

Índice

Resumo	1
<i>Abstract</i>	5
Lista de abreviaturas	9
I. Introdução	15
1. Adenocarcinoma colo-rectal	17
2. Terapia fotodinâmica	21
2.1. Reacção fotodinâmica	23
2.2. Vantagens e limitações	27
2.3. Morte celular	30
2.3.1. Apoptose	32
2.3.2. Autofagia	35
2.3.3. Necrose	36
2.4. Vascularização	37
2.5. Resposta imune	38
2.6. Angiogénese	41
2.7. Stress oxidativo	43
2.8. Luz, oxigénio e fotossensibilizador	43
2.8.1. Luz	44
2.8.2. Oxigénio	46
2.8.3. Fotossensibilizadores	48
2.8.3.1. Fotossensibilizadores utilizados na prática clínica	52
3. Características estruturais dos fotossensibilizadores do tipo porfirínico	59
4. Perspectiva clínica	63
II. Objectivos	65

III. Material e métodos	69
1. Estudos de química	72
1.1. Síntese de 5,10,15,20- <i>tetrakis</i> (2-bromo-3-hidroxifenil)porfirina	72
1.2. Síntese de 5,15- <i>bis</i> (2-bromo-3-hydroxyfenil)porfirina	73
1.3. Análise dos compostos sintetizados	73
1.4. Medição do rendimento quântico de oxigénio singlete	74
2. Estudos <i>in vitro</i>	75
2.1 Culturas celulares	75
2.2 Estudos de captação	77
2.3. Localização subcelular	77
2.4 Estudos de citotoxicidade	79
2.4.1 Avaliação da proliferação celular pelo ensaio do MTT ..	79
2.4.2. Avaliação da proliferação celular pelo ensaio do MTT em células normais	81
2.4.3 Citometria de fluxo	82
2.4.3.1 Avaliação da viabilidade celular	84
2.4.3.2. Avaliação do potencial de membrana mitocondrial	85
2.4.3.3 Avaliação da produção intracelular de peróxidos	86
2.4.3.4. Avaliação da produção intracelular de radical superóxido	88
3. Estudos <i>in vivo</i>	89
3.1 Desenvolvimento de xenotransplantes	90
3.2 Tratamento fotodinâmico.....	90

4. Estudos <i>ex vivo</i>	91
4.1 Isolamento das células tumorais	92
4.2 Citometria de fluxo	92
4.3 Análise histológica	93
5. Análise estatística.....	93
IV. Resultados	95
1. Estudos de química	97
1.1. Síntese de 5,10,15,20- <i>tetrakis</i> (2-bromo-3-hidroxifenil) porfirina e de 5,15- <i>bis</i> (2-bromo-3-hydroxyfenil) porfirina	97
1.2 Espectros de absorção e de emissão de fluorescência	99
1.3. Rendimento quântico de oxigénio singlete	100
2. Estudos <i>in vitro</i>	101
2.1 Estudos de captação	102
2.2 Localização subcelular	102
2.3. Avaliação da proliferação celular	104
2.4. Avaliação da viabilidade celular	110
2.5. Avaliação do potencial de membrana mitocondrial	114
2.6. Avaliação intracelular de espécies reactivas de oxigénio.....	115
3. Estudos <i>in vivo</i>	117
4. Estudos <i>ex vivo</i>	120
4.1. Isolamento das células tumorais e citometria de fluxo	120
4.2. Análise da morfologia celular	123
V. Discussão	127
VI. Conclusões	147
VII. Bibliografia	153

