



Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA

Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia & Terapêutica

LETÍCIA COSTA DASSOW

**ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DO AZUL DE  
METILENO: POTENCIAL APLICAÇÃO EM TERAPIA  
FOTODINÂMICA ANTIBACTERIANA**

ANÁPOLIS-GO

2023

LETÍCIA COSTA DASSOW

**Estudo Da Fotodegradação Do Azul De Metileno: Potencial  
Aplicação Em Terapia Fotodinâmica Antibacteriana**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia & Terapêutica da Universidade Evangélica de Goiás, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Alvaro  
Brandão Lopes-Martins  
Coorientador: Prof. Dr. Lucas Danilo Dias

Anápolis-GO

2023

**FOLHA DE APROVAÇÃO**  
**ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO DO AZUL DE METILENO: POTENCIAL**  
**APLICAÇÃO EM TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIBACTERIANA**  
**LETÍCIA COSTA DASSOW**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas /PPGCF da Universidade Evangélica de Goiás/UniEVANGÉLICA como requisito parcial à obtenção do grau de MESTRE.

Linha de Pesquisa: \_\_\_\_\_.

Aprovado em 22 de dezembro de 2023.

**Banca examinadora**

Documento assinado digitalmente

 **RODRIGO ALVARO BRANDAO LOPES MARTINS**  
Data: 02/02/2024 15:43:57-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Rodrigo Álvaro Brandão Lopes Martins  
Presidente da Banca

Prof. Dr. José Luís Rodrigues Martins  
Avaliador Interno

Documento assinado digitalmente  
 **JOSANA DE CASTRO PEIXOTO**  
Data: 22/12/2023 10:27:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Josana de Castro Peixoto  
Avaliador Interno

Documento assinado digitalmente  
 **SILVIA CRISTINA NUNEZ**  
Data: 22/12/2023 10:10:49-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Silvia Cristina Nuñez  
Avaliador Externo

D231

Dassow, Letícia Costa.

Estudo da fotodegradação do azul de metileno: potencial aplicação em terapia fotodinâmica antibacteriana / Letícia Costa Dassow - Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás - UniEvangélica, 2023. 79 p.; il.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Álvaro Brandão Lopes-Martins.

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Danilo Dias

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Farmacologia & Terapêutica –

Universidade Evangélica de Goiás – UniEvangélica, 2023.

1. Terapia fotodinâmica 2. Azul de metileno 3. Espectrofotometria – UV-VIS  
I. Lopes-Martins, Rodrigo Álvaro Brandão II. Dias, Lucas Danilo III. Título

CDU 615

Catlogação na Fonte

Elaborado por Rosilene Monteiro da Silva CRB1/3038

Este trabalho é dedicado especialmente ao café, companheiro inseparável nas longas madrugadas em claro escrevendo esta pesquisa. À minha querida família, que tanto admiro, dedico o resultado do esforço realizado ao longo deste percurso.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, a Deus, que fez com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudos. Por permitir que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante a realização deste trabalho. E por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho.

Ao meu pai e irmã, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste trabalho.

Aos amigos, que sempre estiveram ao meu lado, pela amizade incondicional e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período de tempo em que me dediquei a este trabalho.

Aos professores, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador pelo incentivo e pela dedicação do seu escasso tempo ao meu projeto de pesquisa.

A todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pela Bolsa de Mestrado concedida, que possibilitaram a realização deste projeto de investigação.

“Nada na Biologia faz sentido exceto à luz da evolução.” (Theodosius Dobzhansky)

## RESUMO

O estudo aborda a Terapia Fotodinâmica (TFD) como uma estratégia terapêutica, utilizando um corante sensível à luz (azul de metileno) seguido de irradiação com luz visível em baixas doses e comprimento de onda específico. Ativada na presença de oxigênio celular, a TFD induz reações que levam à formação de radicais livres ou transferência de energia ao oxigênio, resultando na produção de oxigênio singlete. Este processo pode levar à morte celular, tornando a TFD eficaz em várias condições. Apresenta limitações, como tratamento de metástases disseminadas e dificuldades na irradiação de tumores profundos. O estudo avaliou a degradação do azul de metileno em diferentes fluências ( $0 \text{ J/cm}^2$  a  $84 \text{ J/cm}^2$ ) para sua aplicação na TFD antimicrobiana. Utilizou espectrofotômetro e luz LED com comprimento de onda de  $660 \pm 10 \text{ nm}$ . Observou-se uma degradação consistente nas amostras, indicada pela redução do pico do azul de metileno e descoloração após exposição à luz. Os resultados sugerem a ocorrência de processos de fotodegradação, mas são necessários estudos mais aprofundados para compreender completamente as alterações moleculares associadas. O estudo contribui para a compreensão da degradação do azul de metileno, fundamentando pesquisas futuras na aplicação da TFD antimicrobiana. Destaca-se a relevância da TFD, incorporada no SUS como tratamento eficaz para câncer de pele do tipo basocelular, reforçando seu potencial inovador na saúde.

**Palavras-chaves:** Terapia fotodinâmica; Azul de Metileno; Espectrofotometria UV-VIS.

## ABSTRACT

The study addresses Photodynamic Therapy (PDT) as a therapeutic strategy, using a light-sensitive dye (methylene blue) followed by irradiation with visible light in low doses and a specific wavelength. Activated in the presence of cellular oxygen, PDT induces reactions that lead to the formation of free radicals or energy transfer to oxygen, resulting in the production of singlet oxygen. This process can lead to cell death, making PDT effective in several conditions. It has limitations, such as the treatment of disseminated metastases and difficulties in irradiating deep-seated tumors. The study evaluated the degradation of methylene blue at different fluences ( $0\text{ J/cm}^2$  to  $84\text{ J/cm}^2$ ) for its application in antimicrobial PDT. A spectrophotometer and LED light with a wavelength of  $660 \pm 10\text{ nm}$  were used. Consistent degradation was observed in the samples, indicated by reduction of the methylene blue peak and discoloration upon exposure to light. The results suggest the occurrence of photodegradation processes, but further studies are needed to fully understand the associated molecular changes. The study contributes to the understanding of the degradation of methylene blue, supporting future research in the application of antimicrobial PDT. The relevance of PDT is highlighted, incorporated into the SUS as an effective treatment for basal cell skin cancer, reinforcing its innovative potential in health.

**Keywords:** Photodynamic therapy; Methylene Blue; UV-VIS Spectrophotometry.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Diagrama de Jablonski demonstrando as trocas energéticas que ocorrem até as reações do tipo I e tipo II durante a terapia fotodinâmica. Após a irradiação de luz, o FS reage para o estado de singleto excitado; após sofrer um cruzamento entre sistemas o FS apresentasse em estado tripleto excitado, podendo sofrer duas reações: do tipo I ao interagir com o oxigênio molecular formando EROs, ou do tipo II ao transferir energias produzindo oxigênio singleto. FS: fotossensibilizador, $^1\text{FSE}$ : estado singleto do fotossensibilizador, $^3\text{FSE}$ : estado tripleto do fotossensibilizador, $^3\text{O}_2$ : estado tripleto do oxigênio, $^1\text{O}_2$ : estado singleto do oxigênio, EROs: espécies reativas de oxigênio.	Página 25
<b>Figura 2</b>	Luz colimada incidindo normalmente em uma seção do material. A intensidade da luz transmitida é menor que a incidente.	Página 30
<b>Figura 3</b>	Estrutura Molecular e Modelagem Molecular do Azul de Metileno.	Página 38
<b>Figura 4</b>	Representação da aplicação clínica do protocolo PDT para o tratamento de tumor sólido e localizado.	Página 49

<b>Figura 5</b>	Espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 35 fornecido pela Universidade Estadual de Goiás.	Página 55
<b>Figura 6</b>	Cubetas de Quartzo para leitura no Espectrofotômetro.	Página 56
<b>Figura 7</b>	Erlenmeyer com Azul de Metileno protegido com alumínio para não haver fotodegradação.	Página 58
<b>Figura 8</b>	Placa de Cultivo Celular utilizado para armazenar as amostras durante o experimento.	Página 58
<b>Figura 9</b>	Espectro de Absorção da Amostra 1 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD).	Página 61
<b>Figura 10</b>	Espectro de Absorção da Amostra 2 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD).	Página 62
<b>Figura 11</b>	Espectro de Absorção da Amostra 3 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD).	Página 63

<b>Figura 12</b>	Espectro de Absorção das Médias das Amostras de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD).	Página 64
<b>Figura 13</b>	Espectro de Absorção da Amostra 1 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação.	Página 65
<b>Figura 14</b>	Espectro de Absorção da Amostra 2 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação.	Página 66
<b>Figura 15</b>	Espectro de Absorção da Amostra 3 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação.	Página 68
<b>Figura 16</b>	Espectro de Absorção das Médias das Amostras de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação.	Página 69
<b>Figura 17</b>	Béquer 1 possui Azul de Metileno guardado do Erlenmeyer e protegido da exposição da Luz com alumínio. Béquer 2 possui amostra de azul de metileno utilizada no experimento com a exposição da luz azul em comprimento de onda 660 nm.	Página 71

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Resumo das vantagens e limitações da PDT.	Página 21
<b>Tabela 2</b>	Vantagens e Desvantagens dos Lasers, LEDs e as Lâmpadas.	Página 33
<b>Tabela 3</b>	Fotossensibilizadores usados em TFD clínica.	Página 35
<b>Tabela 4</b>	Fotossensibilizadores em ensaios clínicos para uso em PDT.	Página 36
<b>Tabela 5</b>	Reações adversas de acordo com a via de administração.	Página 46
<b>Tabela 6</b>	Porcentagem de degradação Azul de Metileno 01.	Página 65
<b>Tabela 7</b>	Porcentagem de degradação Azul de Metileno 02.	Página 66
<b>Tabela 8</b>	Porcentagem de degradação Azul de Metileno 03.	Página 68
<b>Tabela 9</b>	Média de Porcentagem de degradação Azul de Metileno.	Página 69

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>5-ALA</b>	Ácido 5-Aminolevulínico.
<b>QA</b>	Queratose actínica.
<b>ALA</b>	Ácido Aminolevulínico.
<b>AM</b>	Azul De Metileno.
<b>cGMP</b>	Guanosina Monofosfato Cíclico.
<b>DIP</b>	Doença Inflamatória Pélvica.
<b>DMRI</b>	Degeneração Macular Relacionada À Idade.
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico.
<b>eNOS</b>	Óxido Nítrico Sintase Endotelial.
<b>EROs</b>	Espécies Reativas De Oxigênio.
<b>FDA</b>	<i>Food And Drug Administration.</i>
<b>FS</b>	Fotossensibilizador.
<b>HPD</b>	Hematoporfirina Não Derivada.
<b>IMAOs</b>	Inibidores Da Monoamina Oxidase.
<b>iNOS</b>	Óxido Nítrico Sintase Indutível.
<b>ISRSs</b>	Inibidores Seletivos De Recaptação De Serotonina.
<b>KTP</b>	Potássio-Titanil-Fosfato.

<b>LED</b>	Lâmpadas De Diodo.
<b>LIP</b>	Luz Intensa Pulsada.
<b><i>off-label</i></b>	Uso de drogas farmacêuticas que não seguem as indicações homologadas para aquele fármaco.
<b>PAM</b>	Picos Do Azul De Metileno.
<b>PABAM</b>	Picos de Anéis Benzeno do Azul de Metileno
<b>PD</b>	Picos De Degradação.
<b>Pp IX</b>	Precursor Porfirínico Ou Protoporfirina IX.
<b>PUVA</b>	Fototerapia Com Radiação Ultravioleta A.
<b>SNRIs</b>	Inibidores Seletivos Da Recaptação Da Serotonina E Da Noradrenalina.
<b>TAB</b>	Transtorno Afetivo Bipolar.
<b>TCAs</b>	Antidepressivos Tricíclico.
<b>TEPT</b>	Transtorno De Estresse Pós-Traumático.
<b>TFD</b>	Terapia Fotodinâmica.
<b>TFDa</b>	Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana.
<b>UV</b>	Radiação Ultravioleta.
<b>UV-VIS</b>	Radiação Ultravioleta Visível.
<b>VEGF</b>	Fator De Crescimento Endotelial Vascular

## LISTA DE SIMBOLOS

®	Símbolo que representa uma marca registrada ou protegida por direitos autorais.
μM	Micromolar.
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigênio Singlete.
Abs	Absorção.
D <sub>2</sub> O	Água Deuterada.
Fe <sup>+2</sup>	Ferro Ferroso.
Fe <sup>+3</sup>	Ferro Férrico.
g.mol <sup>-1</sup>	Grama Por Mol - Relação Entre Massa Atômica E Massa Molar.
H <sub>2</sub> O	Água.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido De Hidrogênio.
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + e <sup>-</sup> → OH + OH	Equação De Formação De Radical Hidroxila.
HOCl	Hipoclorito.
J/cm <sup>2</sup>	Joules Por Cm <sup>2</sup> - Fluência Ou Densidade Energética.
L	Litros.
mg	Miligramas.
mg/kg	Miligramas por quilo.

<b>mL</b>	Mililitros.
<b>mm</b>	Milímetro.
<b>nm</b>	Nanômetros.
<b>NO</b>	Óxido Nítrico.
<b>NO<sub>2</sub></b>	Dióxido De Nitrogênio.
<b>O=NOOCO<sub>2</sub></b>	Ânion Carbonato Peroxinitroso.
<b>O<sub>2</sub></b>	Gás Oxigênio.
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Superóxidos.
<b>O<sub>2</sub> + e<sup>-</sup> + 2H<sup>+</sup> → H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Equação De Formação De Peróxido De Hidrogênio.
<b>O<sub>2</sub> + e<sup>-</sup> → O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Equação De Redução Do Oxigênio.
<b>O<sub>2</sub>NOCO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Ânion Nitrocarbonato.
<b>O<sub>3</sub></b>	Ozônio Trioxigênio.
<b>OH*</b>	Radical Hidroxila.
<b>ONO<sup>-</sup></b>	Peroxinitrito.
<b>R*</b>	Radicais Orgânicos.
<b>RO</b>	Alcoxil.
<b>ROO*</b>	Radicais Peroxil.

<b>ROOH</b>	Hidróxidos Orgânicos.
<b>ROS*</b>	Radical Sulfonil.
<b>RS</b>	Radical Tiol.
<b>RSOO</b>	Radical Peróxido Tiol.
<b>RSSR</b>	Dissulfetos.
<b>W</b>	Watt - medir a potência produzida por uma diferença de potencial elétrico, em volts, e a intensidade da corrente elétrica, em amperes, que passa por um condutor. Equivale a um Joule por segundo.
<b>W/cm<sup>2</sup></b>	Watt por centímetro quadrado.
<b>α</b>	Radiação alfa ou partículas alfa ou raios alfa.
<b>β</b>	Radiação beta ou raios beta ou partículas beta.
<b>γ</b>	Radiação Gama ou raios gama.
<b>μg/mL</b>	Micrograma Por Mililitro.
<b>μs</b>	Microsssegundo.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	19
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	21
2.1. TERAPIA FOTODINÂMICA .....	21
2.1.1. HISTÓRIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA .....	22
2.2. MECANISMO DE AÇÃO DA PDT .....	24
2.2.1. TIPOS DE REAÇÕES FOTODINÂMICAS .....	25
2.2.1.1. TIPO I .....	26
2.2.1.2. TIPO II .....	26
2.2.1.3. OXIGÊNIO .....	27
2.2.1.3.1. OXIGÊNIO SINGLETE .....	27
2.2.1.3.2. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO .....	28
2.2.1.3.3. ESTRESSE OXIDATIVO .....	29
2.2.2. LEI DE BEER .....	30
2.3. FONTES DE LUZ .....	30
2.4. TIPOS DE FOTOSSENSIBILIZADORES .....	34
2.5. AZUL DE METILENO .....	36
2.5.1. FARMACODINÂMICA .....	38
2.5.2. FARMACOCINÉTICA .....	39
2.5.3. MECANISMO DE AÇÃO DO AZUL DE METILENO .....	39
2.5.4. AZUL DE METILENO E TFD .....	40
2.5.5. APLICAÇÕES DO AZUL DE METILENO NA ÁREA DA SAÚDE .....	41
2.5.6. EFEITOS ADVERSOS E SUAS APLICAÇÕES .....	46
2.6. APLICAÇÕES DO TFD NA ÁREA DA SAÚDE .....	47
2.6.1. TRATAMENTO DE CÂNCER .....	48
2.6.2. OFTALMOLOGIA .....	49
2.6.3. ODONTOLOGIA .....	49
2.6.4. TERAPIA VASCULAR .....	49
2.6.5. INFECÇÕES BACTERIANAS, FÚNGICAS, VIRAIS E PROTOZOÁRIAS, E INFLAMAÇÕES .....	50
2.6.6. DERMATOLOGIA .....	52
2.6.6.1. TRANSPLANTE DE PELE .....	52
3. OBJETIVOS .....	54
3.1. GERAL .....	54
3.2. ESPECÍFICOS .....	54
4. JUSTIFICATIVA .....	54

<b>5. METODOLOGIA.....</b>	<b>54</b>
<b>5.1. CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2. REAGENTES E EQUIPAMENTOS .....</b>	<b>55</b>
<b>5.3. PROTOCOLO .....</b>	<b>56</b>
<b>6. RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>70</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>73</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A Terapia Fotodinâmica emerge como uma estratégia terapêutica inovadora, capitalizando a administração de um corante sensível à luz, tanto de forma tópica quanto sistêmica, seguida pela irradiação com luz visível em baixas doses e comprimento de onda específico (PERUSSI, 2007; SANTOS, 2018). Ativada na presença de oxigênio celular, o fotossensibilizador desencadeia reações que resultam na formação de EROs (reação tipo I) ou transferem energia ao oxigênio (reação tipo II), culminando na produção de oxigênio singlete. Esses processos podem conduzir à morte celular e à destruição do tecido afetado, sendo a multiplicidade de alvos um desafio para o desenvolvimento de resistência celular, conferindo à fotossensibilização uma vantagem única (PERUSSI, 2007).

A TFD, enquanto método terapêutico, oferece citotoxicidade seletiva, revelando-se eficaz no tratamento de diversas condições nos sistemas orgânicos (SANTOS, 2018). Comparada às abordagens convencionais contra o câncer, a TFD apresenta diversas vantagens. Fotossensibilizadores de primeira geração podem aumentar a sensibilidade da pele, mas quando a TFD é empregada corretamente, não apresenta efeitos colaterais a longo prazo. Sua natureza menos invasiva a torna passível de realização em nível ambulatorial, e, além de destruir o tumor, pode impactar a vasculatura associada, contribuindo para a erradicação eficaz do tumor (CORREIA et al., 2021).

A aplicação direta e precisa no tecido alvo é possível devido à dupla seletividade da TFD, onde os fotossensibilizadores se acumulam preferencialmente no tecido tumoral, e a irradiação luminosa ocorre exclusivamente no tecido alvo. Ademais, a TFD pode ser repetida no mesmo local, geralmente resultando em cicatrizes mínimas ou inexistentes, e seus custos são inferiores às outras modalidades terapêuticas. No entanto, a TFD apresenta limitações, incluindo desafios no tratamento de metástases disseminadas, a necessidade de oxigenação tecidual para eficácia e dificuldades na irradiação de tumores profundos devido à baixa penetração da luz visível (CORREIA et al., 2021).

A compreensão do processo de fotodegradação é crucial, ocorrendo principalmente pela absorção de radiação ultravioleta, desencadeando reações oxidativas em um processo autocatalítico, resultando em redução do peso molecular e alterações na estrutura química (RABELLO; WHITE, 1997). Destaca-se que o azul de metileno, um conhecido fotossensibilizador, é frequentemente utilizado nesse contexto. Sua ação fotodinâmica, capaz

de induzir a fotoxidação de substratos biológicos, e sua capacidade de intercalar na estrutura do DNA conferem-lhe propriedades valiosas na terapia fotodinâmica antimicrobiana (COSTA et al, 2014; PERUSSI, 2007).

O presente trabalho tem como foco avaliar a taxa de degradação do azul de metileno mediante a exposição à luz em comprimento de onda de 660 nm, visando sua aplicação na terapia fotodinâmica antimicrobiana. Os objetivos incluem dosar o azul de metileno em diferentes densidades de energia, apresentar o conceito e breve histórico da terapia fotodinâmica, descrever suas atuações na saúde, analisar as características físico-químicas do azul de metileno, destacar os principais fármacos fotossensibilizadores utilizados, elucidar o mecanismo de ação dessa terapia e investigar pesquisas e trabalhos relacionados, visando aprimorar a eficiência da TFD com base nos avanços aqui descritos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. TERAPIA FOTODINÂMICA

A Terapia Fotodinâmica utiliza a administração de um corante sensível à luz, de forma tópica ou sistêmica, seguida por irradiação com luz visível de baixas doses em comprimento de onda específico (PERUSSI, 2007; SANTOS, 2018). Ativado na presença de oxigênio celular, o fotossensibilizador desencadeia reações, gerando EROs (reação tipo I) ou transferindo energia ao oxigênio (reação tipo II), resultando em oxigênio singlete. Ambos os processos podem levar à morte celular e à destruição do tecido afetado. O oxigênio singlete reage com vários componentes celulares, especialmente compostos orgânicos insaturados, causando inviabilidade celular. Hidroperóxidos resultantes podem catalisar a formação de espécies reativas de oxigênio por reações catalíticas. A não especificidade das EROs na reatividade com moléculas orgânicas torna qualquer macromolécula dentro da célula um alvo potencial para a TFD. Essa multiplicidade de alvos dificulta o desenvolvimento de resistência celular, sendo uma vantagem da fotossensibilização, além da indução da morte celular (PERUSSI, 2007). A TFD é um método terapêutico que proporciona citotoxicidade seletiva, sendo eficaz no tratamento de diversas condições nos sistemas orgânicos (SANTOS, 2018).

A TFD oferece várias vantagens em relação às abordagens convencionais contra o câncer. Fotossensibilizadores de primeira geração podem aumentar a sensibilidade da pele, mas a TFD, quando utilizada corretamente, não apresenta efeitos colaterais a longo prazo. Menos invasiva do que procedimentos cirúrgicos, pode ser realizada em nível ambulatorial. Além de destruir o tumor, a TFD pode impactar a vasculatura associada a ele, contribuindo para a morte do tumor. A aplicação direta e precisa no tecido alvo é possível devido à dupla seletividade da TFD, com FS se acumulando preferencialmente no tecido tumoral e irradiação luminosa exclusiva no tecido alvo. A TFD pode ser repetida no mesmo local e geralmente resulta em pouca ou nenhuma cicatriz, além de custar menos que outras modalidades terapêuticas. No entanto, a TFD apresenta limitações, incluindo dificuldade no tratamento de metástases disseminadas, necessidade de oxigenação tecidual para eficácia e desafios na irradiação de tumores profundos devido à baixa penetração da luz visível (CORREIA et al., 2021). Sendo elucidadas na tabela (Tabela 1) abaixo:

**Tabela 1 - Resumo das vantagens e limitações da PDT**

Vantagens	Limitações
-----------	------------

Baixo efeitos colaterais	Fotossensibilidade após tratamento
Menos invasivos	A eficácia do tratamento depende da precisão da irradiação luminosa do tumor
Curto tempo de tratamento	A oxigenação dos tecidos é crucial para o efeito fotodinâmico
Utilizável em regime ambulatorial	Muito difícil tratar os cânceres metastáticos com a tecnologia atual
Seletividade do câncer	
Vários aplicativos no mesmo local	
Excelente resultado cosméticos	
Custos mais baixos	

Fonte: CORREIA et al., 2021 (Modificada).

### 2.1.1. HISTÓRIA DA TERAPIA FOTODINÂMICA

A utilização da luz como agente terapêutico tem uma história milenar, remontando a milhares de anos atrás. Civilizações antigas, como o Egito, a Índia e a China, empregavam a luz solar no tratamento de diversas doenças dermatológicas, incluindo psoríase, vitiligo e câncer, além de tratar problemas como raquitismo e até psicose (ACKROYD et al, 2001; DUTRA, 2013). Os antigos gregos também reconheciam o poder da exposição solar para a cura, e a helioterapia, ou seja, a terapia pela exposição ao sol, era um passatempo popular. O renomado médico grego Heródoto é considerado o pai da helioterapia e enfatizava a importância da luz solar na restauração da saúde (ACKROYD et al, 2001).

No entanto, foi somente no início do século 20 que ensaios experimentais forneceram uma visão mais clara sobre os mecanismos e a aplicação prática das reações luminosas (DUTRA, 2013). Nos séculos XVIII e XIX, na França, a luz solar era empregada no tratamento de diversas condições, tais como tuberculose, raquitismo, escorbuto, reumatismo, paralisia, edema e fraqueza muscular (ACKROYD et al, 2001).

A fototerapia começou a ser desenvolvida pelo médico dinamarquês Niels Finsen no final do século XIX. Ele descreveu o tratamento bem-sucedido da varíola usando luz vermelha, que evitava a supuração das pústulas. Em seguida, passou a utilizar a luz ultravioleta para tratar tuberculose cutânea e desenvolveu a fototerapia com arco de carbono para essa condição, o que lhe rendeu o Prêmio Nobel em 1903 (ACKROYD et al, 2001). Baseado na terminologia introduzida por von Tappeiner, esse procedimento foi denominado TFD. Embora os mecanismos exatos de localização da porfirina em tecidos neoplásicos ainda sejam desconhecidos, Dougherty e Gomer usaram preparações radioativas para mapear a biodistribuição da HPD. Isso revelou que o HPD se concentrava em tecidos malignos, em comparação com a pele e o músculo normais do hospedeiro, mas as principais áreas de acúmulo

eram o fígado, o rim e o baço. Ao proteger essas áreas da irradiação, foi possível alcançar a erradicação seletiva dos tecidos malignos (KESSEL, 2019).

A fotoquimioterapia, por outro lado, envolve a combinação da administração de um agente fotossensibilizante com a ação da luz nos tecidos onde o agente está localizado. Essa forma de terapia também tem uma longa história, com mais de 3.000 anos atrás, quando os índios já utilizavam psoralênicos no tratamento do vitiligo. No século XII, os egípcios empregavam diferentes psoralênicos no tratamento da leucoderma. Somente na década de 1970, os psoralênicos, ativados pela luz ultravioleta A, foram clinicamente utilizados na terapia PUVA para o tratamento da psoríase. Posteriormente, também foram empregados no tratamento do vitiligo e na imunoterapia. A fototerapia e a fotoquimioterapia representam importantes avanços na medicina que utilizam os poderes curativos da luz de maneira controlada e eficaz (ACKROYD et al, 2001).

A TFDa foi inicialmente descrita por Oscar Raab (1990), que observou o efeito letal do corante acridina na presença de luz solar sobre o protozoário Paramecia. Von Tappeiner (1904) introduziu a TFDa na terapia médica e cunhou o termo "efeito fotodinâmico" para descrever a inativação induzida pela luz de células, microrganismos ou moléculas. A TFDa é uma modalidade terapêutica não invasiva na qual um fármaco fotossensível, chamado fotossensibilizador, é aplicado à célula-alvo e ativado por luz com comprimento de onda adequado. Quando ativado na presença de oxigênio molecular, o fotossensibilizador gera espécies de oxigênio citotóxicas capazes de danificar componentes celulares, como membranas e ácidos nucleicos. A TFDa é altamente seletiva, afetando somente as células expostas ao FS e à luz, o que resulta em efeito citotóxico (DUTRA, 2013).

Apesar disso, obter financiamento para pesquisas em TFD era difícil até a primeira aprovação do FDA. Somente em 1991, começaram a surgir mecanismos plausíveis para entender a capacidade do fotodano em erradicar células malignas. Nesse ínterim, entretanto, a irradiação foi apontada como um possível meio de erradicar a vasculatura tumoral, um elemento importante no controle do câncer. Essa descoberta levou ao uso da TFD no tratamento da degeneração macular, uma doença causada pela proliferação de vasos sanguíneos anômalos na retina. Protocolos atuais envolvem a TFD e antagonistas de VEGF, que é uma proteína sinalizadora envolvida na angiogênese (KESSEL, 2019).

Embora inicialmente o uso exclusivo da TFD parecesse promissor, isso levou a um breve período de interesse comercial, mas também desviou recursos de estudos sobre o controle do câncer. Até 1991, a literatura sobre TFD estava focada principalmente em relatos clínicos, discussões de protocolos e fontes de luz (KESSEL, 2019).

Uma descoberta importante identificou o oxigênio molecular singlete, produzido pela ação da luz incidente sobre as porfirinas, como o principal agente citotóxico gerado durante a TFD. O grupo de Dougherty continuou a fornecer informações sobre a eficácia do HPD no controle do câncer, o que levou à aprovação do procedimento pelo FDA para o tratamento do câncer de esôfago em 1995 (KESSEL, 2019).

Embora estudos laboratoriais indiquem um efeito antimicrobiano promissor da TFDa, os estudos clínicos ainda não têm confirmado esses resultados de forma consistente. No campo da odontologia, os protocolos de aplicação clínica da TFDa ainda não estão completamente estabelecidos, pois é uma área em desenvolvimento. Pesquisadores estão buscando melhorar o desempenho dessa terapia através de diferentes protocolos de aplicação de luz e utilizando diversos FS em diferentes concentrações (DUTRA, 2013).

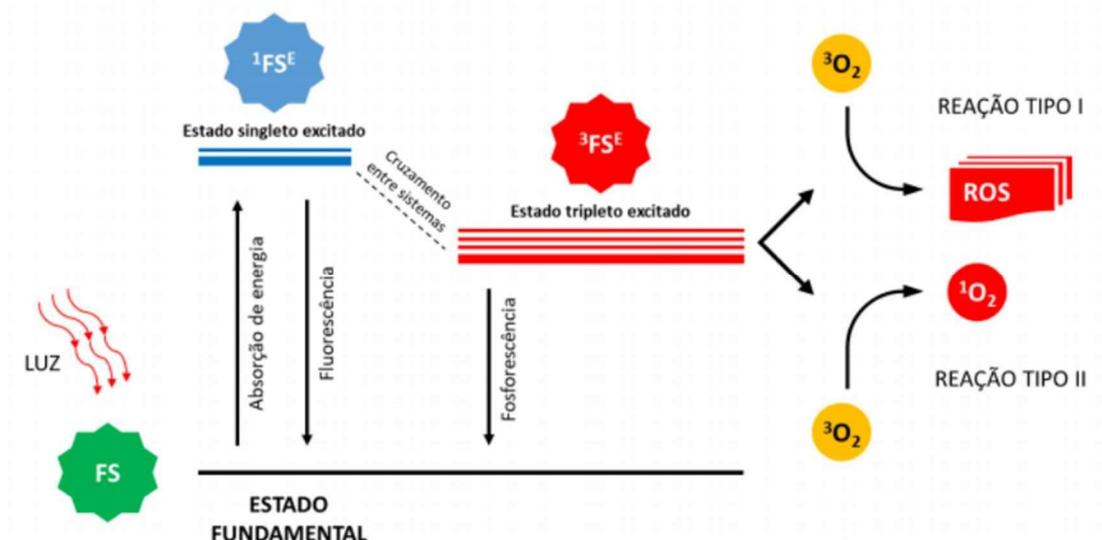
Contudo, tem sido dado pouco foco no aprimoramento da TFDa por meio do desenvolvimento de novas formulações, incluindo o uso de diferentes solventes para o FS. Essas abordagens podem ser promissoras para a evolução dessa terapia inovadora e seu potencial aplicação clínica eficaz na saúde (DUTRA, 2013).

Além disso, é importante ressaltar que o Ministério da Saúde (2023) incorporou a terapia fotodinâmica no SUS como uma alternativa eficaz no tratamento do câncer de pele do tipo basocelular. A tecnologia, projetada pelo Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, destaca-se por sua abordagem inovadora, combinando diagnóstico e tratamento na mesma plataforma, evitando procedimentos dolorosos e mutilações.

## **2.2. MECANISMO DE AÇÃO DA PDT**

Com isso, sabe-se que algumas moléculas são capazes de interagir com a luz de modo a gerar substâncias altamente reativas de oxigênio, sendo denominados de fotossensibilizador, e sua propriedade de interagir com a luz gerando espécies reativas de oxigênio é denominado efeito fotodinâmico. Esse efeito pode ser visto no diagrama de Jablonski (Figura 1).

**Figura 1 - Diagrama de Jablonski**



Fonte: SANTOS, 2018.

Como descrito por Dutra (2013), quando ativado pela luz de um comprimento de onda apropriado, o FS absorve um fóton de energia, levando a molécula do estado fundamental ao estado excitado singlete. Esse estado excitado singlete é extremamente instável, com uma vida útil na ordem de nanossegundos, o que dificulta suas interações com moléculas adjacentes. Após uma redistribuição vibracional, o FS no estado excitado singlete pode retornar ao seu estado fundamental por meio de processos radiativos (emissão de fluorescência) e/ou não radiativos (liberação de energia na forma de calor). Alternativamente, pode ocorrer uma inversão de spin eletrônico, levando-o ao estado excitado triplete. Essa transição do estado excitado singlete para o triplete ocorre com perda de energia. Após atingir o estado triplete, o fotossensibilizador tem a capacidade de retornar ao seu estado fundamental através de decaimento energético por meio de processos radioativos e/ou não-radioativos. No entanto, devido à sua menor energia, o fotossensibilizador no estado excitado triplete torna-se mais estável e possui um tempo de vida prolongado, permitindo interações com células vizinhas por meio de dois processos fotodinâmicos denominados tipo I e tipo II.

O processo de fotodegradação ocorre principalmente pela absorção de radiação ultravioleta, desencadeando reações oxidativas em um processo autocatalítico. Isso resulta na redução do peso molecular e em alterações na estrutura química (RABELLO; WHITE, 1997).

### 2.2.1. TIPOS DE REAÇÕES FOTODINÂMICAS

Apesar de possuir dois tipos de interações do fotossensibilizador, os produtos gerados pelas reações do tipo I e tipo II podem ter características citotóxicas, porém não afeta a efetividade antimicrobiana na fase da produção de oxigênio singleto (SAKAGUCHI, 2016).

#### **2.2.1.1. TIPO I**

A Reação Fotodinâmica Tipo I é um dos dois mecanismos fundamentais que ocorrem na TFD, um tratamento médico que utiliza um agente FS ativado pela luz para destruir células-alvo. Nesse mecanismo, o FS absorve a luz e entra em um estado excitado. A principal característica da Reação Fotodinâmica Tipo I é que, em vez de retornar ao estado basal (estado fundamental) após a absorção da luz, o FS transfere energia diretamente para moléculas vizinhas, muitas vezes moléculas de oxigênio ou água, sem a emissão de luz (DUTRA, 2013; AMARAL et al, 2010; SANTOS, 2020).

A transferência de energia do TFD para as moléculas vizinhas resulta na formação de EROs, como radicais livres de oxigênio. Essas EROs são altamente reativas e têm a capacidade de danificar as células-alvo em seu ambiente imediato. A produção de EROs é o principal mecanismo pelo qual a Reação Fotodinâmica Tipo I induz danos celulares (DUTRA, 2013; AMARAL et al, 2010; SANTOS, 2020).

A Reação Fotodinâmica Tipo I é especialmente eficaz na produção de EROs, mas menos eficaz na produção de  $^1O_2$ , uma EROs altamente reativa. A escolha entre a Reação Fotodinâmica Tipo I e a Tipo II depende do tipo de fotossensibilizador utilizado e das condições de tratamento específicas, e pode ser adaptada para atingir os resultados terapêuticos desejados (DUTRA, 2013; AMARAL et al, 2010; SANTOS, 2020).

#### **2.2.1.2. TIPO II**

A Reação Fotodinâmica Tipo II é um dos dois mecanismos fundamentais que ocorrem na TFD, uma técnica médica que utiliza um agente FS ativado pela luz para destruir células-alvo. Nesse mecanismo, o FS absorve a luz e entra em um estado excitado, mas, em vez de transferir energia diretamente para moléculas vizinhas, como ocorre na Reação Fotodinâmica Tipo I, o FS retorna ao estado basal e libera a energia na forma de uma EROs chamada oxigênio singleto  $^1O_2$  (DUTRA, 2013; AMARAL et al, 2010; SANTOS, 2020).

A Reação Fotodinâmica Tipo II é especialmente eficaz na produção de oxigênio singlete, uma espécie reativa de oxigênio altamente tóxica para as células. Isso a torna uma escolha valiosa para a destruição seletiva de células cancerosas, micro-organismos patogênicos, como bactérias e fungos, e outras células-alvo específicas. A escolha entre a Reação Fotodinâmica Tipo I e a Tipo II depende do tipo de FS utilizado, das condições do tratamento e do objetivo clínico específico (DUTRA, 2013; AMARAL et al, 2010; SANTOS, 2020).

### **2.2.1.3. OXIGÊNIO**

O terceiro componente essencial no mecanismo da TFD é o oxigênio molecular, sendo crucial para a produção de EROs durante o processo. A concentração de oxigênio nos tecidos desempenha um papel fundamental na eficácia da TFD, variando entre diferentes tumores e regiões tumorais devido à densidade da vasculatura. Tumores sólidos mais profundos, frequentemente caracterizados por um microambiente anóxico, podem enfrentar limitações de oxigênio. A irradiação intensa do tumor pode levar à depleção temporária de oxigênio, interrompendo a produção de EROs e reduzindo a eficácia do tratamento. A depleção de oxigênio ocorre quando a taxa de consumo supera a taxa de difusão na área irradiada. A TFD também pode causar oclusão vascular, reduzindo o fluxo sanguíneo, agravando a hipóxia. A medição em tempo real dos níveis de oxigênio nos tecidos durante a TFD é um desafio, mas é crucial para otimizar os resultados terapêuticos, permitindo ajustes na taxa de fluência luminosa ou a utilização de densidades de energia fracionadas. Diversos métodos, como o uso de enzimas como a catalase ou transportadores de oxigênio, têm sido explorados para aumentar a disponibilidade de oxigênio nos tumores durante a TFD (CORREIA et al., 2021).

#### **2.2.1.3.1. OXIGÊNIO SINGLETE**

O  $^1\text{O}_2$  é um intermediário na toxicidade fotoinduzida do  $\text{O}_2$  em organismos vivos. Sua meia-vida varia significativamente com o meio em que se encontra. Em meio aquoso, sua meia-vida é aproximadamente 3,5-4,0  $\mu\text{s}$ , devido a colisões com moléculas de  $\text{H}_2\text{O}$ , transferindo sua energia e retornando à forma de oxigênio triplete. Em  $\text{D}_2\text{O}$ , o tempo aumenta para 68  $\mu\text{s}$ . Entretanto, em meio orgânico, a meia-vida do oxigênio singlete é prolongada; em solventes orgânicos, pode chegar a até 100  $\mu\text{s}$ , enquanto em lipídios é de 50–100  $\mu\text{s}$ . Dentro das células, sua vida útil diminui drasticamente para 0,2  $\mu\text{s}$  devido à alta reatividade com substâncias biológicas. A rápida reatividade e a curta vida útil restringem a distribuição do oxigênio singlete nas células, concentrando os tratamentos da TFD no ponto de geração de  $^1\text{O}_2$ . Através do

diagrama de orbital molecular, o oxigênio no estado fundamental possui dois elétrons em orbitais degenerados, caracterizando um estado tripleto. O oxigênio singleto em seu primeiro estado excitado possui dois elétrons emparelhados e um orbital vazio, tornando-se eletrofílico e permitindo a adição efetiva de substratos nucleofílicos. Essas características conferem maior reatividade ao oxigênio singleto, levando à interação com biomoléculas e à oxidação, resultando na perda de funções biológicas (SANTOS, 2020).

#### **2.2.1.3.2. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO**

O oxigênio desempenha um papel essencial na oxidação de compostos orgânicos para gerar energia no metabolismo celular. Durante esse processo, uma pequena fração do oxigênio consumido (2 a 5%) é reduzida, resultando na formação de espécies químicas altamente reativas conhecidas como EROs (SILVA; GONÇALVES, 2010). A condição de estresse oxidativo ocorre quando há uma mudança no equilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, favorecendo o aumento de oxidantes, especialmente devido ao excesso na produção de EROs por reações metabólicas que envolvem oxigênio. As EROs, moléculas altamente reativas devido a elétrons desemparelhados, interagem com diversas macromoléculas celulares. Historicamente, as EROs foram consideradas subprodutos metabólicos tóxicos e fatores causais em várias patologias, incluindo o câncer, de acordo com Hamanaka e Chandel (2010). Em células cancerosas, níveis elevados de EROs foram identificados em comparação com células normais. Embora esses altos níveis possam ser pró-tumorigênicos, eles também podem ser um ponto vulnerável, levando à morte celular. Cabe destacar que algumas EROs são produzidas naturalmente no corpo por meio do metabolismo celular, mas fatores ambientais, como poluição, radiação, tabagismo e herbicidas, podem modificar a quantidade desses radicais (GOUVEIA; LIMA, 2017).

Espécies reativas de oxigênio referem-se a radicais livres, átomos ou moléculas altamente reativos com um número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica, resultando em instabilidade e alta reatividade química. Essas EROs, como  $O_2^-$ ,  $OH^*$ ,  $NO$ ,  $R^*$ ,  $ROO^*$ ,  $RO$ ,  $RS$ ,  $ROS^*$ ,  $RSOO$  e  $RSSR$ , possuem vida útil curta e são quimicamente reativas. Compostos não radiculares, como  $H_2O_2$ ,  $O_2$ ,  $O_3$ ,  $ROOH$ ,  $HOCl$ ,  $ONO^-$ ,  $O=NOOCO_2$ ,  $O_2NOCO_2^-$ ,  $NO_2$  e carbonila derivada de hidratos de carbono ou lipídios, também são EROs (GOUVEIA; LIMA, 2017). A principal rota metabólica do oxigênio no organismo envolve sua redução completa a água, incorporando quatro elétrons ao final da cadeia de transporte de elétrons dentro da mitocôndria. No entanto, se ocorrer redução do oxigênio ao longo da cadeia respiratória com um número menor de elétrons, pode ocorrer a produção de EROs, incluindo o

superóxido ( $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$ ), o peróxido de hidrogênio ( $O_2 + e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2$ ) e a hidroxila ( $H_2O_2 + e^- \rightarrow OH + OH$ ) (SILVA; GONÇALVES, 2010).

Superóxidos, peróxido de hidrogênio, oxigênio singlete e radicais hidroxila, reconhecidos por seu potencial citotóxico, destacam-se em estudos relacionados a EROs e câncer. Em quantidades excessivas, as EROs têm a capacidade de causar danos a diversas moléculas essenciais, como DNA, proteínas, carboidratos e lipídios, impactando negativamente as funções celulares normais (GOUVEIA; LIMA, 2017). Essas EROs possuem o potencial de induzir lesões nos tecidos e, em concentrações elevadas, podem resultar em danos às organelas celulares, ácidos nucleicos, lipídios e proteínas (SILVA; GONÇALVES, 2010). Níveis normais de EROs desempenham funções vitais em processos celulares, como o sistema imune, sinalização celular e contração muscular. Entretanto, quando os níveis excedem limites apropriados, podem causar danos celulares significativos. A regulação precisa dos níveis intracelulares de EROs, facilitada por moléculas não enzimáticas (glutathiona, flavonoides, vitaminas A, C e E) e enzimas antioxidantes, é essencial para evitar danos celulares em condições normais (GOUVEIA; LIMA, 2017).

Dentre todos os radicais livres gerados nos organismos vivos, as EROs são consideradas a classe mais significativa. Vale destacar que, na verdade, o termo "radical livre" não é ideal para descrever todos os agentes reativos originados do oxigênio, uma vez que alguns deles não possuem elétrons desemparelhados em sua última camada (SILVA; GONÇALVES, 2010).

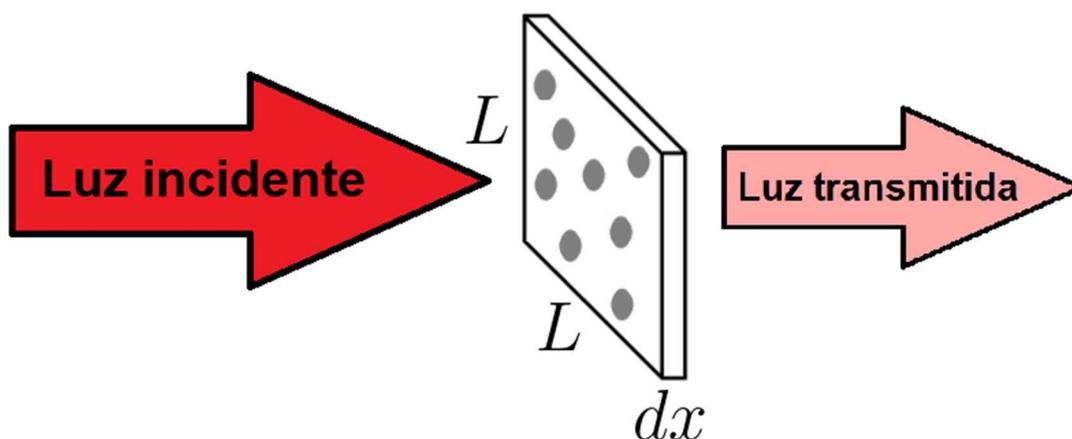
#### **2.2.1.3.3. ESTRESSE OXIDATIVO**

O estresse oxidativo surge do desequilíbrio entre moléculas oxidantes, como EROs, e seus equivalentes antioxidantes, resultando de distúrbios na produção, distribuição ou excesso de EROs por agentes endógenos ou fatores ambientais. Esse desequilíbrio favorece a ação prejudicial das EROs nas células. O estresse oxidativo está associado a diversas patologias crônicas degenerativas. O desequilíbrio de EROs nas células resulta da geração excessiva de radicais ou da diminuição na velocidade de sua remoção, levando à oxidação de biomoléculas, perda de funções biológicas e desequilíbrio homeostático. O dano oxidativo potencial contra células e tecidos é evidenciado, contribuindo para mutagênese e, conseqüentemente, para processos carcinogênicos. Danos cumulativos no DNA, diretos ou indiretos, e a peroxidação de lipídios são implicações do estresse oxidativo, comprometendo a resposta antioxidante e os mecanismos de reparo no DNA (GOUVEIA; LIMA, 2017).

### 2.2.2. LEI DE BEER

A lei de Lambert–Beer, erroneamente atribuída inicialmente a Johann Lambert, foi descoberta por Pierre Bouguer em 1729 e posteriormente modificada por August Beer em 1863. A lei estabelece uma relação entre a absorvância de uma solução e sua concentração quando exposta a radiação luminosa monocromática colimada (Figura 2). Lambert, em 1760, constatou que a fração de luz absorvida é independente da potência radiante incidente, embora essa independência seja verdadeira apenas para valores pequenos de potência radiante incidente e se outros fenômenos, como dispersão da luz ou reações fotoquímicas, forem negligenciáveis. A lei foi modificada para incluir concentração na fórmula 92 anos depois. Pré-requisitos para a aplicação correta da lei incluem a absorção independente das partículas em solução, homogeneidade do meio absorvente, radiação colimada e monocromática, além de ausência de processos que desestabilizem átomos, moléculas ou íons. Desvios da lei podem ocorrer em concentrações mais elevadas, especialmente quando processos como dispersão da luz tornam-se significativos. A absorvância é definida como o simétrico do logaritmo decimal do inverso da transmitância, representando a quantidade de luz absorvida pela amostra (LIMA, 2013).

Figura 2 - Luz colimada incidindo normalmente em uma seção do material



Fonte: TEIXEIRA et al, 2020.

### 2.3. FONTES DE LUZ

Inicialmente, as primeiras fontes de luz utilizadas na TFD foram lâmpadas convencionais, onde a saída era ajustada por meio de filtros. No entanto, essa abordagem tinha algumas desvantagens, como a presença de um componente térmico significativo e a

dificuldade em calcular a dose de luz fornecida. Além disso, essas fontes de luz não coerentes, que produzem um espectro de comprimentos de onda, eram atraentes devido à sua facilidade de uso e custo relativamente baixo (ACKROYD et al, 2001).

Com o avanço da tecnologia, os lasers se tornaram as fontes de luz mais comuns e convenientes para a TFD. Os lasers emitem luz monocromática de um comprimento de onda conhecido, facilitando o cálculo da dosimetria de luz, e podem ser usados com fibras ópticas para permitir tratamento localizado. Os lasers podem ser escolhidos de acordo com o FS utilizado e a profundidade de necrose tecidual desejada. Diferentes tipos de lasers têm sido empregados em TFD, incluindo o corante de argônio, o corante de KTP, o vapor de metal e os lasers de diodo (ACKROYD et al, 2001).

Os lasers de corante bombeados são amplamente usados e podem produzir até 7 W de potência. O laser de corante de argônio, em particular, é muito utilizado porque pode ter seu comprimento de onda ajustado para corresponder ao comprimento de onda de absorção ideal do FS, alterando os filtros dentro do laser. Isso permite a utilização de diferentes FS com eficácia. Por exemplo, o laser de corante de argônio pode ser sintonizado para produzir comprimentos de onda específicos para diferentes FS (ACKROYD et al, 2001).

Outra opção comumente utilizada é o laser de corante KTP, que é uma unidade modular capaz de produzir comprimentos de onda comuns de luz vermelha usados para ativar FS como o *Photofrin* e o 5-ALA. A vantagem desse sistema é que a unidade KTP é um sistema cirúrgico padrão e pode ser adquirido como um acessório relativamente econômico para a TFD. No entanto, esses sistemas são grandes, requerem refrigeração externa a água e fontes de energia separadas devido à alta corrente que geram. Além disso, são consideravelmente caros (ACKROYD et al, 2001).

Os avanços na tecnologia de diodos semicondutores tornaram possível o uso de sistemas mais simples, compactos e relativamente baratos para a TFD. Esses sistemas operam com fontes elétricas padrão, não necessitam de resfriamento externo e, portanto, são mais portáteis. Ainda que apresentem limitações na potência de saída, eles são licenciados para uso na Europa e nos Estados Unidos das Américas e emitem um comprimento de onda específico de luz, tornando-os muito adequados para FS específicos (ACKROYD et al, 2001).

Outras fontes de luz disponíveis incluem o sistema de luz *Blu-U*<sup>®</sup>, que utiliza luz azul visível para a TFD de QA induzida por 5-ALA, além de sistemas incoerentes comercialmente

disponíveis, como o *Dlight* e a câmera especial *Endovision Telecam SL*, usados para a detecção de fluorescência Pp IX em bexigas urinárias. A principal vantagem desses sistemas é a sua relativa acessibilidade em termos de custo e facilidade de uso (ACKROYD et al, 2001).

A luz é um componente essencial na TFD, e existem diversas fontes de luz disponíveis para esse fim. Entre elas, estão as lâmpadas incandescentes ou de arco que emitem luz de banda larga e os lasers de corantes com bombeamento de argônio, que produzem luz monocromática sintonizável, e os lasers de diodo (DUTRA, 2013).

Para aplicações dermatológicas, as fontes de luz não-laser são preferidas aos lasers devido ao seu amplo campo de iluminação, custo mais baixo e construção simples. No entanto, a dosimetria de luz com luz de banda larga não pode ser calculada com precisão, pois a penetração de luz e a intensidade espectral variam ao longo da faixa de luz utilizada. Os lasers, por sua vez, produzem luz monocromática coerente de alta intensidade e podem ser acoplados a dispositivos de fibra óptica para alcançar locais inacessíveis e reduzir a perda de luz devido à dispersão. A irradiação com lasers de comprimento de onda definido facilita o cálculo preciso da dosimetria (DUTRA, 2013).

Para a TFD, é ideal utilizar comprimentos de onda entre 600 e 850 nm, conhecida como a "janela terapêutica". Comprimentos de onda mais baixos têm menor poder de penetração, enquanto comprimentos de onda mais altos não são capazes de excitar o oxigênio molecular para o estado singleto, que é necessário para o processo fotodinâmico. Geralmente, a fluência de  $200 \text{ J/cm}^2$  é utilizada na TFD, pois fluências mais altas podem levar à hipertermia e causar danos adicionais aos tecidos saudáveis. A fluência é a energia total da luz exposta em uma área específica e é expressa em  $\text{J/cm}^2$ . A taxa de fluência é a energia incidente por segundo em uma área específica do ponto irradiado e é expressa como  $\text{W/cm}^2$ . Taxas de fluência mais baixas são benéficas para a TFD, pois taxas mais altas podem resultar na depleção de oxigênio (DUTRA, 2013).

O sucesso da PDT depende principalmente da dose total de luz, do tempo de exposição, da taxa de fluência e do modo de fracionamento. Desenvolver métodos para expor o local-alvo a espécies reativas por mais tempo, mantendo a fluência inalterada, pode ser benéfico para a eficácia do tratamento (DUTRA, 2013).

Para otimizar a eficácia da TFD, é crucial selecionar adequadamente a fonte de luz, considerando o tecido-alvo, o dispositivo de entrega e fatores como tamanho, aplicação e

volume do tumor. A escolha da fonte de luz depende da localização do tumor, do FS e da duração do tratamento. Em tumores superficiais, como câncer de pele, emprega-se iluminação de superfície ou intraoperatória, usando feixes de luz amplos. Para tumores mais profundos (>1 cm), uma sonda de distribuição de luz é inserida diretamente no alvo para uma TFD intersticial. Na radioterapia, usa-se radiação ionizante (Raios-X, radiação  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ) que induz danos ao DNA, enquanto na TFD, que utiliza luz não ionizante, o potencial de danos ao DNA é baixo. As principais fontes de luz não ionizantes incluem lasers, LEDs e lâmpadas. Os lasers são frequentemente utilizados, proporcionando luz monocromática e direcional, ideal para TFD superficial e intersticial. A luz do laser é colimada, canalizada por fibras ópticas para áreas específicas, permitindo uma dosimetria uniforme. LEDs, por sua vez, são usados principalmente em tumores superficiais, podendo ser adaptados para aplicação endoscópica e intersticial. Lâmpadas, como fluorescentes, incandescentes e de haleto de metal, também são empregadas, gerando luz incoerente com ampla largura espectral. A fonte de luz e o dispositivo de distribuição devem assegurar iluminação adequada em todo o volume do tecido-alvo, alcançando a potência óptica necessária e penetrando no tecido. Lasers, operando em modos pulsado e contínuo, apresentam vantagens específicas, enquanto LEDs são superiores para o tratamento de grandes lesões na pele, considerando vantagens econômicas (SANTOS, 2020). Algumas das vantagens e desvantagens das fontes de luz são descritas na tabela (Tabela 2) a seguir:

**Tabela 2 - Vantagens e Desvantagens dos Lasers, LEDs e as Lâmpadas**

Fonte de Luz	Vantagens	Desvantagens
Laser	Capaz de alta potência; Altamente monocromático; Adaptável a vários tipos de fibras.	Relativamente caro; Pode ser grande; Requer alta manutenção.
LED	Baixo custo; Compacto e adaptável; Pode ser usado diretamente para aplicações tópicas.	Efeitos térmicos; Baixa potência; Largura espectral ampla; Grande divergência de feixe.
Lâmpada	Design simples; Baixo custo; Alta faixa de irradiação; Facilidade de transporte.	Pode sofrer perda de acoplamento com guias de luz; Espectro muito amplo; Grande divergência de feixe; Necessário filtro óptico.

Fonte: SANTOS, 2020 (Modificada).

Diversas fontes de luz podem ser empregadas na TFD tópica, sendo a absorção máxima das porfirinas na faixa de 405 nm, conhecida como banda *Soret*. Além disso, existem picos menores chamados de *Q-bands*, localizados em 510, 545, 580 e 630 nm. Estudos clínicos frequentemente utilizam luz na faixa de 625 a 633 nm, permitindo melhor penetração na pele.

As fontes de luz para TFD podem ser categorizadas em três grupos principais: lâmpadas de amplo espectro, lâmpadas de diodo e lasers (ISSA et al., 2010).

As fontes não coerentes descritas em estudos clínicos incluem lâmpadas halógenas de diapositivos, LED e, mais recentemente, LIP. A variedade de equipamentos com emissão de luz não coerente é vasta, abrangendo um espectro coincidente com os picos de absorção da *Pp IX*. A luz com comprimento de onda de 635 nm, por exemplo, penetra cerca de 6 mm na pele, em comparação com 1 a 2 mm na faixa de 400-500 nm. A profundidade terapeuticamente efetiva parece situar-se em torno de 1-3 mm ao utilizar 635 nm, dependendo da dose de luz e da quantidade de fotossensibilizante no tecido alvo (ISSA et al., 2010).

Os lasers, com seu comprimento de onda específico correspondente ao pico de absorção do fotossensibilizante, têm a capacidade de emitir luz monocromática de alta fluência. Isso, aliado à precisão do foco, torna-os ideais para tratar pequenas lesões com mínimo dano ao tecido circundante e em curtos intervalos de tempo. Contudo, para o tratamento de condições dermatológicas com TFD e sensibilizantes à base de protoporfirinas, os lasers podem não oferecer vantagens sobre equipamentos mais acessíveis e práticos, como as fontes de luz não coerentes. Estas últimas conseguem emitir um amplo campo de irradiação, possibilitando o tratamento de áreas cutâneas mais extensas (ISSA et al., 2010).

#### **2.4. TIPOS DE FOTOSSENSIBILIZADORES**

Além da luz e do oxigênio, os fotossensibilizadores representam um dos três fatores fundamentais no processo da TFD. Sua capacidade de absorver luz em um comprimento de onda específico resulta na geração de um estado excitado triplete, culminando na formação de EROs. As espécies fotossensibilizadoras podem ser categorizadas com base em estruturas básicas, como porfirina, clorina, cianina, e outros corantes, como azul de toluidina, azul de metileno, azul de dimetileno, Rosa Bengal e Hipericina. Além disso, os fotossensibilizadores são classificados em diferentes gerações, como primeira, segunda e terceira geração (SANTOS, 2020).

Diversos estudos foram conduzidos nas últimas décadas para aprimorar a eficácia e seletividade dos FS (Tabela 3). Alguns desses esforços concentraram-se no desenvolvimento de FS capazes de absorver energia em comprimentos de onda mais extensos, permitindo uma penetração mais profunda da fonte de iluminação. Isso possibilita atingir células tumorais localizadas em regiões mais profundas. Outros estudos visaram melhorar a entrega e interação

dos FS com sistemas biológicos (Tabela 4). Idealmente, espera-se que um FS se acumule preferencialmente no tecido tumoral, sendo eliminado rapidamente do tecido normal (SANTOS, 2020). Abaixo estão algumas propriedades gerais descritas por Santos (2020) que os FS devem possuir:

- Características fotofísicas favoráveis;
- Baixa citotoxicidade no escuro;
- Alto rendimento quântico do estado triplete;
- Tempo de vida útil do triplete apropriado para interagir com o oxigênio molecular e outros substratos para gerar quantidade de EROs suficiente;
- Simplicidade na formulação, boa reprodutibilidade e alta estabilidade do formulado;
- Farmacocinética favorável (rápida eliminação do corpo);
- Facilidade de manuseio sintético que permita efetuar modificações para otimizar as propriedades desejáveis;
- Alta afinidade e penetração no tecido doente em detrimento do tecido saudável (seletividade);
- Disponibilidade na forma pura;
- As bandas de absorção não devem se sobrepor à banda de absorção de outras substâncias no corpo, incluindo corantes endógenos como melatonina, hemoglobina ou oxiemoglobina;
- Alta solubilidade nos sistemas fisiológicos;
- Alta seletividade para tecidos neoplásicos: o fotossensibilizador deve ser retirado lentamente das áreas afetadas, mas ser eliminado rapidamente dos tecidos saudáveis, minimizando assim os efeitos colaterais fototóxicos da terapia.

**Tabela 3 - Fotossensibilizadores usados em TFD clínica**

Nome Comercial (Classe)	Fórmula molecular	Comprimento de onda de excitação (nm)	Rendimento Quântico	Coefficiente de extinção molar ( $M^{-1} cm^{-1}$ )	Principais aplicações
Photofrin® (porfirina)	$C_{34}H_{38}N_4NaO_5^+$	630	0,01 em PBS	$3.0 \times 10^5$ em PBS	Câncer de esôfago, pulmão e endobrônquico
Ameluz® (porfirina)	$C_5H_9NO_3 \cdot HCl$	630	-	-	Queratose actínica e carcinoma basocelular

AlaCare®	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	630	-	-	Queratose actínica
Levulan® (porfirina)	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>	635	0,56	5.0 × 10 <sup>3</sup>	Queratose actínica
Hexvix®	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>	635	-	<1.0 × 10 <sup>3</sup>	Câncer de bexiga
Foscan® (cloro)	C <sub>44</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> N <sub>4</sub>	652	0,43 em metanol	3.0 × 10 <sup>4</sup> em metanol	Cânceres de cabeça e pescoço
Laserfirina® (cloro)	C <sub>38</sub> H <sub>37</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub>	664	0,77 em PBS	4.0 × 10 <sup>4</sup> em PBS	Cânceres de pulmão e esôfago e tumores cerebrais
Metvix® (porfirina)	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	570–670	-	<1.0 × 10 <sup>3</sup>	Carcinoma basocelular, doença de Bowen e ceratose actínica
Visudyne® (porfirina)	C <sub>82</sub> H <sub>84</sub> N <sub>8</sub> O <sub>16</sub>	690	0,7 em metanol	3.4 × 10 <sup>4</sup> em metanol	Degeneração macular relacionada à idade
Redaporfina® (LUZ11) (bacterioclorina)	C <sub>48</sub> H <sub>38</sub> F <sub>8</sub> N <sub>8</sub> O <sub>8</sub> S <sub>4</sub>	749	0,43 em etanol	140 × 10 <sup>3</sup> em etanol	Câncer do trato biliar

Fonte: CORREIA et al., 2021 (Modificada).

**Tabela 4 - Fotossensibilizadores em ensaios clínicos para uso em PDT**

Nome comercial	Fórmula molecular	Comprimento de onda de excitação (nm)	Rendimento Quântico	Coefficiente de extinção molar (M <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )	Principais aplicações
Radaclorina® (cloro)	C <sub>34</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub> C <sub>33</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> C <sub>33</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	662	0,52–0,62	3.42 × 10 <sup>4</sup>	Câncer de pele
Photochlor® (cloros)	C <sub>39</sub> H <sub>48</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>	664	0,48 em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	4.75 × 10 <sup>4</sup> em micelas de Tween-80 a 1%	Câncer de cabeça e pescoço
Purlytin® (purpurina)	C <sub>37</sub> H <sub>42</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> Sn	664	0,7 em acetona	2.8 × 10 <sup>4</sup>	Degeneração macular relacionada à idade
Fotolon® (cloro)	C <sub>34</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	665	0,63 em dimetilformamida	5.0 × 10 <sup>4</sup> em éter dietílico	Sarcoma nasofaríngeo
Lutrin® (texafirina)	C <sub>52</sub> H <sub>72</sub> LuN <sub>5</sub> O <sub>14</sub>	732	4,2 × 10 <sup>4</sup> em metanol	0.11 em metanol	Doença arterial coronária
TOOKAD® (WST09) (bacterioclorina)	C <sub>37</sub> H <sub>41</sub> K <sub>2</sub> N <sub>5</sub> O <sub>9</sub> PdS	762	0,99 em solvente orgânico	8.85 × 10 <sup>4</sup>	Câncer de próstata

Fonte: CORREIA et al., 2021 (Modificada).

## 2.5. AZUL DE METILENO

Descoberto por Heinrich Caro em 1876, o azul de metileno (Figura 3) é um corante orgânico fenazínico redox inicialmente reconhecido como indicador de oxidação-redução e corante citológico. Suas propriedades fotoquímicas essenciais tornam-no um

fotossensibilizante utilizado na inativação de bactérias (CAVALCANTI, 2011; CARNEIRO et al., 2022).

O AM é um azo corante heterocíclico aromático básico com peso molecular de 319,85 g.mol<sup>-1</sup>, catiônico, possuindo carga positiva descentralizada, e que apresenta fórmula molecular C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S·3H<sub>2</sub>O e color index 52015. É um composto 23 carregado positivamente, formando uma solução estável em água e álcool em temperatura ambiente (LIMA et al, 2007; OLIVEIRA et al., 2019). Com uma fórmula química que apresenta carga positiva, o AM manifesta uma afinidade especial por sítios celulares com cargas negativas, como mitocôndrias e ácidos nucleicos (CAVALCANTI, 2011).

Embora a fácil redução nos sistemas biológicos resulte em atividade antibacteriana reduzida, a metilação cromofórica deste composto, conforme relatado por Cavalcanti (2011), tem sido considerada uma estratégia para mitigar sua tendência à redução. Apesar de suas características básicas hidrofílicas, a metilação pode criar condições hidrofóbicas, destacando-se a emissão e excitação do AM em solvente orgânico prevalente. A solubilidade do AM em água ocorre devido a uma reação de equilíbrio químico. Na ausência de moléculas de oxigênio, o AM se transforma em leucometileno. É importante observar que sua capacidade de autoagregação contribui para a redução da capacidade de gerar oxigênio singlete durante a excitação dos elétrons (OLIVEIRA et al., 2019).

Sua toxicidade é baixa, apresentando faixa de absorção no UV-visível de 664 nm em água. A maior aplicação do corante é como agente fotossensibilizante em exames oncológicos (LIMA et al, 2007). Para Ghosh e Bhattacharyya (2002), ainda que não apresente muitos riscos em sua forma natural, provoca efeitos indesejáveis quando ingerido, como náuseas, vômitos, gastrite etc.

**Figura 3 - Estrutura Molecular e Modelagem Molecular do Azul de Metileno.**



Fonte: ZHANG et al., 2011

### 2.5.1. FARMACODINÂMICA

Geralmente, AM exerce sua ação primária na membrana externa de bactérias Gram-negativas e na membrana plasmática de bactérias Gram-positivas e fungos. O corante promove alterações em lipídios e/ou lipopolissacarídeos em bactérias Gram-negativas, inativando enzimas e proteínas essenciais presentes na membrana plasmática, resultando na morte microbiana. Em células bacterianas, o sítio principal de ação é o DNA, mas os corantes fenotiazínicos podem ter amplos sítios de ação em microrganismos diversos, como vírus e fungos (CARNEIRO et al., 2022).

Na presença de metemoglobinemia, o azul de metileno revela uma dualidade de efeitos dependendo de suas concentrações. Em concentrações baixas, acelera a conversão para hemoglobina, enquanto em concentrações elevadas, manifesta o efeito oposto, promovendo a formação de metemoglobina, resultando na chamada metemoglobinemia paradoxal, caracterizada pela conversão do íon ferroso da hemoglobina reduzida em íon férrico (SANTOS, 2022).

No cenário de intoxicação por cianeto, o AM desempenha uma função crucial ao se combinar com o cianeto, gerando a cianometemoglobina. Essa interação é significativa para evitar a interferência do cianeto com o sistema citocromo, contribuindo assim para a mitigação dos efeitos tóxicos do cianeto (SANTOS, 2022).

Além disso, o AM demonstra a capacidade de restaurar o tônus vascular, especialmente em casos de choque e síndromes vasoplégicas. Esse efeito ocorre devido à inibição direta da

sintase endotelial do óxido nítrico, através da oxidação do ferro ferroso ligado à enzima. O AM também atua como inibidor da guanilato ciclase solúvel, inibindo o óxido nítrico e o GMP cíclico, resultando na redução do vasorelaxamento. Esses mecanismos conferem ao AM uma abordagem multifacetada no suporte ao tônus vascular em condições críticas, destacando sua versatilidade em diferentes contextos fisiopatológicos (SANTOS, 2022).

### **2.5.2. FARMACOCINÉTICA**

A absorção oral do AM apresenta uma variação de 50% a 95%. Quando administrado via endovenosa, o início de sua ação na redução da metemoglobina ocorre entre 30 a 60 minutos. No plasma, a substância está predominantemente ligada a proteínas. O pico de ação por via oral é atingido em 1 a 2 horas, enquanto, por via endovenosa, ocorre aproximadamente após 30 minutos (SANTOS, 2022).

O AM passa por metabolismo de primeira passagem e sofre redução periférica para azul de leucometileno. Sua eliminação ocorre principalmente através da bile, fezes e urina, sendo a forma inalterada da droga predominante, enquanto cerca de um terço é eliminado como metabólito. A meia-vida de eliminação varia de 5 a 6,5 horas (SANTOS, 2022).

### **2.5.3. MECANISMO DE AÇÃO DO AZUL DE METILENO**

O AM atua principalmente na redução da metemoglobinemia, convertendo a forma oxidada da hemoglobina ( $Fe^{+3}$ ) para a forma reduzida ( $Fe^{+2}$ ), aumentando assim a capacidade de ligação de oxigênio da hemoglobina e melhorando o fornecimento de oxigênio aos tecidos. Essa propriedade, compartilhada pela vitamina C, oferece uma alternativa de tratamento para a metemoglobinemia. Além disso, o AM exerce efeito inibitório sobre as enzimas eNOS, iNOS e guanilato ciclase, resultando na vasoconstrição dos vasos sanguíneos ao inibir o relaxamento muscular liso vascular. No contexto do tratamento da malária, o AM demonstrou melhorar a resposta da cloroquina, reduzindo sua resistência e inibindo a glutatona redutase do *Plasmodium falciparum*, uma enzima que impede a formação de subprodutos desencadeadores da resposta imunológica contra as espécies de *Plasmodium* (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

O Azul de Metileno possui atributos vantajosos para sua aplicação na Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana. Destacam-se a significativa absorção na faixa de 664 nm, alinhada à "Janela Terapêutica", um considerável rendimento quântico de oxigênio singlete e baixa toxicidade. É relevante notar que este composto é comumente utilizado na prática médica

para diversas finalidades terapêuticas, em concentrações superiores às empregadas na TFDa (WAINWRIGHT, 2007; HARRIS, 2004).

A carga positiva e a geometria planar do AM facilitam sua intercalação com a estrutura do DNA, especialmente em regiões ricas em guanina-citosina. Esse processo resulta na quebra da cadeia e degradação oxidativa das bases por meio do oxigênio singlete, conforme descrito por Wainwright em 2000. Adicionalmente, entre os constituintes celulares, o AM apresenta propensão a se acumular preferencialmente na mitocôndria. Essa preferência é atribuída à atração do corante pelo ambiente eletroquímico negativo encontrado na matriz mitocondrial, conforme observado por Severino et al. em 2003.

#### **2.5.4. AZUL DE METILENO E TFD**

É amplamente conhecido que o AM é frequentemente empregado como um agente FS. A sua ação fotodinâmica é capaz de induzir a fotoxidação de substratos biológicos por meio da formação de EROs (AMARAL et al., 2010; NERI et al., 2021). Além disso, já foi documentado que o AM, mesmo na ausência de luz visível, pode se intercalar na estrutura do DNA, ocasionando danos diretos a essa molécula (COSTA et al, 2014; PERUSSI, 2007).

Para administração do agente FS, o AM é administrado no paciente por via oral, intravenosa ou tópica, dependendo da condição médica que está sendo tratada, sendo absorvido pelas células-alvo, onde se acumula (DUTRA, 2013).

Em irradiação com luz adequada, após a administração do AM, o médico irradia a área afetada com luz de uma frequência específica que corresponde à faixa de absorção do corante FS. A luz ativa o AM, que gera oxigênio singlete e outras EROs (DUTRA, 2013).

Já em destruição das células-alvo, as EROs geradas durante a ativação do AM causam danos às células-alvo, resultando em apoptose ou necrose (DUTRA, 2013).

O AM tem sido usado em várias aplicações clínicas de TFD, incluindo o tratamento de certos tipos de câncer, infecções bacterianas e fúngicas, e algumas condições de pele. Além disso, o AM também pode ser usado como um corante vital durante procedimentos médicos para melhorar a visualização de tecidos (PETRELLIS, 2014; GROKOSKI et al., 2018).

Para alguns tratamentos a TFD já foram executadas como tratamento de câncer de bexiga, infecções bacterianas e fúngicas, vasculatura anormal na retina, entre outras. Além das

aplicações mencionadas acima, o AM também tem sido investigado como um agente FS em outras áreas, como tratamento de algumas formas de câncer de pele, tumores gastrointestinais e outras doenças (PETRELLIS, 2014; OLIVEIRA, 2019).

Como já corroborado por Longo & Azevedo (2010) demonstrando que o tratamento com AM nas concentrações de 25 e 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  não evidenciou atividade antimicrobiana em todas as culturas bacterianas analisadas. No caso das culturas provenientes de dentina cariada, a fluência de energia de 6,8  $\text{J}/\text{cm}^2$  não manifestou efeito fotodinâmico quando associada ao AM. Porém, as fluências de 20,55  $\text{J}/\text{cm}^2$  e 61,65  $\text{J}/\text{cm}^2$  mostraram-se eficazes na redução da carga microbiana, sendo a fluência de 61,65  $\text{J}/\text{cm}^2$  a mais recomendada para a aplicação da TFDa. As culturas de *E. coli* demonstraram suscetibilidade à atividade antibacteriana da TFD em todas as fluências de energia testadas. Os resultados evidenciam que a TFD mediada pelo AM, nas concentrações de 25 e 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , em combinação com a irradiação do laser nas fluências de 20,55 e 61,65  $\text{J}/\text{cm}^2$ , resultou em uma redução significativa da carga bacteriana nas culturas provenientes de amostras de dentina cariada analisadas.

#### **2.5.5. APLICAÇÕES DO AZUL DE METILENO NA ÁREA DA SAÚDE**

O AM, pertencente à família das fenotiazinas, é reconhecido há séculos na prática farmacêutica, sendo utilizado no tratamento de infecções urinárias e malária. Sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, especialmente quando administrado intraperitoneal, intraduodenal ou intravenosamente, apresenta alta biodisponibilidade cerebral, influenciando diversos alvos na região cerebral. Descobertas iniciais sugeriram que o AM contribui para a retenção de memória, com estudos subsequentes, desde 1978 até 2009, abrangendo áreas como anestesiologia, tratamentos psiquiátricos e depressão (OLIVEIRA, C. et al., 2019).

Recentes investigações destacam o papel significativo do AM no enfrentamento do Alzheimer, atuando como inibidor da agregação da proteína tau e reduzindo a formação de placas senis, notando-se uma melhoria em funções cognitivas em pacientes tratados em comparação com placebos. Em contextos de envelhecimento precoce, o estresse oxidativo gera EROs que danificam membranas celulares. O AM atua como receptor desses elétrons, formando-se através de reações enzimáticas catalisadas pela xantina oxidase. Tal interação reduz a lesão e a sequestração de neutrófilos, evidenciando benefícios em análises histológicas e minimizando o inchaço intersticial (OLIVEIRA, C. et al., 2019).

Estudos abordando o AM no tratamento da malária são amplamente discutidos na literatura. A malária, uma doença infecciosa prevalente em países subdesenvolvidos, representa uma séria ameaça global à saúde. Causada por protozoários parasitas do gênero *Plasmodium*, transmitidos por mosquitos infectados, o foco de pesquisa tem sido avaliar medicamentos com atividade antimalárica, incluindo o AM como tratamento auxiliar (GALVAN et al., 2021).

Devido à facilidade de acesso e custo reduzido em comparação com outros antimaláricos, como o artesunato-amodiaquina e a primaquina, o AM tem sido utilizado, especialmente em populações mais vulneráveis, como crianças menores de cinco anos. Doses, administradas oralmente em comprimidos ou minicomprimidos, foram ajustadas conforme a idade do paciente. No entanto, efeitos colaterais, como náuseas e vômitos, foram associados à administração oral, especialmente em crianças. Estratégias como a administração com alimentos e doces, como mel, foram exploradas para melhorar a aceitação, embora limitadas para eliminar totalmente os efeitos colaterais (GALVAN et al., 2021).

Apesar das adversidades, estudos indicam resultados notáveis, como a eliminação do *Plasmodium falciparum* em monoterapia com AM e a maior eficácia em terapias combinadas com outros antimaláricos. As propriedades organolépticas do AM em relação à malária apresentam perspectivas promissoras (GALVAN et al., 2021).

O choque séptico, caracterizado por profundas alterações hemodinâmicas, representa um desafio significativo em unidades de terapia intensiva e é uma principal causa de morbidade e mortalidade. Mesmo em economias desenvolvidas, o choque séptico continua sendo uma preocupação de saúde pública. No contexto do choque séptico, o AM demonstra promissora eficácia, melhorando o estado hemodinâmico por meio do aumento do débito cardíaco e da resistência vascular sistêmica. Estudos incluídos nesta revisão destacam a segurança da administração intravenosa de AM, observando melhorias sem efeitos adversos em dosagens de 1 a 3 mg/kg. Contudo, doses excessivas podem ter efeitos adversos na perfusão de tecidos viscerais, sendo importante observar limites seguros para evitar complicações, inclusive letais (GALVAN et al., 2021).

O AM tem sido amplamente estudado para o tratamento da dor lombar discogênica crônica, uma condição marcada pela degeneração dos discos intervertebrais, predominantemente causada por fatores mecânicos. Essa forma de dor, que se agrava ao sentar, tossir ou espirrar, aliviando-se ao caminhar ou levantar, frequentemente vem acompanhada de

sintomas neurológicos avançados, como dormência, fraqueza e incontinência urinária. Com uma prevalência global estimada em 11,9%, a dor lombar discogênica impõe uma alta demanda de tratamento e custos associados. O AM, administrado para desativar pequenas fibras nociceptivas e reduzir processos inflamatórios de degeneração discal ao inibir a produção de óxido nítrico, emerge como uma opção terapêutica alternativa. Contudo, efeitos adversos transitórios, incluindo aumento da dor, tontura, dor irradiada, infecção do trato urinário e fadiga, foram relatados nos seis meses seguintes à exposição (GALVAN et al., 2021).

O AM revelou-se uma opção terapêutica valiosa para transtornos psiquiátricos, com destaque para o TAB e o TEPT. No tratamento do TAB, o AM demonstrou a redução significativa de sintomas residuais de depressão e ansiedade. Sua ação, baseada em mecanismos neuroprotetores, envolve o aumento dos níveis de serotonina/dopamina e a inibição da sintase do óxido nítrico, contribuindo para a neurogênese e tratamento de sintomas remanescentes. A terapia oral com 195 mg de AM mostrou-se bem tolerada, apresentando apenas efeitos colaterais leves, como cromatúria e retenção de líquidos. No contexto do TEPT, o AM evidenciou ser um tratamento adjuvante promissor, melhorando os efeitos da terapia de exposição imaginal, notadamente associada à melhoria da retenção de memória, aprendizado e qualidade de vida. A administração oral de 290 mg de AM foi considerada segura, apresentando apenas efeitos colaterais leves (GALVAN et al., 2021).

Pacientes com dor neuropática refratária, caracterizada por níveis elevados de NO, encontram no AM uma alternativa promissora. O AM atua como inibidor direto da óxido nítrico sintase e bloqueia o acúmulo de cGMP, elementos-chave nos processos de dor neuropática. A administração de AM, em doses como 2 mg/kg ou 0,02 mg/kg, demonstrou eficácia, embora alguns pacientes tenham relatado efeitos adversos transitórios, como dor abdominal e náusea. Não há consenso sobre a dosagem ideal de AM para tratar a dor neuropática, mas estudos apontam para uma dose em bolus de 2 mg/kg administrada ao longo de uma hora (GALVAN et al., 2021).

A doença hemorroidária, conhecida como "hemorroidas", resulta na dilatação dos vasos sanguíneos submucosos anorretais devido à pressão venosa aumentada no plexo venoso retal. Apesar de tratamentos conservadores recomendados, como mudanças no estilo de vida, a hemorroidectomia aberta pode levar a níveis substanciais de dor pós-operatória. Estudos investigam a administração prévia de azul de metileno combinada com anestésico local para reduzir a dor após a hemorroidectomia. O AM, associado à ablação temporária das terminações

nervosas perianais, mostra-se promissor no controle da dor pós-operatória, sem efeitos adversos significativos. No entanto, são necessárias mais pesquisas para validar a eficácia e segurança dessa abordagem (GALVAN et al., 2021).

A dor lombar crônica, uma condição globalmente prevalente, muitas vezes requer tratamento cirúrgico, sendo a discectomia lombar uma intervenção comum. Contudo, essa cirurgia está associada a altos níveis de dor pós-operatória, aumentando o tempo de internação e afetando sistemas de saúde. O AM surge como uma alternativa para controlar a dor após a discectomia lombar. Estudos indicam que uma única dose de 0,5% de AM foi eficaz na redução da dor pós-operatória, sem efeitos adversos significativos. Estes resultados apontam para o potencial do AM como uma opção analgésica eficaz (GALVAN et al., 2021).

Traumas toracolombares podem levar a lesões graves, exigindo fixação de parafusos pediculares posteriores. A dor pós-operatória é comum nesses casos, motivando a busca por abordagens alternativas, como o uso de AM. Estudos indicam que injeções intradérmicas ou intravenosas de AM foram eficazes no controle da dor pós-fixações toracolombares. A administração peridural de 0,5% de AM mostrou-se eficaz, embora seja necessário mais estudo para consolidar seu uso clínico. A simplicidade e acessibilidade dessa abordagem destacam seu potencial, mas pesquisas adicionais com amostras maiores são necessárias para uma compreensão mais completa dos efeitos a longo prazo (GALVAN et al., 2021).

A síndrome vasoplégica, caracterizada por vasodilatação descontrolada e hipotensão, demanda tratamentos alternativos eficazes. O AM surge como uma opção promissora, influenciando a NO sintase para inibir a vasodilatação e aumentar a pressão arterial média. Comparado à noradrenalina, o AM mostrou-se mais eficaz e seguro no tratamento da síndrome vasoplégica. No entanto, recomenda-se mais pesquisa comparativa com outras drogas vasopressóricas. Limitações incluem a busca em uma única base de dados, sugerindo a necessidade de estudos futuros para avaliar a eficácia, segurança e mecanismo de ação do AM em diversas condições de saúde (GALVAN et al., 2021).

O AM possui aprovação da FDA para tratar a metemoglobinemia, uma condição em que ocorre a oxidação do  $Fe^{+2}$  da hemoglobina para  $Fe^{+3}$ , resultando na redução da capacidade de transporte de oxigênio. A metemoglobinemia geralmente se manifesta com cianose nos lábios e extremidades, além de uma característica "urina cor de chocolate" e hipóxia. Essa condição pode ser desencadeada por exposição a certos medicamentos, como dapsona (utilizada na

profilaxia de *Mycoplasma leprae* e *Pneumocystis jirovecii*), benzocaína (um anestésico local), fontes de água em altitudes elevadas e nitritos, como nitroglicerina ou nitrito de amila, que são usados no tratamento da doença arterial coronariana (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

O AM possui diversas indicações, algumas das quais não são aprovadas pela FDA. Uma delas é seu uso na síndrome vasoplégica, um tipo de choque distributivo que ocorre durante procedimentos coronarianos, especialmente na revascularização do miocárdio, quando o uso de epinefrina é refratário, visando aumentar a resistência vascular sistêmica. Outra aplicação é durante mastectomias, onde é utilizado como corante para mapear linfonodos e identificar possíveis sinais de malignidade. Além disso, o AM pode ser empregado para reduzir a dor pós-injeção quando administrado antes da propofol (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

Fora das indicações aprovadas, o AM demonstra eficácia no tratamento do *Plasmodium falciparum* em áreas com resistência à cloroquina e à pirimetamina-sulfadoxina. Também é utilizado no tratamento da encefalopatia induzida pela ifosfamida, prevenindo a formação de metabólitos neurotóxicos responsáveis por essa condição. Outra aplicação inclui a identificação das glândulas paratireoides durante paratireoidectomias (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

O uso *off-label* do AM no tratamento e profilaxia da encefalopatia induzida por ifosfamida é administrado oralmente ou por via intravenosa, geralmente na dose única de 50 mg ou a cada 4 a 8 horas até o desaparecimento dos sintomas. Em casos de profilaxia, a dose recomendada é de 50 mg, administrada oral ou intravenosamente, a cada 4 ou 8 horas no dia anterior ou no dia dos cursos subsequentes de ifosfamida (SANTOS, 2022).

Embora haja plausibilidade biológica para o uso do AM na sepse e choque séptico, estudos são escassos e controversos em relação à melhora na taxa de mortalidade, não sendo recomendado pelas diretrizes da sepse (SANTOS, 2022).

Outras indicações *off-label* incluem o uso como agente tópico para cromoscopia diagnóstica, tratamento de onicomicose, mapeamento do linfonodo sentinela em cirurgias de câncer de mama, enfrentamento de superdosagem de betabloqueadores ou bloqueadores dos canais de cálcio, e no tratamento da síndrome de vasoplegia associada à cirurgia cardíaca. Essas aplicações mostram a versatilidade do azul de metileno em diversas áreas da prática clínica (SANTOS, 2022).

### 2.5.6. EFEITOS ADVERSOS E SUAS APLICAÇÕES

O AM, apesar de seus benefícios terapêuticos, não está isento de contraindicações e efeitos colaterais, demandando precauções ao ser administrado. Pacientes com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase são suscetíveis a efeitos adversos metabólicos, como anemia hemolítica. O uso indiscriminado pode resultar na coloração azul-esverdeada da urina, associada à redução do eritrócito que converte o azul de metileno em azul de leucometileno. A magnitude dessas consequências está diretamente relacionada à dosagem (2 mg/kg) e à forma de administração (conforme indicado na Tabela 5). Recomenda-se a consulta médica prévia ao uso do AM para evitar tais efeitos adversos (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

A descoloração verde-azulada da urina figura entre os efeitos adversos mais comuns do AM. Além disso, a dor nos membros após administração intravenosa é uma ocorrência frequente. O AM, quando combinado com outros medicamentos serotoninérgicos, como ISRSs, SNRIs, IMAOs e TCAs, pode contribuir para a síndrome da serotonina devido à sua atividade IMAO. Essa síndrome, caracterizada pelo aumento da atividade simpática e neuromuscular, apresenta sintomas como diaforese, clônus e tremores. Em adultos, o AM pode provocar sintomas relacionados ao sistema nervoso central, incluindo tonturas, confusão e dores de cabeça. A administração em neonatos pode resultar em hiperbilirrubinemia, depressão respiratória, edema pulmonar, fototoxicidade e anemia hemolítica. Portanto, é crucial considerar esses potenciais efeitos colaterais e contraindicações antes da utilização do AM, especialmente em determinados grupos populacionais (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

**Tabela 5 - Reações adversas de acordo com a via de administração**

Vias de administração	Efeitos adversos
Oral	Confusão, dor de cabeça, febre, náuseas, vômito, dor abdominal, diaforese.
Intravenosa	Arritmia cardíaca, vasoconstrição coronariana, diminuição do fluxo sanguíneo.
Subcutâneas/Intradérmica	Abscessos necróticos.

Fonte: OLIVEIRA et al, 2019 (Modificada).

O AM é contraindicado em pacientes que tenham manifestado hipersensibilidade ou anafilaxia após administrações anteriores e naqueles com deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase, devido à predisposição para anemia hemolítica. Indivíduos que desenvolvem anemia hemolítica nesse contexto podem apresentar icterícia e corpos de *Heinz* característicos no esfregaço de sangue periférico. Mulheres grávidas também têm contraindicação ao AM, com a FDA atribuindo uma classificação de classe X de gravidez devido a casos de atresia intestinal

e morte fetal após injeção intra-amniótica, especialmente no segundo trimestre (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

Em casos de anafilaxia, não há antídoto específico para tratar a toxicidade do AM. Recomenda-se interromper imediatamente a administração do medicamento e fornecer cuidados de suporte. Embora casos graves de choque anafilático relacionado ao AM sejam raros, é essencial adotar medidas adequadas em resposta a essa reação adversa. A combinação do AM com medicamentos que incluem ou potencializam a serotonina pode levar a complicações graves, dada sua propriedade inibidora da monoamina oxidase. Doses superiores a 5 mg/kg podem precipitar toxicidade serotoninérgica (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

Quando interage com a dapsona, um antibiótico da classe das sulfonas, utilizado no tratamento de doenças autoimunes, o AM pode produzir anemia hemolítica ao oxidar a hemoglobina. Além disso, o AM atua como IMAO, sendo necessária precaução ao ser administrado em pacientes que fazem uso de medicamentos serotoninérgicos, como citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, paroxetina e sertralina, devido ao risco de interação medicamentosa (OLIVEIRA et al., 2019). Em doses terapêuticas inferiores a 2 mg/kg, o AM é considerado seguro, mas a exposição a níveis superiores a 7 mg/kg pode resultar em diversos efeitos adversos. A síndrome serotoninérgica pode ocorrer com a combinação de agentes serotoninérgicos e AM na dose de 5 mg/kg. Cautela também é recomendada em pacientes com insuficiência renal, devido à capacidade do AM de reduzir o fluxo sanguíneo renal. Portanto, a administração de AM requer uma avaliação cuidadosa do histórico médico e do perfil de medicação do paciente para evitar possíveis complicações e efeitos colaterais (BISTAS; SANGHAVI, 2023).

## **2.6. APLICAÇÕES DO TFD NA ÁREA DA SAÚDE**

A TFD é uma técnica versátil e promissora que pode ser aplicada em diversas áreas médicas (CARNEIRO et al., 2022). Contudo, durante a exposição à luz, os pacientes podem experimentar dor, manifestada como queimação, ardência ou prurido restrito à área tratada. O desconforto e a dor surgem minutos após o início da irradiação, indicando a resposta nervosa e/ou o dano tecidual causado pelo oxigênio reativo. O principal efeito colateral, que é a dor, persiste por algumas horas e tende a diminuir com o tempo (ISSA et al., 2010).

Em relação aos FS sistêmicos, a principal complicação é a fotossensibilidade cutânea generalizada. O ALA, por exemplo, pode causar náusea e vômito em uma proporção de 7% a

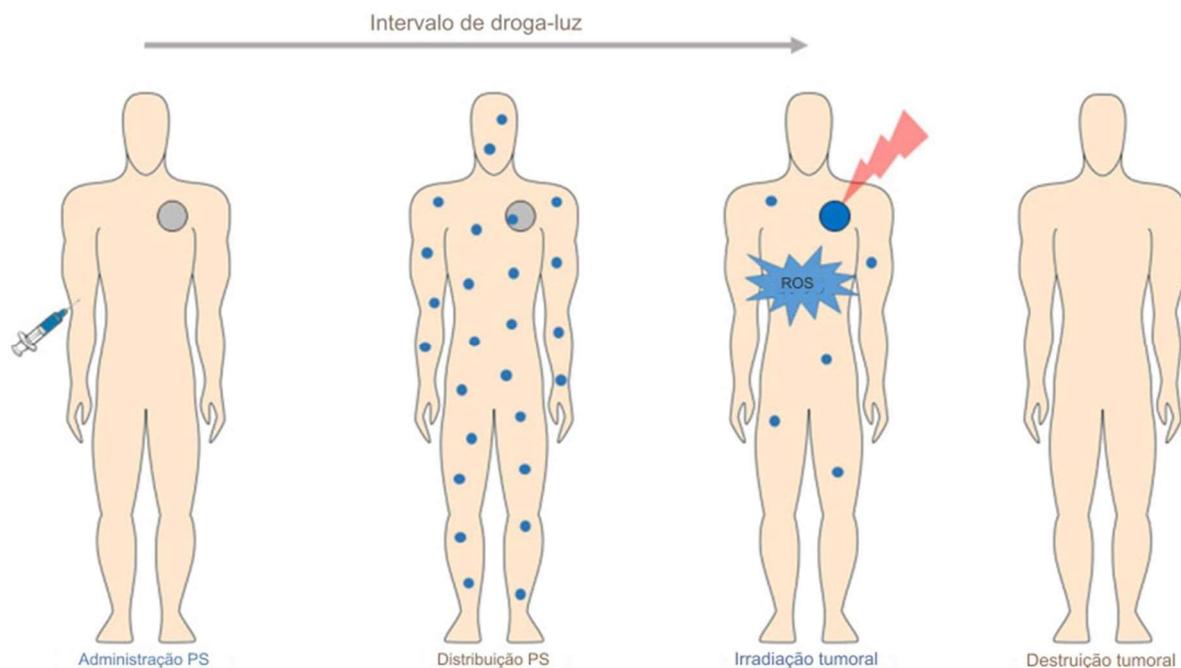
19%, além de provocar alterações transitórias nas enzimas hepáticas. No contexto da terapia fotodinâmica tópica, o eritema e o edema podem ser gerenciados com corticoides tópicos ou, em alguns casos, sistêmicos. O processo normal inclui a formação de crostas, descamação e prurido com intensidade variável ao longo de duas a oito semanas. Fotofobia e desconforto ocular são possíveis. Discromias geralmente são reversíveis em alguns meses. Complicações graves, como bolhas, úlceras ou necrose, são raras e sugerem uma exposição de alta energia com fototoxicidade. Além disso, deve-se considerar a possibilidade de reações alérgicas aos fotossensibilizantes ou aos veículos utilizados (ISSA et al., 2010).

### **2.6.1. TRATAMENTO DE CÂNCER**

A aplicação mais conhecida do TFD é no tratamento de certos tipos de câncer. É especialmente eficaz no tratamento de tumores superficiais e lesões pré-cancerígenas na pele, esôfago, pulmões e outros órgãos. A TFD envolve a administração de um agente FS que se acumula nas células cancerosas e, em seguida, é ativado por luz específica, gerando EROs que destroem as células malignas (Figura 4) (ALGORRI et al, 2021; MOGHISSI et al, 2007; WU et al, 2019; BIEL, 2006).

A TFD tem sido investigada como uma alternativa no tratamento de tumores ginecológicos, como o câncer de colo do útero e o câncer de endométrio (UNANYAN et al, 2021; MATOBA et al, 2018).

**Figura 4 - Representação da aplicação clínica do protocolo PDT para o tratamento de tumor sólido e localizado.**



Fonte: CORREIA et al., 2021 (Modificado)

### 2.6.2. OFTALMOLOGIA

Na oftalmologia, a TFD é empregada para tratar certos distúrbios da retina, como a DMRI com neovascularização subfoveal (KAISER et al, 2012; YOU et al, 2023).

### 2.6.3. ODONTOLOGIA

O TFD é uma opção de tratamento para infecções dentárias, como periodontite (inflamação das gengivas) e endodontite (infecção do canal radicular). Também é usado para a desinfecção de canais radiculares durante o tratamento de canal (GURSOY et al, 2013; SOUZA et al, 2020).

### 2.6.4. TERAPIA VASCULAR

A TFD pode ser utilizada para tratar malformações vasculares, como malformações venosas e linfáticas, bem como para reduzir o tamanho de hemangiomas (ZHANG et al, 2021; VALDEBRAN et al, 2017).

A TFD é estudada para o tratamento de estenoses (estreitamentos) em vasos sanguíneos e outras doenças vasculares (MAIER et al, 2002; NAKAGISHI et al, 2008; WANG et al, 2023).

## 2.6.5. INFECÇÕES BACTERIANAS, FÚNGICAS, VIRAIS E PROTOZOÁRIAS, E INFLAMAÇÕES

Microrganismos, incluindo bactérias, fungos, leveduras e vírus, têm a capacidade de serem eliminados por meio da exposição à luz visível quando tratados com um fotossensibilizador adequado (GAD, 2004). A TFD tem sido estudada como uma abordagem para o tratamento de infecções bacterianas, fúngicas e protozoárias com resistência medicamentosa, sendo especialmente útil em casos de infecções localizadas, como a periodontite e a leishmaniose (VARZANDEH et al, 2021; SALVI et al, 2020; QI et al, 2019).

A preocupante resistência de bactérias patogênicas a antibióticos tem impulsionado a busca por terapias alternativas, destacando a Terapia Fotodinâmica antimicrobiana (GAD, 2004; ZEINA, 2002). Diferentemente da Terapia Fotodinâmica de câncer, a TFD pode ser localmente aplicada, proporcionando uma opção eficaz para infecções localizadas. A TFD tem demonstrado eficácia significativa na redução de microrganismos, sem desenvolvimento notório de resistência microbiana (HAMBLIN, 2004). Bactérias Gram-positivas tendem a ser mais susceptíveis à TFD do que Gram-negativas devido a diferenças estruturais em suas paredes celulares (MAISCH, 2005). Fungos, como a *Candida albicans*, apresentam resistência adicional devido à membrana nuclear, superada pelo uso de conjugados de fotossensibilizadores (DEMIDOVA, 2005). A hidrofobicidade e carga dos fotossensibilizadores influenciam suas interações com as organelas, tornando os positivamente carregados mais eficientes em bactérias (TARDIVO, 2005). O *Helicobacter pylori*, causador de úlceras gástricas, foi erradicado em um teste clínico de TFD, destacando a promissora aplicação clínica dessa abordagem. O caminho biossintético do heme em bactérias, semelhante ao de células de mamíferos, permite o uso de porfirinas como alvo em TFD (HAMBLIN, 2004). A aplicação tópica de ALA-5 e luz vermelha mostrou sucesso no tratamento da acne, eliminando inflamações por semanas. A TFD surge como uma alternativa eficiente e promissora no combate a infecções, contribuindo para superar desafios associados à resistência antimicrobiana (MEFFERT, 1990; WILDER-SMITH, 2002).

Leveduras, como *Saccharomyces marxianus*, servem como organismos-modelo para avaliar o dano celular por TFD em células eucarióticas (LAMBRECHTS, 2005). O aumento de infecções fúngicas, especialmente em pacientes imunocomprometidos, tem gerado a necessidade crescente de tratamentos fungicidas eficazes. Atualmente, a maioria dos agentes disponíveis é fungistática, apenas inibindo a multiplicação, e o uso frequente de antifúngicos

convencionais contribui para o surgimento de cepas resistentes (CARRÉ, 1999). Diante desse cenário, a TFD em fungos, com foco em patógenos como *Candida albicans*, torna-se uma área de pesquisa promissora. Estudos têm explorado diversos fotossensibilizadores, incluindo hematoporfirinas aniônicas, clorinas, ftalocianinas Cl-Al hidrofóbicas, azul de toluidina e porfirinas catiônicas (STRAKHOVSKAYA, 2002). Observou-se que a membrana citoplasmática é frequentemente o alvo desses tratamentos (LAMBRECHTS, 2005). Apesar do interesse renovado na TFD para fungos, os estudos sistemáticos ainda são limitados em comparação com pesquisas em bactérias, especialmente no que diz respeito às características moleculares essenciais para a eficácia do fotossensibilizador em diferentes espécies de microrganismos (HAMBLIN, 2004).

A maioria dos estudos concentra-se na esterilização de sangue e produtos sanguíneos *in vitro*, com foco principal em vírus. Em aplicações clínicas, a TFD tem se mostrado eficaz no tratamento do papilomavírus, onde terapias convencionais enfrentam desafios de recorrências múltiplas. A utilização do éter de diematoporfirina resultou em uma redução significativa na taxa de crescimento do papiloma em pacientes acompanhados por três anos (SHIKOWITZ, 1998).

Outros estudos exploram a eficácia de porfirinas na inativação de patógenos humanos, como o vírus da hepatite A, em líquidos biológicos. Experimentos demonstraram uma inativação de 99,9% tanto para o vírus da hepatite A quanto para o bacteriófago MS2, indicando que a TFD pode ser uma abordagem segura para remover vírus não envelopados em meios aquosos. Observa-se uma maior susceptibilidade de vírus envelopados com lipídeos à TFD em comparação com cepas não-envelopadas (CASTEEL, 2004).

Outro estudo mostrou a relevância da TFD no contexto do vírus da herpes simplex, uma causa comum de infecções virais em humanos. A resistência emergente aos fármacos antivirais tradicionais e os efeitos colaterais destacam a necessidade de desenvolver novas abordagens terapêuticas. Nesse sentido, estudos preliminares mostraram a fotoatividade de derivados da meso-tetrafenilporfirina contra o vírus da herpes simplex, alcançando 99% de inativação do vírus após 15 minutos de irradiação. Esses resultados indicam a promissora aplicação da TFD como uma alternativa efetiva e segura no combate a infecções virais (SILVA, 2005).

A TFD destaca também a eficácia no combate a parasitas humanos patogênicos, como o *Plasmodium falciparum* responsável pela malária e o *Trypanosoma cruzi* causador da doença

de Chagas. A combinação de fotossensibilizadores, como derivados de N-feoforbídeo e ftalocianinas de silício, com luz demonstra a capacidade de inativação desses parasitas. Além disso, a TFD também se mostra eficaz na eliminação de ovos de helmintos humanos em água de esgoto, utilizando porfirina catiônica meso-substituída e luz (KLIUKIENE, 1996; GRELLIER, 1997; ALOUINI, 2001).

A TFD pode ser aplicada para tratar algumas doenças inflamatórias, como a DIP e a artrite reumatoide (WICKENHEISSER et al, 2019; ZHANG et al, 2022).

### **2.6.6. DERMATOLOGIA**

A TFD é amplamente utilizada na dermatologia para o tratamento de várias condições de pele, incluindo acne, queratose actínica (lesões pré-cancerosas), carcinomas basocelulares superficiais, doença de Bowen e alguns tipos de psoríase (TANG et al, 2020; PATEL et al, 2014; WANG et al, 2014; FANG et al, 2021).

#### **2.6.6.1. TRANSPLANTE DE PELE**

A pele desempenha várias funções essenciais no organismo, como proteção contra agressões e infecções, regulação da temperatura e alerta para estímulos externos. Lesões graves na pele, como queimaduras de terceiro grau, podem ser fatais sem intervenção rápida e especializada. Os médicos reconhecem a eficácia da pele humana como a melhor bandagem para queimaduras graves. Quando um paciente não pode ser seu próprio doador de pele, enxertos de pele de um doador falecido são essenciais para a cura. O enxerto de pele é um procedimento cirúrgico no qual um segmento de tecido, composto por epiderme e derme, é transplantado de uma área doadora para uma área receptora. Este procedimento é vital para cobrir áreas do corpo que perderam substância cutânea devido a lesões, queimaduras ou cirurgias. A cirurgia de enxerto de pele envolve a retirada de uma porção de pele de uma área doadora, que é então fixada na área danificada. Existem vários tipos de enxertos de pele, incluindo autoenxerto (doador e receptor são a mesma pessoa), homoenxerto (doador e receptor são da mesma espécie) e xenoenxerto (de espécies diferentes). A cirurgia de enxerto de pele pode apresentar complicações, como infecções e problemas relacionados ao tipo de enxerto. A equipe de enfermagem desempenha um papel crucial na observação pós-operatória e no cuidado do paciente, especialmente para evitar complicações como infecções e seromas. O sucesso do enxerto de pele depende da adequada preparação do leito receptor e da escolha cuidadosa do tipo de enxerto (SILVA et al., [s.d.]).

O transplante de pele de doador alogênico é uma abordagem temporária para tratar queimaduras e feridas crônicas. Utilizado em queimaduras de espessura total, a pele alogênica serve como cobertura temporária até que pele autóloga suficiente esteja disponível. A técnica sanduíche envolve cobrir a pele autóloga com pele alogênica para prevenir desidratação. A rejeição da pele alogênica ocorre devido à imunogenicidade, desencadeando uma resposta imune que destrói o enxerto em cerca de 10 a 14 dias. As células epidérmicas de Langerhans desempenham um papel na rejeição, migrando para os linfonodos, onde as células T são ativadas. Estratégias para reduzir a rejeição incluem supressão imunológica do receptor e pré-tratamento do enxerto. O pré-tratamento da pele alogênica com glicocorticoides, como a dexametasona, retarda a rejeição, enquanto o armazenamento em glicerol preserva a pele, prolongando o início da rejeição em média 6 dias. Essas abordagens mostram resultados clínicos superiores em comparação com enxertos crio-preservados (FILHO et al., 2009).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. GERAL**

Avaliar a degradação do azul de metileno com exposição de luz em comprimento de onda 660 nm para a utilização do mesmo em terapia fotodinâmica antimicrobiana.

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

- Dosar o azul de metileno em diferentes densidades de energia;
- Pesquisar o azul de metileno;
- Diluir o azul de metileno na água;
- Dosar a absorvância do azul de metileno no espectrofotômetro;

### **4. JUSTIFICATIVA**

Os avanços da medicina se tornam cada vez mais ágeis, proporcionando, um diagnóstico de doenças mais rápido, bem como a possibilidade de cura dessas doenças. As inovações tecnológicas, como a robótica, Telemedicina e wearables, permitem a melhora em tratamentos e mudanças para o futuro da área da saúde. Isso tem acontecido por uma série de motivos, que incluem o aumento no investimento global em pesquisa de ponta, popularização de determinados tipos de materiais e também o aumento do conhecimento da informática.

Por isso, a medicina e a tecnologia, juntas, têm dado grandes passos rumo a novidades para prevenir e tratar doenças graves, bem como um aumento na expectativa de vida mundial, como o caso da terapia fotodinâmica antimicrobiana.

### **5. METODOLOGIA**

#### **5.1. CARACTERIZAÇÃO DO ESTUDO**

Foi realizado um estudo experimental, analítico e quantitativo. Realizou-se um estudo *in vitro* da degradação do azul de metileno.

## 5.2. REAGENTES E EQUIPAMENTOS

Foi utilizado o fotossensibilizador azul de metileno (Sigma Aldrich®, São Paulo, SP, Brasil). Este agente fotossensibilizante foi diluído em 1 litro de água destilada para atingir a concentração de 20  $\mu\text{M}$ .

A luz usada para ativar o azul de metileno na PDT foi um equipamento de fonte de luz LED com comprimento de onda específico de  $660 \pm 10 \text{ nm}$ , com uma irradiância constante de  $I=0,017\text{W}/\text{cm}^2$ .

Foi utilizado o equipamento cedido pela Universidade Estadual de Goiás, o espectrofotômetro da marca Perkin Elmer, modelo Lambda 35 (Figura 5), juntamente com cubetas de quartzo (Figura 6), que permitem uma melhor análise de elementos no espectro UV/vis.

**Figura 5 - Espectrofotômetro Perkin Elmer Lambda 35**



Fonte: Elaboração própria.

**Figura 6 - Cubetas de Quartzo para leitura no Espectrofotômetro**



**Fonte:** Elaboração própria.

O espectrofotômetro UV-VIS gera uma planilha no Excel com os números obtidos pela leitura da amostra, para transformar em planilha em gráfico, é utilizado o software *Origin*. O *Origin* é um software gráfico para análise de dados e estatística desenvolvido pela *Originlab* para execução em plataforma Windows.

Neste estudo, foram realizadas diluições de azul de metileno de acordo com um protocolo específico e em triplicata. A escolha de realizar experimentos em triplicata é amplamente aceita em laboratórios de ensino, pois equilibra a precisão dos resultados com o esforço necessário.

A média dos três resultados obtidos nas diluições é considerada a melhor estimativa do conteúdo do analito nas amostras, enquanto o desvio padrão fornece uma medida da variação experimental associada às determinações, conforme descrito por Passari et al (2011).

### **5.3. PROTOCOLO**

Foram pesados em balança analítica 36 mg de azul de metileno em 0,1 L de água destilada em um balão volumétrico de 100 mL. Após a preparação, foi diluído para 20  $\mu\text{M}$ , onde foi analisado a degradação do azul de metileno em exposição de luz 660 nm nos

respectivas dosagem, para otimização e compreensão da degradação do azul de metileno:  $t=0$  J/cm<sup>2</sup>,  $t=20$  J/cm<sup>2</sup>,  $t=40$  J/cm<sup>2</sup>,  $t=60$  J/cm<sup>2</sup>,  $t=80$  J/cm<sup>2</sup> e  $t=84$  J/cm<sup>2</sup>.

Para a execução do protocolo, foi utilizado uma placa de cultivo celular estéril, produzida em poliestireno e fundo plano, e um aparelho que emitia luz azul de 660 nm. Para ter uma melhor visão da degradação foi analisado em triplicata, cada um com 3 mL de azul de metileno de concentração 20  $\mu$ M.

As diluições do azul de metileno foram preparadas de acordo com o protocolo estabelecido e em três repetições. A execução de experimentos em triplicata é uma prática comum em laboratórios de ensino, uma vez que representa um equilíbrio aceitável entre precisão e esforço. A média dos três resultados é considerada a estimativa mais confiável do conteúdo do analito na amostra, enquanto o desvio padrão fornece uma medida da variação experimental associada à determinação (PASSARI et al, 2011).

Foi feito a diluição do azul de metileno em uma balança analítica e um Erlenmeyer. Após a diluição, o Erlenmeyer foi resguardado com alumínio (Figura 7) para que não houvesse degradação da amostra feita. Com a utilização de uma placa de cultivo celular estéril (Figura 8) e uma micropipeta de 1.000  $\mu$ L, fornecida pela Universidade Estadual de Goiás, foram colocadas as três amostras em sequencial para que a distribuição de luz seja igualmente disseminada para as amostras serem degradadas igualmente. A cada fim de exposição da luz foi removida a alíquota de 3 mL e transferida para a cubeta de quartzo para análise no espectrofotômetro. Enquanto uma amostra era analisada, as outras ficavam cobertas por alumínio para não obter degradação externa.

**Figura 7 - Erlenmeyer com Azul de Metileno protegido com alumínio para não haver fotodegradação**



Fonte: Elaboração própria.

**Figura 8 - Placa de Cultivo Celular utilizado para armazenar as amostras durante o experimento**



Fonte: site Spectrun.



## 6. RESULTADO E DISCUSSÃO

Foram feitas as medidas em  $0 \text{ J/cm}^2$ ,  $20 \text{ J/cm}^2$ ,  $40 \text{ J/cm}^2$ ,  $60 \text{ J/cm}^2$ ,  $80 \text{ J/cm}^2$  e  $84 \text{ J/cm}^2$  para a utilização do azul de metileno como profilaxia e foram analisadas por espectrofotometria de UV-VIS a degradação das três amostras, gerando um gráfico de média dessas amostras.

Esta investigação foi conduzida sob iluminação na faixa de comprimento de onda de 660 nm, com uma dose de luz de  $5 \text{ J/cm}^2$ . No contexto de um protocolo de Terapia Fotodinâmica, o fenômeno de fotobranqueamento é um indicador da eficácia de um fotossensibilizador. Ele ocorre devido à formação de  $^1\text{O}_2$  e EROs. O fotobranqueamento é, portanto, uma maneira de avaliar a capacidade de gerar as espécies oxidativas necessárias para alcançar um efeito fotoantimicrobiano (PERUSSI, 2007).

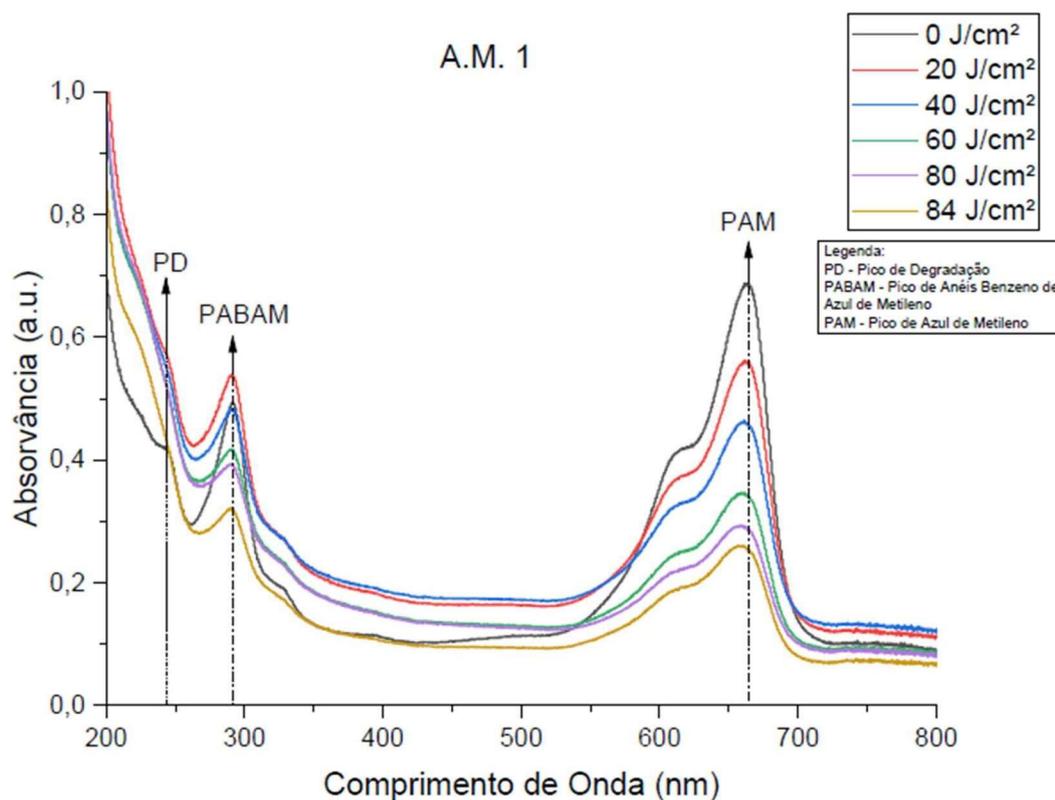
Como visto nas Figuras 9 a 12, os picos de absorção da solução inicial do Azul de Metileno são mostrados na região do visível a 660 nm e na região do UV por volta de 240-250 e 280-290 nm. O pico localizado em 660 nm corresponde ao grupo cromóforo do corante (ligação dimetilamino) (PAM), enquanto que os picos presentes entre 280 a 290 nm são atribuídos aos anéis benzeno da molécula do AM (PABAM) e os picos presentes entre 240 a 250 nm são atribuídos a degradação do azul de metileno (PD). O rápido decaimento da banda de absorção a 660 nm pode ser atribuído a N-desmetilação do AM, corroborando com a clivagem do grupo cromóforo responsável pela coloração do corante. As bandas localizadas a 240 a 250 nm e 280 a 290 nm diminuíram significativamente, não sendo observada a formação de novas bandas. Tal fato implica que uma decomposição oxidativa sem formação de intermediários.

Assim, reações de N-desmetilação, desaminação e degradação oxidativa se fizeram presentes durante a reação do Azul de Metileno com a incidência da luz. Sendo necessário testes mais específicos de identificação molecular, como por exemplo Ressonância Magnética Nuclear, Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas, Espectroscopia Raman, Espectroscopia Infravermelha ou Difractometria de Raio X, para a identificação desse degradante para esclarecer se pode causar algum dano no processo de TFD.

Na literatura, em um estudo feito pelo Ferreira (2022) do azul de metileno, podemos constatar que obteve uma fotodegradação para uma concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  de azul de metileno utilizando-se 0,5 (50,8%) e 1 g (60,1%) de catalisador. Outro estudo realizado pelo Fukuro e Okuse (2018) mostrou possuir uma taxa final de degradação pouco maior que 60%.

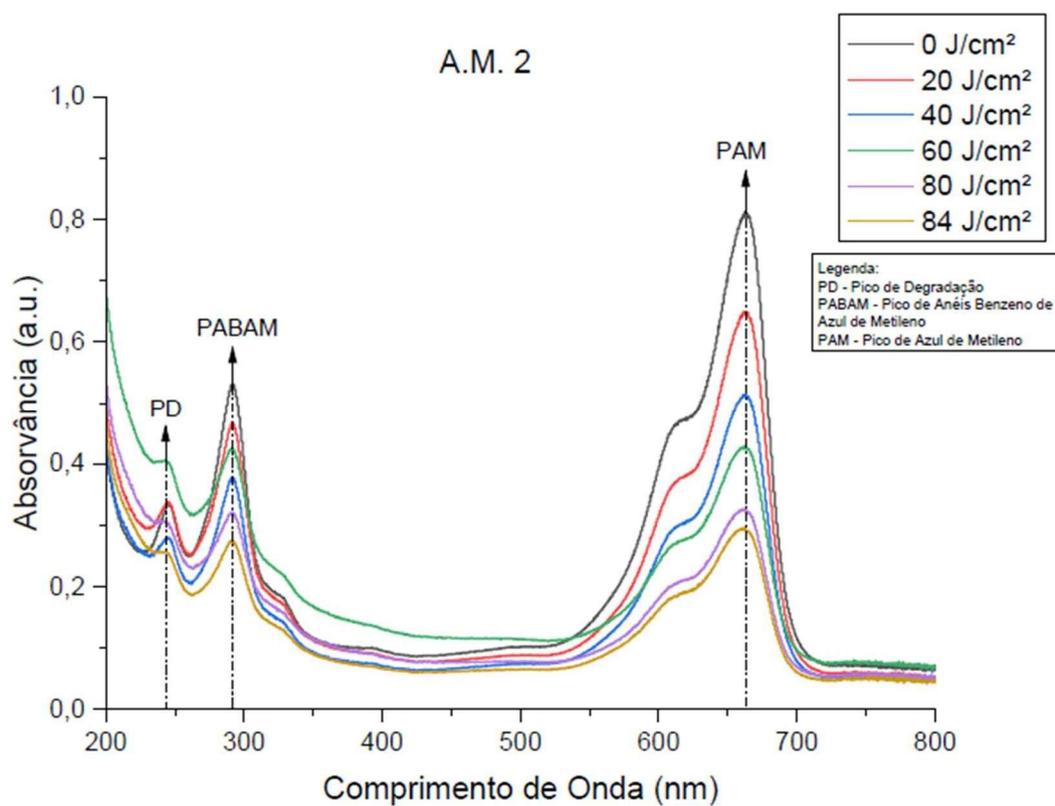
Porém é visto que para ter uma degradação maior é utilizado um catalizador em conjunto para ter uma degradação de acima de 80%.

**Figura 9 - Espectro de Absorção da Amostra 1 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD)**



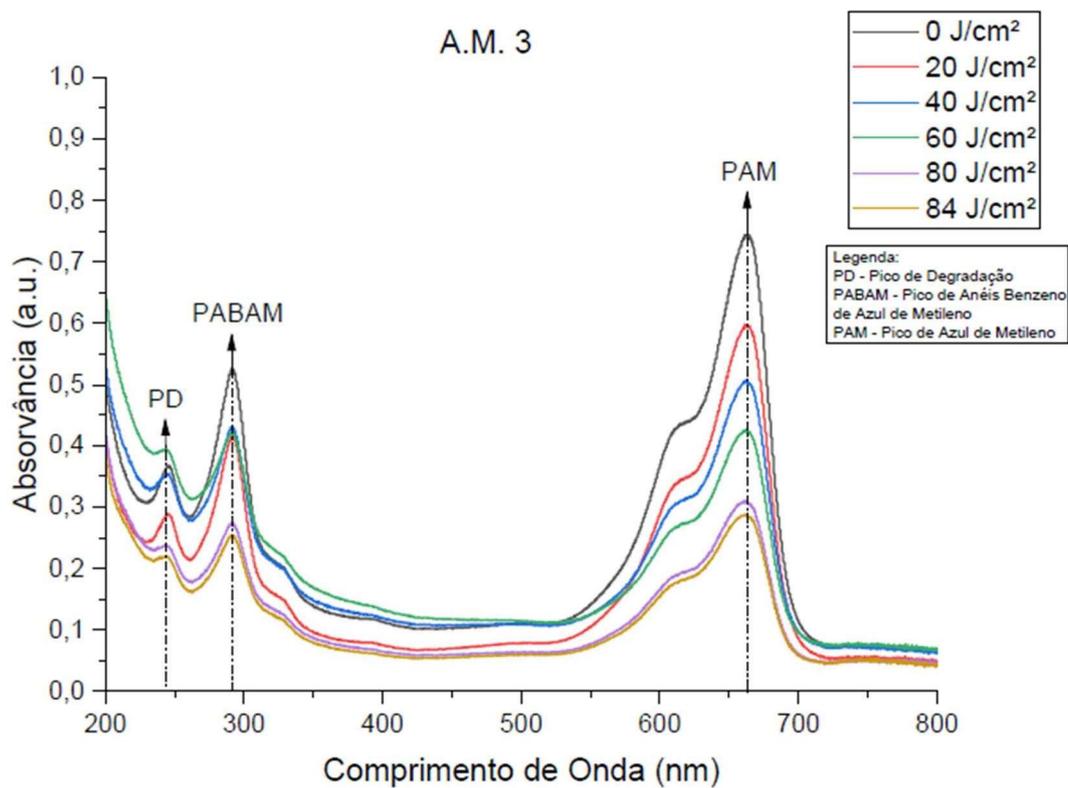
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 10 - Espectro de Absorção da Amostra 2 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD)**



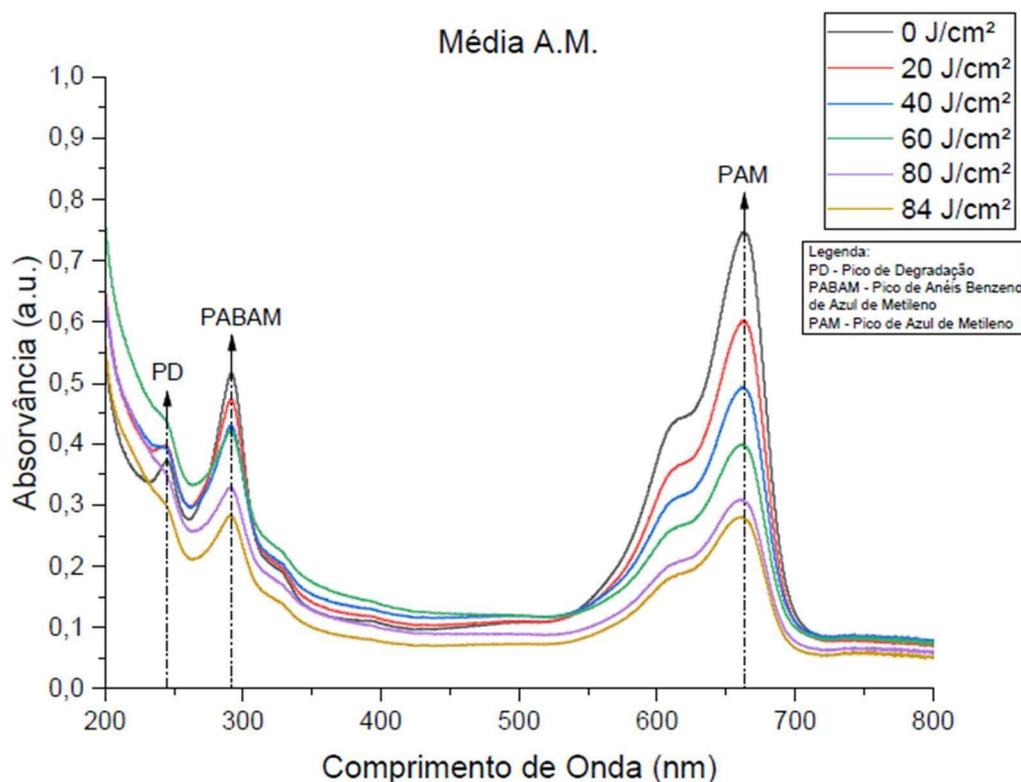
Fonte: Elaboração própria.

**Figura 11 - Espectro de Absorção da Amostra 3 de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD)**



Fonte: Elaboração própria.

**Figura 12 - Espectro de Absorção das Médias das Amostras de Azul de Metileno em 660 nm (PAM), Anéis Benzeno de Azul de Metileno em 280-290 nm (PABAM) e do Degradante em 240-250 nm (PD)**

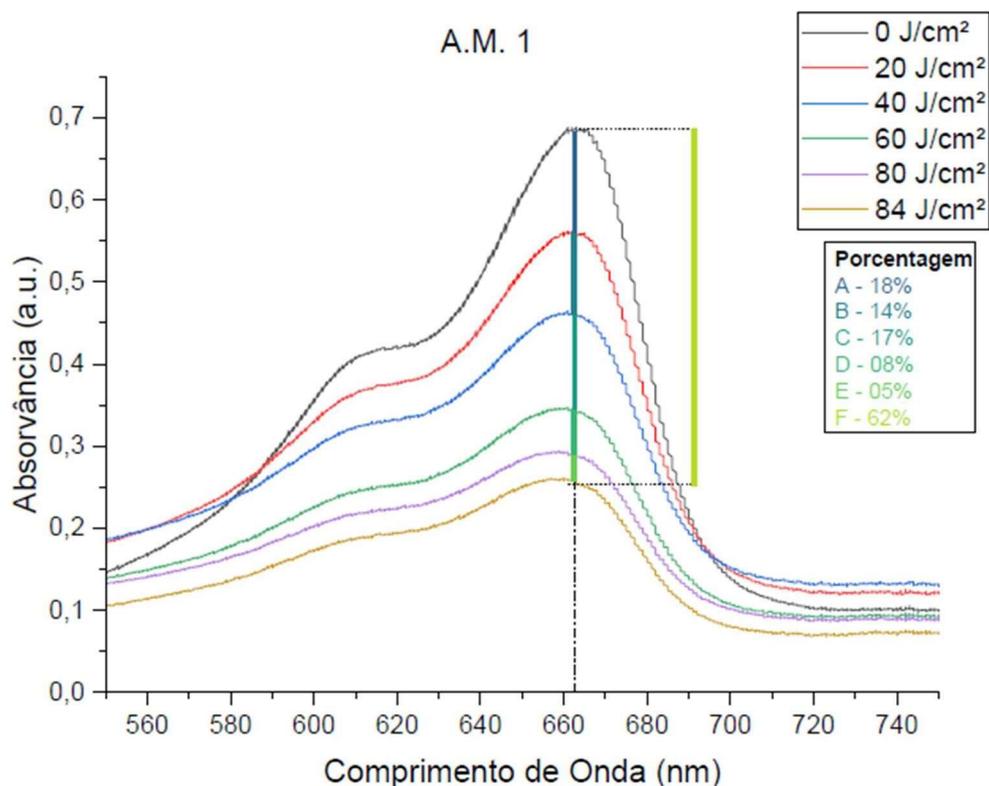


Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 13 foi verificado que no pico de Azul de Metileno na amostra 01 em 0 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,688 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm. Na dose de luz em 20 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,562 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 18% (A) a menos que o primeiro tempo analisado. Na dose de luz 40 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,465 em um comprimento de onda de 661 nm, 14% (B) a menos depois de exposto a luz. Na dose de luz de 60 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,347 a.u. em um comprimento de onda de 661 nm, 17% (C) a menos que a dose de luz anterior. Na dose de luz 80 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,294 a.u. em um comprimento de onda 659 nm, 8% (D) a menos depois de exposto a luz. Na ultima dose de luz, 84 J/cm<sup>2</sup>, obteve um valor de absorvância de 0,261 a.u. em um comprimento de onda 660 nm, 5% (E) a menos depois de exposto a luz.

Para todas as densidades de energia avaliadas, a amostra 01 apresentou uma média degradação de 12% entre as energias avaliadas, sendo o maior ponto em comprimento de onda em 662 nm e o menor em 659 nm. E apresentou uma diferença total de 62% (F) entre a amostra de 0J/cm<sup>2</sup> para a amostra de 84J/cm<sup>2</sup> (Tabela 6).

**Figura 13 - Espectro de Absorção da Amostra 1 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação**



Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 6 - Porcentagem de degradação Azul de Metileno 01**

Densidades de energia	nm	Abs	% Inicial	% Final	Total Degradação %
0 J/cm <sup>2</sup>	662	0,688	100%	-	62%
20J/cm <sup>2</sup>	662	0,562	82%	18%	
40J/cm <sup>2</sup>	661	0,465	68%	14%	
60J/cm <sup>2</sup>	661	0,347	50%	17%	
80J/cm <sup>2</sup>	659	0,294	43%	8%	
84J/cm <sup>2</sup>	660	0,261	38%	5%	

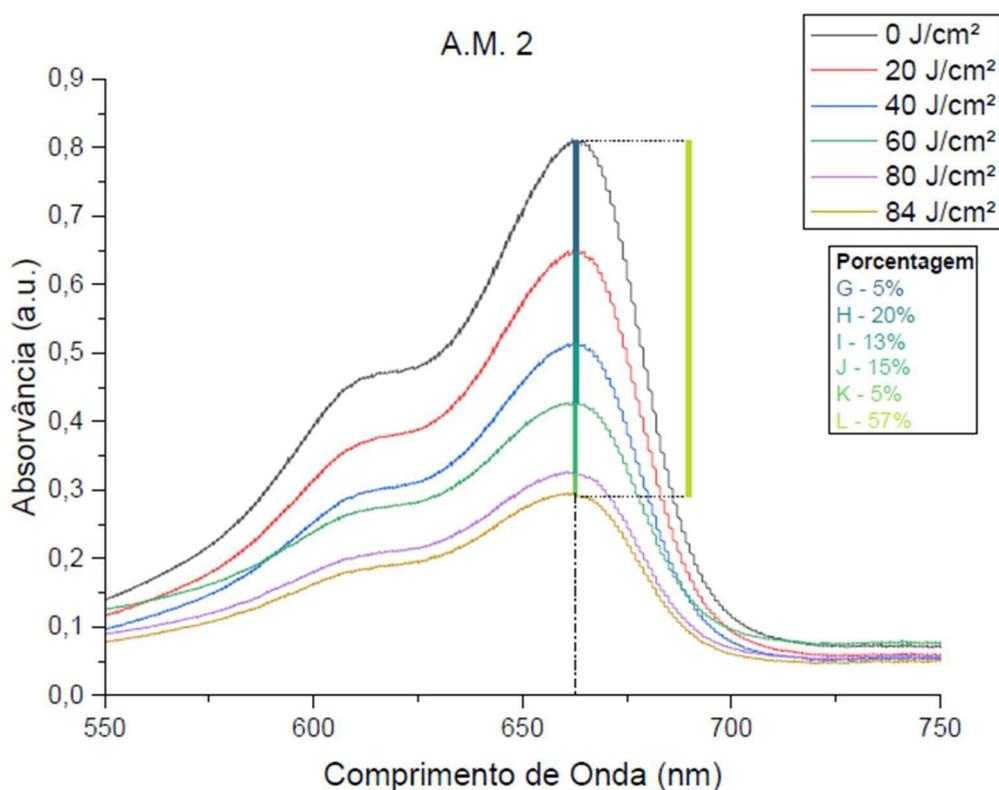
Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 14 foi verificado que no pico de Azul de Metileno na amostra 02 em 0 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,6813 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm. Na dose de luz em 20 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,65 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 5% (G) a menos que o primeiro tempo analisado. Na dose de luz 40 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,515 a.u. em um comprimento de onda de 663 nm, 20% (H) a menos depois de exposto a luz. Na dose de luz de 60 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,429 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 13% (I) a menos que a dose de luz

anterior. Na dose de luz  $80 \text{ J/cm}^2$  obteve um valor de absorvância de 0,327 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 15% (J) a menos depois de exposto a luz. Na última dose de luz,  $84 \text{ J/cm}^2$ , obteve um valor de absorvância de 0,296 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 5% (K) a menos depois de exposto a luz.

Para todas as densidades de energia avaliadas, a amostra 02 apresentou uma média de degradação de 11% entre as energias avaliadas, sendo o maior ponto em comprimento de onda em 663 nm e o menor em 661 nm. E apresentou uma diferença total de 57% (L) entre a amostra de  $0 \text{ J/cm}^2$  para a amostra de  $84 \text{ J/cm}^2$  (Tabela 7).

**Figura 14 - Espectro de Absorção da Amostra 2 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação**



Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 7 - Porcentagem de degradação Azul de Metileno 02**

Densidades de energia	nm	Abs	% Inicial	% Final	Total Degradação %
0 $\text{J/cm}^2$	662	0,6813	100%	-	57%
20 $\text{J/cm}^2$	662	0,65	95%	5%	
40 $\text{J/cm}^2$	663	0,515	76%	20%	
60 $\text{J/cm}^2$	662	0,429	63%	13%	
80 $\text{J/cm}^2$	661	0,327	48%	15%	
84 $\text{J/cm}^2$	661	0,296	43%	57%	

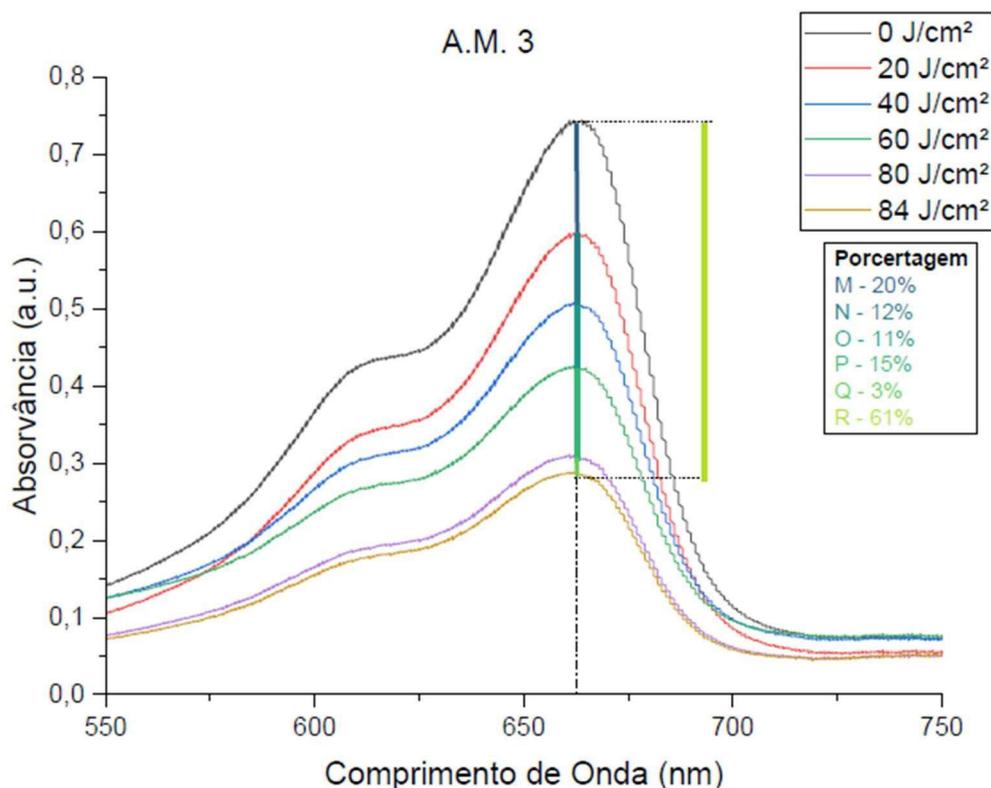
<b>84J/cm<sup>2</sup></b>	661	0,296	43%	5%	
---------------------------	-----	-------	-----	----	--

Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 15 foi verificado que no pico de Azul de Metileno na amostra 03 em 0 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,744 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm. Na dose de luz em 20 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,598 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 20% (M) a menos que o primeiro tempo analisado. Na dose de luz 40 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,508 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 12% (N) a menos depois de exposto a luz. Na dose de luz de 60 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,426 a.u. em um comprimento de onda de 662 nm, 11% (O) a menos que a dose de luz anterior. Na dose de luz 80 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,311 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 15% (P) a menos depois de exposto a luz. Na última dose de luz, 84J/cm<sup>2</sup>, obteve um valor de absorvância de 0,288 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 3% (Q) a menos depois de exposto a luz.

Para todas as densidades de energia avaliadas, a amostra 03 apresentou uma média degradação de 12% entre as energias avaliadas, sendo o maior ponto em comprimento de onda em 662 nm e o menor em 661 nm. E apresentou uma diferença total de 61% (R) entre a amostra de 0J/cm<sup>2</sup> para a amostra de 84J/cm<sup>2</sup> (Tabela 8).

**Figura 15 - Espectro de Absorção da Amostra 3 de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação**



Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 8 - Porcentagem de degradação Azul de Metileno 03**

Densidades de energia	nm	Abs	% Inicial	% Final	Total Degradação %
0 J/cm <sup>2</sup>	662	0,744	100%	-	61%
20J/cm <sup>2</sup>	662	0,598	80%	20%	
40J/cm <sup>2</sup>	662	0,508	68%	12%	
60J/cm <sup>2</sup>	662	0,426	57%	11%	
80J/cm <sup>2</sup>	661	0,311	42%	15%	
84J/cm <sup>2</sup>	661	0,288	39%	3%	

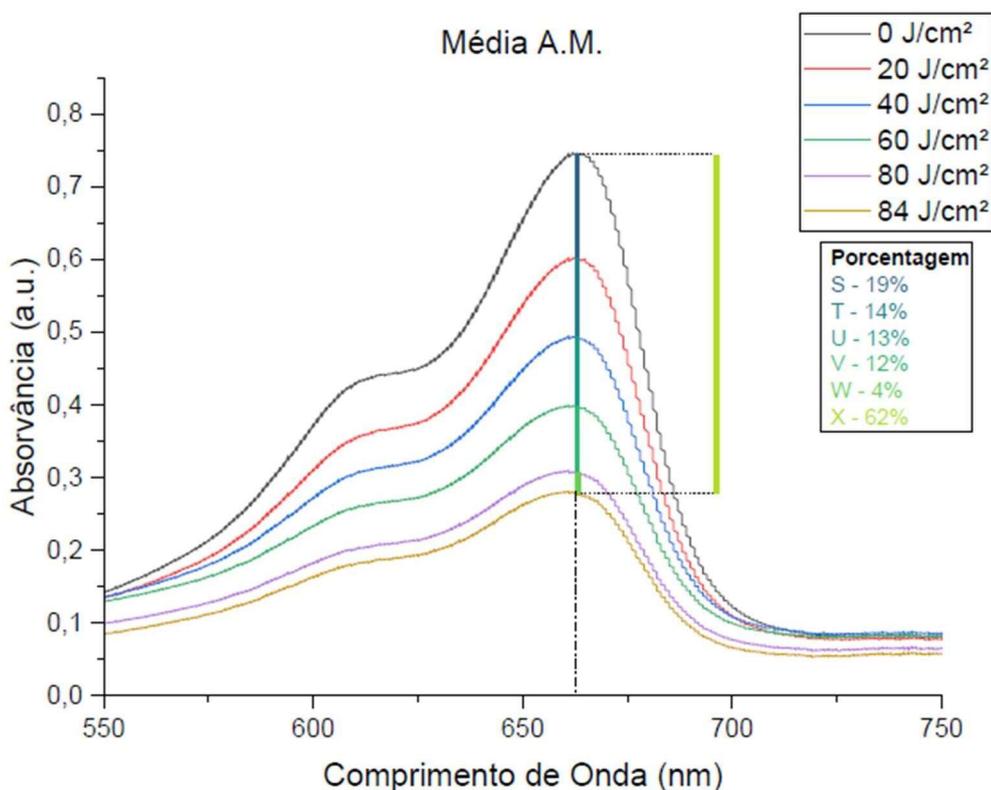
Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 16 foi verificado que no pico de Azul de Metileno na média das amostras analisadas em 0 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,746667 a.u. em um comprimento de onda de 661 nm. Na dose de luz em 20 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,603 a.u. em um comprimento de onda de 661 nm, 19% (S) a menos que o primeiro tempo analisado. Na dose de luz 40 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,495 a.u. em um comprimento de onda de 661 nm, 14% (T) a menos depois de exposto a luz. Na dose de luz de 60 J/cm<sup>2</sup> obteve um valor de absorvância de 0,4 a.u. em um comprimento de onda de 661 nm, 13% (U) a menos que

a dose de luz anterior. Na dose de luz  $80 \text{ J/cm}^2$  obteve um valor de absorvância de 0,310333 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 12% (V) a menos depois de exposto a luz. Na última dose de luz,  $84 \text{ J/cm}^2$ , obteve um valor de absorvância de 0,281333 a.u. em um comprimento de onda 661 nm, 4% (W) a menos depois de exposto a luz.

Para todas as densidades de energia avaliadas, a média das amostras apresentou uma média degradação de 12% entre as energias, sendo o maior ponto em comprimento de onda em 661 nm. E apresentou uma diferença de 62% (X) entre a amostra de  $0 \text{ J/cm}^2$  para a amostra de  $84 \text{ J/cm}^2$  (Tabela 9).

**Figura 16 - Espectro de Absorção das Médias das Amostras de Azul de Metileno e a Porcentagem de Degradação**



Fonte: Elaboração própria.

**Tabela 9 - Média de Porcentagem de degradação Azul de Metileno**

Densidades de energia	nm	Abs	% Inicial	% Final	Total Degradação %
$0 \text{ J/cm}^2$	661	0,746667	100%	-	62%
$20 \text{ J/cm}^2$	661	0,603	81%	19%	
$40 \text{ J/cm}^2$	661	0,495	66%	14%	
$60 \text{ J/cm}^2$	661	0,4	54%	13%	
$80 \text{ J/cm}^2$	661	0,310333	41%	12%	
$84 \text{ J/cm}^2$	661	0,281333	38%	4%	

<b>80J/cm<sup>2</sup></b>	661	0,310333	42%	12%
<b>84J/cm<sup>2</sup></b>	661	0,281333	38%	4%

Fonte: Elaboração própria.

## 7. CONCLUSÃO

Neste estudo, foram realizadas medidas em diferentes densidades de energia (0 J/cm<sup>2</sup>, 20 J/cm<sup>2</sup>, 40 J/cm<sup>2</sup>, 60 J/cm<sup>2</sup>, 80 J/cm<sup>2</sup> e 84 J/cm<sup>2</sup>) para avaliar a degradação do azul de metileno e sua viabilidade como agente profilático. A análise, conduzida por espectrofotometria de UV-vis, gerou gráficos que ilustram a média das amostras, fornecendo *insights* valiosos para a utilização do azul de metileno na profilaxia.

Este estudo foi conduzido sob a iluminação na faixa de comprimento de onda de 660 nm, com uma dose de luz fixa de 5 J/cm<sup>2</sup>. No contexto da Terapia Fotodinâmica, o fenômeno de fotobranqueamento foi explorado como um indicador da eficácia do fotossensibilizador. Esse fenômeno, relacionado à formação de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> e espécies reativas de oxigênio, revela a capacidade do azul de metileno em gerar as espécies oxidativas necessárias para alcançar efeitos fotoantimicrobianos desejados (PERUSSI, 2007).

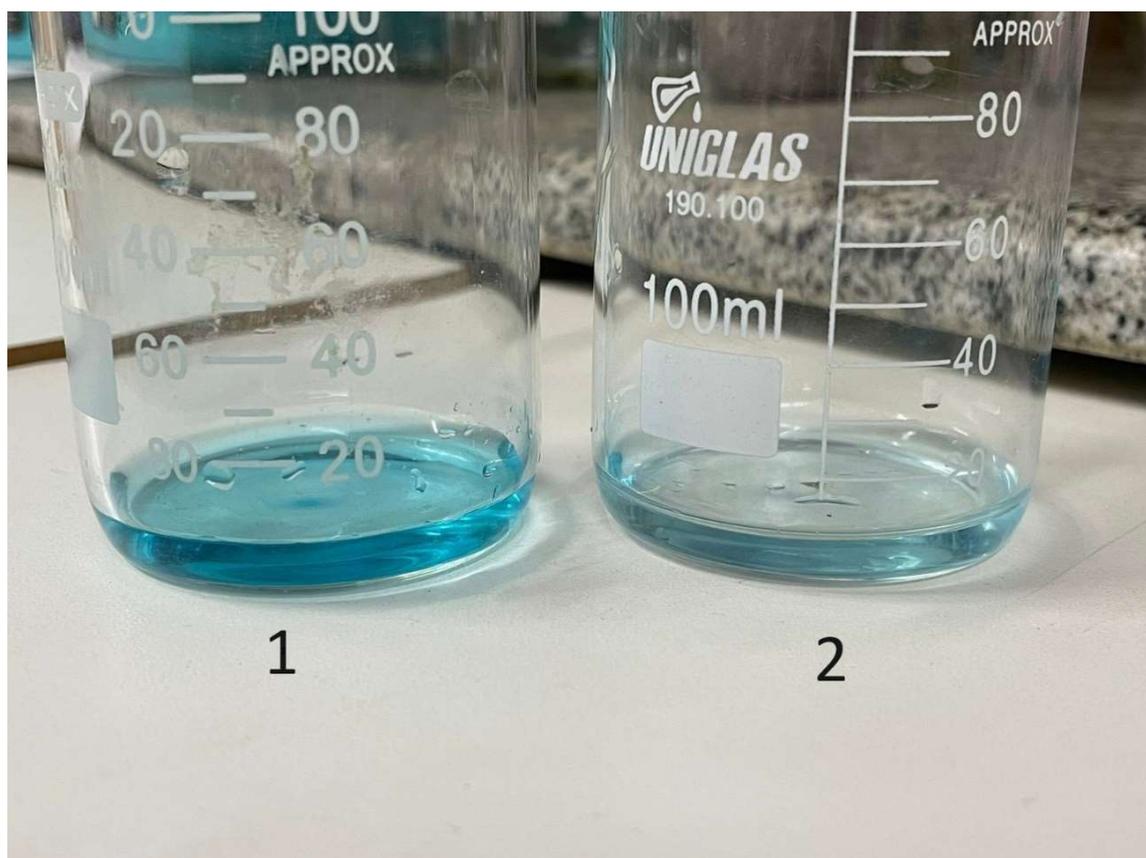
As Figuras 9 a 12 apresentam uma análise detalhada das amostras, destacando os picos do grupo cromóforo do corante no comprimento de onda de 660 nm, picos de anéis de benzeno do azul de metileno em 280 a 290 nm e os picos de degradação entre os comprimentos de onda de 240 nm a 250 nm. Observou-se uma redução no PAM a cada tempo analisado, acompanhada por um aumento no PD. No entanto, para uma identificação molecular mais precisa dos degradantes e seus possíveis impactos nos processos de terapia fotodinâmica, técnicas como Ressonância Magnética Nuclear, Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas, Espectroscopia Raman, Espectroscopia Infravermelha ou Difractometria de Raio X podem ser necessárias.

Além de ser de grande valia testes com equipamentos ultravioleta para entender as reações moleculares que ocorreram durante a exposição a luz para elucidar a diminuição do pico de azul de metileno e o aumento do pico de degradação, para ter uma utilização mais precisa e potencializar o tratamento utilizando o azul de metileno e a terapia fotodinâmica.

Na revisão da literatura, destaca-se a fotodegradação do azul de metileno em estudos anteriores. Ferreira (2022) observou uma degradação significativa utilizando catalisadores, enquanto Fukuro e Okuse (2018) relataram taxas de degradação superiores a 60%, especialmente quando catalisadores estavam presentes. No presente estudo, os resultados indicam uma degradação consistente nas amostras analisadas, com variações nas absorbâncias em diferentes densidades de energia.

Visualmente, a descoloração do azul de metileno foi notada após a exposição à luz, indicando alterações na sua composição (Figura 17). Essas mudanças visuais sugerem a ocorrência de processos de fotodegradação. No entanto, estudos mais aprofundados são necessários para compreender completamente as alterações moleculares associadas a essa perda de coloração.

**Figura 17 - Béquer 1 possui Azul de Metileno guardado do Erlenmeyer e protegido da exposição da Luz com alumínio. Béquer 2 possui amostra de azul de metileno utilizada no experimento com a exposição da luz azul em comprimento de onda 660 nm**



Fonte: Elaboração própria.

Em suma, este estudo fornece uma base valiosa para a compreensão da degradação do azul de metileno sob diferentes densidades de energia, contribuindo para futuras pesquisas na aplicação da Terapia Fotodinâmica antimicrobiana. As descobertas destacam a necessidade de investigações mais detalhadas para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes e otimizar a eficácia da TFD, reforçando seu potencial como uma alternativa inovadora no campo da saúde.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKROYD, R. et al. The History of Photodetection and Photodynamic Therapy. **Photochemistry and Photobiology**, v. 74, n. 5, p. 656, 2001.
- ALGORRI, J. F. et al. Photodynamic Therapy: A Compendium of Latest Reviews. **Cancers**, v. 13, n. 17, p. 4447, 3 set. 2021.
- ALOUINI, Z.; JEMLI, M. Destruction of helminth eggs by photosensitized porphyrin. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 3, n. 5, p. 548-551, Apr. 2001.
- AMARAL, R. R. et al. Terapia fotodinâmica na endodontia: revisão de literatura. **RFO UPF**, v. 15, n. 2, p. 207-211, 1 ago. 2010.
- BIEL, M. Advances in photodynamic therapy for the treatment of head and neck cancers. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 38, n. 5, p. 349-355, 2006.
- BISTAS, E.; SANGHAVI, D. **Methylene Blue**. 2023 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557593/>.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde. **Terapia fotodinâmica é incorporada no SUS**. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/conitec/pt-br/assuntos/noticias/2023/setembro/terapia-fotodinamica-e-incorporada-no-sus>. Acesso em: 30 nov. 2023.
- CARNEIRO, J. K. M. P. et al. Aplicabilidade Da Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana Na Estomatologia: Estado Da Arte. **Revista da Faculdade de Odontologia da UFBA**, p. 43-54, 2022.
- CARRÉ, V.; GAUD, O.; SYLVAIN, I.; BOURDON, O.; SPIRO, M.; BLAIS, J.; GRANET, R.; KRAUSZ, P.; GUILLON, M. Fungicidal properties of meso-arylglycosylporphyrins: influence of sugar substituents on photoinduced damage in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **J Photochem Photobiol B**, v. 48, n. 1, p. 57-62, Jan. 1999.
- Casteel, M. J.; Jayaraj, K.; Gold, A.; Ball, L. M.; Sobsey, M. D. Photoinactivation of Hepatitis A Virus by Synthetic Porphyrins. **J Photochem Photobiol B**, v. 80, n. 2, p. 294-300, Set. 2004.
- CAVALCANTI, T. M. Evaluation of the antibacterial effect of photodynamic therapy laser: in vitro study. 2011. 72 f. **Dissertação (Mestrado em Epidemiologia e Promoção de Saúde)** - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2011.

CORREIA, J. H. et al. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 9, p. 1332, 25 ago. 2021.

COSTA, S. R.; SANDRINI, J. Z. Mecanismo de ação do azul de metileno em hepatócitos de Danio rerio. **Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas - Fisiologia Animal Comparada**. Universidade Federal do Rio Grande -FURG. 2014.

DEMIDOVA, T. N.; HAMBLIN, M. R. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, n. 6, p. 2329 – 2335, Jun. 2005.

DUTRA, D. A. M. **Avaliação do Fotossensibilizador Azul de Metileno em Diferentes Formulações para Uso em Terapia Fotodinâmica**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Santa Maria, RS, Brasil, 2013.

FANG, S. et al. Photodynamic therapy combined with carbon dioxide laser for successful treatment of cutaneous squamous cell carcinoma within a long-standing and huge seborrheic keratosis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 36, p. 102536–102536, 1 dez. 2021.

FERREIRA, E. P. Degradação Fotocatalítica De Azul De Metileno Utilizando Pentóxido De Nióbio Em Suspensão E Em Reator De Membranas Do Tipo Fibra Oca. Universidade Federal De Uberlândia. **Faculdade De Engenharia Química. Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Química**. 2022.

FILHO, G. A. P. et al. Imunologia Do Transplante De Pele Artigo De Revisão. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 38, p. 1 – 2009, [s.d.].

FUKURO, I. Y.; OKUSE, J. W. **Degradação Do Azul De Metileno Por Fotocatálise Heterogênea Utilizando ZnO Como Catalisador**. Universidade Tecnológica Federal Do Paraná. Departamento Acadêmico De Engenharia Química. Curso De Bacharelado Em Engenharia Química. Ponta Grossa, Paraná. 2018.

GAD, F.; ZAHRA, T.; HASAN, T.; HAMBLIN, M. R. Effects of Growth Phase and Extracellular Slime on Photodynamic Inactivation of Gram-Positive Pathogenic Bacteria. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 48, n. 6, p. 2173–2178, Jun. 2004.

GALVAN, J. et al. Methylene Blue for the Treatment of Health Conditions: a Scoping Review. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 64, 2021.

GOUVEIA, S. S.; LIMA, A. A. Relação Entre Espécies Reativas De Oxigênio E A Promoção Carcinogênica. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research - BJSCR**, v. 20, n. 3, p. 2317–4404, 2017.

GRELLIER, P.; SANTUS, R.; MOURAY, E.; AGMON, V.; MAZIERE, J. C.; RIGOMIER, D.; DAGAN, A.; GATT, S.; SCHREVEL J. Photosensitized Inactivation of *Plasmodium falciparum*- and *Babesia divergens*-Infected Erythrocytes in Whole Blood by Lipophilic Pheophorbide Derivatives. **Vox Sanguinis**, v. 72, n. 4, p. 211-220, Jun. 1997.

GROKOSKI, E. et al. **Ação Do Fotosensibilizador Azul De Metileno Em Diferentes Concentrações Sobre Linhagens De Fibroblastos (3T3)**. Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Odontologia. XXVII Encontro Anual de Iniciação Científica. IV Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior. 2018.

GURSOY, H. et al. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. **Clinical Oral Investigations**, v. 17, n. 4, p. 1113–1125, 27 set. 2012.

HAMBLIN, M. R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease?. **Photochem Photobiol Sci**, v. 3, n. 5, p. 436-450, May. 2004.

HARRIS, F.; HUSSAIN, S.; PHOENIZ, D. A. An investigation into the potential of phenotiazinium-based photo-sensitisers to act as PDT agents. **Photodiagnosis Photodyn Ther**, v. 1, p. 231-239, 2004.

ISSA, M. C. A. et al. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 4, p. 501–511, jul. 2010.

KAISER, P. K. et al. Verteporfin plus Ranibizumab for Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration. **Ophthalmology**, v. 119, n. 5, p. 1001–1010, maio 2012.

KESSEL, D. Photodynamic Therapy: A Brief History. **Journal of Clinical Medicine**, v. 8, n. 10, p. 1581, 2 out. 2019.

KLIUKIENE, R.; MAROZIENE, A.; CENAS, N.; BECKER, K.; BLANCHARD, J. S. Photoinactivation of trypanothione reductase and glutathione reductase by A1-phthalocyanine tetrasulfonate and hematoporphyrin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 218, n. 2, p. 629-632, Jan. 1996.

LAMBRECHTS, S. A. G.; AALDERS, M. C. G.; MARLE, J. V. Mechanistic study of the photodynamic inactivation of *Candida albicans* by a cationic porphyrin. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, n. 5, p. 2026-2034, May. 2005.

LIMA, L. S. Lei de Lambert–Beer. **Revista de Ciência Elementar**, v. 1, n. 1, 30 dez. 2013.

MAIER, A. et al. Comparison of 5-aminolaevulinic acid and porphyrin photosensitization for photodynamic therapy of malignant bronchial stenosis: A clinical pilot study. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 30, n. 1, p. 12–17, jan. 2002.

MAISCH, T.; BOSL, C.; SZEIMIES, R.-M.; LEHN, N.; ABELS, C. Photodynamic Effects of Novel XF Porphyrin Derivatives on Prokaryotic and Eukaryotic Cells. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 49, n. 4, p. 1542-1552, Apr. 2005.

MATOBA, Y. et al. Clinical application of photodynamic diagnosis and photodynamic therapy for gynecologic malignant diseases: A review. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 24, p. 52–57, dez. 2018.

MEFFERT, H.; GAUNITZ, K.; GUTEWORT, T.; AMLONG, U. J. Therapy of acne with visible light. Decreased irradiation time by using a blue-light high-energy lamp. **Dematol Monatsschr**, v. 176, n. 10, p. 597-603, 1990.

MOGHISSI, K. et al. Photodynamic therapy (PDT) in early central lung cancer: a treatment option for patients ineligible for surgical resection. **Thorax**, v. 62, n. 5, p. 391–395, 1 maio 2007.

NAKAGISHI, Y. et al. Photodynamic Therapy for Airway Stenosis in Rabbit Models. **Chest**, v. 133, n. 1, p. 123–130, jan. 2008.

NERI, E. S. et al. Avaliação da terapia fotodinâmica mediada por azul de metileno na cicatrização. **Revista Enfermagem Atual In Derme**, v. 95, n. 36, 30 nov. 2021.

OLIVEIRA, F. C. S. et al. Azul De Metileno Para Fins Terapêuticos. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research -BJSCR**, v. 27, n. 2, p. 2317–4404, 2019.

PASSARI, L. M. Z. G. et al. Estatística aplicada à química: dez dúvidas comuns. **Química Nova**, v. 34, p. 888–892, 2011.

PATEL, G. et al. Efficacy of Photodynamic Therapy vs Other Interventions in Randomized Clinical Trials for the Treatment of Actinic Keratoses. **JAMA Dermatology**, v. 150, n. 12, p. 1281, 1 dez. 2014.

PERUSSI, J. R. Inativação fotodinâmica de microrganismos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 988–994, ago. 2007.

PETRELLIS, M. C. **Avaliação dos efeitos do azul de metileno fotoativado no modelo experimental do Tumor de Walker 256**. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Disponível

em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42136/tde-12122014-102820/>. Acesso em: 30 nov. 2023.

QI, M. et al. Novel nanomaterial-based antibacterial photodynamic therapies to combat oral bacterial biofilms and infectious diseases. **International Journal of Nanomedicine**, v. 14, p. 6937–6956, 28 ago. 2019.

RABELLO, M. S.; WHITE, J. R. Fotodegradação do polipropileno: Um processo essencialmente heterogêneo. **Polímeros**, v. 7, n. 2, p. 47–57, abr. 1997.

SAKAGUCHI, V. T. Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana Em Odontologia: Em Busca De Protocolos Mais Eficientes E Eficazes. **Universidade De Mogi Das Cruzes. Mogi das Cruzes, SP**. [s.l: s.n.]. 2016. Disponível em: <http://pergamumweb.umc.br/pergamumweb/vinculos/000000/00000066.pdf>. Acesso em: 29 nov. 2023.

SALVI, G. E. et al. Adjunctive laser or antimicrobial photodynamic therapy to non-surgical mechanical instrumentation in patients with untreated periodontitis: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 47, n. S22, p. 176–198, jul. 2020.

SANTOS, G. P. Uso Da Terapia Fotodinâmica No Tratamento Do Paciente Oncológico: Revisão De Literatura. **ResearchGate**. Feb. 2018.

SANTOS, M. V. **Resumo sobre azul de metileno: indicações, farmacologia e mais!**. 2022. Disponível em: <<https://med.estrategia.com/portal/conteudos-gratis/farmacos/resumo-sobre-azul-de-metileno-indicacoes-farmacologia-e-mais/#Caracteristicas-farmacologicas-do-azul-de-metileno>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

SANTOS, T. V.S. Terapia Fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia. **Repositorio.ufu.br**, 2020.

SHIKOWITZ, M. J.; ABRAMSON, A. L.; FREEMAN, K.; STEINBERG, B. M.; NOURI, M. Efficacy of DHE photodynamic therapy for respiratory papillomatosis: immediate and long-term results. **Laryngoscope**, v. 108, n. 7, p. 962-967, Jul. 1998.

SILVA, A. A.; GONÇALVES, R. C. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. **Ciência Rural**, v.40, n.4, p.994-1002, abr, 2010.

SILVA, C.G. et al. **Transplante De Pele**. Faculdades Santa Cruz. [s.d.].

SILVA, E. M. P.; GIUNTINI, F.; FAUSTINO, M. A. F.; TOME, J. P. C.; NEVES, M. G. P. M. S.; TOMÉ, A. G.; SILVA, A. M.; SANTANA-MARQUES, M. G.; FERRERCORREIA, A. J.; CAVALEIRO, J. A. S.; CAEIRO, M. F.; DUARTE, R. R.; TAVARES, S. A. P.; PEGADO, I. N.; ALMEIDA, B.; DE MATOS, A. P. A.; VALDEIRA, M. L. Synthesis of Cationic  $\beta$ -Vinyl Substituted *meso*-Tetraphenylporphyrins and Their in Vitro Activity against *Herpes simplex* Virus Type 1. **Bioorg Med Chem Lett**, v. 15, n. 14, p. 3333-3337, Jul. 2005.

SOUZA, E. Q. M. et al. Antimicrobial photodynamic therapy compared to systemic antibiotic therapy in non-surgical treatment of periodontitis: Systematic review and meta-analysis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, p. 101808, set. 2020.

STRAKHOVSKAYA, M. G.; BELENIKINA, N. S.; IVANOVA, E. V.; CHEMERIS, Y. K.; STRANADKO, E. F. The photodynamic inactivation of the yeast *Candida guilliermondii* in the presence of photodithazine. **Microbiology**, v. 71, n. 3, p. 349-353, May-Jun. 2002.

TANG, X. et al. Efficacy of photodynamic therapy for the treatment of inflammatory acne vulgaris: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Cosmetic Dermatology**, v. 19, n. 1, p. 10-21, 25 out. 2019.

TARDIVO, J. P.; GIGLIO, A. D.; OLIVEIRA, C. S.; GABRIELLI, D. S.; JUNQUEIRA, H. C.; TADA, D. B.; SEVERINO, D.; TURCHIELLO, R. F.; BAPTISTA, M. S. Methylene blue in photodynamic therapy: From basic mechanisms to clinical applications. **Photodiagn Photodyn Ther**, v. 2, n. 3, p.175-191, Sep. 2005.

TEIXEIRA, W.; VEIT, H. Episódios de Modelagem sobre ótica: investigando a atenuação da luz nos oceanos. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Instituto de Física. [s.l: s.n.]. 2020.

UNANYAN, A. et al. Efficacy of photodynamic therapy in women with HSIL, LSIL and early stage squamous cervical cancer: a systematic review and meta-analysis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 36, p. 102530, dez. 2021.

VALDEBRAN, M. et al. State-of-the-art lasers and light treatments for vascular lesions: from red faces to vascular malformations. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 36, n. 4, p. 207-212, 1 dez. 2017.

VARZANDEH, M. et al. Photodynamic therapy for leishmaniasis: Recent advances and future trends. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 36, p. 102609, dez. 2021.

WAINWRIGHT, M. Methylene blue derivatives — suitable photoantimicrobials for blood product disinfection?. **Int J Antimicrob Agents**, v. 6, n. 4, p. 381-394, 2000.

WAINWRIGHT, M. Phenothiazinium photosensitisers: V. Photobactericidal activities of chromophore-methylated phenothiazinium salts. **Dyes and Pigments**, n. 73, p. 7-12, 2007.

WANG, H. et al. Photodynamic therapy in the treatment of basal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 31, n. 1, p. 44–53, 25 nov. 2014.

WANG, W. et al. Detection of the communicating accessory bile duct in laparoscopic resection of residual gallbladder by the combination of the indocyanine green fluorescence cholangiography and the intraoperative cholangiography: A case report. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 42, p. 103587–103587, 1 jun. 2023.

WICKENHEISSER, V. A. et al. Laser Light Therapy in Inflammatory, Musculoskeletal, and Autoimmune Disease. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 19, n. 8, p. 37, 2 jul. 2019.

WILDER-SMITH, C. H.; WILDER-SMITH, P.; GROSJEAN, P.; VAN DEN BERGH, H.; WOODTLI, A.; MONNIER, P.; DORTA, G.; MEISTER, F.; WAGNIERES, G. Photoeradication of *Helicobacter pylori* using 5-aminolevulinic acid: Preliminary human studies. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 31, n. 1, p. 18-22, Jul. 2002.

WU, H. et al. Role of photodynamic therapy in the treatment of esophageal cancer. **Digestive Endoscopy**, v. 31, n. 5, p. 508–516, 5 mar. 2019.

YOU, E. et al. Comparing interventions for chronic central serous chorioretinopathy: A network meta-analysis. **Survey of Ophthalmology**, v. 68, n. 4, p. 601–614, 1 jul. 2023.

ZEINA, B.; GREENMAN, J.; CORRY, D.; PURCELL, W. M. Cytotoxic effects of antimicrobial photodynamic therapy on keratinocytes in vitro. **Br J Dermatol**, v. 146, n. 4, p. 568-573, Apr. 2002.

ZHANG, M. et al. Advanced application of stimuli-responsive drug delivery system for inflammatory arthritis treatment. **Materials Today Bio**, v. 14, p. 100-223, mar. 2022.

ZHANG, Y. et al. Hematoporphyrin monomethyl ether-mediated photodynamic therapy temporarily relieves severe pruritis from phakomatosis pigmentovascularis: A case report. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 33, p. 102180–102180, 1 mar. 2021.