



Averiguação da influência da radiação de diodos emissores de luz na solução fricke dopada com fotossensibilizadores de baixo custo

Vivianne L. B. de Souza^a, Mayara G. O. de Almeida^a, Suzana O. Santos, Cássia K.

L. Fonseca^a

^a *CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE (CRCN-NE)*

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR (CNEN)

AV. PROFESSOR LUIZ FREIRE, Nº 200 - CDU

50740-540 RECIFE, PE

ABSTRACT

This study aims to verify the behavior of FAM dosimeters (Fricke solution doped with methylene blue), FVM (Fricke solution doped with malachite green) and FAT (Fricke solution doped with toluidine blue) after irradiation with LED. Photodynamic Therapy (PDT), the more recent form of treatment for some kind of cancers, consists of the combination of a photosensitizing agent to a light source, in order to cause carcinogenic cells death. PDT does not have a dosimetry yet and is usually performed with lasers and imported photosensitizers with high costs. The experiments were performed with red and blue lights. Fricke doped solutions were prepared by adding 100 µg/ml of the photosensitizer at Fricke solution. Subsequently, ethanol was added to the dosimeters producing the FATA, FAMA and FVMA. The doped solutions were transferred to tubes and irradiated in acrylic phantoms. The irradiated solutions had their optical densities measured in a UV-VIS spectrophotometer. Thus, it was found that after irradiation, the dosimeters showed linear behavior, demonstrating good correlation coefficients, for the samples irradiated with the LED. The FAMA when irradiated with blue light, also demonstrated a linear correlation. However, for FVMA behavior was presented an 2nd degree equation. It was concluded that the samples irradiated with LED dosimeters showed sensitivity to light, so that they can be used for dosimetry in PDT, and the results also showed that PDT can be realized with LED photosensitizers with lower cost comparing with lasers.

Keywords: Photodynamic therapy, photosensitizer, dosimeter

1. INTRODUÇÃO

A terapia fotodinâmica envolve a administração de um agente de fotossensibilização no tumor, seguida por ativação do agente por uma fonte de luz de um comprimento de onda específico. Isto resulta em uma terapia que envolve uma seqüência de processos fotoquímicos e fotobiológicos que causam danos irreversíveis aos tecidos de tumor. [1] Estudos têm estabelecido a terapia fotodinâmica como uma abordagem de tratamento útil para alguns tipos de câncer como de pele, pulmão, trato digestivo, e genito-urinário. Neste processo, geralmente há a formação do oxigênio singlete altamente citotóxico (1O_2), entretanto, como a maior parte dos fotossensibilizadores utilizados na PDT não se acumulam no núcleo das células, causam um baixo potencial de danos no DNA, de modo que não ocorrem mutações e carcinogênese, com esse tipo de terapia. A PDT é eficaz contra tipos de células resistentes aos medicamentos. Embora uma resposta apoptótica à PDT não seja sempre observada [1], o resultado da PDT é uma rápida necrose das células tumorais e posteriormente o tecido é repostado por um tecido subjacente sadio, ocorrendo o reparo adequado (a cura do paciente). O laser em baixa intensidade associado ao corante apropriado pode ser efetivo também no tratamento de inflamações. A sobrevivência do paciente, com câncer, parece ser maior quando a PDT é utilizada em conjunto com a cirurgia e a radioterapia [2]. No entanto, o verdadeiro desafio no futuro médico está na PDT ganhar aceitação como uma modalidade de tratamento viável. Uma vez que as fontes de luz laser, necessárias, são relativamente caras, espera-se que o advento de fontes de luz melhoradas, bem como novos medicamentos com fotossensibilização limitada da pele (pois a luz atinge também os tecidos normais que acumularam o fotossensibilizador), poderá auxiliar no convencimento dos médicos para a aplicação da PDT. Como o laser é caro e os fotossensibilizadores são importados e de maior custo, este trabalho tem o objetivo de mostrar que é possível a realização da PDT com diodos emissores de luz (LED, que são de baixo custo) e com fotossensibilizadores derivados de corante (também muito mais baratos) e a possibilidade de se utilizar a dosimetria Fricke para a

dosimetria destas fontes de luz. O azul de metileno é um composto fenotiazínico de cor azul, solúvel em água, com absorção máxima na região do vermelho visível ($\lambda=665\text{nm}$), tanto esse corante, bem como o verde de malaquita e o azul de toluidina são bastante utilizados na área médica para uma série de finalidades terapêuticas devido à suas baixas toxicidades [3,4].

2. MATERIAIS E MÉTODOS

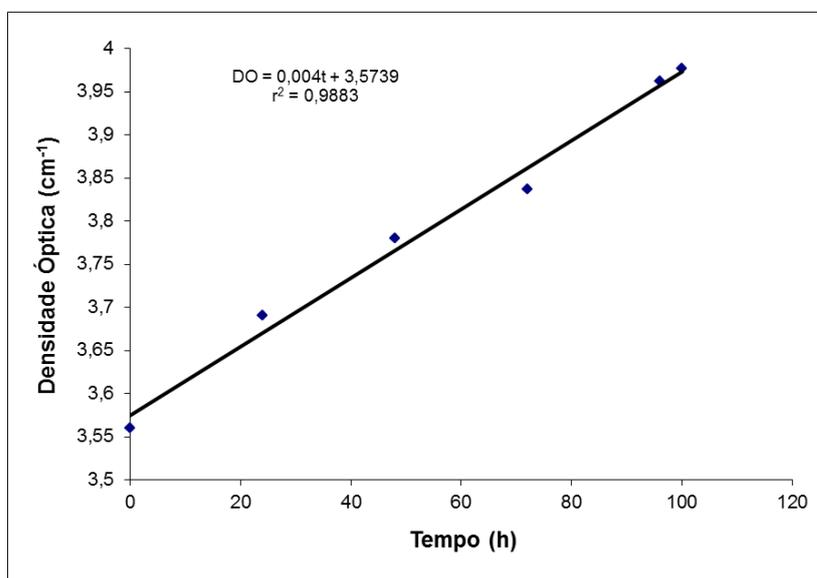
A solução Fricke foi preparada com 0,392 g de sulfato ferroso amoniacal, 0,06 g de NaCl, 22 mL de H_2SO_4 para 1 L de solução aquosa e as soluções Fricke dopadas foram preparadas adicionando-se 100 $\mu\text{g/mL}$ dos fotossensibilizadores (azul de toluidina, azul de metileno e verde de malaquita), produzindo-se assim o dosímetro FAT (solução Fricke dopada com azul de toluidina), o dosímetro FAM (solução Fricke dopada com azul de metileno) e o dosímetro FVM (solução Fricke dopada com verde de malaquita). Posteriormente, acrescentou-se etanol aos dosímetros originando o dosímetro FATA (solução Fricke dopada com azul de toluidina acrescida de álcool), o dosímetro FAMA (solução Fricke dopada com azul de metileno acrescida de álcool) e FVMA (solução Fricke dopada com verde de malaquita acrescida de álcool). As soluções dopadas foram transferidas para tubos de ensaio (2,6 mL) e irradiadas em fantomas de acrílico a uma distância de 6,5 cm da fonte de luz (LED vermelho e azul). As soluções irradiadas tiveram suas densidades ópticas medidas na faixa de 200 a 700 nm num espectrofotômetro Beckman DU-640 UV-VIS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 1 mostra os resultados obtidos após a irradiação do dosímetro FAM com um conjunto de LED vermelho, nesta Figura observa-se certa linearidade e um coeficiente de correlação igual a 0,9883 para amostras irradiadas por um período de até 100 h., para as densidades ópticas obtidas a 304 nm (pico característico da solução Fricke). Notou-se que os picos de absorção

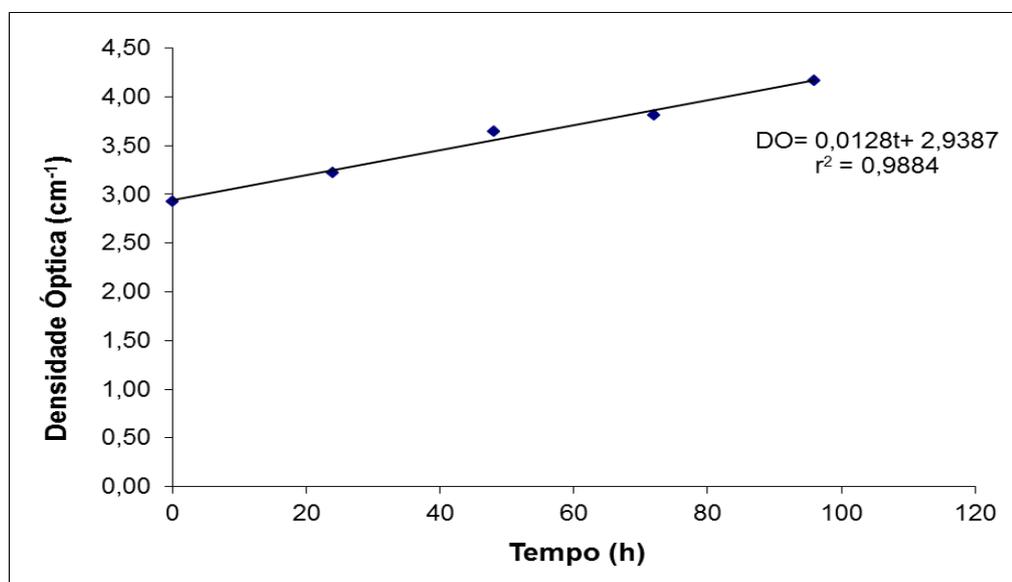
máxima do fotossensibilizador (a 620 e 665 nm) decaem com o tempo demonstrando uma degradação do corante, após irradiação.

Figura 1: Variação da densidade óptica do FAM em função do tempo de irradiação com um conjunto de LED vermelho



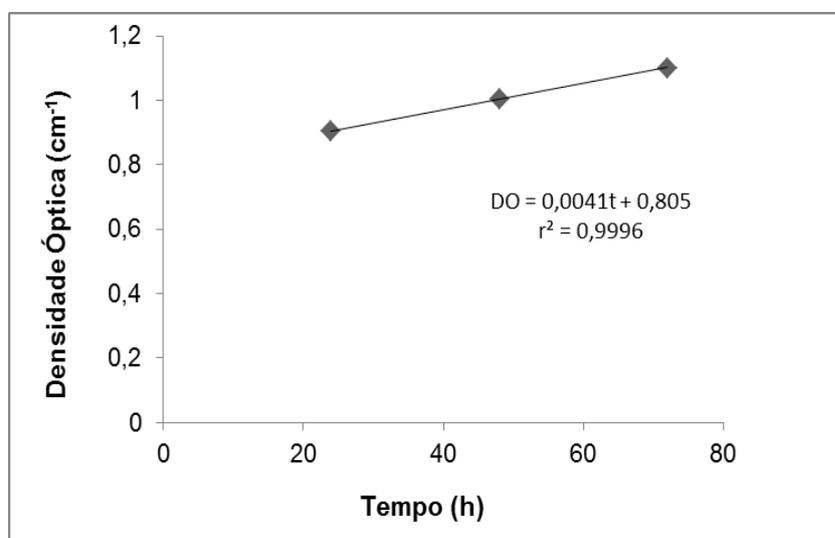
A Figura 2 mostra os resultados obtidos após a irradiação do dosímetro FAT com um conjunto de LED vermelho, nesta Figura observa-se certa linearidade e um coeficiente de correlação igual a 0,9884 para amostras irradiadas por um período de até 96 h., para as densidades ópticas obtidas a 304 nm.

Figura 2: Logo da SBPR Variação da densidade óptica do FAT em função do tempo de irradiação com um conjunto de LED vermelho.



As Figuras 3 e 4 estão representando os resultados obtidos após a irradiação do dosímetro FVM com um conjunto de LED vermelho e com LED vermelho único, respectivamente. Na Figura 3 observa-se certa linearidade e um coeficiente de correlação igual a 0,9996 dos resultados obtidos após a irradiação do dosímetro FVM com um conjunto de LED vermelho, para as densidades ópticas obtidas a 304 nm. Enquanto a Figura 4, demonstra os resultados obtidos para amostras irradiadas por um período de até 72 h., para as densidades ópticas obtidas a 304 nm, entretanto o comportamento do dosímetro é de uma equação de 2º grau. Um dosímetro ideal deve apresentar proporcionalidade entre a sua resposta (aumento da densidade óptica) com o aumento do tempo de irradiação. Apesar do dosímetro não apresentar linearidade da densidade óptica com o aumento do tempo de irradiação; o dosímetro não necessariamente, será desconsiderado como um bom dosímetro, pois, como se conhece a equação da curva, esta pode ser utilizada para demonstrar o comportamento do mesmo.

Figura 3. Variação da densidade óptica do FVM em função do tempo de irradiação com um conjunto de LED vermelho.



Segundo Prates et al. (2007) [5], o verde de malaquita, corante utilizado na PDT, possui uma forte absorção pela luz vermelha no espectro visível. O verde de malaquita na concentração de 0,01 a 0,1% pode ser utilizado combinado com diodo de baixa intensidade com comprimento de onda de 660 nm, pois apresenta uma banda de absorção óptica entre 500 e 700 nm. A espectroscopia de absorção do verde malaquita em solução aquosa mostra ainda uma banda de absorção entre 400 nm e 450 nm. Observou-se também que o corante se fotodegrada após a irradiação [2,5].

Visto que o acréscimo de etanol poderia melhorar a estabilidade dos dosímetro, a luz azul foi testada com os dosímetro FAMA e FATA que por serem substâncias de coloração azul poderiam absorver com eficiência a luz azul (Figuras 5 e 6).

Figura 4. Variação da densidade óptica do FVMA em função do tempo de irradiação com um único LED vermelho.

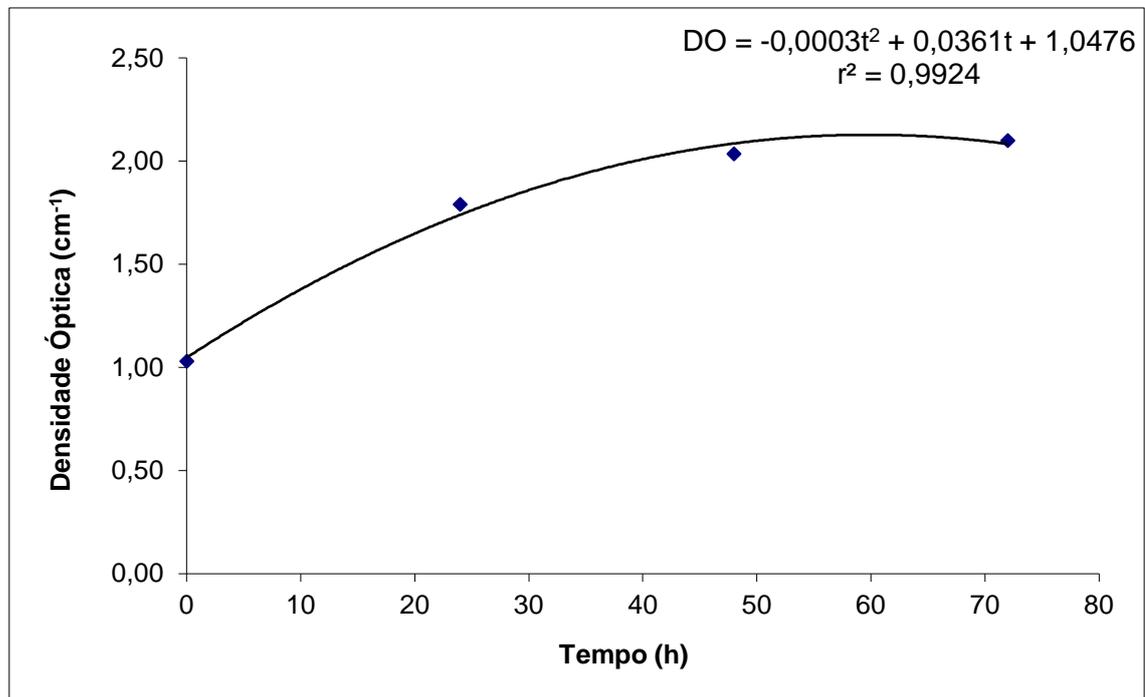


Figura 5. Variação da densidade óptica do FAMA em função do tempo de irradiação com LED azul.

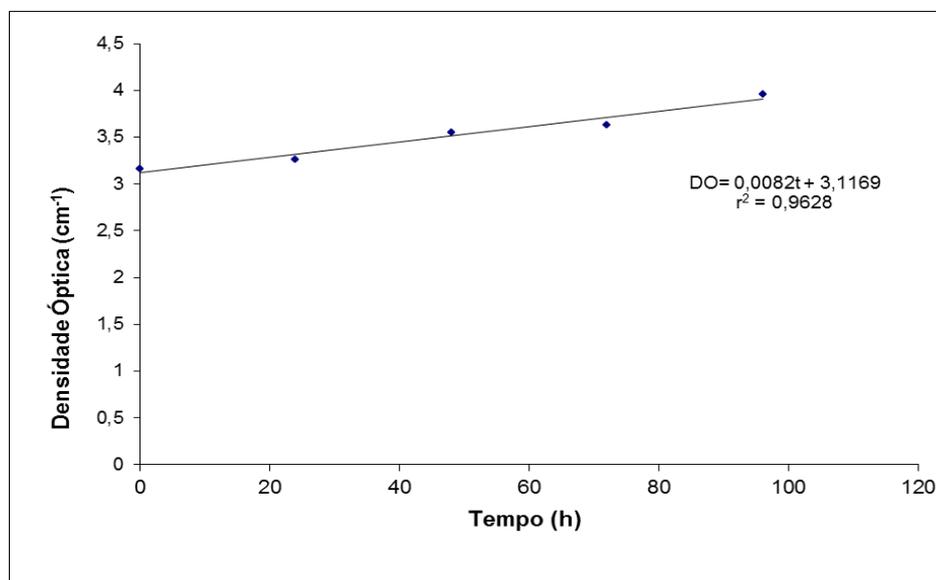
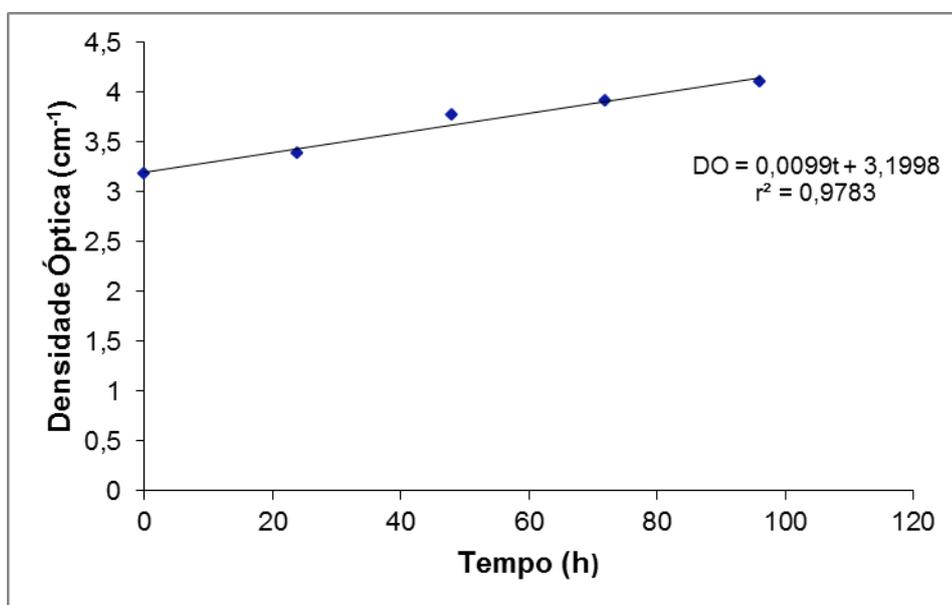


Figura 6. Variação da densidade óptica do FATA em função do tempo de irradiação com LED azul.



4. CONCLUSÕES

O fato de ter ocorrido uma sensibilidade dos dosímetros aos LED vermelho e azul indica que a PDT pode ser realizada com LED com custos mais baixos do que seria realizada com lasers. Sugere-se que o FAM, o FVM e o FAT possam ser utilizados para dosimetria na PDT. Também fica comprovado que fotossensibilizadores de baixo custo podem e devem ser utilizados na PDT.

5. AGRADECIMENTO

Os autores agradecem ao CNPq, a Comissão Nacional de Energia Nuclear e a FACEPE pelo apoio financeiro parcial.

REFERÊNCIAS

1. Dougherty, T. J.; Gomer, C. J.; Henderson, B. W.; Jori, G.; Kessel, D.; Korbelik, M.; Moan, J.; Peng, Q. Photodynamic Therapy. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 90, n. 12, p. 889-905. 1998.
2. Souza, V. L. B.; Cunha M. S.; Santos, C. D. A.; Figueirêdo, M. D. C.; Rodrigues, K. R.G.; Lira, G. B. S.; Silva, D. B.; Melo, R. T. A radiosensibilidade da solução Fricke dopada com corantes utilizados para fins terapêuticos. **Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento**, v.13, p.122 – 125. 2011.
3. Müller, S.; Walt, H.; Dobler-girdziunaite, D.; Fiedler, D.; Haller, U. Enhanced photodynamic effects using fractionated laser light. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology**, v. 42, n. 1, p. 67 – 70. 1998.
4. Núñez, S. C. **Efeito da dinâmica de fotodegradação e agregação das fenotiazinas azul de metileno e azul de orto-toluidina com relação à eficiência fotodinâmica**. Tese (doutorado), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo. 2007.
5. Prates, R. A.; Yamada, A. M. Jr.; Suzuki, L. C.; Eiko Hashimoto, M. C.; Cai, S.; Gouw-Soares,; Gomes, S. L.; Ribeiro, M. S. Bactericidal effect of malachite green and red laser on *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology**, v. 86, n. 1, p. 70 – 76. 2007.