursores metabólicos de um potente PS, a PpIX formado endogenamente, tanto em células epiteliais pré-cancerígenas como nas cancerígenas (Yang *et al.*, 2014; Agostinis *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2010; Dunn *et al.*, 2013) (**Figura n.º 11**). Estes são considerados “pró-fármacos” que, em excesso no meio celular, fazem com que as células acelerem a produção de PpIX e acumulem quantidades significativas do mesmo tornando-se assim em PSs ativos (Oliveira *et al.*, 2015; Davila, 2011 *cit in*. Cândido, 2014; Agostinis *et al.*, 2011).

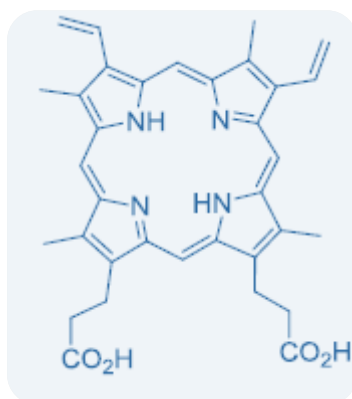


**Figura n.º 11** - Estrutura Química do ALA (Levulan<sup>®</sup>)

([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aminolevulinic\\_acid.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Aminolevulinic_acid.svg)).

O Levulan<sup>®</sup> aplicado topicamente e após algumas horas leva a uma acumulação de PpIX (**Figura n.º 12**), sendo possível a sua irradiação local com luz vermelha a um  $\lambda$  de 630nm (Oliveira *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral



**Figura n.º 12** - Estrutura Química da Protoporfirina IX (Oliveira *et al.*, 2015).

A aplicação tópica de ALA-PDT é uma modalidade efetiva para o tratamento de LPM, mas frequentemente é necessário realizar múltiplos tratamentos (Yang *et al.*, 2014). Selvam *et al.* (2015) constataram que a aplicação tópica de ALA-PDT é um tratamento promissor para a leucoplasia oral. Esta terapêutica é utilizada clinicamente para o tratamento do CEC numa fase inicial (Dunn *et al.*, 2013).

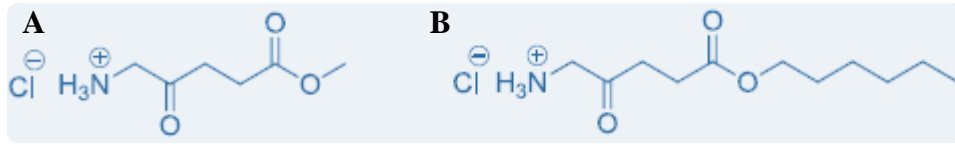
O ALA-PDT é uma alternativa atraente ao Photofrin<sup>®</sup> mediado pela PDT devido à sua administração por via oral, a fotossensibilidade da pele é de curta duração (24-48 horas) e a taxa de formação de estenose é menor. Esta terapêutica é segura e eficaz para o tratamento da displasia e cancro inicial do esófago de Barrett's (Dunn *et al.*, 2013).

O ALA é o PS de segunda geração mais estudado, mas apresenta limitada biodisponibilidade local devido à sua natureza hidrofílica (Guyon *et al.*, 2014) e baixa permeabilidade na membrana celular (Oliveira *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2010). Existem relatos de alguns pacientes que mencionam que esta terapia é bastante dolorosa (Oliveira *et al.*, 2015).

Para contornar estas desvantagens foram desenvolvidos compostos lipofílicos (ésteres do ALA) como o metilaminolevulinato (M-ALA, Metvix<sup>®</sup>) e o hexaminolevulinato (H-ALA, Hexvix<sup>®</sup>) que apresentam uma maior permeabilidade, sendo a dor conseqüentemente menor e, quando localizados no citoplasma, são hidrolisados antes de entrarem na via biossintética da PpIX (Oliveira *et al.*, 2015; Guyon *et al.*, 2014) (**Figura n.º 13**). Os derivados de ALA esterificados aumentam significativamente os níveis de PpIX nas células comparativamente com o ALA (Park *et al.*, 2010).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Dois derivados do ALA já foram aprovados para o tratamento ou diagnóstico das LPM e malignas: o Metvix<sup>®</sup> para a queratose actínica e carcinoma basocelular da pele e o Hexvix<sup>®</sup> para a deteção do cancro superficial da bexiga (Guyon *et al.*, 2014).



**Figura n.º 13** - Estrutura Química dos Ésteres do ALA (Metvix<sup>®</sup>) (**13A**) e (Hexvix<sup>®</sup>) (**13B**) (Oliveira *et al.*, 2015).

O ALA e os seus derivados têm sido largamente utilizados em tratamentos de queratose actínica, carcinoma basocelular, CECs, doença de *Bowen*, cancro cervical e candidíase com taxas de sucesso nos tratamentos acima dos 94% (Oliveira *et al.*, 2015).

Os derivados porfirínicos sistémicos podem causar uma fotossensibilidade geral e prolongada (Oliveira *et al.*, 2015). A aplicação de ALA ou de M-ALA causa um dano fotodinâmico extenso na pele, sendo necessário utilizá-los com precaução quando se tratam de áreas da face centrais ou áreas de mudança de campo de carcinogénese (Kim *et al.*, 2012).

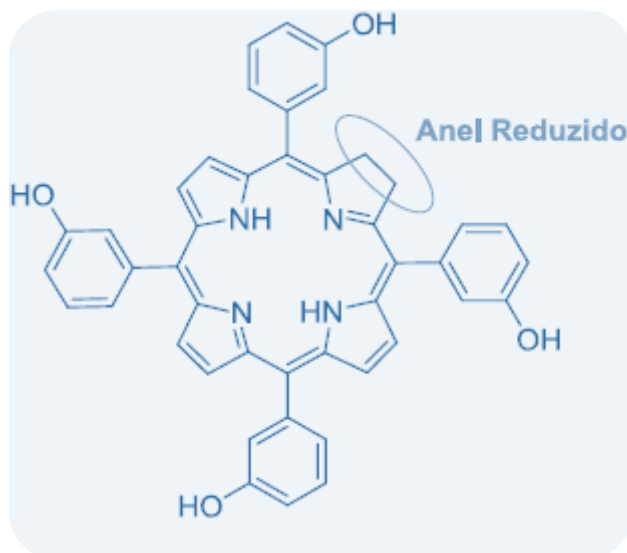
Bagnato *et al.* (2014) revelaram o potencial de biomarcador da aplicação tópica de ALA e M-ALA mediado pela PDT, útil para diagnóstico de deteção de tumores e tratamento de lesões por análise da fluorescência *in vivo* da PpIX, em resposta à excitação com luz na região do UV-Vis (Oliveira *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2012).

O éster de ALA-hexenilo (ALA-hx) é um éster alquil insaturado que aumenta a concentração de PpIX quando comparado a outros ésteres de ALA numa ampla gama de concentrações. O ALA-hx mediado pela PDT pode ser utilizado clinicamente como uma alternativa terapêutica para o cancro das glândulas salivares (Park *et al.*, 2010).

### 3.4.1.3 Clorinas

As clorinas apresentam absorções relativamente intensas na região entre os 630-680 nm. As bandas de absorção nestas regiões de maior  $\lambda$  permitem tratamentos de lesões mais profundas devido à elevada penetração da luz vermelha. Grande parte dos compostos do tipo clorina apresenta algumas características que tornam inviáveis a sua produção, como vias de síntese muito complexas, elevado custo de produção e dificuldade de purificação (Oliveira *et al.*, 2015).

A meso-tetra (3-hidrofenil) clorina (m-THPC), temoporfin, é um exemplo bem-sucedido de clorina comercializada como Foscan<sup>®</sup> (**Figura n.º 14**). Este pode ser obtido através da redução de uma das ligações duplas periféricas do anel porfirínico. O Foscan<sup>®</sup> já foi aprovado na Europa para tratamento do CCP e apresentou igualmente bons resultados no cancro da mama, próstata e pâncreas (Oliveira *et al.*, 2015).



**Figura n.º 14** - Estrutura Química da mTHPC (Foscan<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

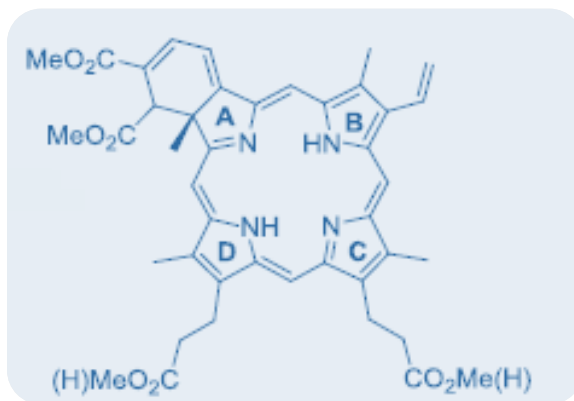
A m-THPC apresenta baixa solubilidade em meios biológicos sendo necessário a sua formulação em polietilenoglicol 400 para uso clínico. A sua ativação é feita por luz vermelha e possui um elevado rendimento quântico ( $\Phi_{\Delta}$ ) de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> cujo valor é 0.87 (Oliveira *et al.*, 2015). Atinge as mitocôndrias, o retículo endoplasmático ou ambos

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

(Agostinis *et al.*, 2011). Apresenta um tempo de semi-vida ( $t_{1/2}$ ) longo no plasma de 45.4 horas e é prescrito com intervalos de droga para luz (DLIs, do inglês, *drug-to-light intervals*) de 4-6 dias. Uma exposição longa ao temoporfin está associada com a elevada seletividade tumoral mas prolongada fotossensibilidade da pele (Rocha *et al.*, 2015).

No estudo realizado por Hopper *et al.* (2004) utilizando temoporfin em pacientes com CCO precoce, nos quais o tumor mede até 2.5 cm de diâmetro, relataram uma taxa de resposta completa de 85% (97 de 144 pacientes) em 12 semanas e uma taxa de sobrevivência livre de doença de 75% em 2 anos (*cit in.* Agostinis *et al.*, 2011).

O derivado mono-ácido da benzoporfirina (BPD-MA) ou verteporfin cujo nome comercial é Visudyne<sup>®</sup>, utilizado inicialmente na degeneração macular relacionada com a idade (ARMD, do inglês, *Age-Related Macular Degeneration*) encontra-se em estudos clínicos para o cancro do pâncreas (Silva *et al.*, 2013 *cit in.* Rocha *et al.*, 2015) (**Figura n.º 15**). Este fármaco apresenta menor fotossensibilidade devido ao seu reduzido  $t_{1/2}$  de 5-6 horas sendo no cancro do pâncreas irradiado com um DLI de 60-90 minutos e na ARMD de 15 minutos (Rocha *et al.*, 2015).

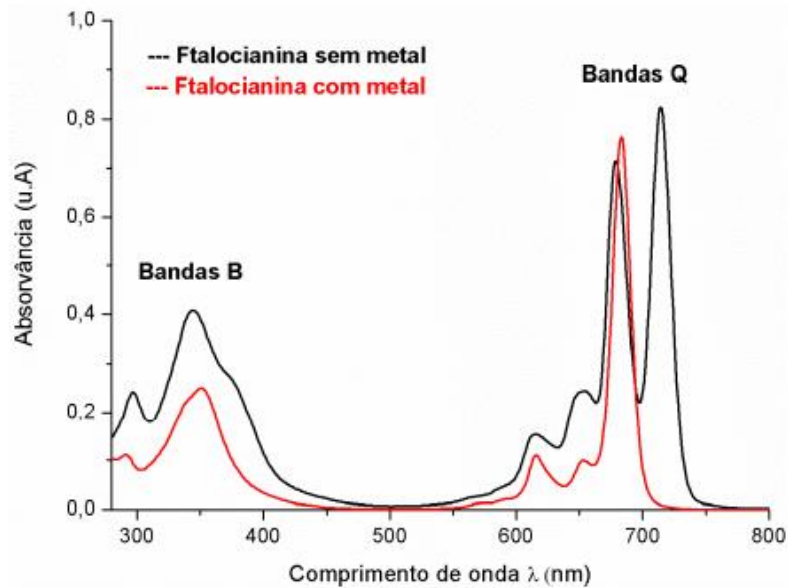


**Figura n.º 15** - Estrutura Química da BPD-MA (Visudyne<sup>®</sup>) (Oliveira *et al.*, 2015).

A talaporfin (NPe6, LS11, MACE) possui um  $\Phi_{\Delta}$  de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> ( $\Phi_{\Delta} = 0.77$ ) um pouco inferior ao do Foscan<sup>®</sup> ( $\Phi_{\Delta} = 0.87$ ) e ao do Visudyne<sup>®</sup> ( $\Phi_{\Delta} = 0.84$ ). O  $\Phi_{\Delta}$  de fotoinativação do PS (do inglês, *photobleaching*) é muito baixo (Oliveira *et al.*, 2015) (**Figura n.º 16**). Este composto atinge os lisossomas (Agostinis *et al.*, 2011). Em 2003 esta droga foi aprovada no Japão para o tratamento de cancro do pulmão e outros tipos de cancro como o oral, o do fígado, cérebro, entre outros (Oliveira *et al.*, 2015). O NPe6 apresenta baixa fotossensibilidade na pele após a sua utilização devido a uma rápida



## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

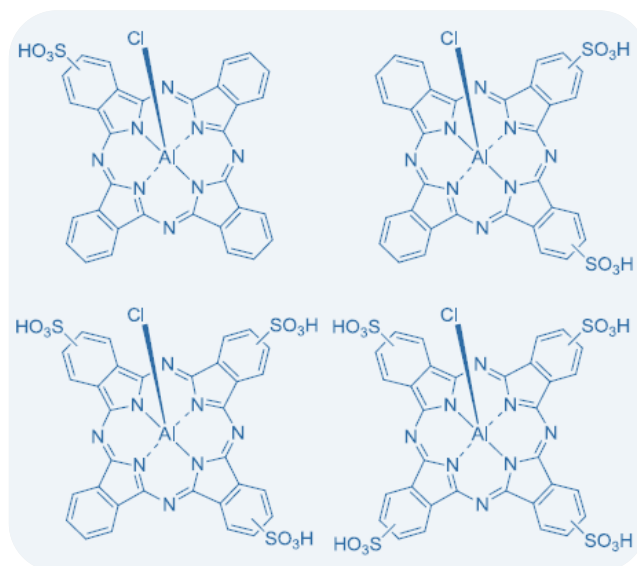


**Figura n.º 17** - Espectro de Absorção na Região do UV-Vis dos Derivados Ftalocianínicos (Oliveira *et al.*, 2015).

Até ao momento existe, apenas, uma ftalocianina disponível comercialmente (Photosens<sup>®</sup>) com potencial já comprovado para aplicação na PDT e outras duas em ensaios clínicos avançados, a ftalocianina de silício (Pc4) e a ftalocianina de zinco (ZnPc CGP55847) (Oliveira *et al.*, 2015).

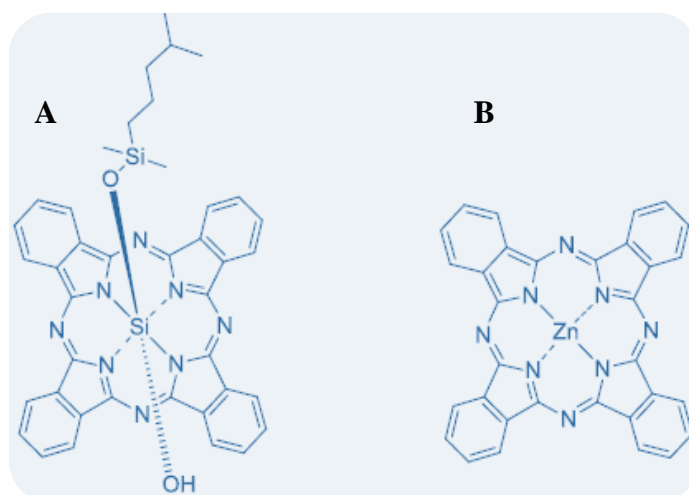
O Photosens<sup>®</sup> consiste numa mistura regioisomérica de ftalocianina mono, di, tri e tetra sulfonadas, que apresentam como metal coordenante o alumínio ligado ao ião cloreto na posição axial (**Figura n.º 18**). Este fármaco mostrou ser eficaz no tratamento de tumores de coróide, olhos, pálpebra, sarcoma, cervical e bexiga (Oliveira *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral



**Figura n.º 18** - Estrutura Química das Ftalocianinas Presentes no Photosens<sup>®</sup> (Oliveira *et al.*, 2015).

O Pc4 revelou eficácia no tratamento de lesões cutâneas e subcutâneas e a ZnPc CGP55847 é útil no tratamento de tumores de células escamosas do trato digestivo (**Figura n.º 19**).

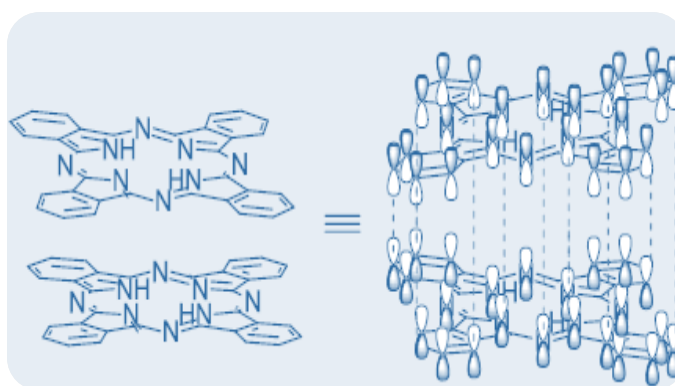


**Figura n.º 19** - Estrutura Química da Pc4 (**19A**) e do ZnPc CGP55847 (**19B**) (Oliveira *et al.*, 2015).

As moléculas destes compostos podem associar-se entre si, formando dímeros, trímeros, oligómeros, ou combinações dos mesmos num fenómeno conhecido como agregação por intermédio de interações  $\pi$ -stacking entre as nuvens eletrónicas do sistema aromático (**Figura n.º 20**). Este fenómeno altera as propriedades eletrónicas e a

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

solubilidade das ftalocianinas, assim as que possuem uma elevada taxa de agregação têm menor eficácia como PSs, uma vez que o tempo de vida do  $T_1$  é reduzido, possivelmente devido à dissipação da energia do  $S_1$  por energia térmica. Em consequência, os  $\Phi_{\Delta}$  dos estados  $S_1$  são inferiores com diminuição na produção de  $^1O_2$  (Oliveira *et al.*, 2015; Alves, 2014).

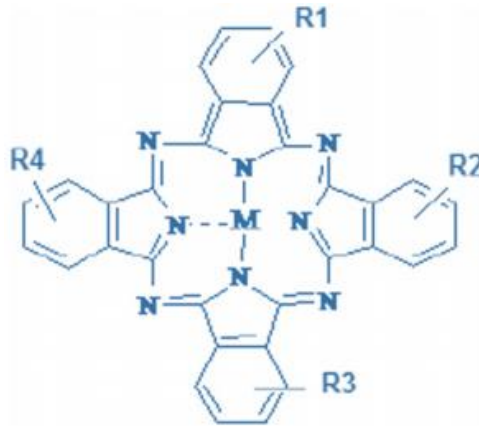


**Figura n.º 20** - Interações do Tipo  $\pi$ -stacking em Ftalocianinas (Oliveira *et al.*, 2015).

De forma a contornar esta situação, já foram realizadas tentativas de modificações estruturais, geralmente de dois tipos, um através de modificações dos substituintes nas posições  $\alpha$  e  $\beta$ , com a introdução de grupos volumosos hidrofílicos e/ou hidrofóbicos e outro por alteração do metal coordenante de modo a permitir a inclusão de ligandos axiais. Em ambos os casos, a inclusão dos grupos é estudada de forma estratégica para minimizar a agregação e, naturalmente, tornar estes compostos solúveis em meios fisiológicos e ou/formulações farmacêuticas permitindo uma rápida absorção pelas células. A inclusão de um ião metálico tal como o Al (alumínio), Zn (zinco), In (índio) ou Ag (prata) modificam as propriedades fotodinâmicas das ftalocianinas. O ião metálico central modula as propriedades fotodinâmicas atuando através da alteração da densidade eletrónica no núcleo do composto, aumentando a deslocalização eletrónica  $\pi$  e consequentemente mudando o espectro de absorvância da substância (Matei *et al.*, 2014). Há um grande esforço no sentido de viabilizar a utilização das ftalocianinas na PDT recorrendo a sistemas micelares ou nanopartículas, com características apropriadas que tornem possível a molécula do PS, estar presente na forma monomérica (Oliveira *et al.*, 2015).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

A ftalocianina de alumínio di-sulfonada (AlS<sub>2</sub>Pc) é uma ftalocianina metalo-substituída com solubilidade aumentada, devido aos substituintes sulfonados a partir da periferia do macrociclo (**Figura n.º 21**). A PDT utilizando a AlS<sub>2</sub>Pc leva à indução de apoptose numa cultura de queratinócitos orais displásicos humanos (Matei *et al.*, 2014).

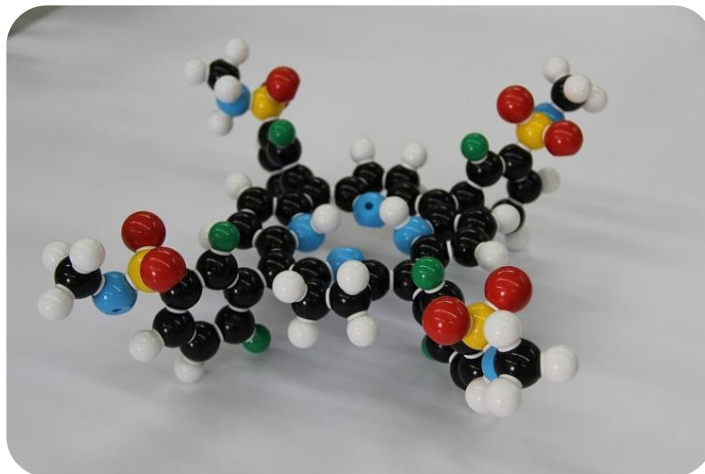


**Figura n.º 21** - Estrutura Química de uma Ftalocianina Metalo-Sulfonada (M = metal; R = SO<sub>3</sub><sup>-</sup>/H) (Matei *et al.*, 2015).

### 3.4.1.5 Bacterioclorinas

A PDT com os PSs atuais concentra-se nos efeitos locais e estes são limitados por uma leve penetração nos tecidos (Rocha *et al.*, 2015). Rocha *et al.* (2015) desenvolveram recentemente uma bacterioclorina (F<sub>2</sub>BMet ou Redaporfin<sup>®</sup>) foto-estável com intensa absorção da luz próximo do infravermelho com o intuito de aumentar a profundidade do tratamento e desencadear fortes respostas sistémicas imunitárias (**Figura n.º 22**). As bacterioclorinas apresentam uma banda de forte absorção na zona dos 700-750 nm (Smith, 1975; Milgrom, 1997 *cit in.* Alves, 2014).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral



**Figura n.º 22** - Modelo da Molécula de Redaporfin<sup>®</sup> (<http://noticias.uc.pt/universo-uc/molecula-patenteada-pela-uc-para-terapia-inovadora-no-tratamento-de-varios-tipos-de-cancro-revela-a-eficacia-desejada/>).

O Redaporfin<sup>®</sup> produz em grande quantidade ROS, apresenta fototoxicidade (Arnaut *et al.*, 2014 *cit in.* Oliveira *et al.*, 2015), baixa fotossensibilidade da pele e uma boa farmacocinética (Saavedra *et al.*, 2014 e Krzykawska *et al.*, 2012 *cit in.* Oliveira *et al.*, 2015). Aproximadamente 80% deste fármaco é eliminado do plasma dentro de 12 horas após a administração intravenosa (Saavedra *et al.*, 2014 *cit in.* Oliveira *et al.*, 2015).

O Redaporfin<sup>®</sup> mediado pela PDT conduz a um edema amplo e à formação de crosta, instalando-se uma elevada inflamação local desencadeada por uma forte resposta imunitária, sendo muito eficiente na eliminação do tumor primário e na prevenção de recidivas. A PDT com DLI = 0.25 horas (0.75 mg/Kg, 50 J/cm<sup>2</sup> e margem tumoral > 3 mm) é preferível porque fornece as maiores taxas de cura e imunidade anti-tumoral sistémica de longa duração (Rocha *et al.*, 2015).

Os resultados de Rocha *et al.* (2015) serviram de suporte à aprovação regulatória para o ensaio clínico de Redaporfin<sup>®</sup> neste momento, em fase I/II (ClinicalTrials.gov identifier: NCT02070432).

## VI. Mecanismos de Ação da Terapia Fotodinâmica

### 4.1 Mecanismos de Citotoxicidade

A geração de ROS é considerada o maior mecanismo citotóxico durante a PDT. No estudo realizado por Kim *et al.* (2012) a geração de ROS foi detetada durante o tratamento com PDT.

As ROS ( $^1\text{O}_2$  e radicais  $\text{HO}^\bullet$ ) causam danos oxidativos nas paredes celulares microbianas das células e células pré-malignas e malignas (Vohra *et al.*, 2015; Vohra *et al.*, 2014). A produção destas espécies como o  $^1\text{O}_2$  depende da concentração, da localização do PS no tecido alvo, assim como da dose de luz utilizada (Torezan *et al.*, 2009).

As ROS geradas pelo PSs são responsáveis pela destruição seletiva do tumor, dano vascular associado ao tumor, conduzindo à formação de trombos e subsequente enfarte do tumor, e ativação de respostas imunitárias anti-tumorais (Chen *et al.*, 2015; Kawczyk-Krupka *et al.*, 2013). A PDT sistêmica pode determinar respostas imunitárias anti-tumorais (Rocha *et al.*, 2015).

A morte celular após a PDT é resultado da apoptose e necrose, dependendo do tipo de células envolvidas, do PS utilizado, do tipo de luz e do nível de  $\text{O}_2$  (Kawczyk-Krupka *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2012). Fatores como a dose de droga, a dose de luz, o DLI, a exposição à radiação, a irradiância e a margem tumoral são fundamentais para a destruição do tumor primário (Kousis *et al.*, 2007 *cit in.* Rocha *et al.*, 2015). Num estudo realizado por Park *et al.* (2010) utilizando ALA-hx mediado pela PDT verificou-se que o mecanismo de morte celular pode estar relacionado com o tipo de célula.

Após a irradiação são causados danos irreparáveis nas macromoléculas das células levando à morte das células tumorais por mecanismos de *stress* celular e morte celular como a apoptose, a necrose e a autofagia (**Figura n.º 23**), acompanhado de indução de reação inflamatória local aguda (observada como edema local) que participa na remoção de células mortas, restauração da homeostasia do tecido normal e, por vezes, no desenvolvimento do SI (Kim *et al.*, 2012; Agostinis *et al.*, 2011).

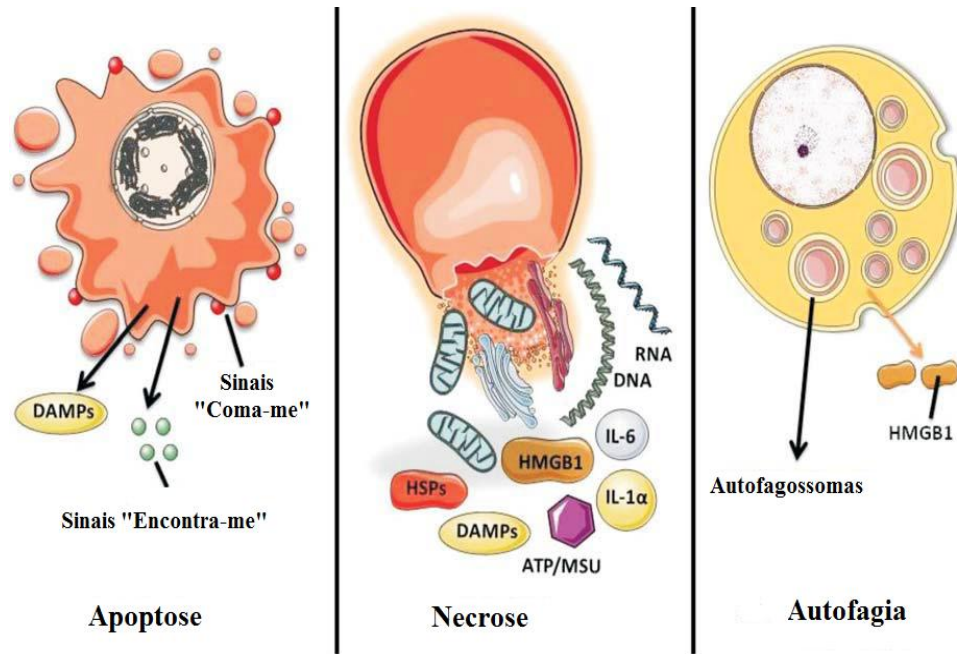


Figura n.º 23 - As Três Modalidades Principais de Morte Celular (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

#### 4.1.1 Apoptose

A apoptose considerada a maior modalidade de morte celular consiste na ativação de múltiplas vias de sinalização intracelulares que terminam com a ativação das caspases que conduzem à dissolução nuclear, à fragmentação do ADN e à lise dos vários substratos de proteína vitais para a fisiologia da célula normal. Esta é o resultado de um programa genético codificado ativada por vários estímulos (Matei *et al.*, 2014; Agostinis *et al.*, 2011). A PDT destrói as células tumorais principalmente por indução de apoptose através de níveis elevados de ROS (Matei *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2012; Buytaert *et al.*, 2007).

A indução de apoptose nas células tumorais de uma forma seletiva, sem prejudicar as células normais adjacentes, é um efeito pretendido pela PDT. Este objetivo é alcançado por acumulação do PS preferencialmente nas células tumorais (Matei *et al.*, 2014). Os mecanismos responsáveis por esta acumulação preferencial não estão

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

completamente esclarecidos pois dependem em grande parte da natureza do PS (Ortel *et al.*, 2009 *cit in.* Cândido, 2014).

As particularidades das biomoléculas apoptóticas podem ser explicadas pelo tipo de diferenciação celular (Matei *et al.*, 2014). Quando as células apresentam um fenótipo de diferenciação maior a resposta apoptótica é aumentada. As células pouco diferenciadas podem ter vias de apoptose reduzidas e em resultado serem resistentes à terapia (Matei *et al.*, 2014).

Na análise de proteína *microarray* realizada por Matei *et al.* (2014) os analitos analisados, Bcl-2, p70S6K-quinase, Raf-1 e proteínas Bad apresentam-se como as biomoléculas relacionadas com a apoptose. Após lesão fotodinâmica com os PSs ligados à membrana externa de permeabilização mitocondrial, regulada por membros da família Bcl-2 liberta os ativadores da caspase, citocromo c e Smac/DIABLO, ou outras moléculas pró-apoptóticas como o fator de indução de apoptose (Agostinis *et al.*, 2011).

De acordo com Bodur *et al.* (2012) a Bcl-2 pode ser fosforilada pela enzima IKK (I $\kappa$ B $\alpha$ -quinase) num resíduo de treonina localizado na posição 56 da cadeia proteica, levando a uma alteração conformacional expressa por uma diminuição na ação anti-apoptótica de Bcl-2, por conseguinte promovendo a apoptose (Matei *et al.* 2014).

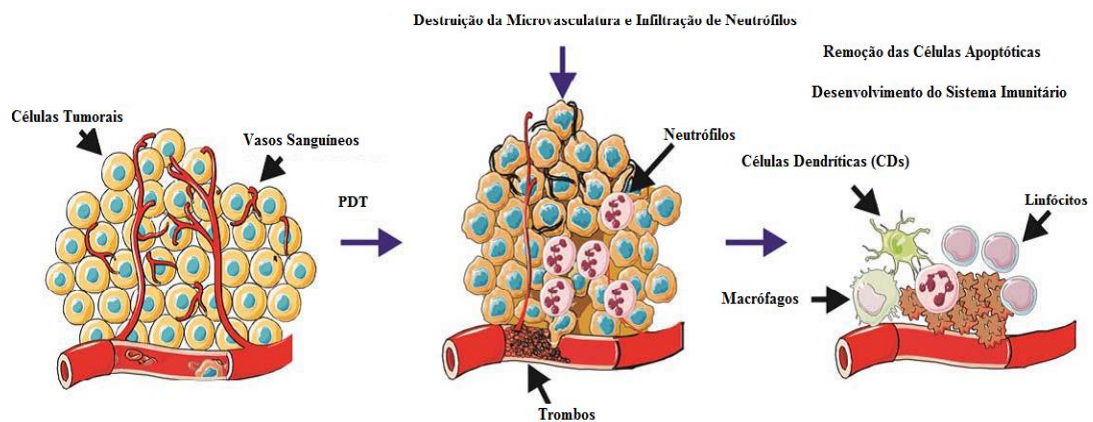
### 4.1.2 Necrose

Na necrose, morfológicamente verifica-se a vacuolização do citoplasma, inchaço e rutura da membrana plasmática, resultando numa reação inflamatória devido à libertação de conteúdo celular e de moléculas pró-inflamatórias. Deteção de ausência de ativação de caspases, libertação de citocromo c e fragmentação do ADN oligonucleossomal (Agostinis *et al.*, 2011).

A morte de células tumorais é acompanhada por ativação da cascata do complemento, secreção de citocinas pró-inflamatórias (as mais importantes IL-1b e IL-6) e rápido recrutamento de células inflamatórias: neutrófilos, macrófagos e células dendríticas (CDs) (**Figura n.º 24**). O objetivo destas células inflamatórias é neutralizar

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

os sinais de alarme/perigo gerados após a PDT, denominados DAMPs (do inglês, *Damage-Associated Molecular Pattern Molecules*)/CDAMPs (do inglês, *Cell Death Associated Molecular Patterns*) removendo células e restos de células tumorais mortas. A inflamação sistêmica e local aguda culmina com a maturação e ativação das CDs que migram para os nódulos linfáticos e diferenciam-se em células apresentadoras de antígenos ativando conseqüentemente as células T. As CDs maduras são cruciais para a ativação de células T  $CD_8^+$  e a indução da imunidade anti-tumoral (Agostinis *et al.*, 2011).



**Figura n.º 24** - Efeito Vascular da PDT (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT é citotóxica e genotóxica adicionalmente e certos tipos celulares, tais como os linfócitos, são mais suscetíveis aos efeitos da PDT. Esta induz a expressão do fator de crescimento, ativação transcripcional de proteínas de sobrevivência, matriz de metaloproteinases e citocinas nas células tumorais (Kim *et al.*, 2012).

### 4.1.3 Autofagia

A autofagia é descrita como sendo um mecanismo para preservar a viabilidade das células após agressão fotodinâmica. É considerada uma via lisossomal para a degradação e reciclagem das proteínas intracelulares e organelos. Os PSs que provocam um dano fotodinâmico no compartimento lisossomal podem comprometer a conclusão do processo autofágico, causando uma *clearance* incompleta dos componentes

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

citoplasmáticos danificados e a sua acumulação pode potenciar fototoxicidade nas células de apoptose competentes (Agostinis *et al.*, 2011).

### 4.2 Mecanismos Citoprotetores

Num estudo realizado por Kim *et al.* (2012) verificaram que as proteínas de choque térmico (HSPs, do inglês, *heat shock proteins*) podem desempenhar um papel complexo na apoptose. Adicionalmente, quando as HSPs são apresentadas na superfície das células ou libertadas para o meio extracelular durante situações de morte celular ou infeção viral, estas proteínas têm uma resposta de estimulação imunitária. As HSPs têm a capacidade de se ligar a proteínas danificadas por oxidação (Agostinis *et al.*, 2011). As proteínas danificadas por oxidação podem ser redobradas por moléculas chaperonas (do inglês, *chaperones*), tais como, as HSPs. A restauração ineficaz da sua estrutura conduz à acumulação de proteínas mal enroladas e à sua agregação, o que acelera a morte celular (Agostinis *et al.*, 2011).

Tem sido relatado que a QT, RT e hipertermia induzem o aumento da expressão à superfície de HSPs em células de cancro tratadas (Kim *et al.*, 2012). A PDT induz a expressão de quantidades significativas de várias HSPs (HSPs27, HSPs60, HSPs70, HSPs90 e HSPs110) desempenhando um papel protetor da PDT (Agostinis *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012). A exposição ao *stress*, antes da indução da apoptose, eleva a expressão das HSPs72 e HSPs60 em células tumorais apoptóticas (Kim *et al.*, 2012). As HSPs induzíveis (HSPs60, HSPs70 e HSPs90) ativam a inflamação e estimulam a expressão das citocinas nas células (Kim *et al.*, 2012). O aumento dos níveis de HSPs60 e HSPs70 é inversamente correlacionado com a sensibilidade ao tratamento com a PDT. O nível de expressão de HSP70 em células tumorais tratadas pela PDT parece correlacionar-se com a capacidade para estimular a maturação de CDs e o início da inflamação (Agostinis *et al.*, 2011).

A elevada expressão de HSP27 possivelmente está em relação inversa com a proliferação celular, metástases, e resistência à QT. A baixa expressão da HSP27 confere resistência para a PDT através da interrupção da atividade das proteínas

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

apoptóticas (Kim *et al.*, 2012). A transfecção de células tumorais com o gene HSP27 aumentou a sobrevivência de células tumorais após a PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

A expressão da HSP27 mostrou ter uma resposta sensível imediatamente após HP-PDT podendo regular as proteínas pró-apoptóticas e a expressão de enzimas anti-oxidantes (Kim *et al.*, 2012).

É observado que as moléculas anti-oxidantes hidrossolúveis (aminoácidos, glutatona ou vitamina C) e lipossolúveis (vitamina E) estão expressas em níveis variáveis em muitos tipos de células cancerígenas justificando a grande variação na sensibilidade da PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

Um aumento na atividade da superóxido dismutase (SOD) é observado em vários tipos de células cancerígenas após a PDT, associado à diminuição da glutatona peroxidase e atividade da catalase. O tratamento com miméticos da SOD demonstrou ter um efeito protetor contra o efeito citotóxico induzido pela PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT conduz a um aumento da ubiquitinação de proteínas carboniladas, assinalando-as para a degradação em proteosomas que previnem a formação de agregados tóxicos de proteínas (Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT revelou o aumento da expressão heme-oxigenase (HO-1) que possui uma atividade anti-oxidante. Devido à sua atividade pode ser previsto que o sinal de transdução do fator nuclear do tipo 2 (Nrf2) pode controlar a proteção celular contra os efeitos citotóxicos da PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

### 4.3 Inflamação e Imunidade

O efeito da PDT no SI é dependente do regime de tratamento, da área tratada, e do tipo de PS (Agostinis *et al.*, 2011). Nos últimos anos, os dados clínicos, sugerem que o SI funciona como uma barreira considerável para a formação e progressão do tumor, pelo menos em algumas formas de cancro não induzidas por vírus (Teng *et al.*, 2008 e Kim *et al.*, 2007 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

O reconhecimento de moléculas classe I do complexo maior de histocompatibilidade (MHC-I, do inglês, *major histocompatibility complex class I molecules*) é importante para a ativação de células T  $CD_8^+$  e os tumores com ausência do MHC-I são resistentes para as reações imunitárias anti-tumorais mediadas por células (Maeurer *et al.*, 1996 *cit in.* Agostinis *et al.*, 2011).

Verificou-se um aumento de linfócitos T citotóxicos  $CD_8^+$  (CTLs, do inglês, *cytotoxic T lymphocytes*),  $CD_4^+$  ou células assassinas naturais (NK, do inglês, *natural killer cells*) na incidência de tumores (Kim *et al.*, 2007 e Teng *et al.*, 2008 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011). A geração de células T  $CD_8^+$  efectoras e células T de memória são frequentemente, mas nem sempre, dependentes da presença e ativação de células T  $CD_4^+$  e podem ser aumentadas por células NK (Agostinis *et al.*, 2011).

As células do SI podem atuar como antagonistas tumorais ou como promotoras de tumores, estando presentes na maioria, se não em todas as lesões neoplásicas em diferentes proporções (SCHA fer e Werner, 2008 e Dvorak, 1986 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

Rocha *et al.* (2015) verificaram que as células T ( $CD_3^+$ ) são geralmente imunossupressoras de células T reguladoras. Passadas 24 horas do tratamento com Redaporfin<sup>®</sup>, as células  $CD_3^+$  aumentaram significativamente, atingindo níveis superiores aos observados em tumores não tratados. Essa infiltração de células T pode ser mediada por sinais emitidos pelas células de tumor mortas pela PDT, que recrutam os linfócitos a partir da corrente sanguínea para dentro do tumor, especialmente com incidência na sua periferia. Tais infiltrações têm sido observadas nos estudos com PDT vascular.

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Dados de epidemiologia clínica apontam cada vez mais para a existência de respostas imunes anti-tumorais em algumas formas de cancro humano (cancro no cólon e ovário) apresentando um melhor prognóstico do que as formas que possuem um défice em NK e CTLs (Bindea *et al.*, 2010; Ferrone e Dranoff, 2010; Pagès *et al.*, 2010; Nelson e 2008 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

A imunidade anti-tumoral induzida pela PDT pode ou não depender de células T  $CD_4^+$  e pode ser aumentada por NK. Acredita-se que a imunidade anti-tumoral mediada pela PDT se deve, pelo menos em parte, à estimulação de CDs, sugerindo que *in vitro* as células tumorais tratadas com a PDT podem funcionar como vacinas anti-tumorais eficazes (Agostinis *et al.*, 2011).

Estudos dos mecanismos mostraram que a incubação de CDs imaturas com células tumorais tratadas pela PDT leva à maturação de CDs, ativação e capacidade aumentada para estimular as células T. A opsonização de células tumorais tratadas com PDT por proteínas do complemento aumenta a eficácia das vacinas geradas por esta terapia (Agostinis *et al.*, 2011).

Está estabelecido que a indução de imunidade anti-tumoral após a PDT depende da indução de inflamação (Agostinis *et al.*, 2011). A lista de células inflamatórias promotoras de tumor inclui subtipos de macrófagos, mastócitos e neutrófilos, assim como linfócitos T e B (De Palma *et al.*, 2007; Johansson *et al.*, 2008; Murdoch *et al.*, 2008; Coffelt *et al.*, 2010; DeNardo *et al.*, 2010; Egeblad *et al.*, 2010 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011) (**Figura n.º 25**).

No processo de cicatrização normal de feridas e no combate de infeções, as células inflamatórias imunitárias aparecem temporariamente e depois desaparecem, em oposição com a sua persistência nos locais de inflamação crónica, onde a sua presença tem sido associada a várias patologias dos tecidos, incluindo fibrose, angiogénese anormal e neoplasia (Grivennikov *et al.*, 2010 e Karin *et al.*, 2006 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

As moléculas de sinalização libertadas pelas células inflamatórias incluem o fator de crescimento tumoral (EGF, do inglês, *epidermal growth factor*), o VEGF, outros fatores pró-vasculares tais como FGF2 (do inglês, *fibroblast growth factor-2*),

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

quimiocinas e citocinas que aumentam o estado inflamatório (Qian e Pollard, 2010 e Murdoch *et al.*, 2008 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

As células cancerígenas altamente imunogénicas podem muito bem escapar da destruição imunitária por desativação de componentes do SI (CTLs e NK) que foram enviados para os eliminar, através da secreção do TGF- $\beta$  (do inglês, *transforming growth factor beta*) ou de outros fatores imunossupressores (Yang *et al.*, 2010 e Shields *et al.*, 2010 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

Mecanismos mais ténues atuam através do recrutamento de células inflamatórias que estão ativamente imunossuprimidas, como as células T reguladoras e as células supressoras mieloides (definidas como co-expressoras de marcadores de macrófagos CD11b e marcadores de neutrófilos Gr1). Ambas podem suprimir as ações das CTLs (Ostrand-Rosenberg e Sinha, 2009 e Mougiakakos *et al.*, 2010 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011).

Alguns regimes de tratamento resultam na potenciação da imunidade adaptativa, enquanto outros levam à imunossupressão. O mecanismo exato que conduz à supressão vs potenciação não é claro (Agostinis *et al.*, 2011). Tanto o SI inato como o adaptativo são capazes de contribuir significativamente para a vigilância imunitária e desta forma erradicar o tumor (Kim *et al.*, 2007 e Teng *et al.*, 2008 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011). O SI, por um lado deteta e marca especificamente agentes infecciosos com resposta imunitária adaptativa, que é suportada por células do SI inato e por outro é envolvido na cicatrização de feridas e na remoção de células mortas e restos celulares (Egeblad *et al.*, 2010; Mantovani, 2010; Qian e Pollard, 2010; Johansson *et al.*, 2008 *cit in.* Hanahan e Weinberg, 2011). A supressão imunológica induzida pela PDT é atribuída a regimes de PDT transdérmicos e cutâneos que envolvem áreas de superfície extensas (Agostinis *et al.*, 2011).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

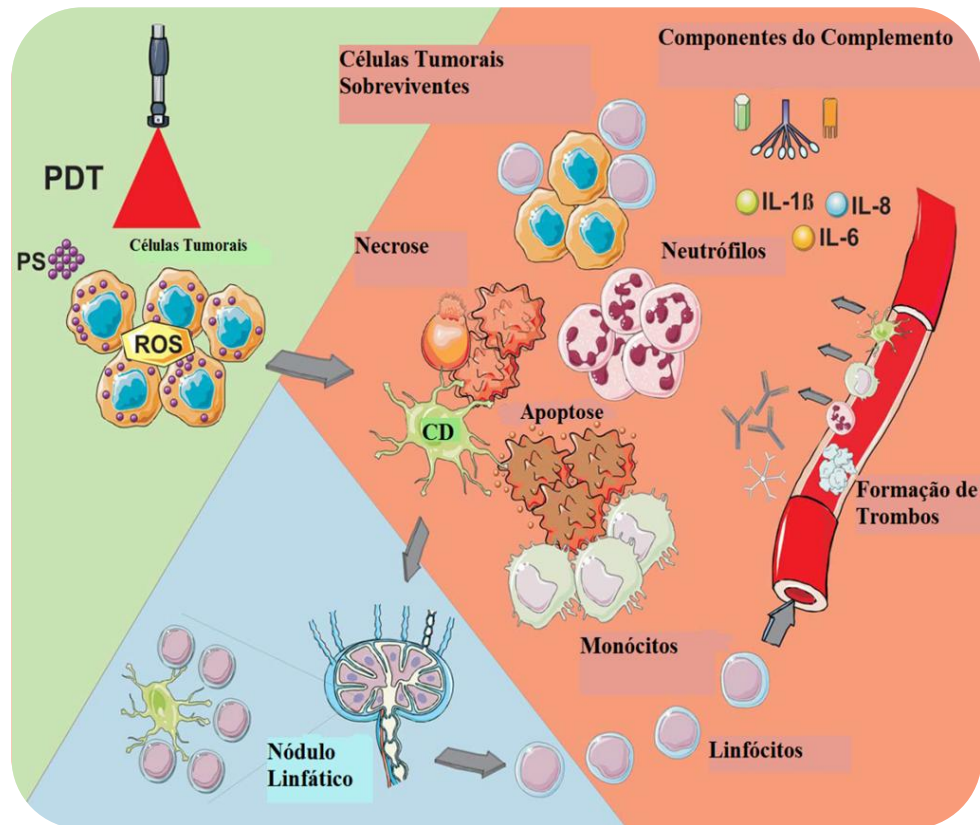


Figura n.º 25 - Efeitos Induzidos pela PDT (adaptada do artigo Agostinis *et al.*, 2011).

### 4.4 Associação da PDT com Outras Estratégias Terapêuticas

As estratégias para aumentar a eficácia anti-tumoral da PDT são variadas: sensibilização de células tumorais à PDT; interferência com as respostas moleculares cito-protetoras num tumor sobrevivente ou em células do estroma desencadeadas por PDT. Outra abordagem é a utilização de compostos que prejudicam o efluxo do PS para sensibilizar células tumorais para a PDT. Esta abordagem parece ser limitada aos PSs que são substratos de sistemas de transporte exteriores, tais como ABCG2 (do inglês, *ATP-binding cassette transporter G2*) (Agostinis *et al.*, 2011).

Tem sido referido que os transportadores ABC de efluxo de PSs (do inglês, *ABC transporters efflux photosensitizers*) e tais inibidores ABCG2, como o fumitremorgin C, aumentam a PpIX intracelular (Yamamoto *et al.*, 2013). A exportação de PpIX por ABCG2 pode ser um fator primordial para determinar a eficácia de ALA induzido pela PDT num ambiente *in vivo* de CCO (Yamamoto *et al.*, 2013).

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

Outra abordagem envolve a conversão aumentada de ALA ou os seus esteres em protoporfirina IX através de agentes quelantes de ferro (Agostinis *et al.*, 2011). A acumulação de PpIX é resultante da ação do ABCG2 e da ferroquelatase (FECH, do inglês, *ferrochelatase*) e o tratamento com a associação dos seus inibidores melhora a eficácia do ALA-PDT numa linha de células de CCO, num meio contendo soro bovino fetal (Yamamoto *et al.*, 2013). Agostinis *et al.*, 2011 referem igualmente, que uma estratégia para promover a eficácia da PDT está relacionada com o aumento da conversão de ALA ou os seus ésteres em PpIX através da FECH. Esta é uma enzima que converte a PpIX em heme e a diminuição da sua atividade leva a uma acumulação em massa de PpIX nos eritrócitos, plasma e fezes (Dunn *et al.*, 2013). Yamamoto *et al.* (2013) observaram uma melhoria da acumulação da PpIX induzida por ALA numa linha celular de CEC da língua humana (SCC4, do inglês, *squamous-cell carcinoma cell line of human tongue*), usando vários inibidores de FECH e ABCG2, melhorando a eficácia da PDT na presença de FSB. A diminuição da resistência à cisplatina e 5-FU de CSCs derivadas de CCP por tratamento com ALA-PDT pode ser atribuído à redução da expressão de ABCG2 (Yu e Yu, 2014).

As estratégias terapêuticas que interferem com o redobramento ou remoção de proteínas oxidadas podem ser utilizadas para sensibilizar as células tumorais para a PDT. Por exemplo, a modulação da função da HSP com a geldanamicina, que é um inibidor da HSP90, sensibiliza as células tumorais para a PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

O ALA-PDT tópico está a ser utilizado no tratamento de uma variedade de LPM e malignas humanas com alguns resultados clínicos animadores (Yu e Yu, 2014; Yang *et al.*, 2014). Esta terapêutica induz morte celular por apoptose e peroxidação de lípidos (Yamamoto *et al.*, 2013). Também foi relatado que o ALA-PDT induziu a morte celular por apoptose nas células Ca9-22 de CCO humano (Yamamoto *et al.*, 2013). O ALA-PDT é considerado uma terapia quimio-adjuvante potencial para células estaminais de cancro (CSCs, do inglês, *Cancer Stem Cells*) derivadas do CCP aumentando a eficácia da QT nestas células (Yu e Yu, 2014). O ALA-PDT aumenta a capacidade apoptótica das células de CCO através da sinalização NF-kB/JNK e também anula a capacidade de migração de células de CCO por baixa-regulação da FAK e ERK (Yu e Yu, 2014). A terapêutica de ALA-PDT reduz efetivamente a atividade de ALDH1, CD4<sup>+</sup>, a

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

capacidade de auto-renovação, de invasão e aumento da sensibilidade química de CSCs derivadas de CCP. Além disso, o ALA-PDT reduz a expressão de marcadores Oct4 e Nanog na formação da esfera de CSCs derivadas de CCP (Yu e Yu, 2014).

Um tratamento prévio à aplicação tópica de ALA-PDT de SCC4 com CAL tópico pode melhorar a produção intracelular de PpIX (Yang *et al.*, 2014). Tem sido demonstrado que tanto a vitamina D ou o CAL conseguem aumentar os níveis de PpIX em queratinócitos ou células cancerígenas. O CAL pode sobre-regular a proteína CPOX (enzima *upstream* na síntese da PpIX) e consequentemente modular a produção de PpIX em SCC4. Este aumento leva a uma taxa de mortalidade elevada destas células tratadas com CAL-ALA-PDT melhorando a eficácia da mesma (Yang *et al.*, 2014).

O efeito citotóxico da cisplatina e 5-FU foi significativamente aumentado com o tratamento combinado de ALA-PDT sobre as CSCs em CCP. A administração simultânea do tratamento ALA-PDT e cisplatina anula a invasão e clonogenicidade e aumenta a eficácia destes tratamentos em CSCs derivadas de CCP (Yu e Yu, 2014). O MTX pode induzir a diferenciação celular e aumentar os níveis de PpIX em células tumorais. Este pode ser útil no aumento da eficácia da ALA-PDT (Yang *et al.*, 2014). A PDT combinada com agentes que marcam vias de transdução de sinal, tal como, o cetuximab pode melhorar a eficácia da PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

Os efeitos anti-vasculares da PDT podem ser potenciados pelos inibidores da ciclo-oxigenase, medicamentos anti-angiogénicos ou anti-vasculares, ou anticorpos monoclonais dirigidos aos fatores que promovem a neovascularização (VEGF), melhorando significativamente o controlo do crescimento do tumor após a PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

Atingir enzimas que participam na eliminação de ROS (por exemplo, a SOD, HO-1, ou o óxido nítrico sintase) com inibidores seletivos revela melhorar a atividade anti-tumoral da PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

Os fatores moduladores da apoptose como a rapamicina, antagonistas Bcl-2, o ácido ursodeoxicólico ou análogos de ceramida têm demonstrado aumentar a morte de células cancerígenas mediadas pela PDT (Agostinis *et al.*, 2011).

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

Combinar dois PSs diferentes num único regime de tratamento conduz ao alvejamento simultâneo do tumor bem como das células vasculares (Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT com Redaporfin<sup>®</sup> é uma eficaz imunoterapia fotodinâmica. O protocolo otimizado para o Redaporfin<sup>®</sup> desencadeia uma resposta imunitária contra as células do carcinoma do colon (CT26, as células mais resistentes *in vitro*) (Rocha *et al.*, 2015).

### **V. Conclusões**

O CCO e oro-faríngeo, em Portugal, tem vindo a aumentar de acordo com um estudo realizado por Monteiro *et al.* (2012) durante o período de 1998 a 2007, sendo mais evidente nas mulheres para o CCO e nos homens para o cancro oro-faríngeo. As possíveis causas para este agravamento atribuem-se a diferentes práticas no consumo de álcool e de tabaco entre homens e mulheres nas últimas décadas (Monteiro *et al.*, 2012). Os cancros do lábio, da CO e o orofaríngeo são mais comuns em adultos com idade superior a 45 anos, mas os resultados de várias investigações efetuadas em todo o mundo sugerem que a incidência de CCO está também a crescer nos jovens (Monteiro *et al.*, 2012). Entre as causas prováveis podem estar implicados outros fatores de risco para o desenvolvimento do CCO que vão para além do álcool e do tabaco, nomeadamente o HPV (Lohaus *et al.*, 2014; Llewellyn *et al.* 2001 *cit in.* Monteiro *et al.*, 2012). Este vírus tem sido relacionado com a apresentação de CCO nos jovens (Shiboski *et al.*, 2005 *cit in.* Monteiro *et al.*, 2012), estando associado a práticas sexuais com múltiplos parceiros e sexo oral (Santos e Teixeira, 2011).

O cancro da cavidade oral ainda é diagnosticado tardiamente no nosso país (Santos e Teixeira, 2011). A prevenção e deteção precoce das patologias orais locais são importantes no processo de tratamento dos doentes oncológicos (Rahnama *et al.*, 2015). Neste sentido, os médicos dentistas na sua prática clínica devem permanecer vigilantes para detetar sinais de LPM e malignas da cavidade oral, no decorrer de exames orais de rotina. Devem ainda sensibilizar os seus pacientes para a problemática do cancro oral e dos seus fatores de risco. A biópsia cirúrgica é considerada o método de diagnóstico

## A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral

*standard*. Os avanços nas tecnologias de diagnóstico oral com base na saliva e a biópsia ótica são prometedores para o futuro desenvolvimento de métodos não-invasivos, mais eficazes para diagnosticar o CECO (Omar, 2015).

Os CCO são normalmente tratados com excisão cirúrgica, RT e QT, isolados ou em combinação (Yang *et al.*, 2014). A recomendação de rotina para o tratamento de CECO localmente avançado é o tratamento cirúrgico do tumor primário e do pescoço seguido de RT pós-operatória (Zhong *et al.*, 2015; Bower e Waxman, 2006) ou QRT dependendo da presença de características de risco intermediário/alto (Zhong *et al.*, 2015). A TPF, um novo regime de QT está a ser utilizada nos estádios III e IV de CECO com efeitos secundários mínimos e uma rápida eliminação dos sintomas locais, bem como dos distúrbios alimentares (Sadighi *et al.*, 2014).

A PDT é uma estratégia anti-tumoral recente e prometedora que muito interesse tem suscitado em diversos especialistas da área da física, química, medicina e biologia (Agostinis *et al.*, 2011). Esta terapêutica foi a primeira associação fármaco/dispositivo a ser aprovado pela FDA há praticamente duas décadas, contudo a sua utilização clínica ainda é escassa (Agostinis *et al.*, 2011). A PDT é igualmente uma modalidade de tratamento vantajosa no tratamento de LPM. Contudo, existem fatores que influenciam negativamente o sucesso desta terapêutica, tais como o tamanho da lesão, o local desta, o grau de displasia, a consistência da lesão e os hábitos tabágicos e etílicos (Vohra *et al.*, 2015). As vantagens da PDT comparadas com as terapêuticas convencionais, como a CR, a QT ou a RT, são de reduzida morbilidade a longo prazo e o fato da PDT não comprometer futuras opções de tratamento para doentes com doença residual ou recorrente. Esta apresenta um mecanismo de citotoxicidade exclusivo e seu o processo pode ser repetido sem prejudicar a eficácia do mesmo. Além disso, muitos tratamentos anti-tumorais convencionais acarretam um risco de indução de imunossupressão (Agostinis *et al.*, 2011).

A PDT tem potencial para crescer e se tornar num procedimento terapêutico com excelente atividade local anti-tumoral, impulsionando a resposta imunitária para uma destruição eficaz das metástases (Agostinis *et al.*, 2011). Na opinião de alguns autores, esta terapêutica encontra ainda resistência para a sua divulgação e aplicação. Para esta situação são apontados dois possíveis motivos que estão relacionados com a indústria farmacêutica, por um lado, devido a questões económicas, e, por outro,

## **A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavidade Oral**

desconhecimento da classe médica face aos fundamentos desta terapêutica e da sua eficácia (Oliveira *et al.*, 2015; Torezan *et al.*, 2009).

A PDT com os PSs atuais concentra-se nos efeitos locais e estes são limitados por uma leve penetração nos tecidos (Rocha *et al.*, 2015).

Recentemente foi desenvolvida e patenteada uma bacterioclorina (Redaporfin<sup>®</sup>), embora se encontre ainda em ensaio clínico de fase I/II. Esta apresenta-se como um composto foto-estável com intensa absorção da luz próximo do infravermelho o que se traduz num aumento da profundidade do tratamento e em respostas imunitárias sistémicas marcadas (Rocha *et al.*, 2015). Está estabelecido que a indução de imunidade anti-tumoral após a PDT depende da indução de inflamação (Agostinis *et al.*, 2011). O balanço entre o conflito de respostas inflamatórias em tumores é suscetível de ser um instrumento no prognóstico e, bem possível, nas terapias designadas para redirecionar as células do SI em direção à destruição tumoral (Hanahan e Weinberg, 2011).

Apesar de tudo o que foi referido, sobretudo na química dos PSs, ainda há muito a ser estudado de forma a alcançarem-se as características de um PS ideal, com efeitos secundários mínimos para o doente e soluções que possibilitem *igualmente* a entrega destes ao local alvo (Oliveira *et al.*, 2015).

## **VI. Referências Bibliográficas**

1. Agostinis, P. *et al.* (2011). Photodynamic Therapy of Cancer: An Update, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, Volume 61 (Nº4/Julho/Agosto), pp. 250-281.
2. Alves, J. (2014). Porfirinas e Terapia Fotodinâmica em Neoplasias. Porto, Universidade Fernando Pessoa.
3. Bossola, M. (2014). Nutritional Interventions in Head and Neck Cancer Patients Undergoing Chemoradiotherapy: A Narrative Review. *Nutrients*, Volume 7, pp. 265-276.
4. Bower, M. e Waxman, J. (2008). *Compêndio de Oncologia*. Lisboa, Editora Medicina e Saúde.
5. Cândido, M. (2014). Fotossensibilizadores para Terapia e Image mem Oncologia. Coimbra, Universidade de Coimbra.
6. Chen, WH. *et al.* (2015). Nanoparticle delivery of HIF $\alpha$  siRNA combined with photodynamic therapy as a potencial treatment strategy for head-and-neck cancer, *Cancer Letters*, Volume 359, pp. 65-74.
7. Chhatui, B. *et al.* (2015). Immunomodulated anterior chemotherapy followed by concurrent chemoradiotherapy in locally advanced tongue cancer: An Institutional experience, *Indian Journal Medical and Paediatric Oncology*, Vol. 36, pp. 43-48.
8. Clark, C. *et al.* (2014). Basal Cell Carcinoma: An Evidence-Based Treatment Update. Disponível em 10.1007/s40257-014-0070-z.
9. Dunn JM., *et al.* (2013). A randomized controlled trial of ALA vs. Photofrin photodynamic therapy for high-grade dysplasia arising in Barrett's oesophagus, *Lasers in Medical Science*, Volume 28 (Nº 3), pp. 707-715.
10. Filho, F. (2009). Análise do polimorfismo genético do codão 72 do gene TP53 em pacientes com carcinoma escamoso da base da língua. Goiânia, Universidade Católica de Goiás, pp. 10-16.
11. Gussgard, A. *et al.* (2015). Symptoms Reported by Head and Neck Cancer Patients during Radiotherapy and Association with Mucosal Ulceration Site and Size: An Observational Study. *PLoS ONE*, Volume 10 (Número 6), pp. 1-13.

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Caverna Oral**

12. Guyon, L. *et al.* (2014). Photodynamic therapy of ovarian cancer peritoneal metastasis with hexaminolevulinate: A toxicity study, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 11, pp. 265-274.
13. Hanahan, D. e Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation, *Cell*, Volume 144, pp. 646-674.
14. Hou, J. *et al.* (2015). P53 codon 72 polymorphism, human papillomavirus infection, and their interaction to oral carcinoma susceptibility, *BMC Genetics*, Volume 16 (Nº 72), pp. 1-9.
15. Kim, J. *et al.* (2012). Down-regulation of heat-shock protein 27-induced resistance to photodynamic therapy in oral cancer cells, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, pp. 1-8.
16. Krishna, A. *et al.* (2014). Demographic Risk Factors, Affected Anatomical Sites and Clinicopathological Profile for Oral Squamous Cell Carcinoma in a North Indian Population, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Volume 15, pp. 6755-6760.
17. Kurokawa, M. *et al.* (2015). Initial experience of radiotherapy plus cetuximab for Japanese head and neck cancer patients, *Journal of Radiation Research*, pp. 1-7.
18. Loeffelbein, DJ. *et al.* (2015). Loco-regional recurrence after surgical treatment of oral squamous cell carcinoma: Proposals for follow-up imaging based on literature, national guidelines and institutional experience. Disponível em [10.1016/j.jcms.2015.06.020](https://doi.org/10.1016/j.jcms.2015.06.020) (Consultado em 23/07/2015).
19. Lohaus, F. *et al.* (2014). HPV16 DNA status is a strong prognosticator of loco-regional control after postoperative radiochemotherapy of locally advanced oropharyngeal carcinoma: Results from a multicentre explorative study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG), *Radiotherapy and Oncology*, Volume 113, pp. 317-323.
20. Macey, R. *et al.* (2015). Diagnostic tests for oral cancer and potentially malignant disorders in patients presenting with clinically evident lesions. Disponível em [10.1002/14651858.CD010276.pub2](https://doi.org/10.1002/14651858.CD010276.pub2).
21. Matei, C. *et al.* (2014). Protein microarray for complex apoptosis monitoring of dysplastic oral keratinocytes in experimental photodynamic therapy, *Biological Research*, Volume 47 (Nº 33), pp. (1-9).

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral**

22. Monteiro, L. *et al.* (2012). Incidence rates and trends of lip, oral and oropharyngeal cancers in Portugal, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, pp. 1-7.
23. Oliveira, K. *et al.* (2015). Conceitos Fundamentais e Aplicações de Fotossensibilizadores do Tipo Porfirinas, Clorinas e Ftalocianinas em Terapias Fotônicas, *Revista Virtual de Química*, Volume 7 (Nº1/Janeiro/Fevereiro), pp. 310-335.
24. Omar, E. (2015). Current concepts and future of noninvasive procedures for diagnosing oral squamous cell carcinoma - a systematic review, *Head & Face Medicine*, Volume 11 (Nº6), pp. 1-27.
25. Paiva, R. *et al.* (2011). Oral cancer staging established by magnetic resonance imaging, *Brazilian Oral Research*, Volume 25 (Nº 6), pp. 512-518.
26. **Prontuário Terapêutico - 11 (2012). INFARMED.**
27. Rahnama, M. *et al.* (2015). Analysis of the influence of parenteral cancer chemotherapy on the health condition of oral mucosa, *Contemporary Oncology*, Volume 19 (Nº 1), pp. 77-82.
28. Raspall, G. (1997). *Patología Quirúrgica de La Cara, Boca, Cabeza e Cuello*. Madrid, Editora Panamericana.
29. Rathod, S. *et al.* (2015). A systematic review of quality of life in head and neck cancer treated with surgery with or without adjuvant treatment. Disponível em 10.1016/j.oraloncology.2015.07.002 (Consultado em 27/07/2015).
30. Rocha, L. *et al.* (2015). Elimination of primary tumours and control of metastasis with rationally designed bacteriochlorin photodynamic therapy regimens, *European Journal of Cancer*, Volume 51, pp. 1822-1830.
31. Sadighi, S. *et al.* (2014). Neoadjuvant Chemotherapy for Locally Advanced Squamous Carcinoma of Oral Cavity: a Pilot Study, *Acta Medical Iran*, Volume 53 (Nº 6), pp. 380-386.
32. Santos, L. e Teixeira, L. (2011). *Oncologia Oral*. Lisboa, Editora Lidel.
33. Selvam, NP. *et al.* (2015). Treatment of oral leukoplakia with photodynamic therapy: A pilot study, *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, Vol. 11, pp. 464-467.
34. Sun, J. *et al.* (2015). Computed tomography versus magnetic resonance imaging for diagnosing cervical lymph node metastasis of head and neck cancer: a

**A Terapêutica Fotodinâmica no Tratamentos das Lesões Potencialmente Malignas e Cancro da Cavernidade Oral**

- systematic review and meta-analysis, *Onco Targets and Therapy*, Volume 8, pp. 1291-1313.
35. Torezan, L. *et al.* (2009). Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, Volume 84 (Nº5), pp. 445-459.
  36. Vohra, F. *et al.* (2015). Efficacy of photodynamic therapy in the management of oral premalignant lesions. A systematic review, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 12, pp. 150-159.
  37. Wopken, K. *et al.* (2014). Development of a multivariable normal tissue complication probability (NTCP) model for tube feeding dependence after curative radiotherapy/chemo-radiotherapy in head and neck cancer, *Radiotherapy and Oncology*, Volume 113, pp. 95-101.
  38. Yamamoto, M. *et al.* (2013). Improvement of the Efficacy of 5-aminolevulinic Acid-mediated Photodynamic Treatment in Human Oral Squamous Cell Carcinoma HSC-4, *Acta Medica Okayama*, Volume 67 (Nº 3), pp. 153-164.
  39. Yang, DF. *et al.* (2014). Improve efficacy of topical ALA-PDT by calcipotriol through up-regulation of coproporphyrinogen oxidase, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 11, pp. 331-341.
  40. Yu, CH. e Yu, CC. (2014). Photodynamic Therapy with 5-Aminolevulinic acid (ALA) Impairs Tumor Initiating and Chemo-Resistance Property in Head and Neck Cancer-Derived Cancer Stem Cells, *PLoS ONE*, Volume 9 (Nº 1), pp. 1-6.
  41. Zhong, LP. *et al.* (2015). Long-term results of a randomized phase III trial of TPF induction chemotherapy followed by surgery and radiation in locally advanced oral squamous cell carcinoma, *Oncotarget*, Volume 6 (Nº 19), pp. 17964-17970.