



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E
BIOTECNOLOGIA

CAMILA PARRA NOGUEIRA

TERAPIA FOTODINÂMICA BIOTECNOLÓGICA COM APLICAÇÃO
EM MEDICINA VETERINÁRIA: Uma Revisão Bibliográfica

ARARAQUARA, SP

2023

CAMILA PARRA NOGUEIRA

**TERAPIA FOTODINÂMICA BIOTECNOLÓGICA COM APLICAÇÃO
EM MEDICINA VETERINÁRIA: Uma Revisão Bibliográfica**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do grau de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr. Fernando Lucas Primo
Coorientador(a): Profa. Dra. Camila Fernanda Amantino

ARARAQUARA, SP

2023

N778t Nogueira, Camila Parra.
Terapia fotodinâmica biotecnológica com aplicação em medicina veterinária: Uma Revisão Bibliográfica / Camila Parra Nogueira. – Araraquara: [S.n.], 2023.
59 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação - Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Área de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Fernando Lucas Primo.
Coorientadora: Camila Fernanda Amantino.

1. Terapia Fotodinâmica. 2. Câncer. 3. Medicina Veterinária. 4. Biotecnologia. 5. Fotossensibilizadores. I. Primo, Fernando Lucas, orient. II. Amantino, Camila Fernanda, coorient. III. Título.

Agradecimentos

Aos meus pais, Flávia e Reginaldo, por serem meu alicerce e nunca medirem esforços para o meu desenvolvimento. Vocês são minhas raízes e me ensinaram a ter asas.

Ao meu namorado, Matheus, pelo apoio incondicional, carinho e companheirismo durante todos esses anos. Você torna minha vida mais leve.

A todos os meus professores, em especial ao meu orientador e coorientadora, Fernando e Camila, pela assistência e envolvimento durante toda essa jornada, desde o meu projeto de iniciação científica. Estendo os agradecimentos aos integrantes do grupo de pesquisa do Prof. Fernando Primo.

A todos os funcionários do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, pelo suporte dentro dos laboratórios de pesquisa e de aula.

A meus amigos, dentro e fora da faculdade, pelas alegrias, choros, risadas e horas de estudo compartilhadas.

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família, em especial aos meus pais, Flávia e Reginaldo Nogueira, e ao meu avô, José Parra, que não esteve aqui para acompanhar minha jornada, mas faço as palavras de João Nogueira as minhas:

“A vida é mesmo uma missão

A morte uma ilusão

Só sabe quem viveu

Pois quando o espelho é bom

Ninguém jamais morreu”.

RESUMO

Há mais de 3 mil anos, as propriedades curativas da luz já eram utilizadas por culturas orientais. No século XX, o estudo da terapia fotodinâmica ganhou destaque. Ela consiste no uso de uma molécula fotossensibilizadora que, quando ativada por uma luz monocromática de baixa potência, reage com o oxigênio do tecido alvo, causando dano celular direcionado. A terapia pode ser utilizada como tratamento independente, ou em conjunto com outras terapias convencionais, e tem aplicação em diversas áreas, dando destaque para dermatologia e oncologia. Em protocolos mais modernos de TFD, podem ser utilizados FSs conjugados a nanocarreadores, que possuem liberação controlada e maior direcionamento para o tecido alvo. Esta pesquisa tem como objetivo geral descrever o conceito de TFD, seu histórico e mecanismo de ação, com enfoque na aplicação veterinária focada no tratamento de animais em geral. Para isso, faz-se necessário apresentar as principais aplicações de FSs sintéticos e biotecnológicos em estudo na área da medicina veterinária, então, levantar dados de pesquisas relacionadas ao tema e seus resultados, e, por fim, comparar os resultados dos trabalhos analisados e discutir sua eficiência, bem como as oportunidades de aplicação da terapia. Para atingir os objetivos propostos usou-se de levantamento bibliográfico, buscando reunir dados teóricos e resultados experimentais sobre a TFD, seus conceitos e aplicações no tratamento de animais sob a perspectiva de diversos autores. Com base na revisão bibliográfica e resultados analisados, entende-se que a Terapia Fotodinâmica se mostra eficiente em diversas áreas da medicina veterinária, sendo importante seu estudo aprofundado no que tange ao tratamento clínico de animais. Conclui-se, portanto, que a evolução histórica da terapêutica foi substancial, porém, conforme tudo o que foi citado pelo estudo analítico, cabe aos pesquisadores e profissionais da área, o desenvolvimento de estudos científicos e práticos para comprovação e estabelecimento da TFD como um tratamento eficaz, dando-lhe o merecido destaque.

Palavras-chave: Terapia Fotodinâmica. Câncer. Medicina Veterinária. Biotecnologia. Fotossensibilizadores.

ABSTRACT

Over three thousand years ago, the therapeutic potential of light was already employed by ancient oriental civilizations. In the 20th century, the study of Photodynamic Therapy gained prominence. The therapy consists in the use of a photosensitizer molecule that, when activated by a low energy monochromatic light source, reacts with molecular oxygen in the target issue, causing cell damage. The therapy can be used as an independent treatment or in conjunction with other conventional treatment, and it has application in diverse areas, such as dermatology and oncology. In modern protocols of Photodynamic Therapy, photosensitizer conjugated with nanocarriers can be used to control the photosensitizer release kinetics and to enhance its delivery system. This search aims to describe the concept of Photodynamic Therapy, its history and mechanism of action, focusing on the application of Photodynamic Therapy in the treatment of animals. For this, it is necessary to present the main applications of synthetic and biotechnological photosensitizers under study in veterinary medicine, then, raise data from research related to the topic and its results, and finally, compare the results of the analyzed works and discuss their efficiency, as well as the opportunities for application of the therapy. To achieve the proposed objectives, a bibliographic survey was used, seeking to gather theoretical data and experimental results on Photodynamic Therapy, its concepts, and applications in the treatment of domestic animals from the perspective of several authors. Based on the literature review and the results analyzed, it is understood that Photodynamic Therapy is efficient in various areas of veterinary medicine, and it is important to study it in depth regarding the clinical treatment of animals. It is concluded, therefore, that the historical evolution of the therapy was substantial, however, according to everything that was cited by the analytical study, it is up to researchers and professionals in the area, the development of scientific and practical studies to prove and establish Photodynamic Therapy as an effective treatment, giving it the deserved prominence.

Keywords: Photodynamic Therapy. Cancer. Veterinary Medicine. Biotechnological. Photosensitizers.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ΦT	Rendimento quântico
5-ALA	Ácido 5-aminolevulínico
A	Área
ALA	Ácido aminolevulínico
AM	Azul de metileno
AT	Azul de toluidina
CEC	Carcinoma de células escamosas
CI	Conversão interna
CIS	Cruzamento intersistema
DD	Dermatite digital
DDS	Sistemas de liberação de drogas (<i>drug delivery system</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPD	Detecção fotodinâmica
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ET	Energia do estado tripleto
F	Fluorescência
FS	Fotossensibilizador
HPD	Hematoporfirinas
I	Intensidade
LED	Diodos emissores de luz
MEALA	Metil aminolevulinato
m-THPC	Meta-tetra hidrofenilclorina
NIR	Espectroscopia de infravermelho próximo
P	Fosforescência
PpIX	Protoporfirina IX
T1	Tumor com menos de 7 cm e área restrita
TFD	Terapia fotodinâmica
Tis	Tumor <i>in situ</i>
TVT	Tumor venéreo transmissível
τT	Tempo de meia-vida

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 TERAPIA FOTODINÂMICA	3
2.1.1 HISTÓRICO DA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	3
2.1.2 DEFINIÇÃO E APLICAÇÕES DA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	4
2.1.3 FOTOSSENSIBILIZADORES	8
2.1.3.1 PROCESSO DE MORTE CELULAR.....	16
2.1.4 VANTAGENS E LIMITAÇÕES DA TERAPÊUTICA	17
2.2 NANOTECNOLOGIA NA TERAPIA FOTODINÂMICA.....	21
2.2.1 NANOCARREADORES	22
2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA NA MEDICINA VETERINÁRIA	25
2.3.1 A TERAPIA FOTODINÂMICA NA INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS	29
2.3.2 TERAPIA FOTODINÂMICA NA DESTRUIÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS	30
3 METODOLOGIA	32
3.1 COLETA E ANÁLISE DE DADOS.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 TERAPIA FOTODINÂMICA EM CÃES	37
4.2 TERAPIA FOTODINÂMICA EM GATOS.....	38
5 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

Combinar um composto fotossensibilizante e luz visível monocromática é a base da Terapia Fotodinâmica (TFD), que é utilizada para o tratamento de diversas doenças e tem se mostrado bastante eficaz nos campos oncológico, urológico e ginecológico, tanto como tratamento independente quanto em conjunto com protocolos terapêuticos convencionais. Nessa terapêutica, a destruição do tecido alvo é desencadeada por uma série de reações fotoquímicas que produzem radicais livres, incluindo oxigênio singlete e espécies reativas de oxigênio (EROs). Essa reação é o resultado da aplicação de uma molécula fotossensibilizadora, seguida de sua exposição à luz visível em um determinado comprimento de onda (AMANTINO *et al.*, 2020).

Para reação do tecido tratado com a luz, usa-se os fotossensibilizadores (FS), administrados ao paciente através da via oral, sistêmica ou tópica. Os FS podem ser divididos em três gerações, sendo que a primeira geração corresponde às hematoporfirinas e seus derivados; a segunda geração são os derivados de clorinas, bacterioclorinas e ftalocianinas, que possuem melhor penetração da luz do que os FS de primeira geração; e a terceira geração, focada no estudo de FS encapsulados ou conjugados a moléculas transportadoras, o que aumenta sua seletividade para regiões tumorais (CORREIA *et al.*, 2021).

Após o contato do tecido alvo com o FS, há a incidência de luz de comprimento de onda específico no local, podendo esta ser laser, luz incandescente ou diodos emissores de luz (LED), que é responsável pela ativação do FS. A interação entre a luz e o FS promove a formação de EROs e oxigênio singlete através da transferência de um elétron do FS em seu estado excitado para o oxigênio presente no tecido alvo, podendo induzir a danos celulares através do estresse oxidativo, levando a apoptose ou até a necrose das células atingidas (STRATEN *et al.*, 2017).

De modo geral, a TFD apresenta-se como uma alternativa terapêutica interessante por apresentar poucos efeitos adversos, tempo reduzido de tratamento, baixo custo e resultados não agressivos (CORREIA *et al.*, 2021). Além disso, por ser um tratamento minimamente invasivo, a TFD vem sendo muito utilizada no tratamento de neoplasias como uma alternativa à remoção cirúrgica, que pode

causar deformações estéticas ou até o comprometimento do indivíduo, e à quimioterapia e seus efeitos adversos extensos que acometem a qualidade de vida dos pacientes, como alterações gastrointestinais, toxicidade da medula óssea e danos renais (SANTOS, 2018).

Apesar de ter diversos estudos e ter eficiência comprovada na medicina humana, a TFD ainda é pouco utilizada e reconhecida como tratamento na medicina veterinária (ROCHA *et al.*, 2019). Com o aumento da expectativa e qualidade de vida dos animais, as doenças que acometem cães idosos, por exemplo, como as neoplasias, também aumentaram sua incidência. Geralmente, estes tumores são tratados com quimioterapia, radioterapia ou cirurgia, que são protocolos não seletivos, promovendo efeitos adversos e desconfortos. Além disso, estudos indicam que os tumores caninos possuem semelhanças biológicas com os tumores humanos, incluindo suas respostas aos tratamentos. Portanto, ainda há espaço para estudos mais aprofundados na aplicação dessas terapias na saúde animal e para a propagação da técnica, visto seus inúmeros benefícios já consolidados em humanos e seu potencial para aplicação em animais (FERREIRA *et al.*, 2015).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo geral descrever o conceito de TFD, seu histórico e mecanismo de ação, com enfoque na aplicação da TFD no tratamento de animais. Para isso, fez-se necessário apresentar as principais aplicações de FS sintéticos e biotecnológicos, em estudo na área da medicina veterinária, então, levantar dados de pesquisas relacionadas ao tema e seus resultados, e, por fim, comparar os resultados dos trabalhos analisados e discutir sua eficiência, bem como as oportunidades de aplicação da terapia.

Para atingir os objetivos propostos usou-se de levantamento bibliográfico, buscando reunir dados teóricos e resultados experimentais sobre a TFD, seus conceitos e aplicações no tratamento de animais sob a perspectiva de diversos autores. A análise bibliográfica pautou-se em publicações fundamentadas da área de medicina veterinária e otimização de tratamentos, ligando-as com foco em ativos FS biotecnológicos na medicina veterinária por meio de sites de gabarito, tais como “Google Scholar”, “Science Direct”, “SciELO”, “SPELL” e “Pub Med”, e recorte temporal preferencial de dez anos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TERAPIA FOTODINÂMICA

2.1.1 HISTÓRICO DA TERAPIA FOTODINÂMICA

Os seres humanos usam a luz para fins terapêuticos há séculos e, com os avanços científicos, seu uso é ainda mais eficaz hoje (SILVA *et al.*, 2018).

As propriedades curativas da luz têm sido utilizadas por milhares de anos. Há cerca de 3.000 anos, as antigas culturas egípcia, chinesa e indiana empregavam a luz em conjunto com substâncias químicas ativas para tratar condições como vitiligo, psoríase e câncer de pele (STRATEN *et al.*, 2017).

Em 1900, dois cientistas diferentes documentaram a morte de células como resultado da combinação de produtos químicos e luz. Nesse mesmo ano, o neurologista francês Jean Prime observou que a eosina oral, usada no tratamento da epilepsia, causava dermatite quando exposta ao sol (STRATEN *et al.*, 2017).

Segundo Ferreira (2017), a TFD surgiu a partir de experimentos sobre os efeitos fotossensibilizantes em protozoários em Munique no início do século XX. Foi observada a morte rápida do paramécio após a exposição à luz, alterando a ação do corante e permitindo a identificação de um FS. Mais tarde, outros experimentos descobriram que a reação exigia a presença de oxigênio, cunhando o termo TFD.

Em 1907, Von Tappeiner e Jodlbauer publicaram um livro sobre TFD, no qual definiram-na como um processo de fotossensibilização dependente de oxigênio, que pode ser utilizado para tratar tumores e destruir partículas infecciosas. A TFD tem sido usada com sucesso em doenças pré-cancerosas e malignas da cabeça e pescoço, trato gastrointestinal, pulmão e pele. Devido às inúmeras indicações de tratamento clínico e ao uso de diferentes fontes de luz, o tratamento pode ser aplicado em diferentes partes do corpo (FERREIRA, 2017).

A primeira utilização desse método em humanos foi por Friedrich Meyer-Betz, que empregou uma derivada de porfirina chamada hematoporfirina, presente na hemoglobina, em um procedimento denominado método de Meyer-Betz. Ao aplicá-lo na própria pele, sentiu dor e inflamação nas áreas expostas à luz solar (CELLI *et al.*, 2010). Pesquisas posteriores de Lipson *et al.* (1961) concluíram que derivados de

hematoporfirina se acumulam em tumores e emitem fluorescência (F). Esses atributos, combinados com uma dose menor do que a hematoporfirina bruta, tornam-na uma ferramenta diagnóstica eficiente.

Dez anos depois, Diamond et al. demonstraram que a TFD pode ser empregada para tratar o câncer em camundongos. Eles observaram que o crescimento do glioma desacelerava após o tratamento, e então o tecido mais profundo começava a crescer novamente. Os esforços de Dougherty et al., na década de 1970, foram fundamentais para a criação do que hoje é conhecido como TFD (STRATEN et al., 2017).

Primeiro, eles observaram a erradicação completa do tumor mamário em camundongos usando HPD em combinação com luz vermelha. Um segundo estudo usando 25 pacientes com câncer de pele mostrou uma resposta completa em 98 dos 113 tumores, resposta parcial em 13 e apenas dois tumores pareciam resistentes à TFD. Esses achados foram fundamentais na primeira aprovação clínica para o tratamento do câncer de bexiga, no Canadá, em 1993 (STRATEN et al., 2017, p. 1, tradução própria).

Nas décadas de 1970 e 1980, acreditava-se que a principal função da TFD era a captação seletiva de FS no câncer em comparação com o tecido normal adjacente. No entanto, verificou-se que a verdadeira função da TFD era a natureza dos efeitos biológicos, que são muito diferentes daqueles produzidos pela cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou mesmo hipertermia. Além disso, dadas as propriedades de cicatrização das áreas tratadas com TFD em muitos tecidos, a cicatrização ocorre mais através da regeneração do tecido normal do que da cicatrização (KAMIL et al., 2014).

2.1.2 DEFINIÇÃO E APLICAÇÕES DA TERAPIA FOTODINÂMICA

A TFD é definida, então, como uma alternativa terapêutica, utilizada de maneira única ou combinada com outras terapias, com aplicação no tratamento de tumores e infecções microbiológicas. Portanto, o objetivo da TFD é gerar uma grande quantidade de espécies extremamente oxidadas no tecido alvo, o que causa uma série de fortes reações de oxidação para efetivamente oxidar o tecido doente. Em outras palavras, busca-se um desequilíbrio no balanço redox do meio biológico

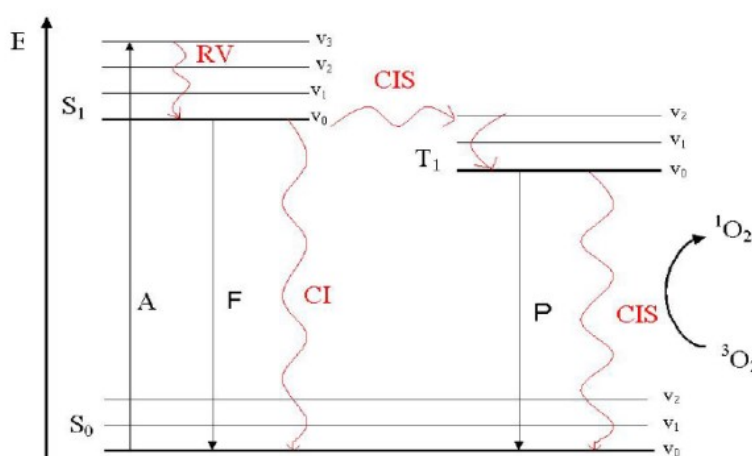
que favoreça a oxidação, o que leva ao termo "estresse oxidativo" (SILVA *et al.*, 2018).

Assim, tem-se que a combinação de dois componentes não-tóxicos, um FS com a luz, forma a base da TFD, onde um composto fotossensível é introduzido no paciente e se acumula preferencialmente em células que se multiplicam rapidamente. Em seguida, o tecido é exposto a luz, geralmente um laser de baixa potência, que ativa o FS, formando EROs e oxigênio singleto, podendo induzir a danos celulares através do estresse oxidativo, promovendo a apoptose ou até a necrose do tecido alvo (STRATEN *et al.*, 2017).

Van Straten *et al.* (2017) demonstrou ser bem-sucedida a TFD como intervenção curativa para doenças pré-malignas e de início precoce, sendo considerada também uma intervenção paliativa eficaz para doenças avançadas. Além disso, os autores discutem que o procedimento pode ser usado antes, durante ou após a cirurgia e em combinação com outras modalidades para melhorar os resultados do tratamento e, devido ao seu modo de ação, pode ser facilmente combinado com outros tratamentos, como quimioterapia. Em alguns casos, onde a cirurgia do tumor é complicada pelo seu tamanho ou acesso, a TFD é recomendada como tratamento pré-operatório para facilitar sua redução (FERREIRA, 2017).

Nesse contexto, os estudos de Belli (2020) e Hori (2013) explicam a absorção de um fóton e as formas de relaxação por meio do diagrama Perrin–Jablonski (Figura 1), expondo o sentido da energia na vertical e as multiplicidades dos níveis de energia na horizontal para demonstrar o processo funcional do fóton.

Figura 1: Diagrama de Perrin–Jablonski



Fonte: HORI, 2013

Com foco na ilustração acima, de acordo com Hori (2013), após a absorção de luz, o FS transita de seu estado fundamental (S_0), com dois elétrons emparelhados de spins opostos, para um estado singlete excitado (S_1), com excitação de um de seus elétrons. Este estado é de curta duração (da ordem de nanossegundos), perdendo energia através de métodos radiativos (emissão de fluorescência, F) e/ou métodos não radiativos (conversão interna, CI ou cruzamento intersistema, CIS). O CIS é o mecanismo mais importante da TFD, manifestado pela inversão de spin eletrônico, levando ao estado excitado tripleto (T_1) dos FS. Este retorna ao estado fundamental por CI ou por emissão de fosforescência P.

O retorno do estado T_1 para o estado fundamental exibe um tempo de vida de maior duração, na ordem de microssegundos, tempo suficiente para permitir que o FS no estado excitado interaja com as moléculas vizinhas. É nesse estado que pode ocorrer a transferência de elétrons com substratos orgânicos, e o FS reduzido reage com o oxigênio molecular (3O_2) para gerar EROs, como radicais hidroxila ($OH^\bullet$), ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2), podendo causar dano oxidativo às células (HORI, 2013). Este mecanismo é uma reação do tipo I, na qual o FS interage diretamente com o substrato biológico. Por outro lado, as reações do tipo II ocorrem quando o FS no estado tripleto excitado sofre *quenching* (inibição) e transfere seu excesso de energia diretamente para o oxigênio molecular (3O_2). O oxigênio molecular passa para um estado tripleto excitado e, em seguida, decai rapidamente para o estado singlete (1O_2), que tem um tempo de vida muito curto devido à configuração eletrônica instável, e reagindo com as biomoléculas, como proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos, e causando citotoxicidade (BUZZÁ, 2016; HORI, 2013).

Embora sejam processos diferentes, ambos os tipos de reações podem ocorrer simultaneamente. A relação entre as reações tipo I ou tipo II é diretamente afetada pela concentração de oxigênio no meio celular, pelo substrato intracelular e pelas propriedades do FS utilizado (BUZZÁ, 2016).

Assim, deve-se enfatizar que a TFD depende de três componentes/elementos básicos que contribuem para sua eficácia: I) um FS com máxima absorção na faixa espectral adequada ao tecido biológico ao qual é aplicado; II) as fontes tratadas de radiação eletromagnética para quais tecidos ou órgãos afetados são expostos; III) a eficiência de produção de EROs, como o oxigênio singlete, e radicais de nitrogênio (ERNs) (MACHADO, 2000; MOREIRA, LYON, 2022).

Por ser um tratamento minimamente invasivo, quando comparado às terapias semelhantes, a TFD vem sendo muito utilizada no tratamento de neoplasias como uma alternativa à remoção cirúrgica, que pode causar deformações estéticas ou até o comprometimento do indivíduo, e à quimioterapia e seus efeitos adversos extensos que acometem a qualidade de vida dos pacientes, como alterações gastrointestinais, toxicidade da medula óssea e danos renais (SANTOS, 2018). Por outro lado, para algumas doenças, a TFD pode ser uma terapia adjuvante muito interessante porque funciona em conjunto com as estratégias de tratamento convencionais, reduzindo a invasão do tratamento, o tempo de recuperação e o nível de saúde do paciente durante o tratamento clínico (LOPES, 2018).

Embora a TFD seja um tratamento bem estabelecido na medicina convencional, seu uso na medicina veterinária ainda é menos comum (MOREIRA; LYON, 2022). No entanto, facilidade de uso, resistência a drogas e excelentes resultados cosméticos devem ser argumentos para uma aplicação mais ampla da TFD na saúde animal. Entende-se que, em algumas doenças, a TFD pode fornecer excelentes resultados e, em muitos casos, a cura completa, como uma única opção de tratamento (LOPES, 2018).

Com o aumento da expectativa de vida dos animais, as doenças que acometem animais idosos, como as neoplasias, também aumentaram sua incidência. Geralmente, estes tumores são tratados com quimioterapia, radioterapia ou cirurgia, que são protocolos não seletivos, promovendo efeitos adversos e desconfortos. Além disso, estudos indicam que os tumores caninos, por exemplo, possuem semelhanças biológicas com os tumores humanos, incluindo suas respostas aos tratamentos, o que justifica a utilização mais ampla da TFD na medicina veterinária (FERREIRA *et al.*, 2015).

A TFD em medicina veterinária tem sido utilizada para alguns tumores de pele em gatos, principalmente áreas pigmentadas da cabeça. Outras indicações também se aplicam a neoplasias carnudas do trato urinário em cães e cavalos, por exemplo, Lopes (2018) analisa teoricamente e de forma prática a aplicação dessa terapia na ortodontia. Nesse contexto, novas perspectivas sobre a aplicação da TFD em medicina veterinária são apresentadas e testadas em diferentes tipos de câncer e doenças infecciosas microbianas (MOREIRA; LYON, 2022).

Lopes (2018) afirma que existem dois tipos de lasers, de alta potência e de baixa potência, este último, quando utilizado sozinho, age diretamente nas células,

fazendo com que ativem uma série de enzimas que aceleram os processos inflamatórios e reparadores de doenças instaladas. Segundo os autores, essa terapia torna-se uma opção para substituir a antibioticoterapia, que pode levar à resistência bacteriana (LOPES, 2018; NÚÑEZ *et al.*, 2019; SELLERA, 2018; MOREIRA, LYON, 2022; SAVI, 2021).

2.1.3 FOTOSSENSIBILIZADORES

Pelo estudo de Santos (2018), os FS são um dos três pilares da TFD, muitas são as substâncias utilizadas como FS, a maioria advindas de pigmentos naturais. Os FS exibem várias características podendo ser classificados pela estrutura química, bem como, pela sua funcionalidade dentro de uma célula. Os FS podem ser divididos em três gerações, sendo que a primeira geração corresponde às hematoporfirinas e seus derivados, a segunda geração são os derivados de clorinas, bacterioclorinas e ftalocianinas, e a terceira geração, focada no estudo de FS conjugados a moléculas transportadoras. Nesse contexto, a escolha do FS adequado para cada tipo específico de câncer é essencial para o sucesso da terapia (CORREIA *et al.*, 2021; EMILIO, 2008).

Os FS devem atender a vários critérios antes de poderem ser usados, o que inclui ter um composto único, estável e quimicamente formulado, bem como, não ser tóxico quando administrado por via intravenosa ou oral (MOREIRA; LYON, 2022).

Entende-se que a presença de efeitos adversos da TFD está diretamente relacionada à composição química e à concentração de um FS, bem como à dosimetria de luz utilizada. Muitos poucos sintomas relatados de tratamentos relacionados a infecções devem-se ao fato de que muitos agentes FS utilizados para esse fim são mais tóxicos para as células do hospedeiro do que para os microrganismos. Ainda, certos FS podem causar náuseas, vômitos e elevação das enzimas hepáticas em alguns pacientes, portanto, as drogas desenvolvidas para uso em TFD devem ser corantes (cromóforos) e/ou FS adequados a determinações específicas e bem delineadas (SILVESTRE *et al.*, 2018).

Atualmente, o tratamento TFD adequado requer o uso apenas de soluções homogêneas, essas soluções devem ter um alto rendimento quântico de oxigênio singlete e pureza química. Eles também devem ser estáveis, seletivos para células malignas ou endotélio e ter rápida penetração e eliminação do organismo.

Adicionalmente, devem apresentar estabilidade física, química e excelente fotoatividade (SANTOS, 2018). Além disso, valores elevados de pH e uma rede linfática pobre podem prejudicar sua eficácia (FERREIRA, 2012).

Os FSs facilitam a transmissão de energia luminosa que resulta na destruição celular por meio de uma série de reações químicas. Vários FSs comprovados foram desenvolvidos e testados na prática clínica. Estes podem ser administrados por via intravenosa ou tópica. Após identificar a melhor opção para um medicamento, uma análise detalhada deve ser realizada para determiná-lo. Esse processo envolve a análise de características como estrutura química, propriedades fotofísicas, efeitos tóxicos, ação mutagênica e carcinogenicidade. Fatores adicionais analisados incluem custo, via de administração, solubilidade da droga em água ou solvente inócuo e tempo de eliminação (FERREIRA, 2016).

Conforme Natal (2006), em relação às propriedades fotofísicas positivas, um componente significativo é o comprimento de onda necessário para que o composto seja excitado pela luz na região do visível. Quanto maior o comprimento de onda da radiação incidente, maior sua capacidade de penetrar nos tecidos. Comprimentos de onda mais curtos de radiação têm um efeito de dispersão maior, e a presença de cromóforos que têm um pico de absorção próximo ao da radiação (como a hemoglobina) faz com que menos radiação atinja o tecido. A eficácia da TFD depende do coeficiente de transmissão do meio usado para transmitir a radiação. À medida que a magnitude do coeficiente aumenta, a probabilidade de tratar tumores maiores e mais intrincados também aumenta. Como resultado, os FS destinados à TFD devem ter forte absorção na região vermelha do espectro visível (640-700 nm).

Os valores de comprimento de onda não podem ser muito altos por três motivos: (i) a energia do estado tripleto do fotossensibilizador deve ser suficientemente alta para que seja possível a transferência de energia do estado tripleto do fotossensibilizador para o oxigênio no estado fundamental; (ii) poderá ocorrer uma redução do potencial de oxidação do fotossensibilizador, tornando-o menos estável cineticamente e deixando o composto sujeito à decomposição estimulada pela radiação, fenômeno denominado como fotobranqueamento; (iii) acima de 800nm ocorre absorção da radiação pela água, o que restringe o comprimento de onda a este limite (NATAL, 2006, p. 27).

Como resultado, o referido autor menciona que os atributos mais significativos de um FS que são relevantes para aplicações terapêuticas são o tempo de meia-

vida (τT), o rendimento quântico (ΦT) e a energia (ET) do estado tripleto. Nesse contexto, a primeira geração de FS foi composta por alternativas naturais para análogos comerciais como Photofrin®, derivados da hematoporfirina com altas propriedades fotofísicas. Após estabelecimento de segunda geração, os cientistas fizeram melhorias nas propriedades dos materiais existentes, criando materiais aprimorados, o Photosan®, Photocarcinorin®, Photoheme®, Photofrin® e Photohemin®, por exemplo (FERREIRA *et al.*, 2015).

Muitos tipos diferentes de FS são estudados e aprimorados regularmente, eles incluem as bacterioclorinas, clorinas e porfirinas, que produzem mais oxigênio singleto do que suas outras classes. Atualmente, novos suplementos de segunda geração, como ftalocianinas, estão sendo estudados, esses suplementos têm bandas de absorção diferentes das porfirinas, com melhores bandas de absorção do espectro vermelho. Assim, a TFD trabalha com mais eficiência, estabelecendo-se na janela fototerapêutica que está entre 600 e 800 nm de comprimento de onda, na região da luz vermelha do espectro visível, isso ocorre porque evita que a luz seja absorvida pela hemoglobina ou outros materiais que estão presentes no corpo (BONNETT, 2000).

Ferreira (2015) trazem ainda mais três compostos aprovados pela TFD que são aplicados na terapia fotodinâmica: Visudyne® na terapêutica da degeneração macular, também conhecido como monoácido ou verteporfirina derivado de benzoporfirina; Levulan®, que é o ácido aminolevulínico e atua contra a queratose actínica; e, por fim, o Metvix®, que é o aminolevulinato de metila e participa do tratamento de carcinoma basocelular e queratose actínica. Além disso, muitos FSs são de composição inconsistente e é quase impossível isolar o principal material ativo neles (LONGO, 2008).

A síntese desses FSs facilitou o desenvolvimento das características ideais de um composto a ser utilizado na TFD, quais sejam: deve ter um perfil de solubilidade compatível com seu transporte e retenção nos fluidos corporais, deve ter toxicidade seletiva para o tecido neoplásico em relação ao normal tecido, não deve ter nenhuma toxicidade na ausência de luz, deve ter uma alta absorção na extremidade vermelha do espectro visível ($\lambda > 650$ nm), isso porque a luz neste comprimento de onda tem maior capacidade de penetrar nos tecidos, deve ter um alto rendimento de oxigênio singleto e, portanto, deve ter um estado excitado tripleto com vida e energia semelhantes, não deve degradar pela luz, isso teria um efeito

negativo no rendimento quântico do oxigênio singleto, deve ter um síntese curta e de alto rendimento, deve ser uma substância pura e ter uma composição consistente, e deve causar dano no tecido neoplásico (ROCHA, 2010).

Tendo em vista todo o processo supracitado, os principais agentes FSs, usados atualmente na medicina veterinária, e suas determinadas bandas de absorção de luz são reunidos na Tabela 1.

Tabela 1: Agentes fotossensibilizadores usados na medicina veterinária

Agentes fotossensibilizadores	Banda de absorção
Acridina	400 – 500 nm
Cianinas	600 – 805 nm
Derivados da porfirina (Photofrin, ALA)	620 – 650 nm
Fenotiazinas (azul de toluidina, azul de metileno)	620 – 700 nm
Fitoterápicos (azuleno)	550 – 700 nm
Ftalocianinas	660 – 700 nm
Triarilmetano	617 – 630 nm
Hematoporfirina	370 nm – 510 nm
Bacterioclorinas	730 nm
Clorinas	650 nm – 690 nm
Curcumina	350 e 360nm

Fonte: adaptado de (SELLERA, GARGANO, POGLIANI, 2014; FERREIRA, 2015; BEVILAQUA, 2018; BARCELOS, BARROS, TOLOTE, 2017).

Há diversas ponderações sobre as FSs descritas acima, diversos estudos definem e analisam cada aplicabilidade, sendo assim, em aparato, entende-se que, depois de administrado ao hospedeiro, o FS deve ser atóxico e não causar efeitos colaterais negativos. Também deve ser solúvel em água, facilmente sintetizado e rapidamente eliminado pelo organismo hospedeiro. Além disso, deve ser biologicamente estável com alto rendimento quântico, ser seletivo para células-alvo e causar danos mínimos aos tecidos normais. Finalmente, o FS deve ser produzido sinteticamente com altas limitações de toxicidade e efeitos adversos (SELLERA, 2014).

Conforme Braga et al. (2014), as porfirinas são moléculas biologicamente importantes e desempenham papéis cruciais no metabolismo de organismos vivos, estes incluem sítios ativos para ligação de oxigênio (mioglobina e hemoglobina), captura de luz na fotossíntese (clorofila), transporte de elétrons (citocromo C) e

reações de metil-transferase (coenzima cobalamina - vitamina B12). As porfirinas atuam como FS eficiente em processos catalíticos e fotodinâmicos. Nesse contexto, os autores discutem que:

As porfirinas são FS potenciais para aplicação em Terapia Fotodinâmica (TFD) devido às suas características, como: afinidade e seletividade por células neoplásicas, alto rendimento do estado excitado tripleto (Φ_T), alto tempo de vida do estado tripleto (τ_T) e, alto rendimento quântico de oxigênio singleto ($\Phi\Delta$). O estado de agregação de moléculas fotoativas é fundamental na eficácia fotodinâmica do fármaco *in vitro* e *in vivo*, devido ao decréscimo de biodisponibilidade e limitação na capacidade de absorver luz de moléculas agregadas. Além do que, estudos realizados mostraram que as porfirinas monoméricas foram mais fotoativas em relação às espécies autoagregadas, com maior τ_T e maior $\Phi\Delta$ (BRAGA *et al.*, 2014, p. 1).

Sobre o mesmo FS, Rodrigues et al. (2017) adiciona que as porfirinas fazem parte de uma classe de compostos orgânicos com propriedades específicas e interessantes, incluindo forte ligação a estruturas biológicas, alta absorção óptica na região UV/Vis, atividade catalítica e alta estabilidade química e fotodinâmica. Devido a essas propriedades, as porfirinas possuem variadas aplicações, incluindo o tratamento de câncer na TFD e em aplicações ópticas, como bloqueio e comutação de luz. Um benefício dessa classe de FS é que sua estrutura molecular permite alterações, adicionando prótons ou átomos de metal ao centro do anel de porfirina e grupos periféricos ao anel central, podendo alterar suas propriedades eletrônicas e seu mecanismo de ação, como as seções transversais de absorção de luz, seu tempo de relaxação e seu nível de fluorescência.

Sobre outro modelo de FS, Sellera (2014) estuda a aplicação de Compostos fenotiazínicos, com destaque as fenotiazinas azul de toluidina (AT) e azul de metileno (AM). O autor considera que eles não causam morte celular em baixas concentrações, por isso é seguro usar doses mais baixas desses suplementos, evitando danos significativos a outras células, como queratinócitos e neutrófilos. Já quanto ao dano celular, AT e AM têm menos efeito do que a metilestatina ou metilestrina.

O AM é uma molécula conhecida há décadas como corante histológico e tem desempenhado papel importante nas áreas de microbiologia e farmacologia. Sua seletividade pela mitocôndria pode ser determinada por ser lipofílico e de carga positiva, atraído, portanto, devido ao ambiente eletroquímico negativo da matriz mitocondrial (SELLERA *et al.*, 2014, p. 37).

O autor supracitado considera ainda que as fenotiazinas são uma classe de FSs que podem ser encontrados na forma de monômeros, dímeros e agregados maiores. Esses FSs apresentam bandas de absorção em 664nm, 600nm e na região de 550nm, no espectro vermelho da luz visível, tornando-se uma ótima opção para janelas fototerapêuticas devido à sua eficiência de penetração da luz nos tecidos biológicos. A pesquisa que apoia o uso da técnica em tecidos vivos e é comprovada por meio de estudos publicados.

AM é um composto fenotiazínico que pode ser encontrado na categoria de produtos de limpeza antissépticos e desinfetantes. Possui massa molecular de 319,86 g/mol na forma anidra, ou totalmente desprovida de água, isso porque tem sido amplamente utilizado como corante histológico, indicador de reações redox e FS para tratamentos TFD. Além disso, tem sido recomendado como medicamento para tratar metemoglobinemia, a fim de tratar níveis baixos de hemoglobina no sangue (VIEIRA, 2019).

Adicionalmente, Sampaio, Freitas e Santana (2017) observaram que o AM, um composto orgânico catiônico comumente utilizado como desinfetante e antisséptico, os autores discutem uma alternativa à tecnologia baseada em laser por meio dos sistemas baseados em LED, que são compactos, leves e requerem menos energia para gerar o comprimento de onda desejado. Expõe-se que o FS pode ser usado na iluminação plana, o que facilita a utilização de luzes contínuas ou alternadas, indicando que a mudança para luz branca aumenta a morte de células *in vitro* durante a TFD antimicrobiana.

Moléculas catiônicas na forma de corantes fenotiazínicos, como AT e AM, podem afetar bactérias Gram negativas e Gram positivas de forma diferente, sendo extensivamente estudados como FSs na TFD. Em bactérias Gram positivas, as moléculas de FS catiônicos assumem a posição dos cátions bivalentes (Ca^{2+} e Mg^{2+}) na membrana externa, que são responsáveis pela ligação com as porções negativas dos lipopolissacarídeos. Nesse mecanismo, a membrana se torna mais fraca, o que

aumenta sua permeabilidade ao FS catiônico, aumentando a taxa de quebra da barreira e a absorção do FS (DAI; HUANG; HAMLIN, 2009).

Vários estudos científicos demonstraram que as bactérias Gram-negativas são significativamente mais resistentes à TFD do que as bactérias Gram-positivas. Esses estudos mostram que o FS requer componentes catiônicos adicionais para conseguir atravessar as membranas de peptidoglicano de bactérias Gram-negativas. Ambos os tipos de bactérias possuem membranas externas com proteínas, lipídios e peptídeos, mas a membrana Gram-positiva contém uma camada adicional permeável de peptidoglicano e ácido lipoteicoico que permite a entrada de FS (HAMBLIN; HASAN, 2004).

No que diz respeito aos efeitos citotóxicos da TFD, há algum debate científico sobre seus efeitos negativos sobre as células saudáveis do organismo e seus possíveis efeitos sistêmicos. Isso foi explorado apenas por meio de experimentação *in vitro* e, portanto, não aborda como a TFD pode afetar os tecidos vivos. Muitos estudos foram realizados sobre o efeito do TFD no sistema imunológico. No entanto, a maioria se concentra em como a técnica afeta fibroblastos, queratinócitos e neutrófilos. Ainda assim, existe grande parte da literatura que investiga os efeitos curativos da TFD (LIMA, 2017).

Acerca da via de administração, os FS tópicos podem se integrar melhor nas células, pois sua forma de contato permite a destruição imediata da membrana celular e a reabsorção tecidual, o que leva a uma eventual regeneração e cicatrização dos tecidos. Alternativamente, a administração sistêmica não permite uma transição suave da fotossensibilidade para o controle desse efeito adverso até que a substância seja eliminada do corpo, o que pode desencadear outros efeitos adversos (EDUARDO *et al.*, 2015).

Os fotossensibilizadores aprovados são: Fotofrin (porfimer sodium), 5-ALA (ácido 5-aminolaevulânico) e Foscan (temoporfirina, metatetrahidroxifenil cloro). O Fotofrin e o Foscan são administrados sistemicamente, e apenas o 5-ALA aplicado topicamente, porém limitado a áreas superficiais (FERREIRA, 2017, p. 17).

De acordo com o autor supracitado, Fotofrin (porfirina sódica) e 5-ALA (ácido 5-aminoacetilretinoico) foram os FS de primeira geração a receber aprovação regulatória. Fotofrin é o primeiro FS aprovado para uso no esôfago, pulmão,

estômago, colo do útero e bexiga. O 5-ALA é aprovado apenas para lesões não malignas e pré-cancerosas e pode ser ativado por luz vermelha, verde e azul, é o único FS que pode ser aplicado topicamente (MENDONÇA, 2016). Também, um potente FS de segunda geração chamado Foscan (temoporfirina, cloreto de 14-m-tetrahidroxifenil) foi recentemente aprovado para uso humano no tratamento de câncer avançado de cabeça e pescoço (SANTOS, 2020).

Em um modelo de aplicação provável, o composto 5-ALA tem sido utilizado na detecção fotodinâmica (DPD) e na TFD. O 5-ALA é convertido *in situ* no FS maduro protoporfirina IX (PpIX) pelo mecanismo fisiológico de formação de heme. Osaki e colegas descobriram que o 5-ALA-PDD tinha uma sensibilidade e especificidade de 89,5% e 50% em cães e gatos, respectivamente, e alguns pequenos tumores desapareceram (JUARRANZ *et al.*, 2020; OSAKI *et al.*, 2019).

Felício *et al.* (2008) discute que tem sido extensivamente investigado como o 5-ALA tópico age, o que permite limitar a fototoxicidade ao local de aplicação, ao contrário dos derivados de porfirina que são sistêmicos e têm efeito fototóxico transitório. Como precursor das porfirinas endógenas, o 5-ALA é absorvido pelo corpo e convertido em porfirinas, o que resulta na produção de PpIX, uma substância fluorescente que é eficaz na sensibilização à luz. O uso de 5-ALA tópico como tratamento na neoplasia por meio da TFD trouxe benefícios significativos como a cirurgia alternativa minimamente invasiva em pacientes com cirurgia difícil, impossível, de alto risco ou recusa, tratamento único ou maior taxa de sucesso no tratamento de lesões múltiplas em áreas de difícil tratamento, reaplicação ou uso adicional de outros procedimentos, tudo isso tem um efeito estético significativo.

No entanto, os autores consideraram algumas deficiências: o tempo de oclusão; dor que é sentida como uma sensação de queimação e recorrência durante a observação de longo prazo com um único curso de TFD-ALA, que pode ser reduzida com cursos adicionais, mas ainda permanece uma limitação reconhecida ao acompanhamento adequado recomendado acima. Apesar dos métodos acessíveis que não permitem a medição da emissão de fluorescência no volume do tumor, o tipo clínico e histológico, o subtipo e o tamanho devem ser considerados ao recomendar a TFD-ALA como tratamento conjunto (FELÍCIO *et al.*, 2008).

Emilio (2008) realizou um estudo comparativo dos resultados do carcinoma epidermoide felino tratado com TFD de disparo único e LEDs de 630 nm, neste estudo foram testadas duas composições diferentes do precursor da PpIX, MEALA e

ALA. Os autores mencionam vários benefícios da TFD com ALA, que incluem: facilidade de administração, menor impacto na sensibilidade da pele e facilidade de um segundo tratamento, se necessário. No entanto, devido à sua natureza hidrofílica, o ALA não consegue atravessar as membranas celulares, necessitando assim de altas concentrações ou aplicação prolongada para atingir concentrações terapêuticas de porfirinas.

Ainda, estudos mostraram que vários ésteres de ALA produzem mais PpIX do que ALA sozinho em modelos *in vitro*. Os ésteres metílicos, também conhecidos como metil aminolevulinato (MEALA), são uma nova classe de FS tópicos que podem ter vantagens sobre o ALA, incluindo maior penetração na pele e maior seletividade para células cancerígenas. Nesse contexto, percebe-se que nos últimos anos, a TFD tem sido estudada clinicamente como tratamento para uma variedade de condições médicas, sendo assim, a escolha do FS adequado depende de diversos fatores, sendo importante o estudo adequado para escolha, conforme individualidades (EMILIO, 2008).

2.1.3.1 PROCESSO DE MORTE CELULAR

O estudo de Ferreira et al. (2015) discute que, conforme experimentos, a inativação celular aumentou com as qualidades lipofílicas dos FSs. O DNA celular foi pouco destruído pela TFD devido a localização fora do núcleo dos FSs, com exceção de compostos catiônicos e aniônicos. No entanto, os FSs solúveis em água – como meso-tetrafenilporfirinas sulfonadas, clorinas, ftalocianinas de alumínio e tetrasulfonadas – distribuem-se ao núcleo após irradiação de baixa fluência ou períodos fracionados de irradiação.

Os experimentos mostraram também que FSs localizados em mitocôndrias causam morte celular por apoptose, enquanto FSs em lisossomos e membranas plasmáticas causam morte celular por necrose. Quando as células sofrem necrose, elas geralmente perecem devido a ocorrências físicas, como trauma vascular causado por terapia fotodinâmica. A apoptose é uma forma de morte geneticamente determinada que sinaliza as proteases carpases para desencadear reações hidrolíticas nas células. Por outro lado, os processos necróticos resultam em mudanças significativas na homeostase, o que faz com que a água entre na célula e

subsequentemente destrua sua membrana, levando a um processo inflamatório. (FERREIRA *et al.*, 2015).

Danos genéticos subletais ativam as proteases carpases para catalisar a inativação de proteínas que protegem as células da morte. A morte causada por apoptose não causa inflamação na parte do corpo que foi submetida à radiação, tornando-se uma escolha vantajosa para pacientes com câncer em vez de necrose e subsequente inflamação. Isso se deve às baixas concentrações de fármaco necessárias para que ocorra a morte celular. Além disso, a maioria dos estudos fica fascinado com a apoptose porque geralmente não causa mudanças significativas na homeostase celular (CARNEIRO, 2013).

[...] o processo apoptótico iniciado pela TFD pode ser ocasionado pela degradação de proteínas transmembranas (Ca^{2+} -ATPase) responsáveis pelo bombeamento de Ca^{2+} do citosol ao interior do retículo endoplasmático (RE). Estas proteínas, localizadas nas membranas do RE, mantêm a concentração de íons Ca^{2+} no retículo endoplasmático de 3 a 4 vezes maior do que no citosol. Como o íon Ca^{2+} é um mensageiro secundário que pode sinalizar às células para iniciarem o processo apoptótico ou necrótico, a degradação destas proteínas sarco-endoplasmáticas pode causar um aumento da concentração de íons Ca^{2+} no citosol, provocando a liberação de citocromo C pelas mitocôndrias. O citocromo C presente no citosol liga-se a procaspase-9 (pró-enzima apoptótica), ocasionando a auto clivagem e ativação desta caspase a qual ativa a caspase-3, desencadeando uma cascata de caspases que leva a apoptose celular (FERREIRA *et al.*, 2015, p. 110).

Conforme o autor supracitado, os FSs presentes nos lisossomos evitam a fototoxicidade durante a irradiação, no entanto, FSs de carga única podem romper os lisossomos, desencadeando a produção de oxigênio singlete em outras organelas. Isso pode danificar outras células e causar fotodestruição em outros locais.

2.1.4 VANTAGENS E LIMITAÇÕES DA TERAPÊUTICA

Os agentes FS utilizam de mecanismos fotofísicos e fotoquímicos para atingir seletivamente os tecidos cancerígenos. As razões por trás disso são complexas e ainda não são completamente elucidadas, mas é provável que os dois principais fatores que colaboram para essa seletividade sejam a alta permeabilidade vascular tumoral, que facilita a penetração do FS nesse tipo de tecido, e a drenagem linfática

empobrecida dos tumores, que desempenha um papel importante na retenção do FS no tecido tumoral. Assim, a TFD pode causar o colapso dos microvasos típicos dos tecidos tumorais após a exposição ao FS, o que pode levar a níveis reduzidos de oxigênio dentro do tumor e extingui-lo, também podendo causar hipóxia substancial e necrose após a TFD (DOBSON *et al.*, 2018).

Buzzá (2016) discute ainda que a lesão da TFD pode iniciar uma ou mais vias de resposta, a depender do alvo celular atingido. Quando aplicada à terapia do câncer, a TFD pode levar diretamente a efeitos citotóxicos diretamente no tumor, mas também pode promover a estagnação do fluxo sanguíneo no tecido ou alterar o sistema imunológico.

As alterações na rede vascular podem levar à hipóxia tecidual, privação de nutrientes e, por fim, à morte das células tumorais, em pouco tempo após o início da aplicação de luz (DOBSON *et al.*, 2018). No entanto, o fluxo sanguíneo é o principal meio de fornecer oxigênio e nutrientes a todos os tecidos do corpo, e como o oxigênio é um dos elementos essenciais no desenvolvimento da TFD, quando a lesão vascular ocorre de forma aguda durante a iluminação, a eficácia do tratamento pode ser limitada, devido à inibição desse elemento de maneira precoce, não permitindo a ação completa da TFD por todo o tecido desejado. Portanto, os efeitos vasculares da TFD devem ser controlados para a eficiência da terapia e, pelo mesmo motivo, o uso de substâncias vasoconstritoras para controle da dor na TFD é evitado, pois a vasoconstrição induzida pode alterar os resultados do tratamento (BUZZÁ, 2016).

Ademais, a cascata oxidativa durante a TFD, através dos mecanismos de morte celular, promove a ativação do sistema imunológico contra células tumorais e possíveis danos às células vizinhas devido ao chamado "efeito espectador", no qual as toxinas liberadas das células que sofreram necrose são absorvidas pelos tecidos circundantes e promovem inativação celular secundária. Nesse contexto, a combinação de TFD com imunoterapia ajuda os pacientes a obter uma vantagem extra, isso inclui a adição de imunoadjuvantes que contêm epítomos específicos do tumor ao tratamento (KLEINOVINK *et al.*, 2016).

Outras limitações TFD são que os procedimentos de TFD não podem ser aplicados a todos os tecidos ou órgãos, e eles também não podem usar todas as fontes de luz disponíveis – como LEDs ou lasers – devido às limitações no projeto de cada aparelho. Porém, esses procedimentos são considerados pouco invasivos e

dolorosos para os pacientes, isso se deve ao fato de que outras terapias, como a remoção cirúrgica de tecido doente, serem mais desagradáveis. Ainda, explorar aplicações de TFD tem mostrado bons resultados em áreas incomuns, os estudos têm progredido e o sistema torna-se cada vez mais completo (ISSA; MANELAZULAY, 2010).

A medicina veterinária considera que as regiões afetadas mais apropriadas para TFD são periféricas e superficiais, como a pele ou cavidades acessíveis através do sistema gastrointestinal. Ainda, o FS e a fonte de luz podem estar mais acessíveis e causam menos dor nessas regiões. Pelos motivos citados, a maioria dos testes para TFD ocorre nessas áreas, com algumas exceções em aplicações odontológicas, além do mais, a TFD é testada principalmente em doenças dermatológicas e órgãos ocos e cavidades facilmente acessíveis à fonte de luz, como a cavidade bucal, as vias aéreas superiores, a cavidade auricular e assim por diante (BRAITT *et al.*, 2013).

Ainda, os FS são mais eficazes quando usados em uma área localizada e cuidados adicionais são necessários na administração do FS, pois a ação fotodinâmica pode danificar os tecidos, mesmo após o término da aplicação. Compensa salientar que, como a luz branca abrange todas as cores visíveis, a luz solar ou outras fontes de luz ambiente podem ser muito prejudiciais à pele nestas condições (MOREIRA; LYON, 2022).

Outra limitação da TFD consiste no fato do paciente apresentar uma significativa fotossensibilidade após a aplicação de TFD. Nesse sentido, quando a concentração do agente fotossensibilizador está mais localizada, o problema pode ser mais facilmente contornado (MOREIRA; LYON, 2022, p. 3)

Dessarte, Ferreira *et al.* (2015) traz que sua maior preocupação é a fotossensibilização tardia. Apesar de o FS ser rapidamente eliminado do soro, ele pode permanecer na pele por várias semanas. Como resultado, os animais devem ser mantidos fora da luz solar por pelo menos duas semanas. Outros efeitos, incluindo edema, eritema e necrose secundária, também podem ocorrer no local da aplicação, porém esses efeitos se dissipam com o tempo, sendo necessário anestesia geral durante o procedimento e o uso de curativo ou colar elizabetano após o procedimento para evitar traumas na pele, processo que pode ser de difícil gestão em animais de grande porte.

Van Straten et al. (2017) discutem que existem várias razões para o fato de que a TFD ainda não alcançou o status de "cuidado padrão" na medicina humana, o que dificulta ainda mais sua aplicação em medicina veterinária. Primeiro, há uma falta de ensaios controlados randomizados suficientemente poderosos, os estudos publicados foram insuficientes e atualmente é improvável que a TFD seja aceita como uma terapia alternativa em vez de um adjuvante da terapia padrão. Também, a TFD é frequentemente utilizada como terapia de resgate para doenças recorrentes ou cuidados paliativos em pacientes considerados incuráveis e, apesar de sua eficácia os conhecimentos atuais não justificam a TFD como primeiro passo nos casos em que a terapia padrão é contraindicada (VAN STRATEN *et al.*, 2017).

Ainda, a TFD requer agentes FS ativados por luz para serem eficazes, esses materiais precisam percorrer a pele e o tecido subjacente para chegar ao local do tratamento (NÚÑEZ *et al.*, 2019). Também, deve-se levar em consideração o número de fontes de luz utilizadas em um ambiente intersticial ou intraluminal, uma vez que a penetração da luz no tecido é um processo complexo que depende das propriedades ópticas do tecido no comprimento de onda utilizado. Por exemplo, a hemoglobina absorve comprimentos de onda visíveis mais curtos devido à sua presença nos tecidos e, em alguns casos, esse efeito pode anular a eficácia de um determinado tratamento (STRATEN *et al.*, 2017).

Por conseguinte, em casos de TFD, certas lesões podem ser observadas se o rendimento quântico da coloração induzida pela luz for significativo e o tempo de exposição muito longo, isso ocorre porque a pele na camada externa do corpo é normalmente mais acessível à radiação eletromagnética. Consequentemente, as aplicações de fototerapia na medicina geralmente lidam com a fotossensibilidade pós-tratamento, sendo necessária grande gestão quanto ao tempo de aplicação da tecnologia e fármacos utilizados no processo, bem como, um acompanhamento rigoroso quanto à lesão e o progresso do tratamento (TOREZAN *et al.*, 2009).

Sobre a problemática de superficialidade da terapêutica, Gunaydin et al. (2021) discute que na TFD *in vivo*, a luz pode ser usada como um interruptor "ON-OFF" para ligar ou desligar o tratamento. A penetração da luz limita significativamente a utilidade do tratamento, portanto, é importante melhorar a penetração da luz, isso pode ser alcançado por dispositivos e protocolos de entrega atualizados, a fim de melhorar a eficácia da terapia, incluindo o uso de luz de raios-x, luz NIR, bioluminescência, partículas radio luminescentes e pontos quânticos.

Entretanto, os métodos citados podem induzir a luminescência persistente, na qual a região atingida pela luz continua a emitir luminescência por um período após cessada a irradiação, podendo liberar oxigênio triplo citotóxico por meio de TFD usando o oxigênio singlete produzido, exigindo estudos mais aprofundados (FAN *et al.*, 2017).

2.2 NANOTECNOLOGIA NA TERAPIA FOTODINÂMICA

Ferreira (2012) explicou que a administração adequada de FS é necessária para que o tratamento fotodinâmico induza adequadamente os processos da terapia em si. Várias estratégias foram criadas no passado para apoiar esta abordagem, estes incluem o uso de agentes promotores de permeação, como dimetilsulfóxido (DMSO) e iontoforese, com a intenção de desestruturar o estrato córneo e quebrar os laços físicos entre as células da pele. Dessarte, outros métodos químicos são utilizados, como o uso de agentes supressores de permeação (LOPEZ *et al.*, 2003).

Os FS precisam ser entregues de maneira eficiente ao tecido alvo. Para tal rigor, os sistemas usam nanotecnologia, criando materiais em nível atômico e molecular para liberação controlada. Isso permite, também, que ele entre gradualmente no tecido-alvo do corpo sem efeitos colaterais perigosos.

A nanotecnologia é, basicamente, o estudo, a fabricação, manuseio e aplicação de estruturas em escala nanométrica, que corresponde à bilionésima parte de um metro (SIMONAZZI *et al.*, 2018). Nanotecnologia se trata do estudo, do desenvolvimento e fabricação de materiais e sistemas funcionais em escala atômica e molecular, que, em sua maioria, apresentam propriedades características e únicas quando comparados a materiais em escalas maiores (DIMER *et al.*, 2013).

Diversas áreas vêm demonstrando interesse por esse tipo de pesquisa, como a engenharia de materiais até a indústria farmacêutica, com maior ênfase na área da terapêutica (BAMRUNGSAP *et al.*, 2012). Um dos principais ramos da nanobiotecnologia, aplicado à farmacêutica, é o desenvolvimento de nanocarreadores. Acredita-se que, com a utilização de nanocarreadores na TFD, seja possível, essencialmente, potencializar a ação do FS diretamente no seu alvo, aumentar a eficiência de substâncias insolúveis em água, além de reduzir seus possíveis efeitos tóxicos (FAROKHZAD; LANGER, 2009; PEIXOTO, 2013).

A nanotecnologia tem sido utilizada na medicina para tratamento de uma variedade de doenças (FARAJI e WIPF, 2009). Seu uso está principalmente veiculado ao desenvolvimento desses novos dispositivos terapêuticos (sistemas de liberação de drogas “inteligentes”), capazes de melhorar a eficácia dos tratamentos existentes atualmente. Entre os veículos em nanoescala mais utilizados estão os lipossomas (MARANHO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2006), nanoesferas biodegradáveis (SIMIONI *et al.*, 2011), nanoemulsões (DE PAULA *et al.*, 2012), nanocápsulas (FALQUEIRO *et al.*, 2011), nanoesferas (VILA *et al.*, 2004), entre outros (FERREIRA, 2012, p. 28).

De acordo com o autor acima, a incorporação de substâncias lipofílicas e hidrofílicas nos sistemas de entrega resulta em mais vantagens em comparação com os métodos convencionais de entrega de FS. Esses sistemas fornecem maior eficácia, liberação sustentada, toxicidade reduzida, circulação mais longa, administração segura e menores doses. Eles também fornecem direcionamento específico para as áreas de interesse e a capacidade de incorporar substâncias lipofílicas e hidrofílicas (FERREIRA, 2012).

Apolinário *et al.* (2020) discutem que, devido à falta de padronização prática, existe muitos termos que são usados indiscriminadamente com o prefixo nano, muitas vezes como sinônimos ou até mesmo de forma diferente, mas sem nenhum padrão conceitual. Por exemplo, quando se refere a componentes poliméricos, as nanopartículas podem ser classificadas em nanocápsulas e nanoesferas, mas também existem nanopartículas lipídicas, e alguns autores definem nanocarreadores vesiculares, como lipossomas e polímeros, como nanopartículas.

Lopes (2018) argumenta que a nanotecnologia é de grande interesse na medicina, e mais especificamente na terapia do câncer, pois tais tecnologias focam no desenvolvimento e aprimoramento de sistemas de liberação de drogas (DDS) projetados para substituir o uso de terapias convencionais por alvos de nanocarreadores terapêuticos, melhorando a eficácia terapêutica e reduzindo os efeitos colaterais (BREGOLI *et al.*, 2016).

2.2.1 NANOCARREADORES

Os nanocarreadores possuem capacidade de encapsular FS, promovendo a redução dos efeitos adversos ao ter sua superfície modificada para um direcionamento para tecidos específicos (VIEIRA; GAMARRA, 2016). As

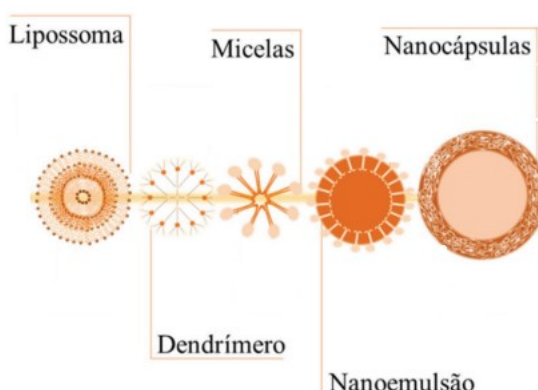
nanoestruturas podem ser aplicadas no carreamento de FS para tratamento direcionado, já que alguns produtos utilizados podem possuir alta toxicidade e baixa especificidade fora do tecido alvo, promovendo um tratamento mais agressivo ao paciente, causando prováveis danos em células e órgãos saudáveis quando ativados, como já citado no tópico anterior (VIEIRA; GAMARRA, 2016; SIMONAZZI *et al.*, 2018).

Os materiais poliméricos nanoestruturados ganham destaque nesse ramo, já que apresentam alta versatilidade quanto à sua macroestrutura, sendo possível inclusive modificar ligações e grupamentos químicos ou ligá-los a biomoléculas, podendo aumentar a interação entre o nanomaterial e seu alvo biológico (PEIXOTO, 2013). Os nanocarreadores são comumente utilizados na TFD, que consiste na ativação de drogas FS, que interagem preferencialmente com os tecidos tumorais, por exemplo, através da aplicação de luz em determinado comprimento de onda (PRIMO *et al.*, 2012; ZANCANELA *et al.*, 2011).

O processo de TFD exige alta biocompatibilidade do fármaco, além de uma distribuição adequada do mesmo pelo organismo, o que justifica a utilização de sistemas nanoestruturados (PRIMO, 2009). Um dos principais nanocarreadores aplicados na terapêutica são os nanomateriais poliméricos, que são sistemas que apresentam alta biocompatibilidade, não-imunogenicidade e biodegradabilidade (DIMER *et al.*, 2013). Os sistemas nanoestruturados se mostram, então, como uma excelente alternativa para a terapêutica, já que aumentam a eficiência do tratamento, além de terem toxicidade reduzida, liberação sustentada e estabilidade aumentada.

Assim, entende-se que, os tumores são mais vascularizados e as paredes dos vasos possuem um espaçamento maior, facilitando, assim, a penetração das nanopartículas. Além disso, a superfície dessas nanopartículas pode ser alterada, com a ligação de substâncias que aumentam sua interação especificamente com o tecido tumoral (COSTA; SILVA, 2017). Dentre as nanoestruturas utilizadas como nanocarreadores de fármacos destacam-se os lipossomas, micelas, dendrímeros, nanoemulsões e nanopartículas poliméricas, como nanocápsulas, exemplificadas na Figura 2 (BIZERRA; SILVA, 2016).

Figura 2: Principais nanocarreadores em aplicação na TFD.



Fonte: Adaptado de APOLINÁRIO *et al.*, 2020.

Conforme classificação supracitada, Apolinário *et al.* (2020) discutem de forma profundada algumas das nanoestruturas utilizadas como nanocarreadores de fármacos, conceitos os quais busca-se abreviar nos parágrafos seguintes.

Os lipossomas são estruturas vesiculares com interior aquoso, circundadas por uma (unilamelar) ou múltiplas (multilamelares) bicamadas lipídicas concêntricas, podendo conter colesterol para maior rigidez. Essas nanoestruturas foram relatadas pela primeira vez em 1965 por Bangham *et al.* Outra aplicação dos lipossomos é na pesquisa biofísica, onde eles podem ser produzidos em escala micrão para simular células. Uma das principais vantagens dos lipossomas enquanto nanocarreadores é que eles podem encapsular tanto substâncias hidrofílicas quanto hidrofóbicas, proporcionando maior "capacidade de carregamento" e protegendo os reagentes encapsulados dos processos metabólicos (APOLINÁRIO *et al.*, 2020).

Nesse parâmetro, as micelas poliméricas são formadas pela autoagregação de copolímeros anfifílicos, formando um núcleo hidrofóbico rodeado por porções hidrofílicas. Dependendo de fatores externos, como a proporção entre blocos hidrofílicos e hidrofóbicos, método de produção e temperatura, a autoagregação pode ocorrer preferencialmente em vesículas ou micelas. Tensoativos não poliméricos também podem formar micelas (APOLINÁRIO *et al.*, 2020).

Ademais, as nanocápsulas constituídas por um núcleo oleoso envolto por uma monocamada polimérica, e são úteis no encapsulamento de substâncias ativas, como fármacos hidrofóbicos ou filtros solares, por exemplo. Elas podem ser definidas com mais precisão como sistemas núcleo-casca, no qual o fármaco é

confinado dentro de um reservatório ou cavidade circundada por uma membrana ou revestimento de polímero (APOLINÁRIO *et al.*, 2020).

Por fim, as nanoemulsões são dispersões coloidais formadas por uma fase oleosa e uma fase aquosa, descritas como sistemas líquidos translúcidos, opticamente isotrópicos, cineticamente estáveis e termodinamicamente instáveis, exigindo o uso de surfactantes para evitar a separação de fases, formados a partir de água (ou fase polar), óleo (ou fase apolar) e um ou mais surfactantes (APOLINÁRIO *et al.*, 2020).

2.3 TERAPIA FOTODINÂMICA NA MEDICINA VETERINÁRIA

Visto os mecanismos de ação e sua aplicabilidade, a fototerapia é usada para tratar muitas doenças em animais de corte, trabalho ou domésticos, sua aplicabilidade já foi comprovada e está sendo analisada no tratamento de doenças como alopecia, tumores, psitacose, sarna, doenças dermatológicas, úlceras de córnea, uveíte, neoplasias e outras condições. Ainda, a luz de um aparelho de fototerapia pode ajudar na reabilitação de animais com lesões ou deficiências, como cegueira ou fraturas da coluna vertebral (ROCHA *et al.*, 2019).

Tecnicamente, a TFD é uma alternativa menos invasiva aos procedimentos médicos convencionais para tratamento de neoplasias, malignidades e infecções em animais e qualquer órgão ou tecido sólido pode ser tratado com luz se for acessível à fonte incidente, o que pode ser alcançado usando vários dispositivos e fontes de luz. Há estudos comprobatórios acerca da capacidade desse procedimento na melhora de sintomas e indicadores de saúde e, quando aplicado de forma adequada, esse tratamento pode até remover completamente os sinais e sintomas associados a uma doença (SELLERA; NASCIMENTO; RIBEIRO, 2016).

Lyon e Moreira (2022) discorrem que essa tendência, tanto na medicina humana quanto na veterinária, foi estabelecida e oferece um valor excepcional no tratamento de condições diversas, sendo um campo ainda inexplorado em sua amplitude medicinal. Os autores confirmam que esta é uma terapêutica pertinente para qualquer animal, pois fornece uma abundância de aplicações possíveis em muitas espécies diferentes. Ainda, a TFD é adequada para tratamentos para animais de estimação (vulgo PET's), podendo ser significativamente mais barato do que o

tratamento tradicional, ao mesmo tempo em que utiliza menos leitos e materiais hospitalares, bem como, causa menor desconforto e ansiedade ao animal.

Sob outra perspectiva, Silva et al. (2015) levantam a discussão de que a medicina veterinária deve atuar junto às pesquisas na medicina tradicional, onde modelos animais são usados para testar as possibilidades de aplicação da TFD. Esses motivos são citados incluindo o uso de terapia fotodinâmica para cardiologia, aterosclerose, oftalmologia e outras áreas da neurociência, aplicando os estudos inicialmente em animais doentes para comprovação técnica. Porém, algumas pessoas acreditam que as pesquisas da TFD em animais não são precisas, porque não estão localizados em um organismo idêntico, outras levantam questões humanitárias sobre testar terapêuticas não padronizadas em seus animais.

Sobre a abordagem terapêutica na medicina veterinária, para o beneficiamento de animais, Sellera, Gargano e Pogliani (2014) discutem que a TFD pode ser empregada para tratar uma variedade de tumores de pele em cães e gatos. Além disso, pesquisas sobre sua utilização têm sido realizadas em tumores da cavidade oral, esôfago, próstata e cérebro, e a utilização da TFD em tumores de origem não epitelial, como glioma, retinoblastoma, lipossarcoma e condrossarcoma, também tem sido documentada na literatura (EMILIO, 2008).

Os veterinários iniciaram pesquisas médicas sobre o uso da terapia fotodinâmica na década de 1980, quando trataram animais com derivados de hematoporfirina e irradiaram seus tumores com lasers. Embora apenas um pequeno número de animais e tipos de tumores tenham sido estudados, os protocolos atuais têm mostrado sucesso na maioria das circunstâncias (EMILIO, 2008). A discussão sobre as opções de tratamento em medicina veterinária ainda está em andamento devido à multiplicidade de variáveis associadas a este campo, bem como, à falta de estudos na literatura que comparem com outras áreas da medicina. Além disso, a crescente incidência de múltiplos patógenos que causam infecções em animais e a discussão da crescente preocupação com a seleção de microrganismos resistentes a antibióticos está centrada nessa questão (SELLERA; GARGANO; POGLIANI, 2014).

Sellera et al. (2013) como um autor apto na área da medicina veterinária e estudo da TFD cita que a utilização desse método em infecções localizadas sem dúvida tem despertado o interesse de veterinários e dermatologistas em infecções tópicas. Muitos patógenos (bactérias, fungos e vírus) demonstraram ser susceptíveis

in vitro, o que torna sua aplicação *in vivo* uma opção terapêutica pouco explorada. Os autores expõem que as feridas tratadas apenas com TFD tiveram uma taxa de cicatrização mais rápida do que o tratamento usual.

Assim, foi teorizado que pode haver uma sinergia entre os efeitos da luz e dos FS, bem como o efeito antimicrobiano observado na TFD como coadjuvante no reparo tecidual, sendo este o principal responsável pela diminuição da carga microbiana (SELLERA *et al.*, 2013). Na área veterinária, a fototerapia é empregada principalmente em pequenos animais como coelhos, hamsters, cães e gatos, no entanto, esta estratégia tem sido usada em animais maiores como cavalos, cabras e animais de coorte (SELLERA; GARGANO; POGLIANI, 2014).

Ainda na primeira década do século XXI, Hage *et al.* (2007) relataram que o ácido 5-aminolevulínico – um precursor da PpIX – poderia ser aplicado diretamente em tumores de carcinoma de células escamosas (CEC) bovinas. Também, Emilio (2008) comparou a eficácia do ALA e MEALA no tratamento de gatos com carcinoma espinocelular. Animais marinhos também já foram alvo de estudos, por exemplo, foi utilizada TFD em pinguins *Spheniscus magellanicus* para curar dermatite, onde a terapêutica otimizou a cicatrização e regeneração dos tecidos, mostrando-se uma alternativa eficiente no tratamento dessa condição (SELLERA *et al.*, 2012).

Conforme demonstrado por Brown (2012), a luz não absorvida por microrganismos pode ser absorvida por cromóforos teciduais, provocando respostas semelhantes aos processos biomodulatórios, ou seja, exibindo a capacidade de estimular ou inibir processos celulares que demonstraram influenciar a cicatrização. Portanto, a TFD pode ter dois efeitos sinérgicos: controlar microrganismos e acelerar o processo de reparo tecidual (SELLERA, 2014).

Assim, como já definido por outros autores, este método provou ser uma alternativa viável aos tratamentos convencionais de doenças, sendo comprovadamente eficaz em bovinos, ovinos e outros pequenos ruminantes também. Há discussões ligadas ainda ao tratamento de sêmen bovino, tratamento de cavalos inférteis, tratamento de colostro infértil, tratamento de tumor venéreo transmissível (TVT) em cães, terapia e controle de microrganismos resistentes e desinfecção da água e tratamento de patógenos que causam doenças em peixes e crustáceos (JORI *et al.*, 2011).

Como exemplo, o estudo de Sellera (2018) avalia a eficácia dessa terapêutica no tratamento da dermatite digital (DD) de bovinos, uma doença de pele. O autor expõe que, em termos de economia de produção e tratamentos, a TFD se destaca como uma alternativa atraente ao uso de antibióticos, assim a aplicação desnecessária de antibióticos pode ser evitada, uma vez que o tratamento antibiótico faz com que a quantidade de leite produzida e o volume total de produção diminuam.

O padrão de atendimento determinou que a TFD era a opção de tratamento mais eficaz, e algumas diferenças foram observadas entre os tratamentos com oxitetraciclina e aqueles com TFD. Além disso, os tratamentos promoveram aumentos significativos tanto na área de colágeno tipo I quanto na área total de colágeno. Ao examinar as espiroquetas presentes nas lesões antes do tratamento, nenhum desses organismos foi observado na pele de animais saudáveis, porém, após o término do período de testes, algumas lesões tratadas com oxitetraciclina ainda abrigavam espiroquetas. Isso provou que a TFD foi um método de tratamento mais eficaz do que a oxitetraciclina para DD (SELLERA, 2018).

Ainda, em outra linha de tratamento em animais de grande porte, conforme estudo de Sellera (2014), a mastite bovina, que impacta negativamente a economia mundial, causa danos significativos à pecuária leiteira e não possui alternativas terapêuticas além da TFD sem antibióticos. O estudo de Sellera (2014) constatou que essa tecnologia usa luz do comprimento de onda adequado e materiais fotossensibilizantes para criar moléculas reativas de oxigênio que impedem a multiplicação de bactérias, sendo assim uma terapêutica eficiente no tratamento otimizado dos ruminantes. A TFD *in vitro* foi usada para avaliar sua eficácia na inativação de cepas bacterianas causadoras de mastite, demonstrando resultados positivos irrefutáveis.

Os profissionais médicos têm muitas opções de tratamento para diferentes tipos de tumores, queratoses, carcinomas e diversas abordagens possíveis no campo de cancerização, fertilização, regeneração, cicatrização, dentre outros males. Consequentemente, os profissionais precisam entender os atributos específicos da injúria para escolher a melhor opção de tratamento para eles. Cabe, portanto, discutir a aplicação adequada de FS e tecnologias acessórias, são diversas as alternativas terapêuticas mais indicadas a cada caso, sendo necessário um estudo adequado acerca dos parâmetros e moldes envolvidos na assimilação médica (ABREU, 2019).

2.3.1 A TERAPIA FOTODINÂMICA NA INATIVAÇÃO DE MICRORGANISMOS

Os antibióticos são categorizados como drogas fúngicas, bacterianas ou sintéticas, com o objetivo de prevenir ou coibir o crescimento de microrganismos no hospedeiro que causam infecções. O uso contínuo, indiscriminado ou não supervisionado dessas drogas pode levar a um processo de seleção nos microrganismos alvo, que resulta no desenvolvimento de cepas resistentes ao princípio ativo (GUIMARÃES, 2010). Haja visto a resistência medicamentosa, o uso da TFD pode ser um recuso determinante na recuperação do paciente, assim sendo, deve-se estudar o contexto de atuação da terapêutica sobre microrganismos (FERREIRA, 2015).

Com destaque ao estudo de Sellera et al. (2014), percebe-se que a TFD tem sido investigada no reparo tecidual e no tratamento de feridas cutâneas infectadas, principalmente pelo seu potencial de inativar microrganismos. Um estudo de Sellera et al. (2014) buscou demonstrar a eficácia do uso da TFD para o tratamento de feridas midiáticas. Nesse estudo, uma cabra jovem da raça Saanen, infestada com larvas da mosca *Cochliomyia hominivorax*, e que desenvolveu extensa perda tecidual na região vulvar e perianal devido à atividade larval no tecido, foi tratada com TFD.

De acordo com o estudo de caso dos autores, embora o número de animais apresentados neste relato fosse limitado e não houvesse grupo controle, esta terapia se mostrou eficaz no tratamento dos animais relevantes, pois durante o acompanhamento clínico, observou-se que a margem da lesão era avermelhada, e a lesão sofreu retração, sem secreção purulenta e odor fétido. Após o tratamento, os autores concluíram que a reepitelização completa da ferida necessitou de 15 dias, demonstrando assim que a terapia fotodinâmica pode ser usada como tratamento alternativo para feridas (SELLERA et al., 2014).

Tanaka et al. (2012) investigaram a eficácia da TFD usando diferentes FSS contra *Staphylococcus aureus* multirresistente e neutrófilos isolados em roedores. Os autores concluíram que foi necessária uma quantidade menor de AT e AM para tornar o *S. aureus* inativo, comparando a quantidade necessária para ferir os neutrófilos. Sobretudo, os neutrófilos neste estudo não mostraram grandes alterações morfológicas durante a irradiação AT ou AM e a viabilidade celular

manteve-se alta ($> 80\%$ em doses de 5 ou 20 J/cm^2), o que fez com que o resultado da pesquisa exprimisse a hipótese de que a TFD, em conjunto com as fenotiazinas escolhidas nas concentrações estudadas, não exerce efeito citotóxico em neutrófilos.

Equitativamente, Zeina et al. (2002), testaram o efeito da TFD com AM como FS em queratinócitos usando várias extensões de onda de luz emitida por um projetor de slides, o comprimento de onda máximo foi de cerca de 700nm e a taxa de fluência de 42mW/cm^2 , apresentando baixa toxicidade aos queratinócitos. A viabilidade celular foi de 91% após 60 min TFD e 68% após 90 min TFD (SELLERA, 2014).

Essencialmente, a fotossensibilização das bactérias está diretamente ligada à quantidade de FS empregada. Com isso, FS com carga neutra ou positiva têm maior capacidade de interagir e inativar bactérias Gram-positivas, pois seu efeito é limitado principalmente a esse tipo de bactéria. As bactérias Gram-positivas possuem uma camada de peptidoglicano e ácido lipoteicoico que facilitam a difusão do FS melhor do que a membrana externa presente nas bactérias Gram-negativas, isso às vezes pode servir como uma barreira física e funcional entre a célula e os organismos em seu ambiente, dificultando a penetração do FS (SELLERA, 2018).

Tendo como base as descobertas da pesquisa de Sellaera (2015) e na presunção de que a TFD não causa danos às células e glândulas mamárias saudáveis, o autor testou diferentes abordagens em tecidos saudáveis com implicações significativas para a inclusão ou exclusão da técnica no tratamento. Assim, nos ensaios clínicos de mastite bovina e na criação de modelos animais dessa doença, embora a TFD tenha demonstrado baixa citotoxicidade para várias células saudáveis e alta segurança, ainda faltam estudos avaliando alterações na viabilidade celular, bem como qualquer citotoxicidade para leucócitos isolados de tecido mamário saudável.

2.3.2 TERAPIA FOTODINÂMICA NA DESTRUIÇÃO DE CÉLULAS TUMORAIS

A maioria dos protocolos convencionais para tratamento de neoplasias envolve o uso de terapias individuais, como quimioterapia/radioterapia combinadas. Alternativamente, esses tratamentos podem ser usados separadamente, buscando sempre o objetivo de destruir as células e danificar as células neoplásicas

circundantes. Porém, existem muitos efeitos adversos potenciais que acompanham esses tratamentos, incluindo complicações a longo prazo, como recorrência, aumento da disseminação e deformidades físicas no corpo. Assim, tratamentos modernos para câncer e outras condições médicas foram pesquisados graças a novas tecnologias de tratamento, sendo uma delas a TFD (BRASIL, 2014).

Usando luz, oxigênio e um agente fotossensibilizador, a TFD trata tumores estimulando o rápido crescimento celular. Um composto fotossensível é adicionado ao esquema de tratamento do paciente e se concentra naturalmente nas células de reprodução rápida, assim, uma reação cascata de oxigênio faz com que as células tumorais se deterioreem e os pacientes se recuperem (FARIA; RIBEIRO; RIBEIRO, 2017).

Apenas em 1980, os primeiros estudos analisaram como o TFD pode ser usado para tratar o câncer em animais, estes foram feitos com hematoporfirina, uma droga fotossensibilizante de primeira geração que vem do sangue de mamíferos. Na mesma época, além de tratar tumores e outras condições, descobriu-se que a terapia ajuda no tratamento de injúrias de pele, como o CEC. Assim, o uso da TFD na medicina veterinária evoluiu desde então, com uma nova geração de drogas fotossensibilizantes sendo testadas, novos agentes seletivos fotodinâmicos com pouco ou nenhum efeito colateral foram desenvolvidos, tais como, agentes lipossomais e nanoparticulados, bem como, o ácido alfa-linolênico para o tratamento de CEC em gatos, por exemplo (MACHADO, 2000).

Rocha et al. (2020) discutem que os tumores caninos têm muitas semelhanças biológicas com os cânceres humanos, isso inclui respostas semelhantes às terapias convencionais, bem como o fato de que muitas vezes há recorrência tumoral após o tratamento convencional. O acesso aos tratamentos mais eficazes para o câncer canino inclui radioterapia, quimioterapia, terapia fotodinâmica, eletroquimioterapia e cirurgia, onde atualmente o desenvolvimento de novos tratamentos de câncer para animais ou melhoria dos protocolos existentes é uma alta prioridade.

3 METODOLOGIA

De acordo com Gil (2010), pesquisa é o conjunto sistêmico e formal de utilização do método científico que dispõe respostas sobre problemas levantados com base no emprego de procedimentos científicos. Ou seja, pesquisar é encontrar respostas sobre um problema coletando e analisando o material em estudo com base em metodologias funcionais pré-determinadas.

O presente estudo foi desenvolvido e classificado buscando atingir os objetivos da pesquisa, sendo assim, observou-se que é classificada como aplicada e exploratória, isso devido à aplicabilidade a ser proposta e ao fato do uso de fontes bibliográficas e descritivas buscando analisar e resolver toda a problemática.

O estudo foi desenvolvido a partir de livros, artigos científicos e documentos eletrônicos, sendo assim notou-se a pesquisa bibliográfica na busca e abstração de conhecimento sobre TFD, seus conceitos e aplicações atuais, com foco em ativos FSs biotecnológicos na medicina veterinária.

Ainda, as pesquisas exploratórias segundo Triviños (1987, p. 109), “permitem ao investigador aumentar sua experiência em torno de determinado problema”. Assim, esse estudo exploratório teve como diretiva para maior conhecimento acerca do tema estudado e consequente resolução dos problemas em pesquisa.

3.1 COLETA E ANÁLISE DE DADOS

A coleta de dados para o referencial teórico foi realizada por intermédio de artigos científicos, livros, dissertações de mestrado e doutorado e sites acadêmicos como o periódico científico Scientific Electronic Library Online (SciELO), SPELL (Scientific Periodic Electronic Library), “Google Scholar”, “Science Direct” e “Pub Med”.

A pesquisa foi realizada através do estudo e análise crítica de artigos ligados a medicina veterinária, TFD e, mais especificamente, a aplicação da terapia no tratamento de animais, onde apresentou-se inicialmente a análise histórica, metodológica e a aplicação geral da TFD, citando as principais vantagens e limitações terapêuticas estudadas, posteriormente citou-se superficialmente as

tecnologias e processos envolvidos na terapêutica, estudando tanto a terapia fotodinâmica quanto os FSs com foco na área veterinária e, finalmente, realizou-se a presente análise e discussão geral.

A análise foi realizada em três etapas: (i) planejamento, onde criou-se um guia de pesquisa, baseado nos estudos demonstrados anteriormente e autores exemplificados no decorrer do estudo; (ii) condução, incluindo a busca e seleção dos princípios da TFD na medicina veterinária; e, por fim, (iii) extração de dados onde foi possível fazer uma exegese superficial de diversos estudos com a terapêutica em animais.

A pesquisa foi realizada por meio da revisão da literatura identificando trabalhos publicados entre o período de 2013 a 2023, ou seja, com recorte temporal preferencial de dez anos. As principais palavras-chave utilizadas na pesquisa foram “medicina veterinária”, “terapia fotodinâmica”, “animais”, “fotossensibilizadores” e “nanocarreadores”, buscados separadamente e combinados, a partir da utilização do operador booleano “*and*”.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram analisados sequencialmente para expor de que forma a TFD pode auxiliar no tratamento de animais, bem como, sobrepor-se a outras terapêuticas já estabelecidas, expondo considerações acerca do mesmo e exemplificando as principais áreas de interação, como no tratamento de câncer e doenças microbiológicas. Além disso, destacou-se as descobertas consistentes da TFD em outras áreas, como no tratamento de feridas. Isso significa que, embora ainda haja espaço para mais aplicações inovadoras, ainda há muito espaço para melhorias nas aplicações já existentes.

Em comparação com seu uso na medicina humana, o potencial de crescimento das aplicações da TFD na medicina veterinária é muito maior, já que seu uso na saúde animal ainda é significativamente menos difundido. Além disso, enfatizou-se neste trabalho a natureza adjuvante única da TFD como opção terapêutica e a eficácia do método de tratamento como um todo.

As buscas foram realizadas utilizando como base de busca artigos científicos, livros, dissertações de mestrado e doutorado e sites acadêmicos como o periódico científico *Scientificque Eletronic Library Online (SciELO)*, *SPELL (Scientificque Periódicas Eletrônico Library)*, “*Google Scholar*”, “*Science Direct*” e “*Pub Med*”. Os resultados da pesquisa inicial encontram-se referenciados na Tabela 2.

Tabela 2: Referências bibliográficas aplicadas no presente trabalho

Palavra-chave	Referências encontradas	Referências utilizadas
Medicina veterinária	158	11
Terapia fotodinâmica	288	38
Animais	667	12
Fotossensibilizadores	811	19
Nanocarreadores	896	9

Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Após pesquisa inicial com as palavras-chave citadas na Tabela 2 e recorte temporal preferencial de 10 anos, foi realizada a busca conjunta de todas as palavras-chave, pelo operador booleano “*and*”, essa pesquisa inicialmente obteve 106 referências, sendo 30 artigos científicos, 29 livros, 25 estudos acadêmicos previamente realizados, 4 páginas da internet e 16 trabalhos digitais diversos, então

para apoio à manipulação e tratamento dos itens recuperados, a escolha foi direcionada aos trabalhos mais citados por outros estudos e separados quanto a confiabilidade do material e maior adequação ao tema tratado no presente trabalho, não restringindo os trabalhos ao recorte temporal de 10 anos nesta etapa.

Pela revisão sistemática foi possível entender a importância da utilização de parâmetros individuais na confecção de protocolos e aplicação da TFD, bem como, foi possível demonstrar as melhores metodologias e apoios necessários ao tratamento. Porém, mesmo com a grande disseminação dessas ideias e diversos estudos na área da medicina veterinária, há poucos praticantes e profissionais capacitados, bem como, há poucos estudos realmente direcionados a utilização ampla do método.

Sellera et al. (2014) realizou um experimento com 20 lesões de DD em 16 animais, tratadas ou com TFD com uma luz com comprimento de 650nm e uma saída de luz mínima de 660nm e os valores de área (A) e intensidade (I) da TFD foram 13,2 cm² e 120mW/cm², respectivamente. Outro estudo de Sellera associou à terapêutica uma “aplicação tópica do fotossensibilizador AM (300µM; apresentação em gel; com 5 min de tempo de pré-irradiação) ou com aplicação tópica de oxitetraciclina (500 mg em solução à 20%)” (SELLERA, 2018). Os resultados indicaram que os tratamentos de TFD reduziram o tamanho das feridas de DD em aproximadamente 70%.

Instituiu-se um único tratamento com TFD, aplicando sobre a lesão 5mL de solução aquosa de azul de metileno (300µM) e, após cinco minutos, a lesão foi irradiada com laser de diodo ($\lambda = 660\text{nm}$) por três minutos em contato perpendicular com a lesão (40mW e 0,4J por ponto, distribuídos em oito pontos ao redor da lesão). Foi realizada a limpeza diária da lesão com solução fisiológica 0,9% e, desta forma, a mesma foi avaliada por análise descritiva simples até sua completa regressão (SELLERA *et al.*, 2014, p. 75).

Conforme o autor, tendo em consideração todos os estudos exemplificados no decorrer da revisão bibliográfica, a escolha do FS diz respeito principalmente à faixa espectral da luz emitida pela fonte de luz para serem empregados na TFD. Quanto mais monocromática for a luz emitida, mais controlável e previsível será a interação com um determinado FS, por isso há estudos que utilizam a tecnologia LED para otimização do processo. Curiosamente, vários métodos foram desenvolvidos para facilitar a entrega de FS em áreas de interesse, o que minimizou

a concentração desse potente corante em áreas que não foram afetadas pela doença associada, dentre estes, discute-se a potencial utilização de nanocarreadores.

Na realidade, percebe-se que quando a fotossensibilização ocorre sem uma distribuição específica do FS, o paciente fica mais "fotossensível" até que a absorção do corante pelos tecidos e órgãos sadios seja essencialmente eliminada, havendo maior chance de lesão de tecidos não relacionados à doença. Como resultado, o sucesso da TFD depende da seleção prévia rigorosa da fonte de FS, bem como, do método de administração de ambos, que dependerá do tecido afetado e o estado clínico do paciente.

De forma comprobatória, o estudo de Emilio (2008) considerou 19 animais felinos com um total de 24 lesões confirmadas de carcinoma espinocelular de pele. Os animais foram categorizados em dois grupos, o primeiro recebeu MEALA e o segundo recebeu ALA como FSs. A temperatura da superfície da pele monitorada durante a TFD não apresentou aumento significativo em nenhum dos grupos (aumento inferior a 3°C). Todos os animais foram submetidos a avaliações clínicas e hematológicas (hemograma e função hepática e renal) antes e após o tratamento, não havendo alterações que impossibilitassem sua participação no protocolo experimental ou em decorrência do tratamento.

A análise imuno-histoquímica da proteína de proliferação celular, como meio de prever o sucesso do tratamento foi tentada, mas os resultados foram inconclusivos a esse respeito. No grupo MEALA, das 10 lesões tratadas, 30% tiveram resposta completa, 30% tiveram resposta parcial, 20% tiveram resposta mínima e 20% dos casos não apresentaram melhora. Na coorte ALA foram tratadas 14 lesões, com resposta parcial de 28,6%, resposta mínima de 50% e ausência de resposta de 21,4%, não havendo resposta completa em nenhuma lesão. Nas condições investigadas, a TFD demonstrou ser promissora como tratamento para o CCE felino. Além disso, melhores resultados foram alcançados quando MEALA foi empregado como FS (EMILIO, 2008).

Ainda, considera-se que a TFD pode ser considerada uma alternativa eficaz isoladamente ou em conjunto com o tratamento tradicional, aplicada em tratamentos diversos no que tange à medicina veterinária. A terapêutica normalmente não é excessivamente cara, o que, apesar de ser uma vantagem para os tutores dos animais, pode levar a uma falta de interesse na avaliação de possíveis aplicações

clínicas por parte dos profissionais. Além disso, o processo de internação costuma ser mais curto do que outros procedimentos mais invasivos, nesse caso, os benefícios adicionais da viabilidade econômica para os tutores dos animais são aumentados por uma qualidade de vida do paciente mais positiva durante, durante e após o tratamento.

4.1 TERAPIA FOTODINÂMICA EM CÃES

O câncer de próstata em cães, por exemplo, exibe comportamento agressivo, com a maioria dos pacientes apresentando sinais de metástase durante o diagnóstico e tratamento. Por esta razão, a radioterapia intraoperatória é utilizada para tratar o cão, mas geralmente não promove resultados promissores, com média de 16 semanas de quadro estável de saúde após o tratamento. Em um estudo de Lucroy et al. (2003), um cão tratado com TFD permaneceu estável por 34 semanas após o tratamento, comprovando que a terapia pode ser uma ferramenta viável para o tratamento do câncer de próstata em cães e aumento da sobrevida em caso de metástase.

Em outro estudo, cães com câncer de pulmão tratados com Photofrin® — um derivado da porfirina usado como FS — mostraram grande progresso, eles foram tratados com TFD via broncoscopia (MUSANI *et al.*, 2018). De acordo com Musani et al. (2018), uma semana após TFD foi realizada a cirurgia, que removeu histologicamente os tumores e um lobo pulmonar, demonstrando que a terapia foi favorável, pois protegeu o tecido saudável circundante de ser danificado durante o processo. Ainda, Rocha et al. (2019) comprovaram que é possível tratar certos tipos de câncer canino, como o hemangiossarcoma cutâneo, com a TFD por meio de um ensaio laboratorial, expondo que o tratamento fototerapêutico pode substituir a remoção cirúrgica de tumores por completo, uma vez que não requer extirpar o tumor por meio de um amplo corte cirúrgico.

Outro achado, um pouco mais antigo, diz à pesquisa de McCaw et al. (2000), na qual os autores realizaram um estudo muito interessante em cães com carcinoma epidermoide oral. Eles trataram 11 caninos com TFD, usando fotoclоро como agente FS, concluindo que 8 cães que usaram esse tratamento não apresentaram sinais de recorrência do tumor por pelo menos 17 meses após a aplicação, resultados superiores aos obtidos com a remoção cirúrgica de tumores, no qual 6 animais ainda

tiveram reincidência evidenciada através de análises histopatológicas. Os autores expõem ainda a não formação de cicatrizes, recuperação mais rápida e melhor adaptação dos animais.

No mesmo período, Jacobs e Rosen (2000) documentaram um carcinoma intratorácico epidermoide de células escamosas do esôfago em um labrador de 11 anos, aqui a TFD apresentou um benefício parcial no processo contra o câncer em cães. Um resultado parcial à TFD foi acompanhado por uma diminuição no tamanho do tumor, que foi observada em diversos exames endoscópicos, e o retorno à alimentação oral. No entanto, este cão foi sacrificado após um período de regurgitação recorrente e pneumonia por aspiração nove meses após o tratamento com TFD, o que deixou a discussão sobre a eficácia da terapêutica em aberto, podendo ser esta a preditora da condição (MOREIRA, LYON, 2022; SAVI, 2021).

Destarte, as aplicações de TFD demonstraram ser benéficas como um tratamento pouco invasivo para gengivoestomatite recorrente, aliviando a dor e restaurando a integridade estrutural da mucosa e gengiva afetada, e para otite externa em cachorros (VILLELA *et al.*, 2017). Nesses casos, Savi (2021) indica a realização do TFD conjunto à utilização de imunoterapias para estimular o sistema imunológico do animal, isso fará com que o corpo se fortaleça para combater a injúria de forma sistêmica.

4.2 TERAPIA FOTODINÂMICA EM GATOS

Machado (2000) usou TFD em 18 gatos com CEC, aplicando o tetrassulfonato de ftalocianina de alumínio como FS. Um dos principais efeitos adversos desse tratamento foi o eritema local ao redor da área afetada, edema e fotossensibilização atrasada, porém, esta pesquisa relatou que aproximadamente 80% dos pacientes tratados com a terapêutica se recuperaram da condição sem recidiva local.

Na mesma problemática, Kenita (2006) comprovou também que a TFD com tetrassulfonato de ftalocianina de alumínio como FS é eficaz em tumores com mais de 5 centímetros de diâmetro ou que invadiram minimamente o nariz ou as orelhas dos animais. Também, apesar do CEC ser um tumor que afeta principalmente a área local, o efeito adverso mais grave foi a insuficiência hepática, fator atribuído à TFD pelo estudo posterior de Gayer (2006).

Outro estudo focado no CEC superficial felino demonstrou que 85% dos gatos tratados apresentam uma resposta completa. Esses resultados demonstram o sucesso do tratamento TFD em vários tecidos e órgãos acessíveis e superficiais (BUCHHOLZ *et al.*, 2007). Já no estudo de Bexfield *et al.* (2008), 55 gatos foram tratados com TFD usando 5-ALA como agente FS e luz vermelha como radiação eletromagnética para tratamento do CEC. Este último estudo também apontou resultados positivos na maioria dos casos, no entanto, muitos felinos não conseguiram remissão ou cura total.

Sob outra abordagem, Ferreira *et al.* (2009), administrou hematoporfirina a 12 gatos para estudo da TFD no tratamento de CEC, comparando a ação da terapia e o uso de LED na terapêutica. O FS foi administrado por via intravenosa e ativado por LEDs de baixa potência, e as lesões tratadas afetavam o pavilhão auricular, as pálpebras e o plano nasal dos animais. Como resultado, os autores concluíram que as lâmpadas LED têm pouco ou nenhum efeito fotossensibilizante no agente fotossensibilizante. Além disso, a baixa vascularização do pavilhão auricular tornou possível pouco acúmulo de TFD no local.

Stell, Dobson e Langmack (2001) realizaram um estudo prospectivo sobre TFD com 5-ALA. Eles aplicaram o tratamento em 11 animais usando uma fonte de luz LED. Um creme de 5-ALA com concentração de 20% foi usado para aplicar a terapia de seis a oito horas por dia. Os autores estudaram 13 lesões nos estágios de desenvolvimento Tis e T1. Em outro estudo, resultados encontrados por Bexfield *et al.* (2008) mostraram que 85% dos animais em remissão tiveram resultado positivo no tratamento com 5-ALA. No entanto, a taxa de recorrência foi de 63,6% com tempo médio de remissão de 21 semanas.

Outro estudo mostrou que 55 gatos com lesões de grau Tis ou T1 no canal nasal tiveram sucesso notável com o tratamento com 5-ALA, sendo que 47 desses gatos (85%) foram completamente curados e nenhum outro gato recaiu no câncer. Em aproximadamente metade dos casos, as recaídas ocorreram após dois tratamentos com TFD. O tempo médio entre os dois tratamentos foi de 157 dias. Alguns animais que responderam bem ao primeiro tratamento tiveram respostas parciais e recaídas, enquanto outros cujo segundo tratamento foi bem-sucedido não tiveram recaídas. Daqueles que alcançaram a remissão com o primeiro tratamento, 66,6% ficaram livres de recaída durante o estudo (SAVI, 2021).

Ainda, de forma inovadora, Buchholz et al. (2007) descobriram que a administração intravenosa de uma formulação lipossomal de m-THPC em gatos aumenta a eficácia do FS e da TFD. A formulação lipídica permite a absorção eficiente do FS no tecido alvo e aumenta sua atração para as células tumorais - ao mesmo tempo em que diminui a dosagem necessária para alcançar esses efeitos. No estudo, apenas 15% das áreas afetadas apresentaram efeitos colaterais, incluindo pequenos edemas e vermelhidão, aumentando o sucesso de tratamento em 75%.

5 CONCLUSÃO

Com base na revisão bibliográfica e resultados analisados, entende-se que a TFD se mostra eficiente em diversas áreas da medicina veterinária, sendo importante seu estudo aprofundado no que tange ao tratamento clínico dos animais em geral, como por exemplo no tratamento de animais domésticos. Acredita-se que a TFD merece uma posição mais central no tratamento do câncer – seja como parte de uma abordagem multimodal ou como um tratamento independente. Com formulações mais novas de FS, as limitações atuais, como a dosimetria de luz limitada, podem ser superadas e novos protocolos e equipamentos podem ser testados.

Existem opções eficazes de tratamento alternativo para muitas doenças utilizando a TFD, assim, pesquisas futuras são necessárias para entender melhor os resultados da TFD e desenvolver protocolos terapêuticos ainda mais eficazes. Isso permitirá que a terapia seja usada com mais facilidade e segurança em práticas veterinárias, uma vez que, o levantamento bibliográfico dos resultados relacionados confirma que a TFD é um método simples e eficaz com ótimos resultados.

Conclui-se, portanto, que a evolução histórica da terapêutica foi substancial, porém, conforme tudo o que foi citado pelo estudo analítico, cabe aos pesquisadores e profissionais da área, o desenvolvimento de estudos científicos e práticos para comprovação e estabelecimento da TFD como um tratamento eficaz, dando-lhe o merecido destaque. Pondera-se que há poucos estudos de aplicação efetiva, poucos estudos de caso aprofundados, apenas com estudos rasos voltados ao tratamento de poucos animais com a TFD, nos quais os resultados são comprovadamente positivos, mas mostram ser necessário o investimento efetivo nessa área.

As estratégias e ferramentas apresentadas no referencial teórico são dispostas com o intuito de contribuir com a busca de profissionais da medicina veterinária, mas, também, público em geral, organizações e grupos de estudo da medicina veterinária. Dada à importância do tema, torna-se necessário o desenvolvimento de projetos que visem a evolução continuada dos processos de TFD, para que se possa criar uma análise completa das possibilidades do tratamento na medicina veterinária de forma robusta. Nesse contexto, conclui-se

que, diante dos achados e da pesquisa teórica desenvolvida, o objetivo deste artigo está realmente alcançado.

REFERÊNCIAS

- ABREU, R. S. **Neoplasias em novos animais de companhia**. 2019. 130 p. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2019.
- AMANTINO, C. F. *et al.* Anthraquinone encapsulation into polymeric nanocapsules as a new drug from biotechnological origin designed for photodynamic therapy. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 31, 2020.
- APOLINÁRIO, A. C. *et al.* **Abrindo A Caixa De Pandora Dos Nanomedicamentos: Há Realmente Muito Mais ‘Espaço Lá Embaixo’**. Química Nova, v. 43, n. 2, p. 212-225, 2020.
- BAMRUNGSAP, S. *et al.* Nanotechnology in therapeutics: a focus on nanoparticles as a drug delivery system. **Nanomedicine**, v. 7, n. 8, p. 1253–1271, 2012.
- BARCELOS, H.; BARROS, K.; TOLOTE, L. **Estudo Da Complexação HG-Curcumina Por Espectrofotômetro UV-VIS (IFG)**. ABQ - Associação Brasileira de Química, 57º, 2017. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2017/trabalhos/5/12390-20991.html> Acesso em: 28 fev. 2023.
- BELLI, L. P. A. **Desenvolvimento de fotossensibilizador metaloporfirínico para potencial terapia fotodinâmica**. 2020. 51 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- BEXFIELD, N. H. *et al.* Glomerular filtration rate estimated by 3-sample plasma clearance of iohexol in 118 healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. n. 22, v. 1, p. 66-73, 2007.
- BIZERRA, A.; SILVA, V. Sistemas de liberação controlada: mecanismos e aplicações. **Saúde e Meio Ambiente**, Três Lagoas, v. 3, n. 2, p. 1–12, 2016.
- BONNETT, R. **Chemical Aspects of Photodynamic Therapy**. Amsterdam: Gordon, and Breach Science Publishers, 2000.
- BUCHHOLZ, J. *et al.* Photodynamic therapy of feline cutaneous squamous cell carcinoma using a newly developed liposomal photosensitizer: preliminary results concerning drug safety and efficacy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 21, v. 4, p.770–775, 2007.
- BUZZÁ, H. H. **Avaliação da terapia fotodinâmica em um modelo tumoral em membrana corioalantóica**. 2016. 102 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

BRAITT, A. H. *et al.* Avaliação da eficácia do uso da terapia fotodinâmica (PDT) após a limpeza e modelagem do canal radicular: estudo in vivo. **Dental Press Endodontics**, p. 41–45, 2013.

BRAGA, G. *et al.* Autoagregação da 5,10,15,20-tetrakis(4-metoxifenil) porfirina (tmpp): estudos espectroscópicos e análises multivariadas. **Quím. Nova** [Internet]. v. 37 n. 4, 2014.

BRASIL. **Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas em Oncologia/Ministério da Saúde**. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde., Secretaria de Atenção à Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. XXX p.: il.

BREGOLI, L. *et al.* Nanomedicine applied to translational oncology: a future perspective on cancer treatment, Nanomedicine: **Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 12, p. 81-103, 2016.

CARNEIRO, A.L. **Uso de terapia fotodinâmica com ftalocianina cloro alumínio no tratamento tópico da leishmaniose cutânea**. 2013. 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

CELLI, J. P. *et al.* Imaging and Photodynamic Therapy: Mechanisms, Monitoring, and Optimization. **Chemical Reviews**. n. 110, p. 2795–2838, 2010.

CORREIA, J. H. *et al.* Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. **Pharmaceutics**, v. 13, 2021.

COSTA, A. M.; SILVA, V. V. Estratégias nanotecnológicas para diagnóstico e tratamento do câncer. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, Três Lagoas, v. 5, n. 2, p. 1– 13, 2017.

DAI, T.; HUANG, Y. Y.; HAMBLIN, M. R. Photodynamic therapy for localized infections--state of the art. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 6, n. 3-4, p. 170–188, 2009.

DOBSON, J.; QUEIROZ, G. F. D; GOLDING, J. P. Photodynamic therapy, and diagnosis: Principles and comparative aspects. **The Veterinary Journal**, Volume 233, 2018, Pages 8-18.

DIMER, F. *et al.* Impactos da Nanotecnologia na Saúde: Produção de Medicamentos. **Química Nova**. São Paulo, v. 36, n. 10, p. 1520-1526 2013.

EDUARDO, C. P. A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**. São Paulo, v. 69 n. 3 p. 226-235, 2015.

EMILIO, C. R. **Comparação da eficácia do ácido 5-aminolevuliníco com a de seu metil éster utilizando-se a terapia fotodinâmica no tratamento de carcinoma espinocelular felino**. 2008. 127 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2008.

FAN W., HUANG P., CHEN X. Overcoming the Achilles' heel of photodynamic therapy. **Chemical Society Review**. n. 45, v. 23, p. 6488–6519, 2016.

FARIA, M. A. S.; RIBEIRO, M. J.; RIBEIRO, P. L. S. **Tópicos em biotecnologia e biodiversidade: pesquisas e inovação na Amazônia Sul Ocidental**. Organização, Rio Branco: Edufac, 2017, 186 p.

FAROKHZAD, O. C.; LANGER, R. Impact of Nanotechnology on Drug Delivery. **ACS Nano**, v. 3, n. 1, p. 16–20, 27 jan. 2009.

FELÍCIO, L. B. A. *et al.* A terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico como modalidade de tratamento para neoplasias cutâneas não-melanoma. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 83, n. 4, p. 309–316, jul. 2008.

FERREIRA, C. N. **Estudo do uso da terapia fotodinâmica como tratamento do câncer oral**. 2017. 20 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade de Uberaba, Uberaba, 2017.

FERREIRA, D. M. **Estudos de sistemas nanocarreadores para o ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) e seu éster derivado (8-ALA) aplicados na Eletroquimioterapia e Terapia Fotodinâmica contra câncer de pele**. 2012. 74 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

FERREIRA, I. *et al.* Hematoporphyrin-based photodynamic therapy for cutaneous squamous cell carcinoma in cats. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n. 3, p. 174-178, jun. 2009.

FERREIRA, M. G. A. *et al.* Terapia fotodinâmica no tratamento de neoplasias. Medvet - **Revista Científica de Medicina Veterinária** - Pequenos Animais e Animais de Estimação; v. 13, n. 43, p. 106-115, 2015.

FERREIRA, V. T. P. **Incorporação de cloro-ftalocianina de alumínio em nanopartículas de gelatina pela técnica de nanoprecipitação com aplicação em Terapia Fotodinâmica**. 2016. 42 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) – Faculdade de Educação e Artes, Universidade do Vale do Paraíba, São José dos Campos, 2016.

GAYER, M.M. **Carcinoma de células escamosas em felino - Relato de caso**. 2006. 22 p. Monografia (Especialização em Medicina Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, 2006.

GIL, A. C. **Métodos e técnicas de pesquisa social**. 5ª edição. São Paulo: Atlas, 2010, 206 p.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO; M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova** [online]. v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.

GUNAYDIN, G.; GEDIK, M. E.; AYAN, S. Photodynamic Therapy for the Treatment and Diagnosis of Cancer—A Review of the Current Clinical Status. **Frontiers in Chemistry**, v. 9, 686303, 2021.

HAMBLIN, M. R.; HASAN, T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? **Photochemistry and Photobiology Science**, v. 3, n. 5, p. 436-450, 2004.

HORI, L. Y. **Susceptibilidade do Staphylococcus aureus à terapia fotodinâmica (PDT)**. 2013. 61 p. Trabalho de Conclusão (Graduação em Farmácia-Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara, 2013.

ISSA, M. C. A.; MANELA-AZULAY, M. Photodynamic therapy: a review of the literature and image documentation. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, n. 85, v. 4, p. 501–511, 2010.

JACOBS, T. M.; ROSEN, G. M. Photodynamic therapy as a treatment for esophageal squamous cell carcinoma in a dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, n.36, v.3, p. 257–261, 2000.

JUARRANZ, Á., GILABERTE, Y., GONZÁLEZ, S. Photodynamic therapy (PDT) in oncology. In **Cancers - Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, v. 12, n. 11, p. 3341–3345, 2020.

JORI, G. *et al.* Photodynamic inactivation of microbial pathogens: disinfection of water and prevention of water-borne diseases. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**: Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology and Cancer, v. 30, n. 3, p. 261- 271, 2011.

KAMIL, H. N. *et al.* Photodynamic therapy in head and neck cancer. **Postepy Hig Med Dosw**. n. 68, p. 119-128, 2014.

KLEINOVINK J. W. *et al.* Combination of Photodynamic Therapy and Specific Immunotherapy Efficiently Eradicates Established Tumors. **Clinical Cancer Research**. v. 22, n.6, p.1459–1468, 2016.

LONGO, J. P. F. **Avaliação da aplicação da Terapia Fotodinâmica mediada pela Alumínio-Cloro-Ftalocianina em formulação lipossomal sobre o Câncer Bucal em modelos experimentais in vivo e in vitro**. 2018. 81 p. Dissertação (Mestrado em Patologia Molecular) - Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

LIMA, T. F. O. Efeito da aminoguanidina nos níveis de produtos de glicação avançada (AGE) e de aldeídos totais em ratos diabéticos. **Rev. Ciên. Farm. Básica Apl.**, Araraquara, v. 38, Supl. 1, ago. 2017.

LIPSON, R. L.; BALDES, E. J.; OLSEN, A. M. The Use of a Derivative of Hematoporphyrin in Tumor Detection. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 26, p. 1-11, 1961.

LOPES, T. G. **Nanocarreadores proteicos e fotoativos no tratamento de doenças neurológicas**. 2018. 105 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

LOPES, C. J. **A eficácia da terapia fotodinâmica na periodontia: revisão de literatura**. 2018. 40 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Departamento de Odontologia, Universidade de Taubaté, Taubaté, 2018.

LOPEZ, R. F. V. *et al.* Optimization of aminolevulinic acid delivery by iontophoresis. **Journal of Controlled Release**, v. 88, p. 65-70, 2003.

LUCROY, M. D. *et al.* Photodynamic therapy for prostatic carcinoma in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17n. 2, p. 235–237, 2003.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Química Nova**, 23, p. 237–243, 2000.

MCCAW, D. L. *et al.* Treatment of canine oral squamous cell carcinomas with photodynamic therapy. **British Journal of Cancer**, v. 82, 7, p. 1297–1299, 2000.

MENDONÇA, J. M. C. **Terapia Fotodinâmica no Tratamento de Neoplasias**. 2015/2016. 77 p. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologias, Universidade do Algarve, 2015/2016.

MOREIRA, L. M.; LYON, J. P. Photodynamic Therapy in Veterinary Medicine: Applications in dogs and cats. **PUBVET** - v.16, n. 6, a1129, p. 1-4, Jun. 2022.

MUSANI, A. I. *et al.* Terapia fotodinâmica via broncoscopia de navegação para câncer de pulmão periférico em cães. **Lasers em Cirurgia e Medicina**, v. 50, n. 5, p. 483–490, 2018.

NATAL, A. M. D. **Influência do pH na interação do Photofrin®, Photogem® e Photosan® com DMPC e lipoproteína de baixa densidade**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2006.

NÚÑEZ, S. C. *et al.* **Fórum on-line de Tecnologias da Luz na Saúde I** Fotons (1.: 2019: São Paulo, SP). Universidade Brasil. Instituto Científico e Tecnológico. Orgs). Anais do I Fórum on-line de Tecnologias da Luz na Saúde [recurso eletrônico] / São Paulo: Universidade Brasil, 2019. 89 p.

OSAKI, T., *et al.* Efficacy of 5-aminolevulinic acid in photodynamic detection and photodynamic therapy in veterinary medicine. **Cancers**, v. 11, 4, p. 495, 2019.

PEIXOTO, A. **Funcionalização de nanopartículas poliméricas para liberação de medicamentos sítio-dirigida**. 2013, 193 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

PRIMO, F. L. **Processos fotodinâmicos para bioestimulação tecidual em modelo in vitro de pele humana empregando-se laser de baixa potência e cloro alumínio ftalocianina em nanoemulsão**. 2009. 76 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

PRIMO, F. L. *et al.* Photobiostimulation on wound healing treatment by CIAIPc-nanoemulsion from a multiple-wavelength portable light source on a 3D-human stem cell dermal equivalent. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 30, p. 5157–5163, 2012.

ROCHA, J. A. M. R.; RIOS, F. T.; CAMPOS, M. F.; SOUZA, Y. B. Viroterapia Oncolítica aplicada ao tratamento do câncer em cães. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v.18, n. 3, 2020.

ROCHA, M. S. T. *et al.* Photodynamic therapy for cutaneous hemangiosarcoma in dogs. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 27, p. 39-43, 2019.

ROCHA, M. S. T. **Terapia fotodinâmica sobre carcinoma mamário de cadela cultivado in vitro**. 85 p. 2010. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

RODRIGUES, S. E. *et al.* Estudos dos efeitos de pH em porfirinas sulfonadas halogenadas. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFG – PIVIC, **Anais...** 19, 2017, Goiânia.

SAVI, C. **Terapêutica Do Carcinoma De Células Escamosas Cutâneo Em Felinos Domésticos: Revisão Bibliográfica**. 2021. 77 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação de Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021.

SAMPAIO, F. L. S.; FREITAS, L. M.; FONTANA, C. R. Terapia fotodinâmica antimicrobiana com azul de metileno em *Enterococcus faecalis*. **Rev. Ciências Farm. Básica Apl.**, Araraquara, v. 38, Supl. 1, ago. 2017.

SANTOS, G. P. **Uso da terapia fotodinâmica no tratamento do paciente oncológico: revisão de literatura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Unidade Acadêmica Especial de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Goiás, Jataí. 2018. 50 f.

SANTOS, T. V. S. **Terapia fotodinâmica: uma revisão dos conceitos gerais e dos avanços de novos sistemas carreadores desenvolvidos com base na nanotecnologia**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020, 59 p.

SELLERA, F. P. **Aplicação da terapia fotodinâmica no tratamento da dermatite digital bovina**. 2018. (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. 77 f.

SELLERA, F. P. *et al.* Photodynamic therapy as a promising treatment of burn wounds after calf dehorning. **International Journal of Science Commerce and humanities**, v. 1, p. 28-32, 2013.

SELLERA, F. P. *et al.* Terapia fotodinâmica no tratamento de ferida causada por miíase em vulva de caprino – relato de caso. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.1, 2014, p.74-77.

SELLERA, F. P. **Fotoinativação de patógenos causadores da mastite bovina**. [Photoinactivation of bovine mastitis pathogens]. (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. 105 f.

SELLERA, F. P.; GARGANO, R. G.; POGLIANI, F. C. Terapia fotodinâmica: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 1, p. 5-13, 24 out. 2014.

SELLERA, F. P.; NASCIMENTO, C. L.; RIBEIRO, M. S. **Photodynamic therapy in veterinary medicine**: From basics to clinical practice. Springer, 2016.

SELLERA, F. P. *et al.* Terapia Fotodinâmica no Tratamento de Fibropapilomatose Cutânea em Tartarugas verdes (*Chelonia mydas*). In: Congresso Latino-Americano De Reabilitação De Fauna Marinha, 2., 2012, Rio Grande. **Anais...** Rio Grande. 2012.

SILVESTRE, G. F. G. *et al.* Utilização de produtos naturais como fotossensibilizadores: uma nova perspectiva para a terapia fotodinâmica – artigo de revisão. **Anais III CONBRACIS...** Campina Grande: Realize Editora, 2018.

SIMONAZZI, A. *et al.* Nanotechnology applications in drug-controlled release. In: **Drug Targeting and Stimuli Sensitive Drug Delivery Systems**. 1. ed. Elsevier, 2018. p. 81–116.

SILVA, A. C. P. *et al.* Atividade fotodinâmica e conceitos: um experimento demonstrativo. **Química Nova**, 41, p. 706–712, 2018.

SILVA, Z. S. *et al.* Animal models for photodynamic therapy (PDT). **Bioscience reports**, v. 35, n. 6, e00265, 2015.

STELL, A. J.; DOBSON, J. M.; LANGMACK, K. Terapia fotodinâmica de carcinoma espinocelular superficial felino usando ácido 5-aminolaevulínico tópico. **Jornal de Prática de Pequenos Animais**, v. 42, n. 4, p. 164–169, 2001.

STRATEN, D. V. *et al.* Oncologic Photodynamic Therapy: Basic Principles, Current Clinical Status and Future Directions. **Cancers**, v.9, n.19, 2017.

TANAKA, M. *et al.* Optimal photosensitizers for photodynamic therapy of infections should kill bacteria but spare neutrophils. **Photochemistry and Photobiology**, v. 88, n. 1, p. 227-232, 2012.

TOREZAN, L.; NIWA, A. B. M.; FESTA NETO, C. Terapia fotodinâmica em dermatologia: princípios básicos e aplicações. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 84, p. 445–459, 2009.

TRIVIÑOS, A. N. S. **Introdução à pesquisa em Ciências Sociais: a pesquisa qualitativa em Educação**. São Paulo: Editora Atlas, 1987.

VIEIRA, D. B.; GAMARRA, L. F. Avanços na utilização de nanocarreadores no tratamento e no diagnóstico de câncer. **Einstein**, São Paulo, v. 14, n. 1, p. 99-103, 2016.

VIEIRA, M. L. **Desinfetantes Químicos Para Antissepsia E Desinfecção De Cateteres Venosos**: Uma Revisão Narrativa Sobre Substâncias Preconizadas, Experimentais E Resistência Bacteriana. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

VILLELA, P. A. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and photobiomodulation (PBM – 660 nm) in a dog with chronic gingivostomatitis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 20, p. 273 – 275, 2017.

ZANCANELA, D. C. *et al.* The effect of photosensitizer drugs and light stimulation on osteoblast growth. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 29, n. 10, p. 699–705, 2011.