

---

## 8. DE LA FOTOQUÍMICA A LA FOTOMEDICINA: LA TERÀPIA FOTODINÀMICA DEL CÀNCER

---

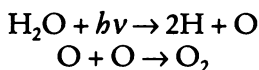
Santiago Nonell i Marrugat\*

Encara que aquest curs es troba emmarcat dins les fronteres de la ciència, la temàtica que es discuteix és de fet ben antiga. La nostra història va tenir els seus inicis ara fa uns 4.000 milions d'anys...

### 8.1. LA RELACIÓ OXIGEN-VIDA

---

En aquella època l'atmosfera de la terra era ben diferent a l'actual: estava formada per metà, amoníac i altres gasos, però no contenia gens d'oxigen. Com es va arribar, doncs, al contingut actual d'un 20 % d'oxigen? El primer mecanisme que es deuria desenvolupar és el de la fotòlisi de l'aigua per la radiació ultraviolada procedent del sol, segons l'esquema següent,



La fotòlisi de l'aigua per radiació ultraviolada no només és font d'oxigen, sinó que converteix l'aigua en el més important filtre solar, ja que atura l'esmentada radiació. No és gens estrany, doncs, que els primers organismes vius apareguessin als mars. Probablement s'alimentaven de compostos orgànics presents en el seu medi, però aquests es deurien anar exhaurint amb els segles. Lluny de provocar la desaparició de la vida, l'esgotament dels, diguem-ne,

---

\* Universitat Ramon Llull. Institut Químic de Sarrià. C/Institut Químic de Sarrià s/n. 08017 Barcelona.

«combustibles fòssils» va esperonar la recerca de fonts alternatives d'energia. Algun organisme més espavilat que els seus contemporanis es va adonar que podia aprofitar l'energia que de manera tan abundant provenia del sol i així es va desenvolupar el procés de la fotosíntesi, que va solucionar el problema del menjar per a aquest organisme tan emprenedor i la seva descendència.

Malgrat que avui en dia l'energia solar és el paradigma de les energies netes, la fotosíntesi aleshores no era ni de bon tros un procés net i lliure de riscos. Un dels residus formats en el procés de la fotosíntesi és l'oxigen, i aquest era terriblement tòxic per als organismes primitius. El procés de la fotosíntesi era altament contaminant i aviat el món sencer es va tornar tòxic. L'oxigen era aleshores tan tòxic com el clor ho segueix essent avui en dia.

L'oxigen,  $O_2$ , és una molècula peculiar a causa de la seva estructura electrònica. La gran majoria de compostos orgànics tenen tots els seus electrons aparellats, i diem que tenen multiplicitat d'espín de singlet. L'oxigen en canvi mostra la particularitat de tenir dos electrons desaparellats, cosa que li confereix una multiplicitat d'espín de triplet. La diferència de multiplicitats d'espín entre l'oxigen i els productes orgànics fa que les reaccions químiques entre ells siguin molt lentes i, entre altres coses, permet avui en dia que els productes orgànics (i nosaltres mateixos!) puguin estar exposats a l'oxigen sense cremar-se. Així doncs, d'on prové la toxicitat de l'oxigen esmentada abans? Malgrat que l'oxigen molecular,  $O_2$ , és pràcticament inactiu enfront de substrats orgànics, l'acció de determinats agents químics i àdhuc de la llum el converteixen en les seves formes actives. Així, en presència de reductors es forma primerament l'anió superòxid, del qual es deriven oxidants poderosos com ara l'aigua oxigenada, el radical hidroxil i l'oxigen molecular singlet, una forma més energètica d'oxigen molecular en la qual els electrons es troben aparellats. Totes tres espècies, l'aigua oxigenada,  $H_2O_2$ ; el radical hidroxil,  $OH\cdot$ , i l'oxigen singlet,  $^1O_2$ , són altament reactives i per tant capaces de provocar lesions importants en substrats biològics. La llum és també capaç d'activar l'oxigen i la combinació de llum, determinats colorants i oxigen dona lloc a la producció de les tres formes actives de l'oxigen, i per tant, es malmet tot substrat biològic que hi està exposat.

La resposta dels organismes primitius davant la imparabile contaminació de l'atmosfera amb oxigen no es va fer esperar. Avui en dia s'aixecarien veus exigint la prohibició total i absoluta de la foto-

síntesi sobre la base de la seva acció contaminant. En aquella època els organismes no estaven ni de bon tros tan ben organitzats, per la qual cosa el camí de la prohibició no fou viable, i no els va quedar altre remei que desaparèixer, amagar-se o aprendre a defensar-se pel seu compte. Avui en dia encara existeixen organismes descendents dels que es van amagar. Són els anomenats *anaerobis* i l'oxigen se'gueix essent tòxic per a ells. Amb el temps es van «inventar» un munt de defenses: es van desenvolupar enzims com ara les catalases i peroxidases per lluitar contra l'aigua oxigenada, i les superoxidismutases per catalitzar la dismutació del superòxid. L'acció combinada de les dues servia per a eliminar els precursors dels radicals hidroxils, i impedir-ne la formació. Amb tot, si alguna espècie activa de l'oxigen fos capaç de reaccionar per formar hidroperòxids, l'enzim glutatió peroxidasa serviria per a eliminar aquest darrer producte. A més es van desenvolupar petites molècules capaces d'impedir la propagació de les reaccions radicalàries d'autooxidació: entre elles es troba l'àcid ascòrbic o vitamina C per a medis aquosos, i els tocoferols o vitamina E i els carotens per a les regions apolars. Els organismes, doncs, van aprendre a conviure bé amb l'oxigen i la concentració d'aquest a l'atmosfera va anar augmentant. El nivell actual del 20 % es va assolir ara fa uns 400 milions d'anys.

La raó per la qual la concentració atmosfèrica d'oxigen no ha canviat des d'aleshores cal trobar-la en la següent fita de la relació oxigen-vida. Algun organisme va descobrir que, en lloc de només tolerar l'oxigen, se'n podria fins i tot treure profit inventant algun procés que l'utilitzés. Així es va descobrir la respiració, un mètode molt més eficient que els utilitzats fins aleshores per obtenir energia a partir dels aliments. Ens trobem, doncs, davant del primer programa (reeixit) de reciclatge de residus. Per bé o per mal, i a l'igual del que passa amb molts altres verins, els organismes que van començar a utilitzar l'oxigen s'hi van aficionar. Ben aviat s'hi van tornar addictes, fins al punt que als seus descendents els seria avui força difícil poder sobreviure sense oxigen. Amb el temps es van desenvolupar noves possibilitats d'utilització de l'oxigen per als organismes vius, i avui en dia l'oxidació es fa servir de manera rutinària com a mecanisme d'eliminació de toxines orgàniques (per via de la hidroxilació que permet l'excreció de la toxina gràcies a la millor solubilitat en aigua) i de defensa contra les infeccions. Així quan un leucòcit ingereix un bacteri s'observa un important consum d'oxigen de resultes del qual el bacteri s'oxida i es destrueix.

Els organismes, doncs, han passat d'ésser morts per l'oxigen a mantenir la seva existència utilitzant l'oxigen per a lluitar contra els seus enemics. Avui està en mans de l'home utilitzar els coneixements adquirits sobre les formes actives de l'oxigen per a lluitar contra una de les malalties més temudes: el càncer. La teràpia fotodinàmica del càncer es basa justament en la generació mitjançant llum i determinats fàrmacs de formes actives d'oxigen per destruir les cèl·lules malaltes. Al proper apartat es descriu l'estructura química dels fàrmacs i una breu història del seu descobriment.

## 8.2. ELS TETRAPIRROLES

---

Una de les preguntes que l'home s'ha fet des de sempre és per què l'herba és verda i la sang vermella. Avui en dia sabem que una sola família de pigments és la responsable del color dels nostres boscos i de la nostra sang. Són els tetrapirroles o anells tetrapirròlics, i la clorofil·la de les plantes i l'hemina, el cromòfor de l'hemoglobina i la mioglobina de la sang, en són dos exemples arquetípics. Tenen forma vagament circular formada per quatre unitats de l'anell conegut com a pirrole. El seu color resulta del seu espectre d'absorció: l'hemina absorbeix els components blau i verd de la llum visible però no el vermell, que en reflectir-se dona a la sang el seu color característic. De la mateixa manera la clorofil·la absorbeix els components blau i vermell però no el verd, i per tant les plantes tenen aquest color. La diferència en l'espectre d'absorció és la manifestació d'una estructura química lleugerament diferent: a causa de la presència de dos àtoms d'hidrogen suplementaris la clorofil·la (i en general totes les clorines) és menys simètrica que l'hemina (i en general que totes les metal·loporfirines). Els tetrapirroles, doncs, són capaços d'interaccionar amb la llum visible i el seu color n'és la manifestació més evident. Tanmateix aquest no és l'únic resultat de la interacció. En absorbir un fotó de llum els tetrapirroles augmenten la seva energia i sofreixen canvis en llur estructura electrònica. Els estats excitats formats així no són estables i retornen l'energia absorbida en forma de llum (fluorescència), en forma de calor, o bé sofreixen alguna reacció química. Aquest comportament és absolutament general per a tot procés d'absorció de llum i d'un sistema a un altre només canvia la importància relativa dels tres fenòmens. Els tetrapirroles (tant les porfirines com les

clorines) que no contenen cap metall en el seu centre i els que contenen determinats metalls són capaços de reaccionar amb l'oxigen una vegada han absorbit llum i de resultes de la interacció es formen algunes de les formes actives de l'oxigen descrites anteriorment. La presència de l'àtom de ferro en l'hemina evita aquesta interacció i tota la radiació absorbida es dissipa en forma de calor: afortunadament per a nosaltres l'hemina és un pigment inert fotoquímicament. L'absorció de llum per la clorofil·la, una clorina de magnesi, va seguida en canvi per una reacció química de transferència d'electró que constitueix la primera etapa del procés de fotosíntesi. Malgrat que la clorofil·la *in vitro* genera espècies actives d'oxigen en ser irradiada amb llum visible, la presència de carotens als centres fotosintètics de les plantes inhibeix aquest procés i/o desactiva l'oxigen actiu que s'hagués pogut formar.

A primera vista la clorofil·la i l'hemina semblen dues molècules força diferents, però mirades amb més deteniment ens adonem que segueixen un mateix patró. Això no és gens estrany atès que llur biosíntesi és idèntica fins a un punt en què el camí de les plantes divergeix del dels animals. En els dos casos la biosíntesi comença a partir de dues molècules d'àcid 5-aminolevulínic (ALA) que donen lloc a una unitat de porfobilinogen. Quatre porfobilinògens es combinen per formar el macrocicle bàsic, la protoporfirina IX. A partir d'aquest punt els processos divergeixen. En els animals l'hemina es forma per simple inclusió de ferro, mentre que en les plantes es realitzen encara unes quantes etapes necessàries per a incloure el magnesi i hidrogenar un dels dobles enllaços externs.

S'ha dit anteriorment que ni la clorofil·la ni l'hemina poden fotoactivar l'oxigen *in vivo*. Això no és cert per llur precursor comú, la protoporfirina IX, que fotosensibilitza la producció d'oxigen singlet amb gran eficiència. Per sort en els humans el nivell de protoporfirina IX a la sang és molt baix, ja que és un producte intermedi en la biosíntesi de l'hemina. De vegades la biosíntesi funciona malament i com a conseqüència es produeix una deficiència d'hemina i una acumulació de protoporfirina i d'altres porfirines a la pell. Aquest malfuncionament dóna lloc a un tipus particular de porfíria, una malaltia que provoca lesions importants i molt doloroses a la pell de qui la sofreix en ser exposat a la llum del dia. Els pacients d'aquest tipus de porfíria, doncs, han de procurar-se l'hemina —vital per al transport de l'oxigen dins la sang— d'alguna altra manera i la font més òbvia és a partir de la sang d'una altra per-

sona. A més han d'evitar la llum del dia si no volen sofrir terribles ulceracions de la pell. Sona familiar? El lector reconeixerà sens dubte el comte Dràcula com un pobre patidor d'aquesta malaltia. El seu comportament, tan espavoridor, és perfectament explicable pel que s'ha dit més amunt i la comprensió del seu sofriment més aviat ens mou a compassió. Cal fer menció que un component dels alls activa el sistema que elimina els glòbuls vermells vells, i destrueix per tant la poca hemina que li queda al pacient. Heus aquí l'avversió del comte Dràcula envers els alls!

Del que s'ha dit fins ara, se'n desprenen diverses conclusions:

1. Mentre que l'oxigen és relativament inert, les seves formes actives són altament reactives i poden malmetre irreversiblement diversos components vitals dels sistemes biològics.
2. La combinació de llum, oxigen i determinades molècules entre les quals es troben alguns tetrapirroles dona lloc a la formació d'espècies actives de l'oxigen.
3. Els tetrapirroles, exemplificats per la clorofil·la i l'hemina, es troben abundantment a la natura, formant-se i destruint-se contínuament tant en els animals com en les plantes.
4. En particular en els humans l'hemina és inerta fotoquímicament, però el seu precursor, la protoporfirina IX, genera molt eficientment oxigen actiu en ser irradiada amb llum visible.

Sembla possible treure partit de les observacions resumides en els punts anteriors i això és el que ha donat lloc a una nova estratègia terapèutica per al tractament de tumors sòlids coneguda amb el nom de *teràpia fotodinàmica del càncer*.

### 8.3. LA TERÀPIA FOTODINÀMICA DEL CÀNCER

La teràpia fotodinàmica (PDT) es basa en la fotooxidació sensibilitzada per colorants (principalment tetrapirroles) de components biològics del teixit tumoral que en provoquen l'eliminació. A grans trets la primera etapa del tractament consisteix en la introducció d'un fàrmac (que en general s'anomena *sensibilitzador*) a l'organisme. A continuació el sensibilitzador localitzat en el teixit tumoral és il·luminat amb la llum de longitud d'ona adequada a l'espectre d'absorció del sensibilitzador. A través d'una sèrie de

processos fotoquímics es formen productes oxigenats, tòxics per a les cèl·lules, i al cap d'un temps es produeix la destrucció del teixit. La teràpia fotodinàmica és, doncs, complexa i convé resumir-ne els aspectes principals, que són els següents.

### 8.3.1. *El sensibilitzador*

Per raons històriques relacionades amb les porfiries descrites anteriorment, el primer sensibilitzador emprat (i amb el qual s'ha realitzat la majoria d'estudis) és una barreja de porfirines coneguda amb el nom de *derivat d'hematoporfirina*, HpD. L'estructura exacta és desconeguda, si bé se n'han caracteritzat molts components, alguns més actius que altres. Recentment s'ha introduït al mercat una versió més purificada de l'anterior amb el nom comercial de *Photofrin II*. La millora consisteix en l'eliminació de molts components inactius, però la composició química segueix presentant alguns aspectes desconeguts. L'atractiu principal de l'HpD i la Photofrin II és llur baixa toxicitat ( $LD_{50} = 275$  mg per kg; són productes d'origen natural), retenció selectiva en teixit tumoral i bona activitat fotodinàmica. Amb tot, la seva utilització presenta també alguns inconvenients, principalment la poca absorció per sobre de 600 nm (regió vermella de l'espectre) i l'acumulació a la pell dels pacients, que pot durar moltes setmanes i provoca lesions si el pacient s'exposa a la llum del dia. No hi ha dubte que el futur portarà nous i millors sensibilitzadors i de fet aquesta és una àrea important de recerca.

### 8.3.2. *Transport i localització*

La Photofrin II es subministra al pacient per via endovenosa dissolta en un tampó de fosfat. Després de 24 hores de la injecció queda encara un 1 % del material en circulació i 75 dies després el nivell és encara del 0,01 %. Més del 65 % del sensibilitzador s'excreta en les deposicions en un període de 192 hores. Durant aquest període el sensibilitzador es distribueix pels diferents òrgans (sans o malalts) però hi ha una certa retenció per part dels darrers que confereix selectivitat al tractament. En el cas d'algunes lesions de la pell, la relació de concentracions de sensibilitzador entre el tumor i la pell sana pot ser de 10 o més alta. En general hom troba que com

més lipofílic és un sensibilitzador més queda retingut. La utilització de sensibilitzadors insolubles en aigua crea un problema de transport per a la sang, que s'ha solucionat principalment incorporant el fàrmac a liposomes i injectant al pacient una suspensió d'aquests. De manera similar, la injecció de sensibilitzadors lligats prèviament a lipoproteïnes de baixa densitat té una millor retenció per part del tumor. Això suggereix que el mecanisme d'assimilació del sensibilitzador pel teixit tumoral passa per la unió a aquest tipus de lipoproteïnes. Recentment ha estat assajada una alternativa per al subministrament del fàrmac: s'ha dit anteriorment que en la biosíntesi de l'hemina es produeix la protoporfirina IX, capaç de generar oxigen actiu. La seva concentració en teixits sans és molt baixa i no dóna lloc a fenòmens de fotosensibilització excepte en el cas de malalties com ara les porfíries. La raó de la seva baixa concentració es troba en el fet que es forma molt lentament a partir de l'àcid aminolevulínic, ALA, però desapareix molt ràpidament. Científics del Canadà van suggerir subministrar ALA als pacients per estimular la biosíntesi de protoporfirina i augmentar-ne la concentració. La teràpia fotodinàmica amb aquestes porfirines «endògenes» s'ha aplicat amb força èxit al tractament de tumors de la pell, amb l'avantatge que la protoporfirina es metabolitza molt més ràpidament que els derivats d'hematoporfirina, i es redueixen així els efectes secundaris.

### 8.3.3. *Subministrament de la llum*

Per aconseguir l'efecte fotodinàmic no n'hi ha prou amb disposar d'un bon sensibilitzador i de localitzar-lo en el teixit tumoral. Cal a més fer-hi arribar llum de la longitud d'ona adequada. La fluència de llum en qualsevol teixit decreix exponencialment amb la distància. Això és degut a la combinació de dos efectes: absorció i dispersió de la llum per components del teixit. Els dos paràmetres són diferents per a cada teixit. Així el fetge absorbeix de manera molt intensa la llum a causa del seu alt contingut d'hemoglobina, mentre que el cervell dispersa la llum de manera molt eficaç. La conclusió més important a què s'ha arribat és que la penetració de la llum augmenta quan creix la seva longitud d'ona. La llum blava (400 nm) penetra només 0,1 mm, mentre que la vermella utilitzada actualment (630 nm) penetra fins a uns 3 mm. Si s'utilitzés llum de l'infraroig proper (NIR; uns 750 nm) la penetració es doblaria. Malauradament



les porfirines no absorbeixen la llum a longituds d'ona tan altes i això ha esperonat la recerca de fàrmacs anomenats *de segona generació*. Un tret comú dels nous sensibilitzadors és la capacitat d'absorbir la radiació NIR. La dificultat de fer arribar la llum a òrgans interns ha fet que la teràpia fotodinàmica s'apliqués primerament a tumors sòlids externs, com ara de la pell, cap, coll i ginecològics, i darrerament a tumors que es puguin il·luminar per via endoscòpica, com ara els pulmonars i de còlon. En tots els casos la font de radiació preferida és un làser, de colorant o de vapor d'or. No hi ha, però, cap raó *a priori* perquè no es puguin utilitzar làmpades convencionals.

#### 8.3.4. Acció fotodinàmica

S'ha dit anteriorment que quan el sensibilitzador absorbeix llum es transforma en una espècie excitada capaç de reemetre llum (fluorescència) i de reaccionar amb determinats reactius que es trobin a l'abast. La fluorescència s'empra per localitzar precisament els límits del teixit tumoral. De fet, la teràpia fotodinàmica va sorgir en el transcurs d'un projecte de desenvolupament de mètodes de diagnosi de tumors, en descobrir que les porfirines no només servien per a marcar tumors, sinó també per a destruir-los. Quant a les reaccions químiques, avui sabem que la presència d'oxigen és indispensable perquè es produeixi la necrosi tumoral. Sabem a més que els sensibilitzadors són en la seva immensa majoria capaços de generar oxigen actiu, primordialment oxigen singlet. Per aquesta raó hom creu que són les formes actives de l'oxigen les responsables de la citotoxicitat. Cal deixar constància, però, que aquesta hipòtesi no ha estat encara demostrada experimentalment. Els efectes de la teràpia fotodinàmica poden classificar-se a grans trets entre cel·lulars i vasculars. Els efectes cel·lulars són fàcilment comprensibles si es té en compte que tant l'oxigen singlet com els radicals hidroxils reaccionen molt ràpidament amb pràcticament tots els components de les cèl·lules: lípids, aminoàcids, colesterol, etc. Els efectes vasculars es poden resumir en l'oclusió dels vasos que nodreixen els tumors d'oxigen. La hipòxia que en resulta condueix a la necrosi del teixit. Tant els estudis amb animals com l'experiència clínica mostren l'aparició general d'hemorràgies internes i extravasació d'hematies. Cal destacar que els efectes vasculars limiten paradoxalment l'eficàcia de la PDT, ja que en exhaurir-se l'oxigen de les cèl·lules es posa fi

a la generació d'oxigen actiu. El predomini d'un efecte sobre l'altre és una funció molt sensible de la concentració del sensibilitzador al flux sanguini i, per tant, del temps transcorregut entre el subministrament del sensibilitzador i la il·luminació.

### 8.3.5. *Experiència clínica*

Es pot estimar que actualment s'han tractat uns 10.000 pacients amb molt diverses formes de càncer mitjançant la teràpia fotodinàmica. Probablement la meitat hauran estat tractats als EUA i la resta es reparteix entre la Xina, l'antiga Unió Soviètica i alguns països europeus com Anglaterra, Alemanya, França i Itàlia. Tal com s'ha dit abans, els principals tumors tractats són els de la pell, pulmó, ginecològics, cap i coll, ull i esòfag. En tots els casos es tracta de tumors sòlids. La PDT no ha estat utilitzada per a limfomes ni leucèmies. Les dades de què es disposa són encara poques i, el més important, l'evolució dels pacients ha estat seguida pocs anys. En qualsevol cas, l'observació dels resultats de la taula següent mostra que la teràpia fotodinàmica del càncer ha contribuït ha salvar moltes vides i, malgrat trobar-se encara en els seus orígens, és un complement valuós i fins i tot una alternativa als tractaments convencionals.

TAULA I

<i>Tipus de tumor</i>	<i>Pacients</i>	<i>RC</i>	<i>RP</i>	<i>NR</i>
Pell	219	147	29	43
Endobronquial (avançat)	262	106	136	20
Endobronquial (inici)	32	17	10	—
Bufeta	70	38	16	13
Cap i coll	49	9	26	14
Ginecològic	11	4	5	2
Esòfag	17	0	11	6

RC: Resposta completa

RP: Resposta parcial

NR: Cap resposta

## 8.4. EL PAPER PRESENT I FUTUR DELS QUÍMICS I FOTOQUÍMICS

---

De tot el que s'ha exposat fins ara queda clar que la teràpia fotodinàmica del càncer és un tema molt complex, encara amb molts punts per aclarir, i que la seva millora requereix el treball de científics de molt diverses disciplines: químics, fotoquímics, biòlegs, metges, enginyers, etc. L'aportació que podem fer els químics i fotoquímics és caracteritzar el mecanisme de l'acció fotodinàmica des del punt de vista molecular i utilitzar aquests coneixements per a dissenyar i sintetitzar nous fàrmacs amb millor activitat terapèutica i menys efectes secundaris que les porfirines que s'utilitzen actualment. No hi ha acord general sobre quines són les propietats del sensibilitzador ideal. Tanmateix hom coincideix en el fet que és fonamental que es pugui utilitzar llum de l'infraroig proper (700-900 nm) per a l'activació fotoquímica i que en resulti la generació d'espècies actives d'oxigen amb bona eficiència. No hi ha tant d'acord en canvi en quins trets estructurals donen lloc a una millora de la selectivitat en la localització i a una eliminació dels efectes secundaris.

Una gran varietat de compostos nous han estat proposats com a candidats potencials per a substituir l'HpD i la Photofrin II: entre ells cal destacar les ftalocianines, les clorines (similars a la clorofil·la), els seus anàlegs, les purpurines i els porfircens. Tots aquests compostos presenten l'avantatge d'una estructura química perfectament coneguda, absorció desplaçada cap al NIR i rendiments de generació d'oxigen singlet comparables o més grans que les porfirines. Una contribució modesta a aquests estudis es fa en el nostre laboratori, on treballem en col·laboració amb altres institucions catalanes i europees en el desenvolupament i caracterització fotoquímica d'alguns d'aquests sensibilitzadors.

## AGRAÏMENTS

---

Volem reconèixer i agrair el generós suport que la Direcció de l'Institut Químic de Sarrià dona a aquesta línia de recerca.

**BIBLIOGRAFIA**

---

Moltes de les dades que es recullen en aquest assaig divulgatiu han aparegut en excel·lents articles i altres publicacions entre les quals destaquen les següents:

FOOTE, C. S. *Chemical Technology*, 6 (1976), p. 612.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. [ed.]. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon Press, 1989.

LOIRON, D. R.; GOMER, C. J. [ed.]. *Porphyrin localization and treatment of tumors*. Nova York: Alan R. Liss. Inc., 1984.

MILGROM, L. *New Scientist*, 9 (1984).

MORENO, G.; POTTIER, R. H.; TRUSCOTT, T. G. [ed.]. *Photosensitization: molecular, cellular and medical aspects*. Berlín: Springer-Verlang, 1988. (NATO ASI Series H: Cell Biology; 15)