

Seminário
PET - Física UNICENTRO

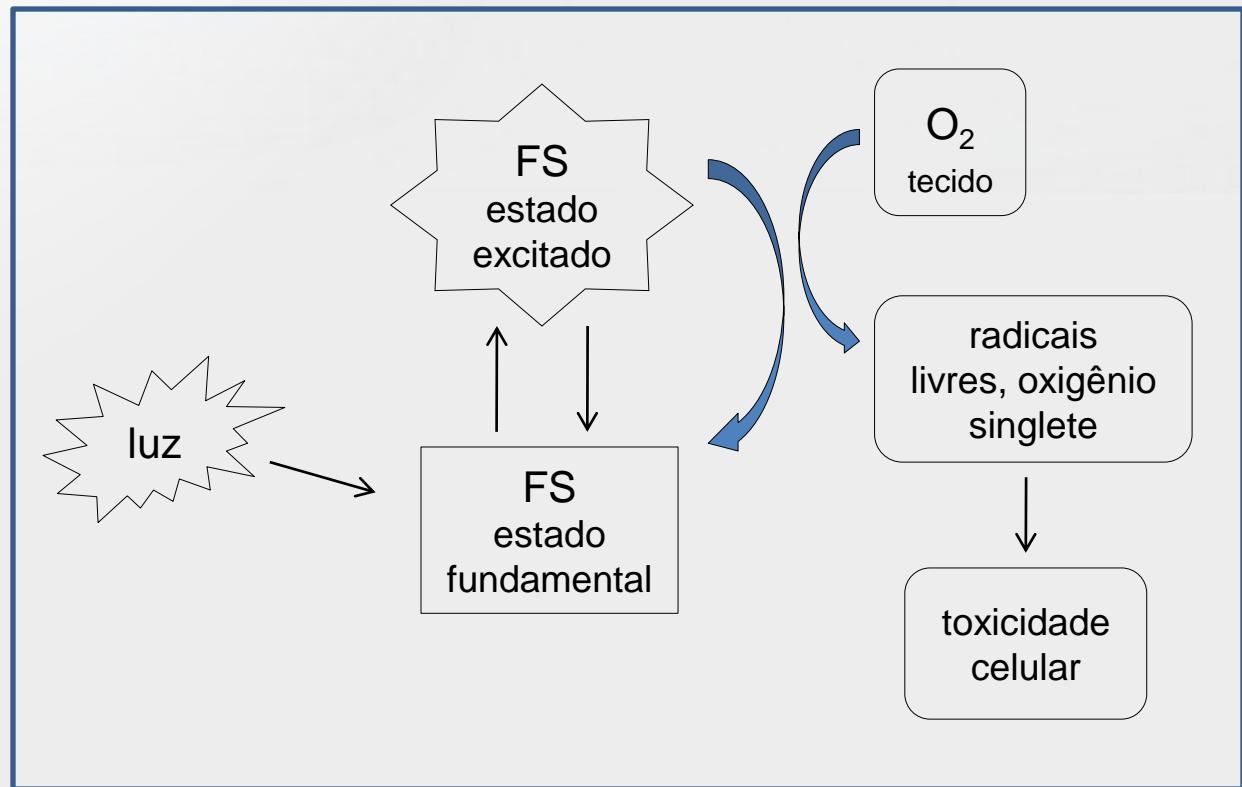
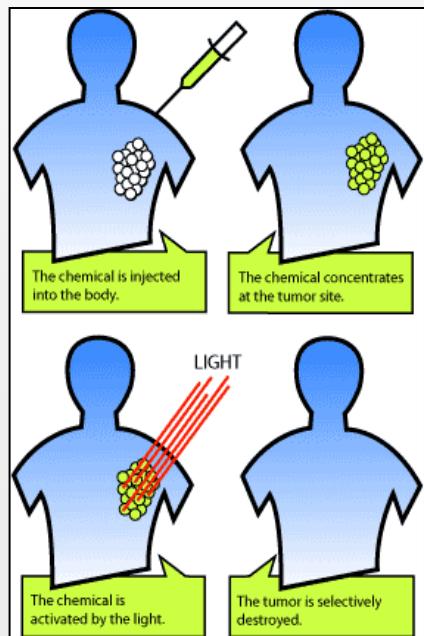
CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E
BIOLÓGICA DE NOVOS
FOTOSSENSIBILIZADORES PARA
UTILIZAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA

Tania Toyomi Tominaga
Departamento de Física
UNICENTRO, Guarapuava, PR

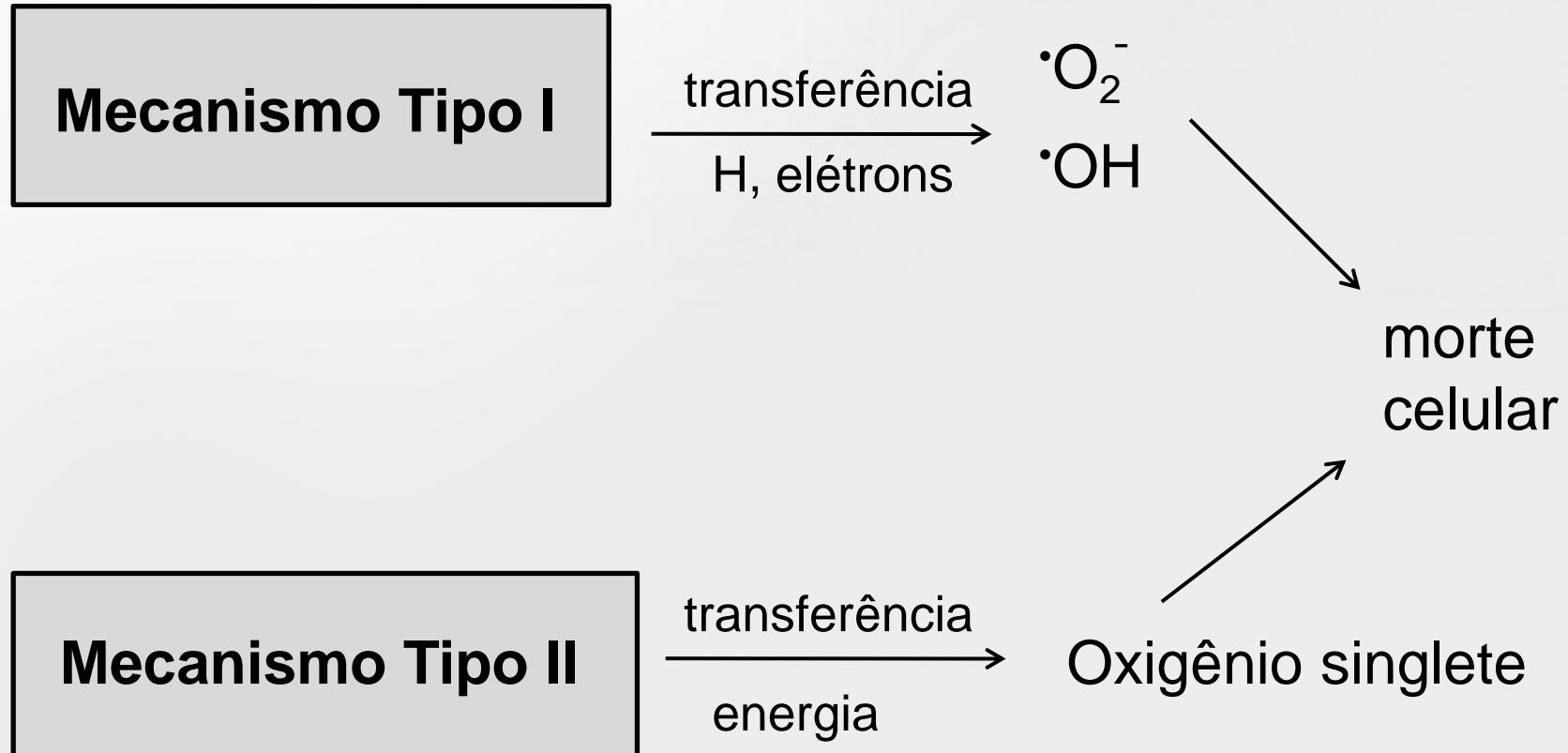
Guarapuava, 18 agosto de 2011

Terapia Fotodinâmica (TFD)

Interação simultânea: fotossensibilizador (FS), luz e O_2



Terapia Fotodinâmica (TFD)



Terapia Fotodinâmica (TFD)

Pacientes tratados com TFD



antes da TFD



2 semanas após tratamento



1 ano após TFD

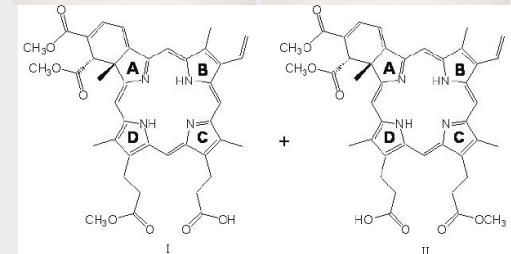
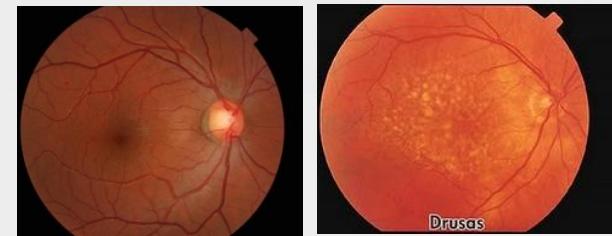
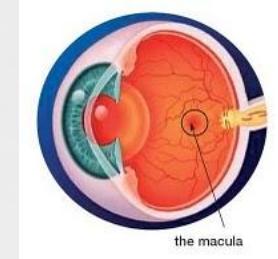
TERAPIA FOTODINÂMICA NA OFTALMOLOGIA

A degeneração macular (DMR)

A mácula é a região central da retina. Ocorre acúmulo de substâncias nas células da mácula que levam a uma desestruturação dessa região com consequente perda da visão. Avisão central é comprometida

Tratamento convencional - destrói também a retina adjacente às lesões.

Visudyne - verterporfirina tem o poder de se ligar a moléculas de colesterol e se concentra fortemente nas membranas neovasculares sub-retinianas.



TERAPIA FOTODINÂMICA NA DERMATOLOGIA

PARA MANCHAS DE SOL

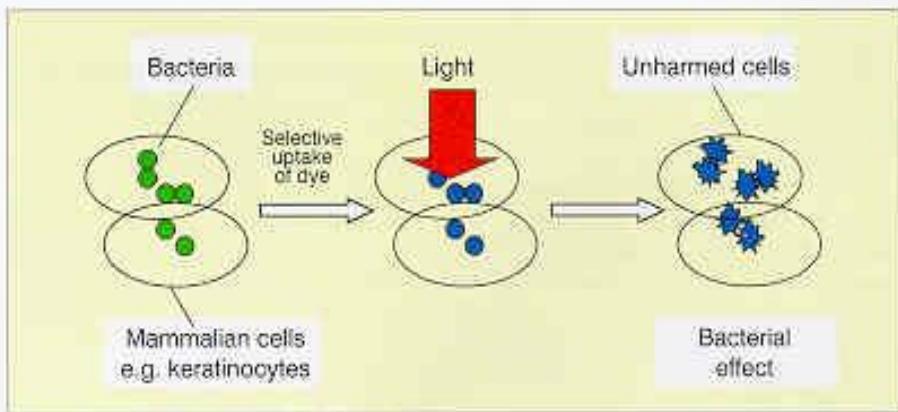
ACNE

RUGAS

VERRUGAS

PSORÍASIS

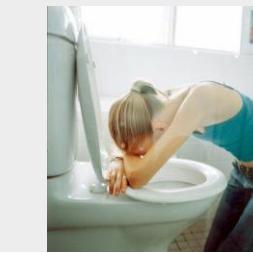
INATIVAÇÃO FOTODINÂMICA DE MICRORGANISMOS



C. albicans



S. aureus

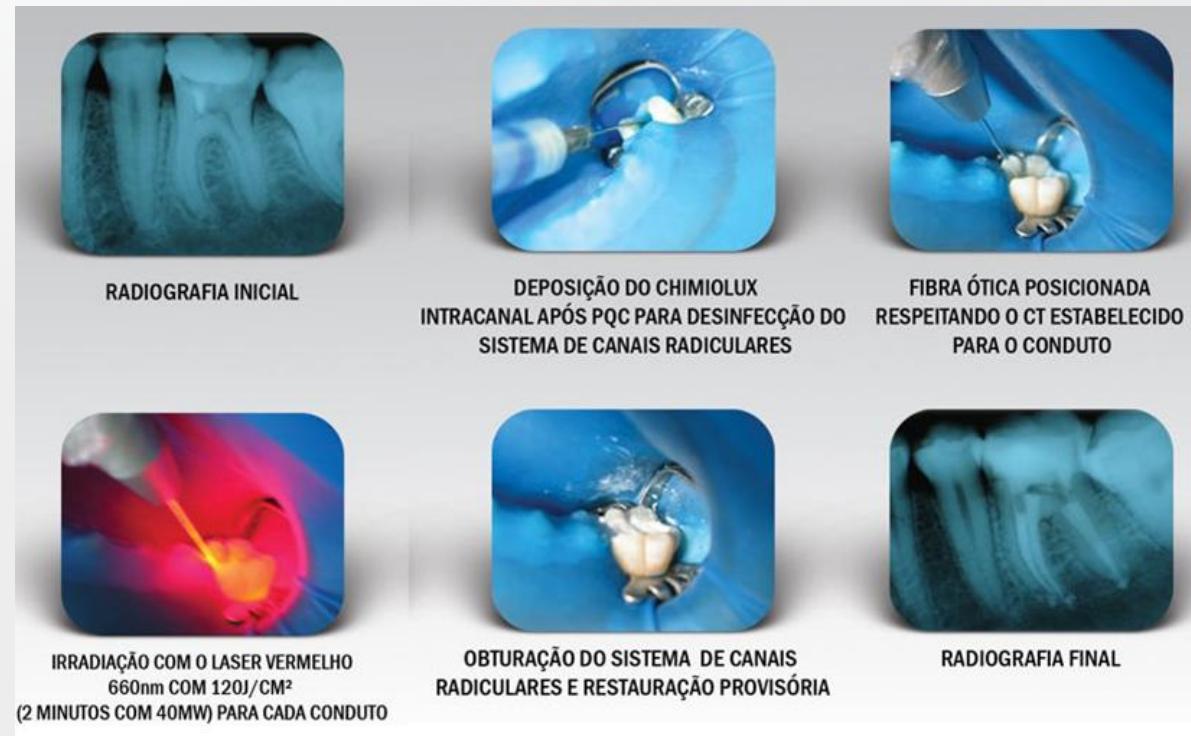


E. coli



TERAPIA FOTODINÂMICA NA ODONTOLOGIA

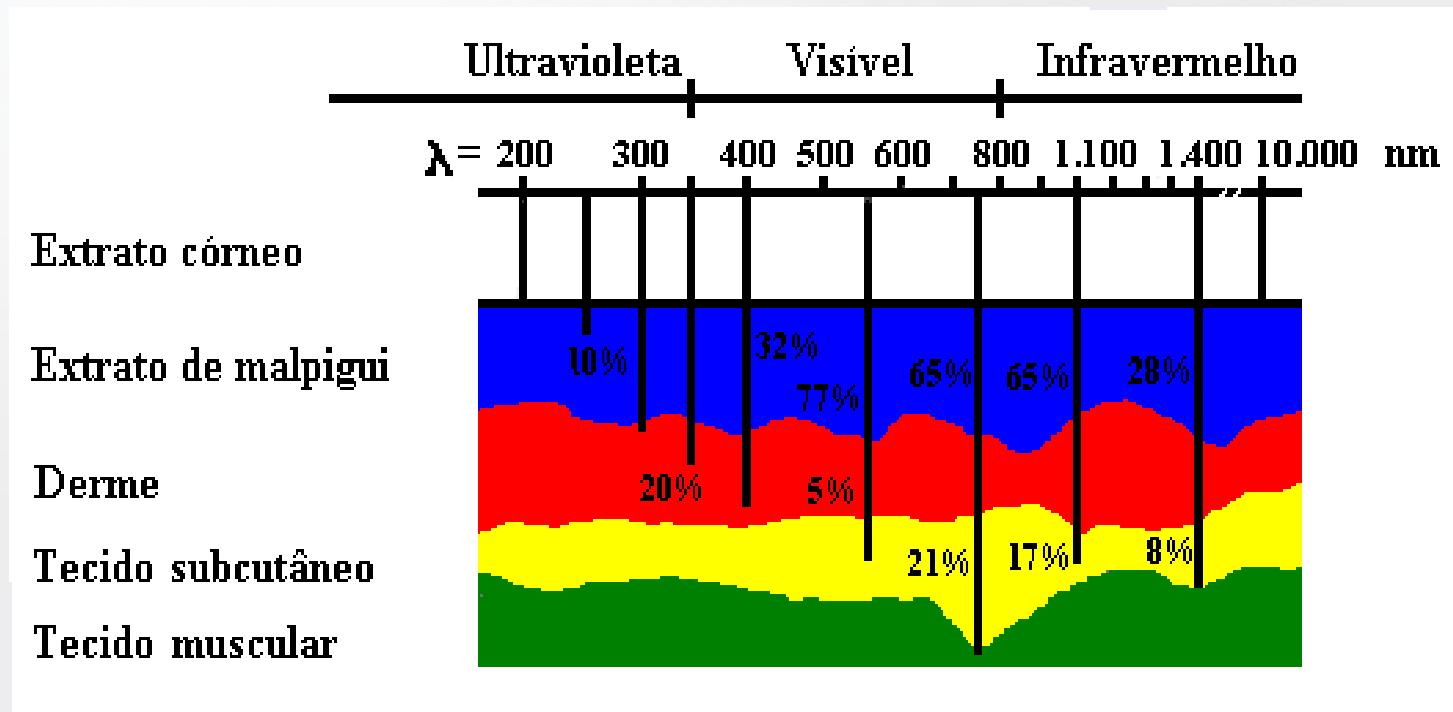
A terapia fotodinâmica antimicrobiana tem sido uma alternativa de na odontologia



PROPRIEDADES DE UM FOTOSSENSIBILIZADOR

- Seletividade e alta afinidade por células malignas
- Substância com estrutura química definida
- Solubilidade e estabilidade em água
- Fotossensibilidade não prolongada
- Baixa toxicidade
- Metabolização rápida
- Elevado coeficiente de absorção em $\lambda > 600$ nm

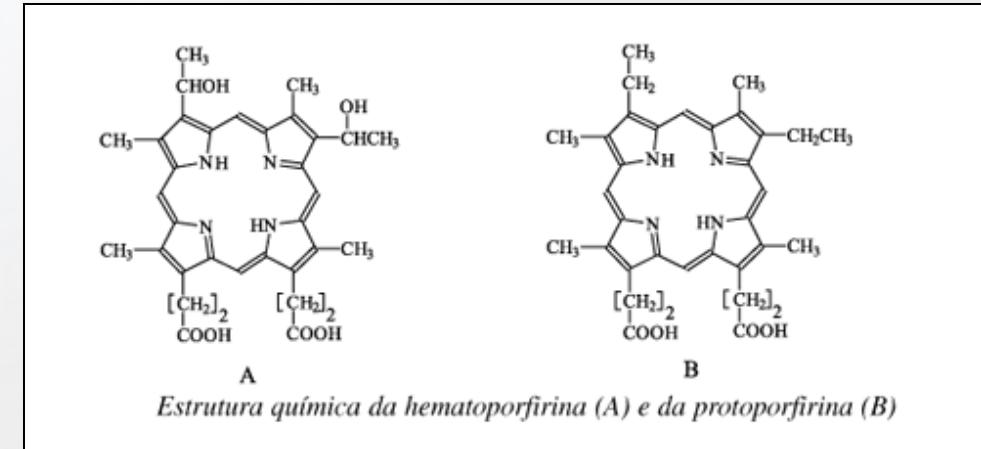
JANELA TERAPÊUTICA (600-800 nm)



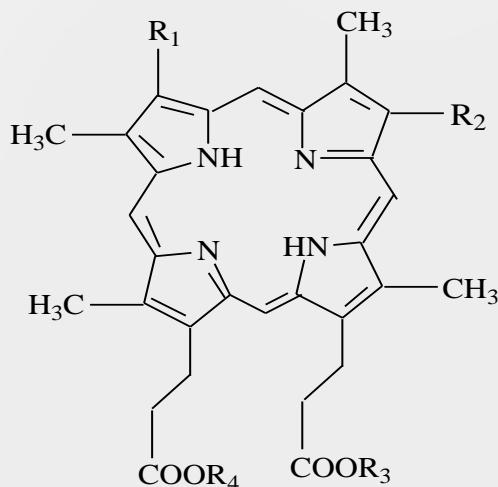
Representação esquemática de um corte de tecido humano e o percentual de penetração da luz

FOTOSSENSIBILIZADORES DE PRIMEIRA GERAÇÃO

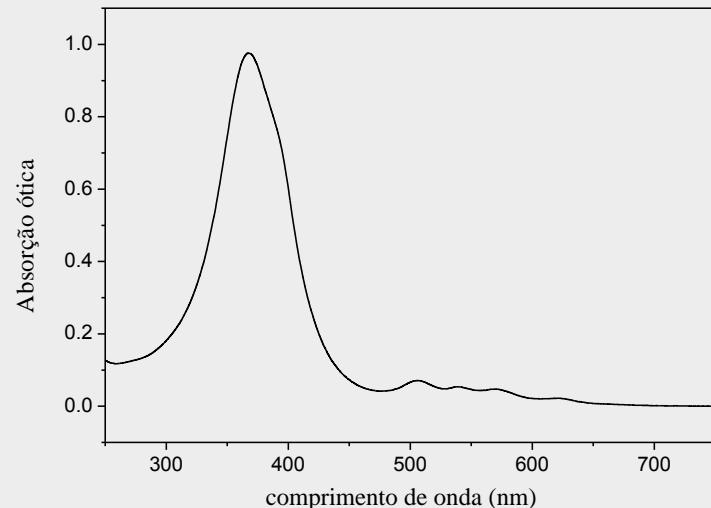
Derivados de hematoporfirina



Photofrin®, Photosan® e Photogem



Estrutura monomérica do Photogem

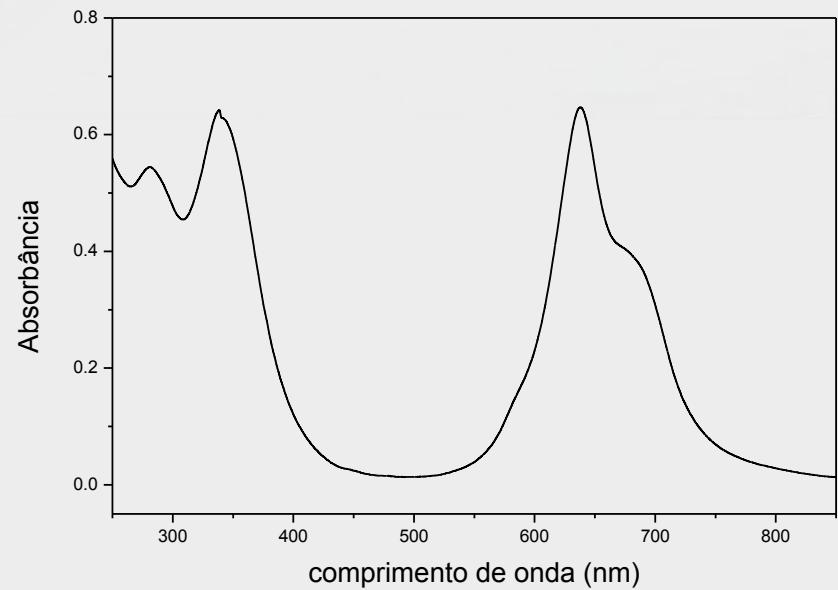
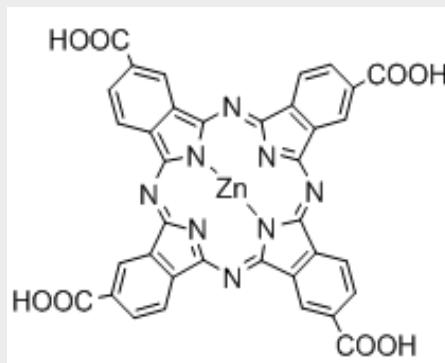
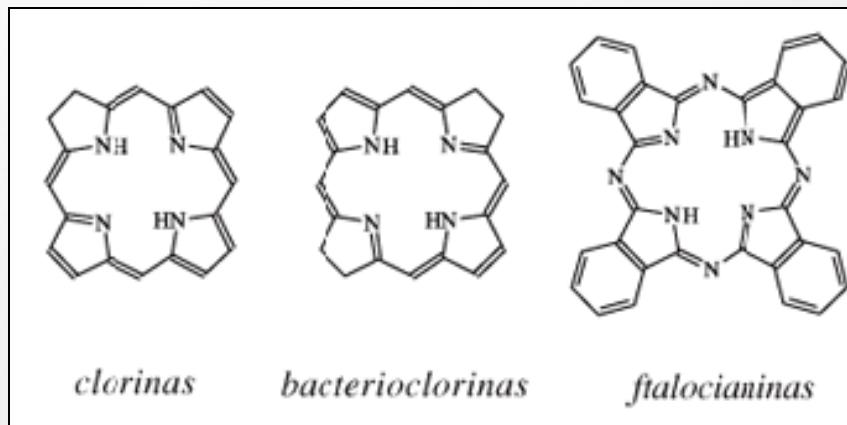


Espectro de absorção ótica PG 15 µg mL⁻¹, em PBS, pH = 7,4

FOTOSSENSIBILIZADORES DE SEGUNDA GERAÇÃO

a) clorinas e bacterioclorinas

b) ftalocianinas e naftalocianinas

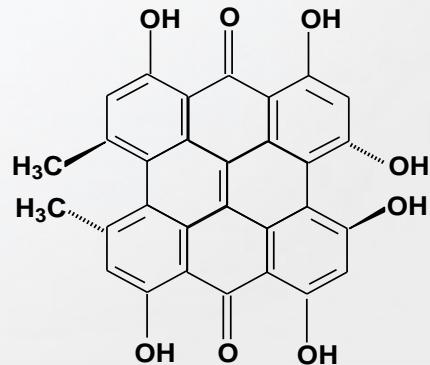


Espectro de absorção ótica Zn-tetra-carboxi-ftalocianina
15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, em PBS, pH = 7,4

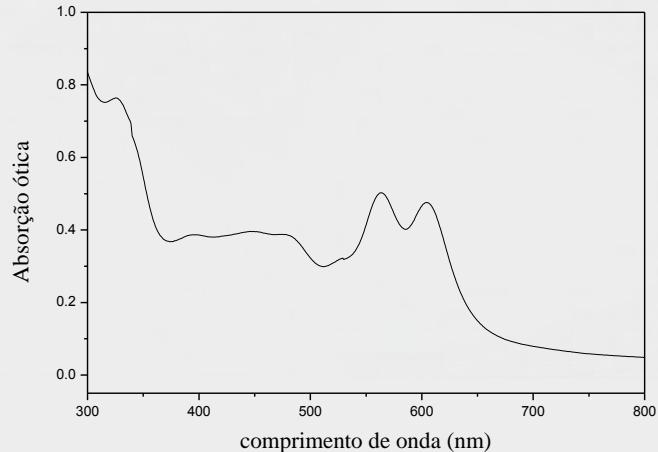
FOTOSSENSIBILIZADORES DE SEGUNDA GERAÇÃO



Hypericum perforatum:
popularmente conhecida como
Erva de São João



Hypericina



Espectro de absorção ótica
Hypericina, 15 µg mL⁻¹, em PBS, pH = 7,4

- Modificações no anel tetrapirrólico
- Composição química definida
- Pouca fotossensibilização cutânea

HIPERICINA

- ◆ potencial como antiviral, antibactericida, antipsoriático e agente antitumoral
- ◆ composto exibe atividade anticancer no escuro, que pode ser aumentada cerca de 100 vezes na presença da luz
- ◆ alguns autores sugerem que HY é provavelmente o mais poderoso fotossensibilizador encontrado na natureza

PAPEL DO FÍSICO NA TERAPIA FOTODINÂMICA

FONTES DE LUZ

- ✓ Laser
- ✓ Led
- ✓ Lâmpadas de Halogênio

SISTEMAS ÓTICOS PARA FOTOSSENSIBILIZAÇÃO



Sistema de LED permite a iluminação de áreas maiores. Este sistema é comercializado pela MM-Optics, São Carlos, SP

DIAGNÓSTICO



Mardoqueu Martins da Costa,
físico e autor da pesquisa

O instrumento é fruto de um
trabalho conjunto da Escola de
Engenharia (EESC) e do Instituto
de Física (IFSC).

Fluorescência e luz para detectar
alterações no epitélio de
pacientes.

TRATAMENTO NA ODONTOLOGIA



A terapia fotodinâmica antimicrobiana tem sido uma alternativa de na odontologia



RADIOGRAFIA INICIAL



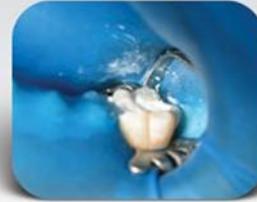
DEPOSIÇÃO DO CHIMIOLUX
INTRACANAL APÓS PQC PARA DESINFECÇÃO DO
SISTEMA DE CANAIS RADICULARES



FIBRA ÓPTICA POSICIONADA
RESPEITANDO O CT ESTABELECIDO
PARA O CONDUTO



IRRADIAÇÃO COM O LASER VERMELHO
660nm COM 120J/CM²
(2 MINUTOS COM 40MW) PARA CADA CONDUTO



OBTURAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS
RADICULARES E RESTAURAÇÃO PROVISÓRIA



RADIOGRAFIA FINAL

PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

As nanopartículas como possíveis carregadores de agentes para o aumento da eficácia da terapia fotodinâmica antimicrobiana, ou no aumento dos sinais ópticos de espectroscopia Raman ou FTIR para diagnóstico diferencial de microorganismos, células ou neoplasias

INTERAÇÃO DOS FOTOSSENSILIZADORES COM PROTEÍNAS

- Fotossensibilizadores são introduzidos por via intravenosa: efeitos colaterais ou causar entupimento das veias.
- Investigações com estruturas presentes no sangue, tais como a albumina e membranas, subsidia a compreensão da interações e ação farmacológica.
- ESTUDO FEITO POR ABSORÇÃO ÓTICA,
FLUORESCÊNCIA E FOTOACÚSTICA

CARACTERIZAÇÃO DOS FS

- AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DOS FS
- DETERMINAÇÃO DE RADICAIS LIVRES - RPE
- TESTES EM CÉLULAS

FOTOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO

Método indireto determinar rendimento quântico de formação de oxigênio singlete

Ácido úrico supressor de oxigênio singlete → dosímetro químico

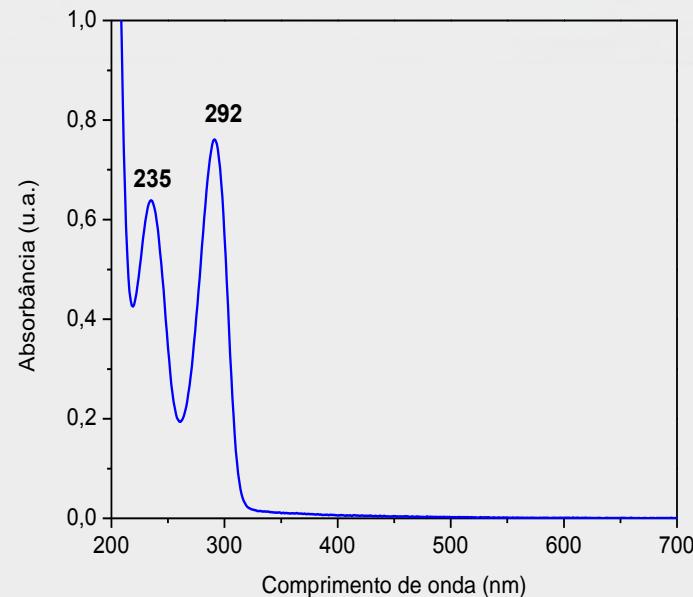
FS 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + Ácido Úrico 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$



Irradiação LED 5min sob agitação

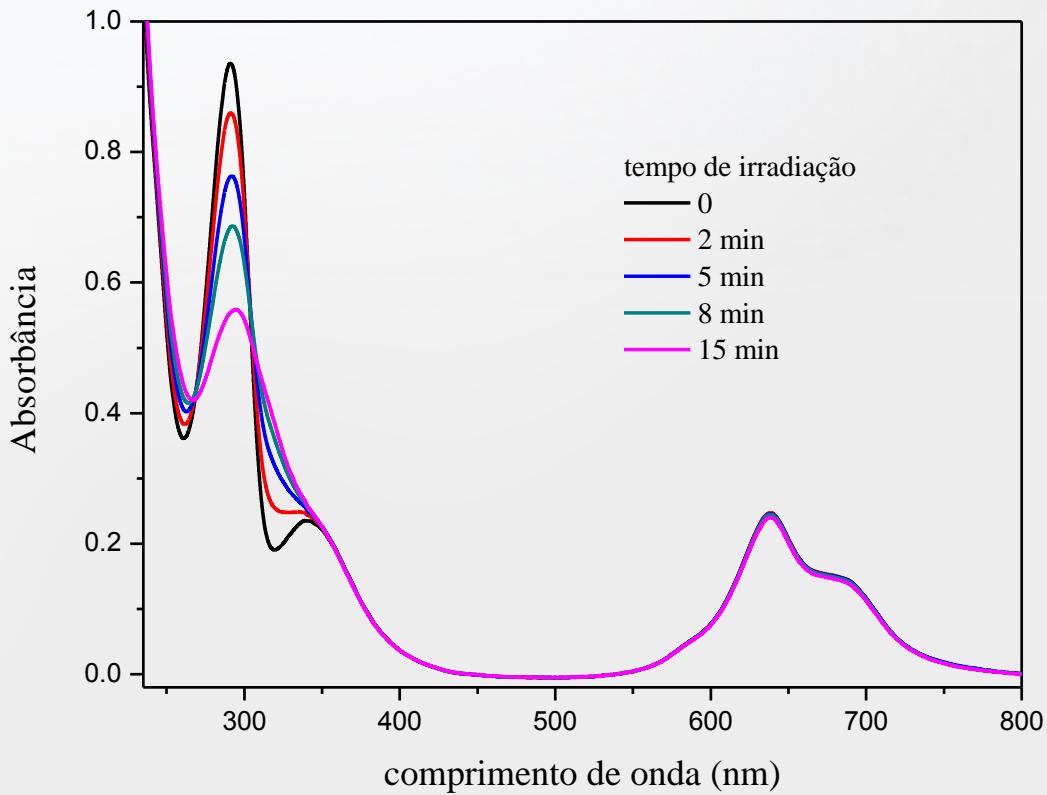


Espectro de absorção
Intensidade da banda 292 nm



Espectro de absorção ótica do ácido úrico em PBS, pH = 7,4

FOTOXIDAÇÃO DO ÁCIDO ÚRICO



$$\Delta F = \frac{\Delta A_{AU} \times 10^5}{E_0 t A_{FS}(\lambda_{irr})}$$

$$E_0 = 180 \text{ J/s}$$

Espectro de absorção ótica do ácido úrico e FS em PBS, em função do tempo pH = 7,4

Atividade Fotodinâmica dos FSs

Fotossensibilizador	Atividade Fotodinâmica ($\text{m}^2 \text{ J}^{-1}$)
HY	26 ± 5
PG	7 ± 1

AF HY > PG

gera mais ${}^1\text{O}_2$

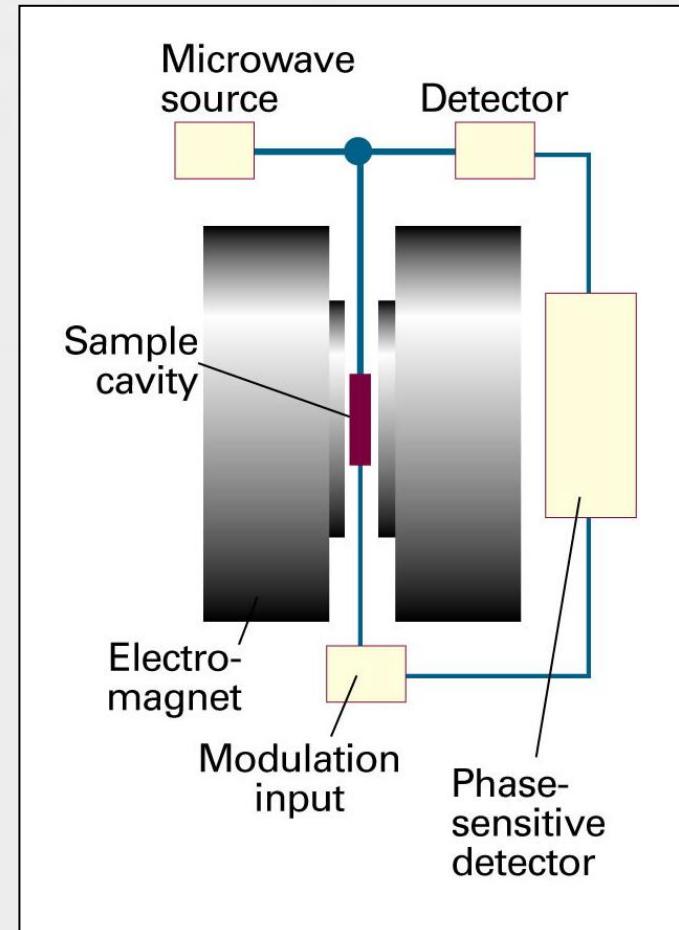
DETECÇÃO DE RADICAIS LIVRES - RPE

Radicais livres – formados nos processos tipo I

O_2^{\cdot} superóxido, HO^{\cdot} hidroxila

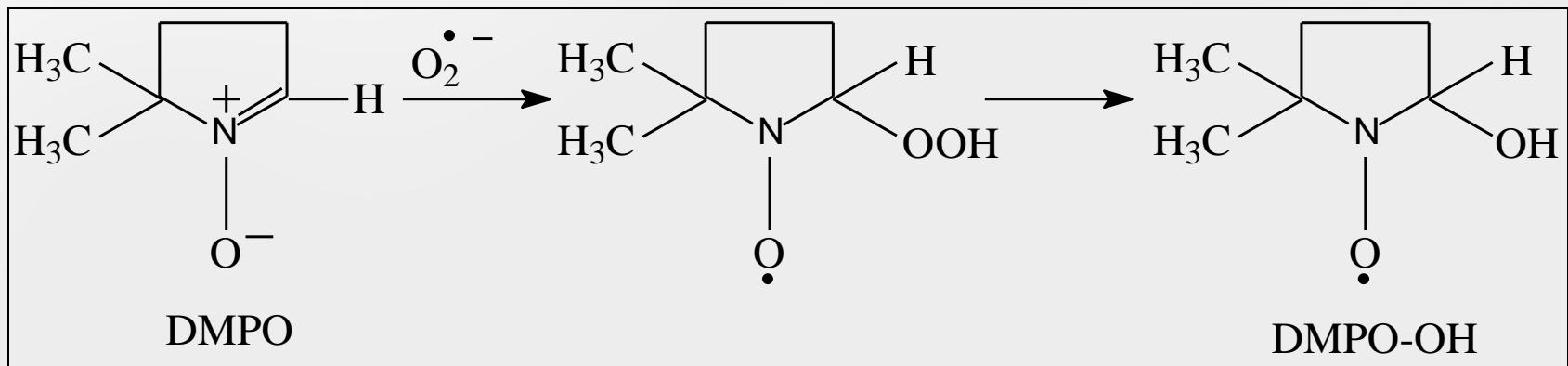
Espectroscopia de Ressonância Magnética (RPE) – Spin trapping

ESPECTRÔMETRO DE RPE



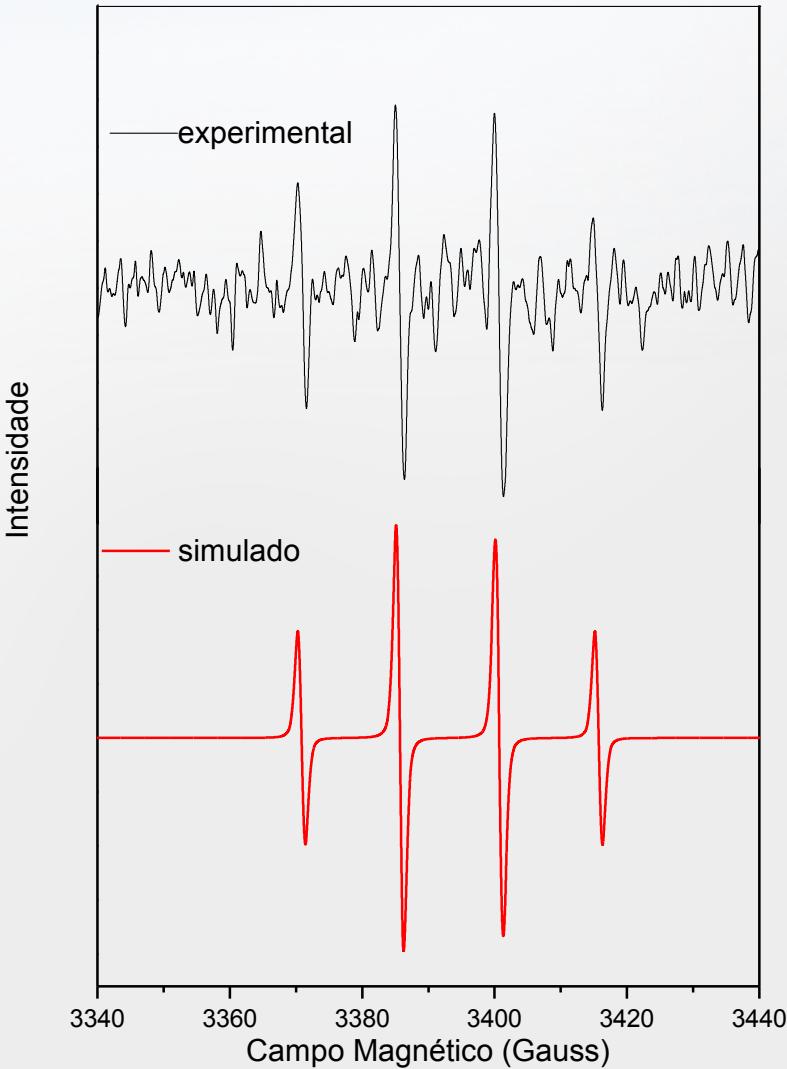
SPIN TRAPPING

- Radicais livres não estáveis reagem com spin trap (compostos diagmagnéticos) para formar radicais livres estáveis



Reação do DMPO com radical $O_2^{\bullet -}$ formando o aduto DMPO-OH.

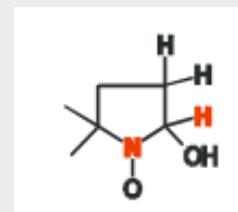
Espectro de RPE do aduto DMPO- OH



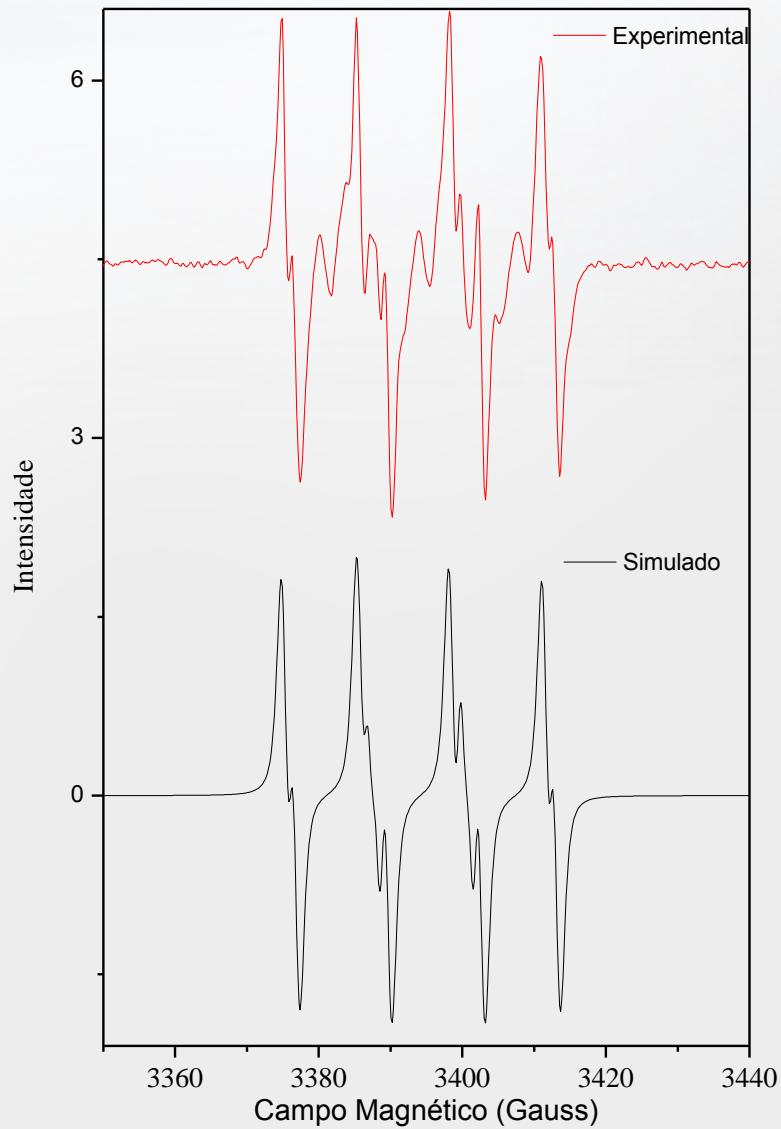
Aduto DMPO-Hidroxila em solução de Hipericina (50 μ L/mL) e DMPO (0.5 M).

Tempo de irradiação 15 min, LED vermelho.

$a_N = 15,08\text{ G}$; $a_H = 14.95$

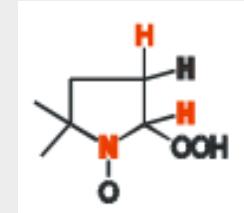


Espectro de RPE do aduto DMPO- OOH



Aduto DMPO-superoxido em solução de Hipericina ($50 \mu\text{L}/\text{mL}$) e DMPO (0.5 M).
Tempo de irradiação 15 min, LED vermelho.

$\alpha_N = 13,02 \text{ G}$; $\alpha_H = 10,51 \text{ G}$; $\alpha_H = 1.41 \text{ G}$



CARACTERIZAÇÃO

BIOLÓGICA

CULTURA CELULAR

Conjunto de técnicas que permitem cultivar ou manter células isoladas fora do organismo original, mantendo suas características próprias

Linhagem de células epiteliais cresce aderida ao substrato
meio de cultura + 10 % SFB + antibióticos
mantida em estufa 37 °C atmosfera de CO₂

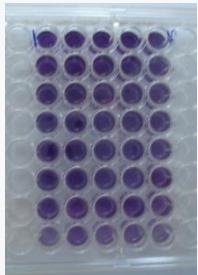


Manipulação em capela de fluxo laminar



Estufa de cultura celular

Experimentos citotóxicos



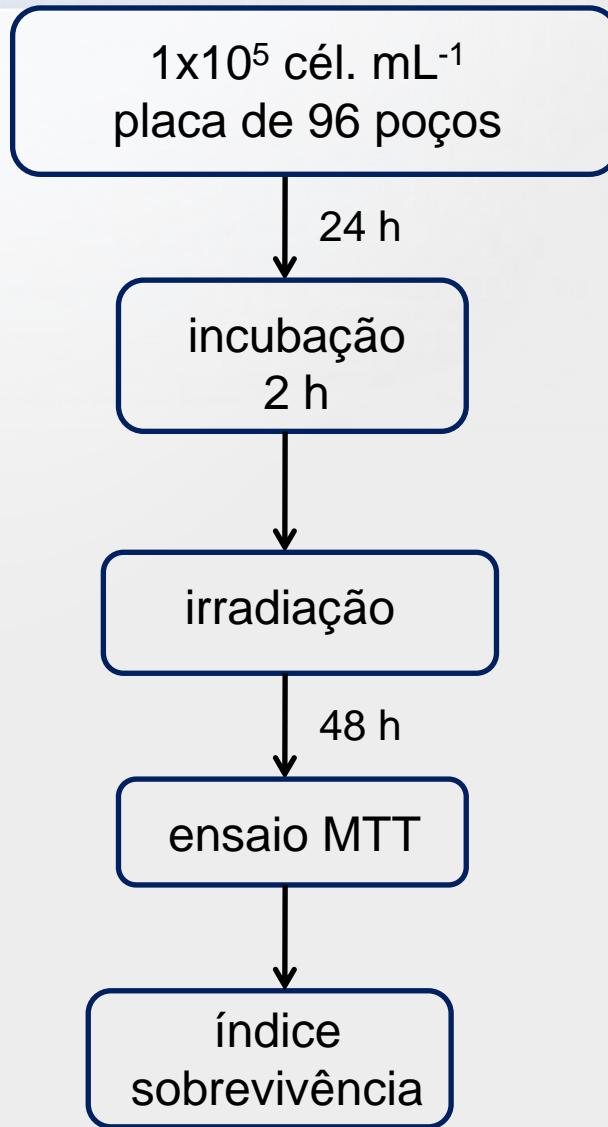
placa 96 poços



biotable 630 nm

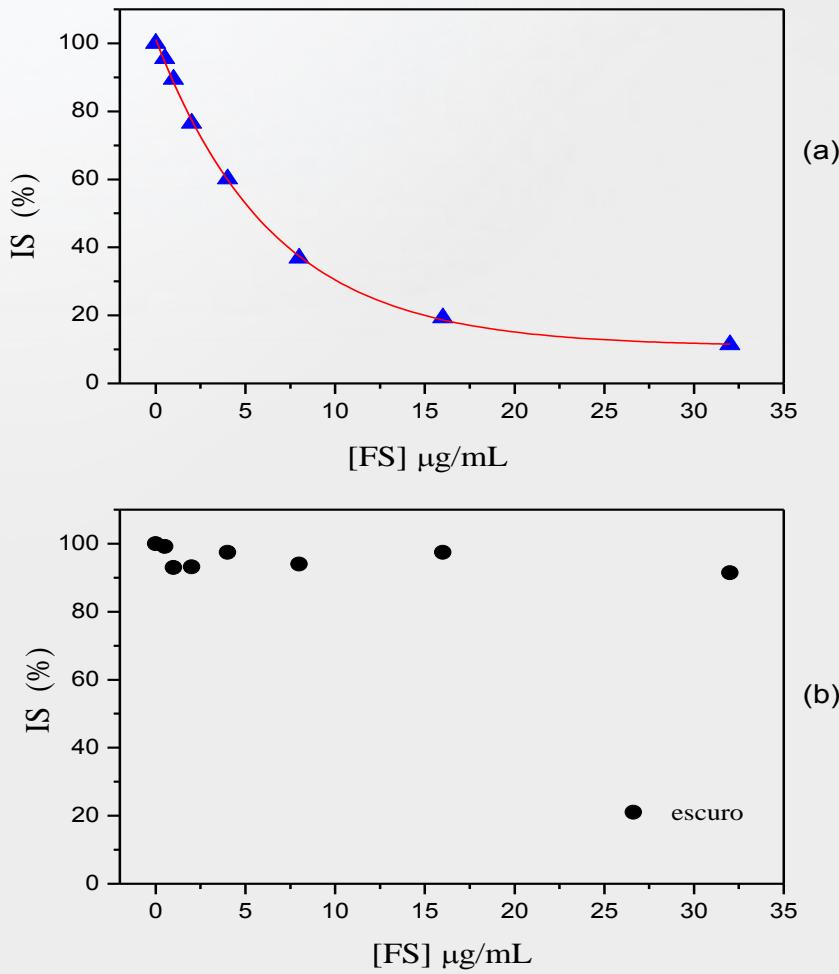


leitor de placas

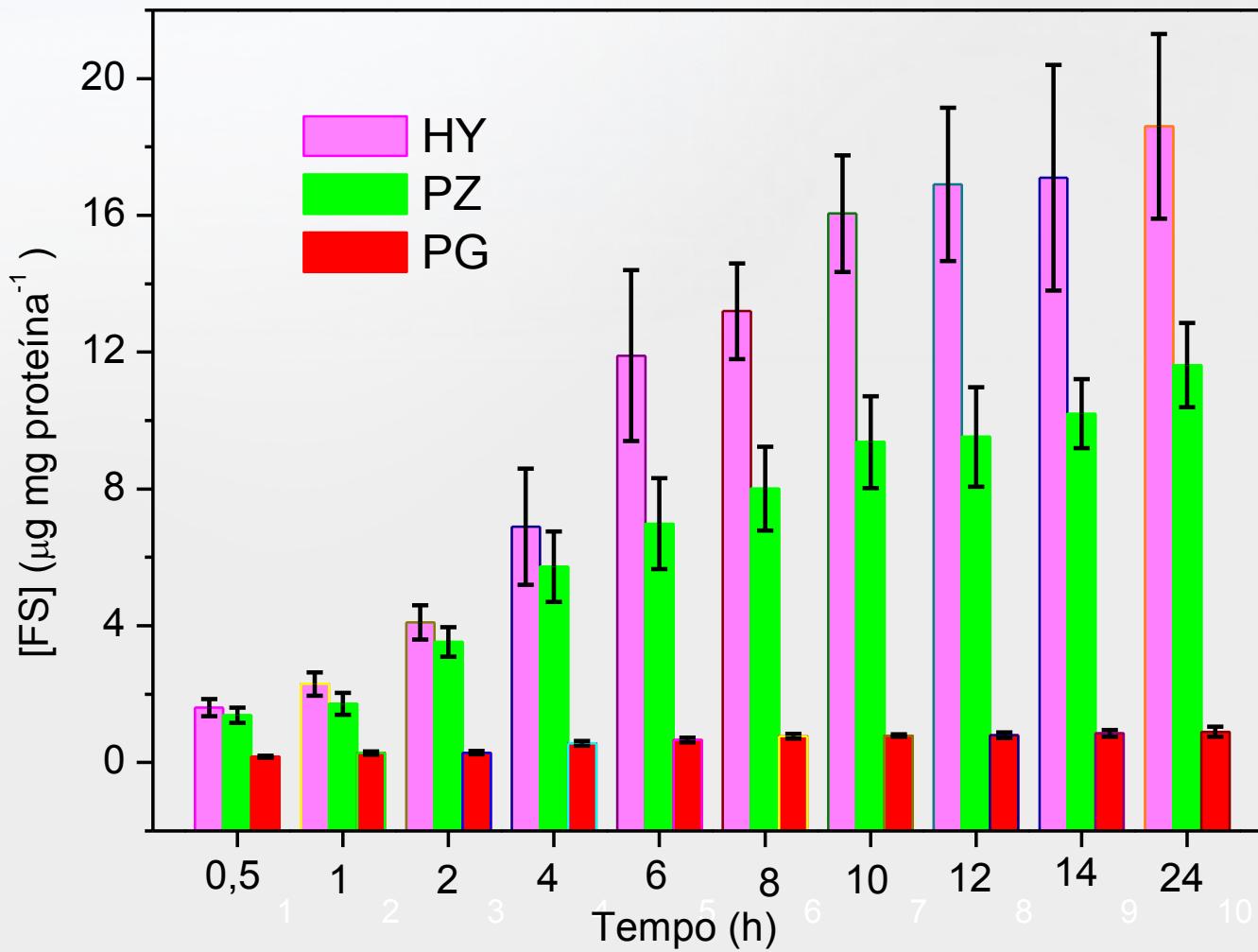


manipulação em capela de fluxo laminar

ENSAIO CITOTÓXICO DOS FS DETERMINAÇÃO VIABILIDADE COM MTT



ACUMULAÇÃO INTRACELULAR DE HY, PZ E PG EM CÉLULAS HEP-2



SISTEMAS ÓTICOS PARA FOTOSSENSIBILIZAÇÃO

LED - conjunto de LEDs - diodos emissores de luz

BIOTABLE



630 nm $I = 18 \text{ mW cm}^{-2}$



590 nm $I = 10 \text{ mW cm}^{-2}$

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Photodiagnosis and Photodynamic Therapy (2005) 2, 107–118



ELSEVIER



www.elsevier.com/locate/pdpdt

REVIEW

PDT experience in Brazil: A regional profile

V.S. Bagnato^{a,b}, C. Kurachi^a, J. Ferreira^a, L.G. Marcassa^a,
C.H. Sibata PhD^{b,*}, R.R. Allison^b

^a Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brazil and Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^b Radiation Oncology, Brody School of Medicine at East Carolina University, 600 Moye Blvd LJCC 172, Greenville, NC 27858, USA

OBRIGADA
PELA
ATENÇÃO !!!