

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE BIOTECNOLOGIA**

MARINA CUNHA NETTO

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ASSOCIADA AO AZURE A EM CÉLULAS
TUMORAIS DE PRÓSTATA HUMANA.**

**Uberlândia - MG
2026**

MARINA CUNHA NETTO

**EFEITO DA TERAPIA FOTODINÂMICA ASSOCIADA AO AZURE A EM CÉLULAS
TUMORAIS DE PRÓSTATA HUMANA.**

Projeto de Pesquisa apresentado como requisito para a
aprovação na disciplina Trabalho de Conclusão de
Curso II do Curso de Biotecnologia - Bacharelado da
Universidade Federal de Uberlândia.

Homologado pela coordenação do Curso de
Biotecnologia em ____/____/____.

Profa. Dra. Rute Magalhães Brito

Orientadora: Profa. Dra. Daniele Lisboa Ribeiro
Departamento de Biologia Celular, Histologia e Embriologia.
Coorientador: Me. Luiz Felipe Fernandes Peixoto

**Uberlândia - MG
2026**

RESUMO

O câncer de próstata apresenta alta incidência entre os homens no mundo e mesmo após os tratamentos mais comuns está associado com efeitos colaterais e alta recidiva. Assim, a busca por alternativas terapêuticas menos invasivas e eficientes é necessária. A terapia fotodinâmica pode ser uma alternativa interessante para o tratamento do câncer de próstata uma vez que utiliza a energia da luz e uma molécula de fotossensibilizador para causar estresse oxidativo e morte celular apenas no local da aplicação. O presente trabalho investigou o efeito da terapia fotodinâmica (TFD) associada ao corante Azure A como fotossensibilizador em células tumorais de próstata humana da linhagem PC3. As células foram divididas em 4 grupos experimentais: controle, Luz, Azure A e a combinação de luz com Azure A. Para isso, as células foram tratadas com 5 μ M de Azure A por 30 minutos seguidas ou não da irradiação com luz led por 5 minutos. Após 24 hrs dos tratamentos, elas foram avaliadas quanto a viabilidade celular pelo método de MTT; autofagia utilizando coloração com laranja de acridina; morte celular por apoptose usando caspase-3 clivada e vimentina. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente. Nossos resultados mostram que o tratamento com o fotossensibilizador na ausência de luz não tem efeito citotóxico e que quando combinado com a luz na terapia fotodinâmica causa redução da viabilidade celular. Ainda, encontramos que a terapia fotodinâmica foi capaz de aumentar a expressão de vimentina, e da marcação com laranja de acridina e uma tendência de aumento de apoptose. Assim, esse trabalho mostrou que a terapia fotodinâmica com Azure A é eficiente na morte de células tumorais de próstata humana PC3 e que desencadeia vias de morte celular diferentes da apoptose, como a autofagia. Futuras investigações buscarão entender melhor os tipos de morte celular envolvidos nesse processo.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
1.1 Câncer de próstata	5
1.2 Terapia fotodinâmica	7
1.3 Fotossensibilizador	8
1.4 Azure A	9
1.5 Terapia fotodinâmica no tratamento de Câncer	10
1.6 Justificativa	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 Cultura de células	12
3.2 Grupos Experimentais	12
3.3 Avaliação da viabilidade celular através do ensaio de MTT	13
3.4 Avaliação de autofagia	13
3.5 Imunofluorescência para vimentina e caspase 3 clivada	13
3.6 Análise estatística	14
4 RESULTADOS	15
4.1 Terapia fotodinâmica reduz viabilidade das células PC3	15
4.2 A marcação de vimentina demonstrou aumento no grupo AA-LED	16
4.3 Terapia fotodinâmica não causou alteração de caspase-3 clivada após 24H.	17
4.4 Aumento de vesículas ácidas causada pela terapia fotodinâmica indica possível morte celular por autofagia.	18
5 DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	22

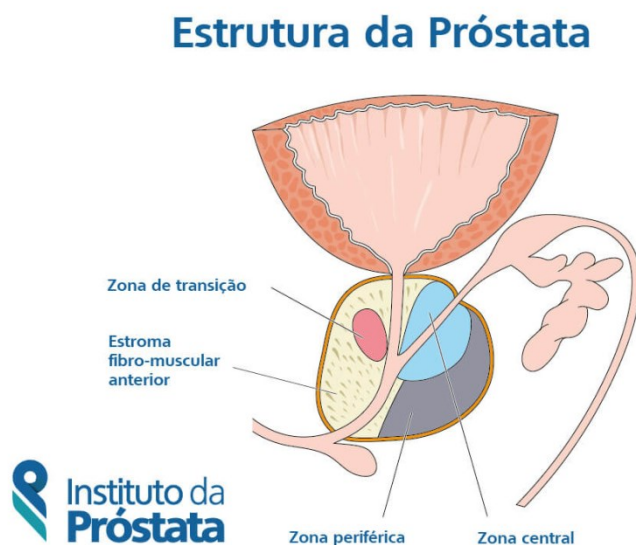
1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer de próstata

A próstata é uma glândula exócrina do sistema genital masculino que produz e secreta componentes do fluido seminal. Ela se encontra inferior a bexiga e circundando a uretra na parte inicial, o que é importante para regulação do fluxo urinário, devido a musculatura dessa região (Sharma *et al.*, 2017). O desenvolvimento da próstata é diretamente dependente dos hormônios andrógenos, como a testosterona, de modo que as células de Leydig nos testículos produzem esse hormônio que é convertido em diidrotestosterona pela 5-alfa redutase nas células alvo da próstata (Sharma *et al.*, 2017).

A próstata humana é dividida anatomicamente em zonas, de acordo com estudo de McNeal: Periférica que compõe cerca de 70%; Central que corresponde a 25% e possui a maior parte dos ductos ejacutórios; Transicional, representando cerca de 5%; e estroma fibromuscular que completa o volume total da próstata dando sustentação à glândula (McNeal, 1980) (Figura 1). Comumente a área mais acometida pelo surgimento do câncer de próstata é a Zona Periférica, onde estima-se cerca de quase 70% de incidência tumoral, seguido da Zona de Transição, onde o câncer parece se desenvolver de nódulos a partir da hiperplasia benigna (McNealet *et al.*, 1988).

Figura 1- Divisão das zonas da próstata: imagem representando um esquema didático das zonas prostáticas, sendo elas a central, zona de transição e zona periférica.



Fonte: Instituto da próstata.

Histologicamente a próstata é formada por glândulas túbulo acinares cujos ductos se encontram em volta da uretra. No epitélio acinar, são encontradas as células epiteliais basais que são progenitoras, as células epiteliais luminiais - responsáveis pela secreção prostática- e as células

neuroendócrinas. No estroma glandular existem as células estromais que são principalmente fibroblastos e células musculares (De Marzo *et al.*, 1998).

O câncer de próstata representa uma grave questão de saúde pública mundial sendo o quarto tipo de câncer mais incidente, e o segundo mais incidente na população masculina, e em nosso país os dados não são diferentes. No Brasil, essa é a neoplasia mais comum entre homens, excluindo as neoplasias de pele não melanoma. Os últimos dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimam para 2026 cerca de 72.920 novos casos, o que corresponde a 30,5% de todos os cânceres masculinos. Em um panorama localizado, o estado mais acometido por essa neoplasia é São Paulo com 20.820 novos casos estimados (Inca, 2026).

A expectativa de vida tem aumentado nos últimos anos, e, consequentemente, houve um impulso na incidência das doenças associadas ao envelhecimento. A hiperplasia prostática e o desenvolvimento do câncer de próstata são as duas principais alterações patológicas do trato genital masculino após a quinta década de vida (Sung & Chung, 2002). Cerca de 75% dos casos globais de câncer de próstata ocorrem a partir dos 65 anos, e os dados da Organização Mundial da Saúde mostram um salto de mortalidade durante o envelhecimento (Who, 2017). Isso ocorre principalmente devido às alterações hormonais normais da idade, estando também associadas ao sobrepeso e obesidade, hiperinsulinemia e níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias que contribuem para o desenvolvimento do câncer e pior prognóstico (Boda, 2024). O rastreio do câncer de próstata é inicialmente feito pela combinação do exame clínico de toque retal com a dosagem do antígeno prostático específico (PSA) no sangue. Nesse sentido, o diagnóstico é feito pelo estudo histopatológico do tecido obtido por biópsia (Mokoenet *al.*, 2021).

Os métodos mais comuns de tratamento para o câncer de próstata são a cirurgia e radioterapia que podem ser associadas ou não à terapia hormonal de bloqueio androgênico, que impede o avanço do câncer através da privação de andrógenos. No entanto, comumente esses tratamentos levam a uma recidiva da doença, além de gerar sequelas como por exemplo disfunção erétil e incontinência, que contribuem para reduzir a qualidade de vida (Ashrafizadehet *al.*, 2022), junto a possibilidade de as células se tornarem andrógenos independentes, evento causado por fatores variados como alterações no receptor androgênico, tornando necessárias novas alternativas terapêuticas.

1.2 Terapia fotodinâmica

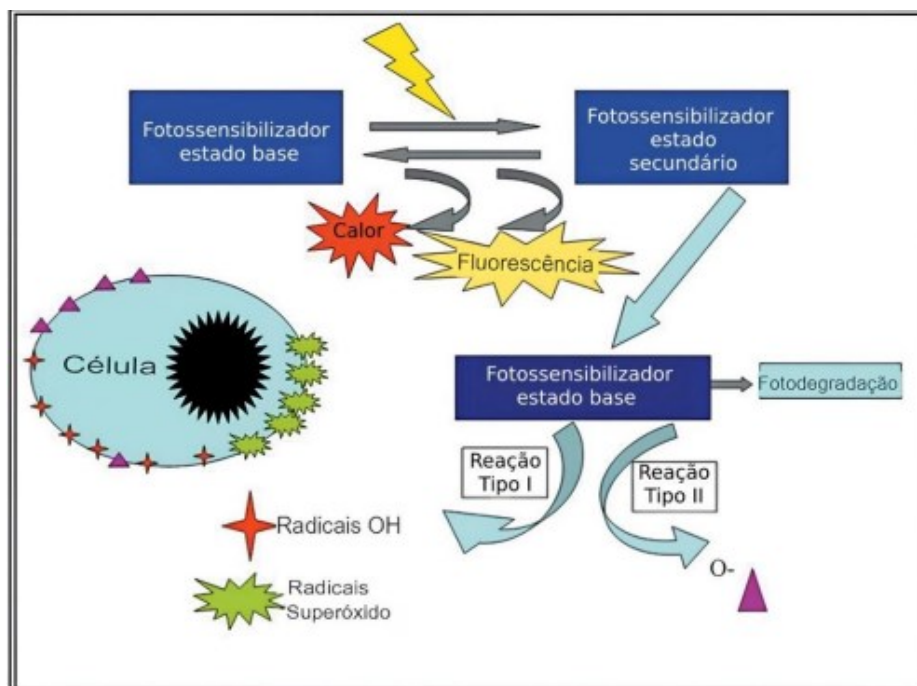
A terapia fotodinâmica (TFD) é um método de terapia com luz usada para tratar algumas doenças, e que tem se mostrado promissor como adjuvante no tratamento de alguns tipos de câncer, com a vantagem de ser um tratamento alternativo, minimamente invasivo e possuir efeito citotóxico

em células malignas (Aebisheret *al.*, 2024). Ela consiste em 3 elementos principais, sendo o fotossensibilizador, a luz visível em um comprimento de onda específico e oxigênio molecular (Chilakamarthi; Giribabu, 2017).

O tratamento ocorre da seguinte forma: O fotossensibilizador é colocado diretamente no local do tumor de maneira que atinja a concentração ideal dele no tecido. Após essa etapa, é feita a irradiação da luz em um comprimento de onda específico que tire o fotossensibilizador do seu estado fundamental para o estado de excitação (estado tripleto). Então, ocorrem 2 reações que podem ser simultâneas, mas o saldo entre elas depende do tipo de fotossensibilizador e a disponibilidade de oxigênio nos tecidos. A reação tipo 1 da TFD consiste na transferência do elétron absorvido do fotossensibilizador diretamente para as moléculas (tais como lipídios de membranas e proteínas). Essa transferência gera radicais livres, que são moléculas altamente reativas encontradas no sistema biológico por meio do metabolismo celular aeróbio, os quais se ficarem nas células, além de serem tóxicos, podem gerar diversos tipos de dano a depender da espécie presente, como por exemplo destruição de membranas e modificações genéticas e sinalização para morte celular (Ferreira; Matsubara, 1997).

Em um segundo momento, o fotossensibilizador que está mais excitado irá fazer a reação tipo 2 na qual a energia absorvida por ele é passada para o oxigênio molecular, transformando-o em oxigênio singlete, altamente reativo, gerando as espécies reativas de oxigênio (ROS), como ânions superóxido, peróxidos e radicais hidroxila (Niculescu; Grumezescu, 2021). Tais espécies, que quando ultrapassam o limiar crítico desencadeiam formas variadas da ativação de diferentes tipos de morte celular pois os danos causados pelo estresse oxidativo gerado, superam a capacidade antioxidante natural das células e assim desencadeiam a morte celular (Mallidiet *al.*, 2015).

Além de induzir a morte celular, a terapia fotodinâmica gera cascatas imunológicas que causam danos que auxiliam na redução da recorrência do tumor, metástase e morbidade do câncer em longo prazo (Chou *et al.*, 2023). Dentre os principais mecanismos descritos como benefícios desse tipo de terapia estão: a morte das células tumorais diretamente pelas ROS; a indução de danos aos vasos associados ao tumor, gerando o infarto tumoral; e a ativação da resposta imune contra o tumor, estabelecendo assim uma “memória” do organismo contra o aparecimento de novos tumores. Esses três mecanismos podem influenciar um ao outro, e a combinação de todos é interessante para o controle do crescimento tumoral a longo prazo (Dougherty *et al* 1998; Aebisheret *al.*, 2024).



Fonte: Quaresma(2024)

1.3 Fotossensibilizador

A hematoporfirina foi o primeiro fotossensibilizador usado na terapia fotodinâmica (Ashrafizadehet *al.*, 2022). Ela foi descoberta na década de 50 em tecidos tumorais e o seu uso comercial teve marco inicial em 1970, quando ela foi testada na terapia fotodinâmica, e se tornaria posteriormente a primeira substância a ser aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) para ser usada como fotossensibilizador nesse tratamento (Russell; Kingsley, 2003).

Este foi então o fotossensibilizador mais usado da primeira geração dos fotossensibilizadores, a qual é marcada principalmente por compostos baseados em difosfato de potássio. Esses compostos, tinham limitações que precisavam ser sanadas, tais como a falta de pureza, heterogeneidade, baixa solubilidade em água, e ativação em comprimentos de onda abaixo de 640nm (a qual não tem boa penetração nos tecidos). Aliado a isso, tem a falta de especificidade para se acumular nas células e a meia vida longa deles, gerando efeitos colaterais ao paciente, pois as reações de escuro em decorrência do fotossensibilizador em si, sem efeito da luz, eram muito comuns (Mallidiet *al.*, 2015).

Tendo isso em vista, em 1980 foram desenvolvidos os fotossensibilizadores de segunda geração, os quais hoje em dia englobam principalmente as classes de porfirinas, bacterioclorinas, ftalocianinas e clorinas, tendo como principal representante aprovado para uso o 5-ALA (ácido 5-aminolevulínico) (Oluwajembolaet *al.*, 2024). Essa nova classe já apresentou alterações para aumentar sua solubilidade em meios biológicos, absorção de luz em comprimentos de onda maiores, na faixa de 650 a 800 nm, o que ajuda na absorção tecidual mais profunda e localizada, permitindo ativação por luz infravermelha, combinada com uma meia vida menor e metabolização

mais rápida, diminuindo seus efeitos colaterais (Dabrowski et al., 2021; Ashrafizadehet *al.*, 2022). Mas ainda assim, eles apresentavam fragilidades como baixa estabilidade e toxicidade residual, o que levou ao desenvolvimento de pesquisas para futuros fotossensibilizadores de terceira geração.

Os fotossensibilizadores de terceira geração foram desenvolvidos e são baseados muitas vezes nos de segunda geração, buscando melhorar ao máximo a afinidade pelas células-alvo e a biodistribuição. Isso se dá através da conjugação dos fotossensibilizadores de segunda geração com moléculas de direcionamento, sendo as mais comuns anticorpos e carboidratos, ou usando encapsulamento em sistemas carreadores atuais como nanopartículas, micelas e lipossomas. Dessa forma, com esses fotossensibilizadores é possível aumentar a especificidade para células tumorais, diminuir as reações de escuro e os efeitos colaterais em geral (Mokoenat *al.*, 2021; Dabrowskiet *al.*, 2021). No entanto, é preciso salientar que tais fotossensibilizadores são de produção complexa o que os torna onerosos, podendo dificultar a praticidade e ampla utilização na prática médica.

1.4 Azure A

Corantes e pigmentos comerciais também apresentam atividade fotossensibilizadora, destacando-se entre eles os corantes fenotiazínicos. Os corantes fenotiazínicos apresentam absorção na região de 600–660 nm do espectro e fraca absorção no restante da luz visível e do ultravioleta próximo, resultando em pouca ou nenhuma fotossensibilização cutânea durante o tratamento (Gorman *et al.*, 2006).

Dessa forma, as fenotiazinas têm se destacado como fotossensibilizadores promissores na terapia fotodinâmica. Embora os fotossensibilizadores de segunda e terceira geração tenham melhorado muito no quesito seletividade e melhor absorção no espectro terapêutico, a maioria apresenta alto custo e difícil formulação. Assim, corantes da classe das fenotiazinas, tais como azul de metileno, azul de toluidina e Azures, apresentam vantagem por sua acessibilidade, baixo custo e seu uso já comum na medicina.

O Azure A é um corante derivado de fenotiazínicos que se assemelha com o azul de metileno, mas sua diferença é ser desmetilado. Por essa proximidade estrutural, pesquisas acreditam que ele possa ser usado na terapia fotodinâmica apresentando efeitos citotóxicos nas células alvo. Junto a isso, sabe-se que ele tem afinidade pela membrana plasmática, a qual costuma ser uma das principais estruturas lesadas pela terapia fotodinâmica (Moreira *et al.*, 2010). Alguns trabalhos mostraram que o Azure A pode ser capaz de reduzir o crescimento de leveduras (Moreira *et al.*, 2010), e tem acesso ao mecanismo bioenergético de mitocôndrias causando danos após a fotoestimulação. Assim, é notória sua capacidade de agir como fotossensibilizador.

1.5 Terapia fotodinâmica no tratamento de Câncer

Já elucidado o funcionamento da terapia fotodinâmica e a necessidade de novos tratamentos para câncer de próstata, a literatura mostra estudos cujos resultados são promissores. No caso do câncer de próstata, poucos estudos são encontrados na literatura a respeito do uso da terapia fotodinâmica. Entretanto, alguns trabalhos tem descrito resultados positivos do uso de terapia fotodinâmica em células tumorais como PC3 e LNCap (Fan *et al.*, 2014; Yamauchi *et al.*, 2015; Hayashida *et al.*, 2016). Embora esses trabalhos tenham demonstrado sucesso dessa terapia, cada um desses estudos utilizou um fotossensibilizador diferente, ou ainda associou a ele outros compostos químicos ou térmicos para aumentar a sua eficácia, o que torna o tratamento ainda mais oneroso (Fan *et al.*, 2014; Yamauchi *et al.*, 2015; Hayashida *et al.*, 2016). Nenhum deles testou a eficiência do Azure A como fotossensibilizador na apoptose e viabilidade de células tumorais, o que seria de grande interesse na área médica, dadas as vantagens biológicas e econômicas deste fotossensibilizador, como já mencionado anteriormente.

Em se tratando do Azure A, nenhum estudo investigou o seu potencial na terapia fotodinâmica para o tratamento de câncer de próstata. No entanto, Da Silva *et al.* (2026) desenvolveram um lipossoma combinado de Azure A e RoseBengalDecyl Ester (RBDEC) para o tratamento de adenocarcinoma colorretal, e mostraram que os fotossensibilizadores foram para localizações celulares diferentes, o azure tendo uma incorporação de 60% pelas células e se localizando no citoplasma. Ainda, mostraram que as células cancerígenas reduziram a viabilidade celular em 80% após 20 minutos de terapia fotodinâmica.

Um outro estudo, conduzido por De Souza *et al.*, (2021) mostrou que o Azure A se acumula nas mitocôndrias de hepatócitos *in vitro*, produzindo altos níveis de peroxidação lipídica e ROS durante a terapia fotodinâmica, interferindo na bioenergética mitocondrial. Ainda, eles demonstraram que esse fotossensibilizador também tem efeitos fotodinâmicos em situação de hipóxia o que seria interessante no sua aplicação em tumores.

1.6 Justificativa

Tendo em vista que o câncer de próstata é o segundo tipo de câncer que mais acomete homens no mundo, e com altas taxas de reincidência após os tratamentos convencionais justificam a necessidade do desenvolvimento de alternativas de tratamento cada vez mais eficazes (Inca, 2026).

Nesse sentido, a terapia fotodinâmica vem se aprimorando e demonstra potencial como tratamento coadjuvante contra vários tipos de câncer, incluindo o de próstata por seu caráter minimamente invasivo. Ela permite a qualidade de vida do paciente pela baixa toxicidade sistêmica

em geral, apresentando baixos efeitos colaterais, recuperação rápida e, principalmente, pode reduzir a recidiva comum em outras formas de tratamento para o câncer de próstata (Saldutto *et al.* 2025) .

Além disso, estudos prévios utilizando fotossensibilizadores da mesma classe química do Azure A reforçam o potencial da terapia fotodinâmica no tratamento do câncer de próstata. Gomes *et al.* (2023) avaliaram a terapia fotodinâmica mediada por azul de metileno, uma fenotiazina, em células tumorais de próstata da linhagem PC3. Eles observaram redução significativa da viabilidade celular e da capacidade migratória das células tratadas. Esses resultados demonstram que corantes fenotiazínicos apresentam potencial terapêutico promissor em células tumorais prostáticas, incentivando a investigação de outros compostos da mesma classe, como o Azure A.

Dessa forma, a novidade desse estudo é notória, uma vez que o uso do Azure como fotossensibilizador na terapia fotodinâmica em células tumorais de próstata ainda não foi investigado e, portanto, tem alta relevância, uma vez que tem baixo custo, alto potencial foto estimulante.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar os efeitos do Azure A como fotossensibilizador na terapia fotodinâmica em células tumorais de próstata humana de linhagem PC3.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a viabilidade das células tumorais de próstata humana (PC3) após a terapia fotodinâmica
- Mensurar a imunomarcagem de vimentina por imunofluorescência;
- Analisar a citotoxicidade através da quantificação de morte celular por apoptose;
- Avaliar autofagia através da coloração com laranja de acridina.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cultura de células

Para esse estudo foi realizado o cultivo de células epiteliais tumorais de próstata humana de linhagem PC3. As células foram cultivadas com o meio de cultura Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado com soro fetal bovino a 10% e 1% de antibiótico (penicilina/estreptomicina) volume/volume, sendo mantidas em atmosfera de 5% de CO₂ a 37°C. O DMEM suplementado será referido como DMEM completo.

3.2 Grupos Experimentais

As células foram cultivadas conforme tópico anterior e separadas em grupos experimentais seguindo a seguinte configuração:

- Grupo controle (CT): células sem nenhum tipo de tratamento;
- Grupo Azure A (AA): células tratadas apenas com o fotossensibilizador;
- Grupo controle + luz (CT-LED): células tratadas somente com luz LED;
- Grupo Azure A + luz (AA-LED): células tratadas com fotossensibilizador associado à luz.

As células (AA e AA-LED) foram tratadas com o fotossensibilizador Azure A a 5µM diluído em DMEM completo por 30 minutos. Após esse período, o fotossensibilizador foi removido e as células (AA-LED e CT-LED) foram irradiadas utilizando a luz LED vermelha (660~680nm) em PBS e, após a irradiação, o PBS foi substituído por DMEM completo. O grupo controle (CT) recebeu apenas o meio DMEM. A fonte luminosa foi posicionada a 13 cm de altura das células, e as

células foram irradiadas durante 5 minutos, com potência de 3,4mW, e a dose de energia que foi administrada nas irradiações com a luz LED foi 1,6J/cm².

3.3 Avaliação da viabilidade celular através do ensaio de MTT

Para verificar se a terapia fotodinâmica possui efeito na viabilidade celular, foram utilizadas células tumorais de próstata humana de linhagem PC3. Para a escolha ideal de dose do fotossensibilizador, foi realizado o teste de concentração em 5µM, 10µM e 15µM. Para isso, as células PC3 foram plaqueadas em placas de 96 poços (10⁴ células/poço) e separadas em grupos que receberam o tratamento da mesma maneira citada anteriormente, recebendo as diferentes concentrações do fotossensibilizador diluído em DMEM completo. Após 24hrs do tratamento, as células foram incubadas com a solução de MTT com o kit *MTT based celltiter 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay* (MTT G4000, Promega, Madison, WI) na concentração de 1:6 (MTT:DMEM) por 3h. Foram separados 4 poços sem células para o grupo branco, o qual havia somente o DMSO com o reagente MTT. Após esse período houve a remoção do meio com a solução de MTT, e acrescentado DMSO para diluição do Formazan. A placa foi imediatamente lida para mensuração de absorbância com a utilização de leitora de microplaca (Multiskan FC, Thermo Scientific) pelo comprimento de onda de 565nm. A normalização foi realizada subtraindo as absorbâncias de cada poço dos grupos pela média de absorbância do branco.

3.4 Avaliação de autofagia

Para avaliar se a TFD possui efeito na autofagia, as células PC3 foram cultivadas em placas de 6 poços. Após 24 horas dos tratamentos, as células ainda vivas foram incubadas com o corante laranja de acridina previamente filtrado (Sigma Aldrich, 5µg/mL por 10 minutos no escuro) para marcação de vesículas ácidas, que aparecem em fluorescência vermelha. As imagens foram capturadas com o auxílio do microscópio invertido fluorescente (Microscópio Invertido Nikon Ti-S) para ambos os filtros (vermelho para vesículas ácidas e verde para o DNA/RNA). A intensidade de coloração foi detectada utilizando o software Image J através da ferramenta Threshold, selecionando 5 imagens por poço, sendo 3 poços por grupo. A intensidade de fluorescência vermelha foi normalizada pelo número de células em cada imagem.

3.5 Imunofluorescência para vimentina e caspase 3 clivada

Para avaliar maiores efeitos da terapia fotodinâmica nas células PC3, foi realizado ensaio de imunofluorescência para vimentina e caspase-3 clivada. Para esse ensaio, as células foram cultivadas em placas de 96 poços seguindo os grupos e tratamento experimental descritos. Após

24hs dos tratamentos, as células foram fixadas com metanol 4% gelado por 20 minutos. Então, foi realizado bloqueio de interações inespecíficas utilizando albumina de soro bovino (BSA) a 5% em Tampão Tris salino com Tween 20 (TBST) por 1H. Após esse período, as células foram incubadas *overnight* a 4°C com os anticorpos anti-vimentina (1:250 - sc-6260, camundongo - Santa Cruz Biotechnology diluído em BSA 3%) e anti-caspase-3 clivada (1:250 - monoclonal, coelho - CellSignaling Technology, 9664, Danvers, USA, diluído em BSA 3%). No outro dia, as células foram lavadas delicadamente com TBST por três vezes, sendo 5 minutos cada lavagem. As células foram incubadas então por 1H com anticorpo secundário Alexa 594 anti-coelho (1:500 - diluído em BSA 3%) ou anti-camundongo (1:500 - diluído em BSA 3%) (ambos da Jackson Laboratories). Para marcação dos núcleos, foi utilizado DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) na concentração de 1µg/mL em TBST por 10 minutos e as imagens foram obtidas utilizando o microscópio invertido fluorescente (Microscópio Invertido Nikon Ti-S) com os filtros verde para vimentina e caspase-3 clivada e UV para visualização de núcleos. A intensidade de marcação foi detectada utilizando o software *Image J* através da ferramenta *Threshold*, selecionando 5 imagens por poço, sendo 5 poços por grupo para ambas as análises. A normalização foi realizada pela razão entre a intensidade de marcação e a quantidade de núcleos contados em cada campo.

3.6 Análise estatística

A análise estatística dos dados obtidos foi avaliada com o auxílio do software JASP (Versão 0.97.1 - <https://jasp-stats.org/>). Os dados foram analisados quanto à distribuição normal usando o teste de Shapiro-Wilk. As diferenças entre os grupos controles e tratados foram verificadas pelo teste de análise de variância (ANOVA One Way) seguido do pós-teste Tukey, sendo considerado significativo quando $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Terapia fotodinâmica reduz viabilidade das células PC3.

Foi realizado o ensaio de MTT testando as concentrações de 5 μ M, 10 μ M e 15 μ M. O efeito do fotossensibilizador foi avaliado na presença ou ausência da luz. Foi verificado que o Azure A causou redução de viabilidade, mesmo no escuro, nas concentrações de 10 μ M e 15 μ M, enquanto em 5 μ M resultou na redução somente quando associada à luz LED (Figuras 2 e 3). Portanto, foi escolhida a concentração de 5 μ M para a realização dos demais ensaios.

O ensaio de MTT mostrou que a viabilidade de células do grupo tratado com o fotossensibilizador e a presença de luz diminuiu aproximadamente 38% em relação ao grupo controle, sendo também estatisticamente diferente dos grupos tratados apenas com LED ou com somente o fotossensibilizador (Figura 3).

Figura 2– Ensaio de MTT para determinação da viabilidade celular de células PC3 tratadas com diferentes concentrações de Azure A, na presença ou ausência de luz LED. Os dados representam as médias de absorbância normalizadas pelo branco (DMSO). CT: grupo controle; AA5, AA10 e AA15: células tratadas com Azure A nas concentrações de 5, 10 e 15 μ M, respectivamente; CT-LED: grupo controle irradiado; AA5-LED, AA10-LED e AA15-LED: células tratadas com Azure A nas concentrações de 5, 10 e 15 μ M associadas à irradiação por LED. * $p \leq 0,05$ em comparação ao grupo controle.

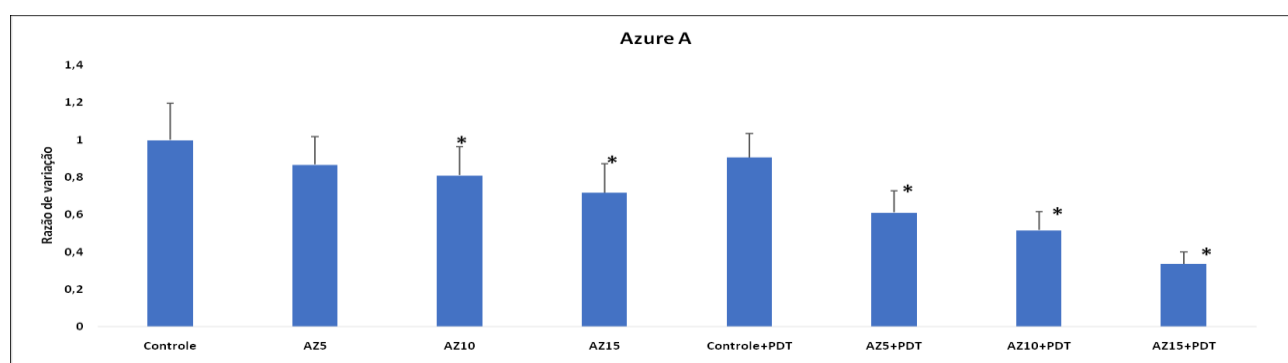
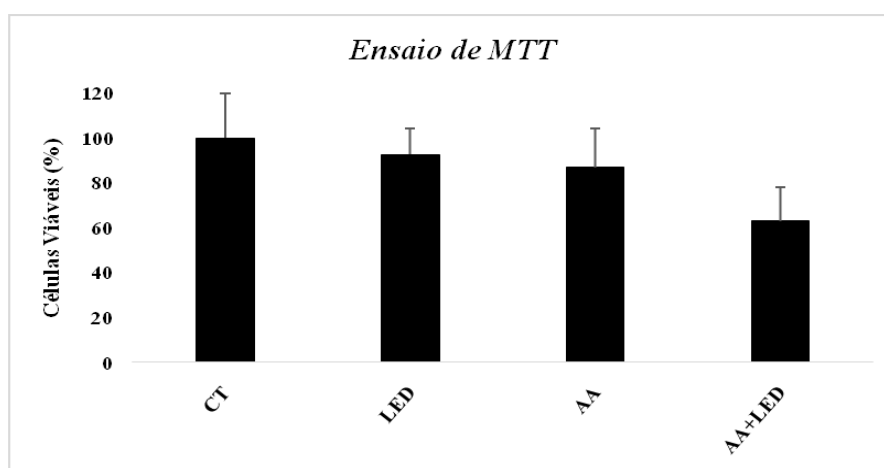


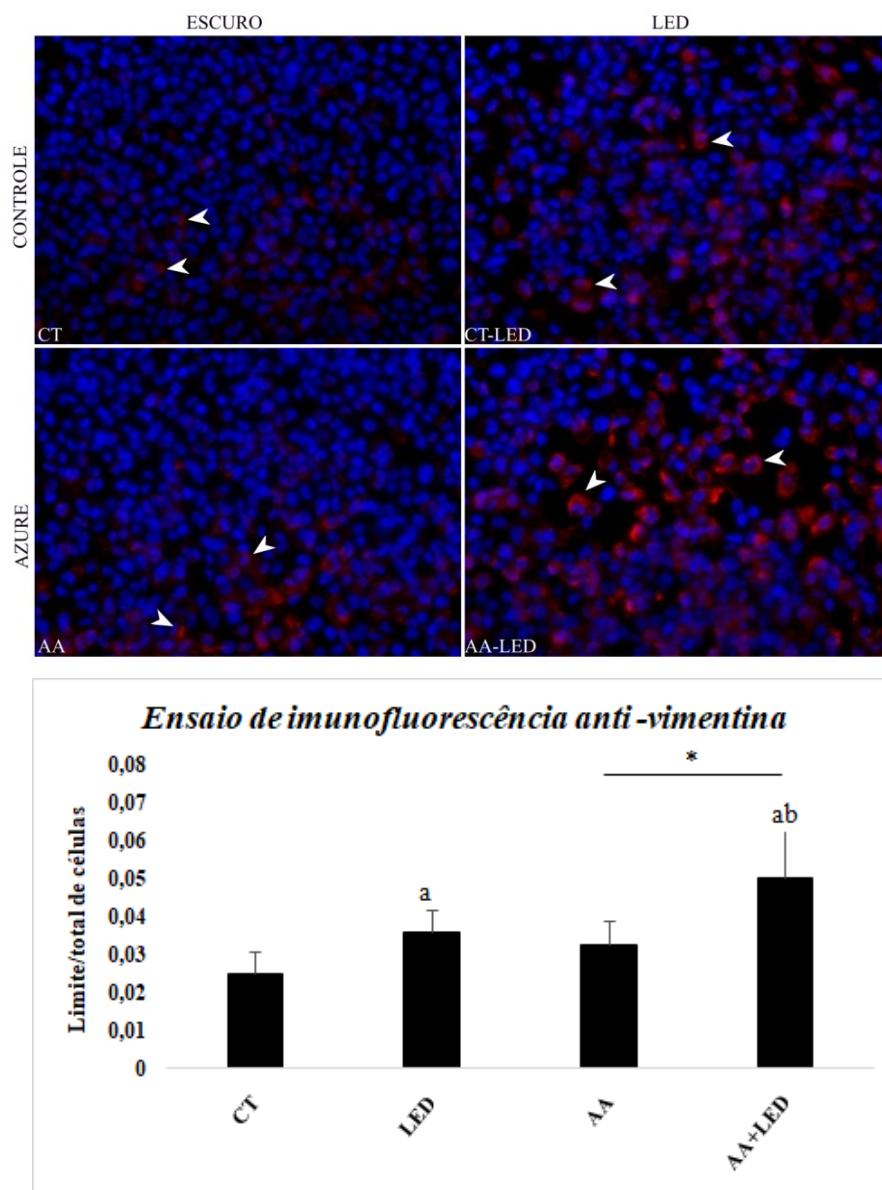
Figura 3– Gráfico do teste MTT para viabilidade celular dos grupos CT, CT-LED, AA e AA-LED com a dose definida de 5 μ M do fotossensibilizador. * Representa diferença entre os comparados, e ab representa diferença significativa entre os grupos CT e CT-LED respectivamente.



4.2 A marcação de vimentina demonstrou aumento no grupo AA-LED.

A vimentina é um marcador de células mesenquimais e é usado para avaliar transição epitélio-mesenquimal em células tumorais. Assim, foi feita a imunofluorescência anti-vimentina para analisar a agressividade das células PC3 na presença ou ausência de luz, e sendo tratadas ou não com o fotossensibilizador. É notório o aumento de 50% no grupo tratado com a terapia fotodinâmica em relação ao grupo controle, notando também que houve aumento de 31% da vimentina no grupo que foi apenas exposto à luz, em relação ao grupo controle.

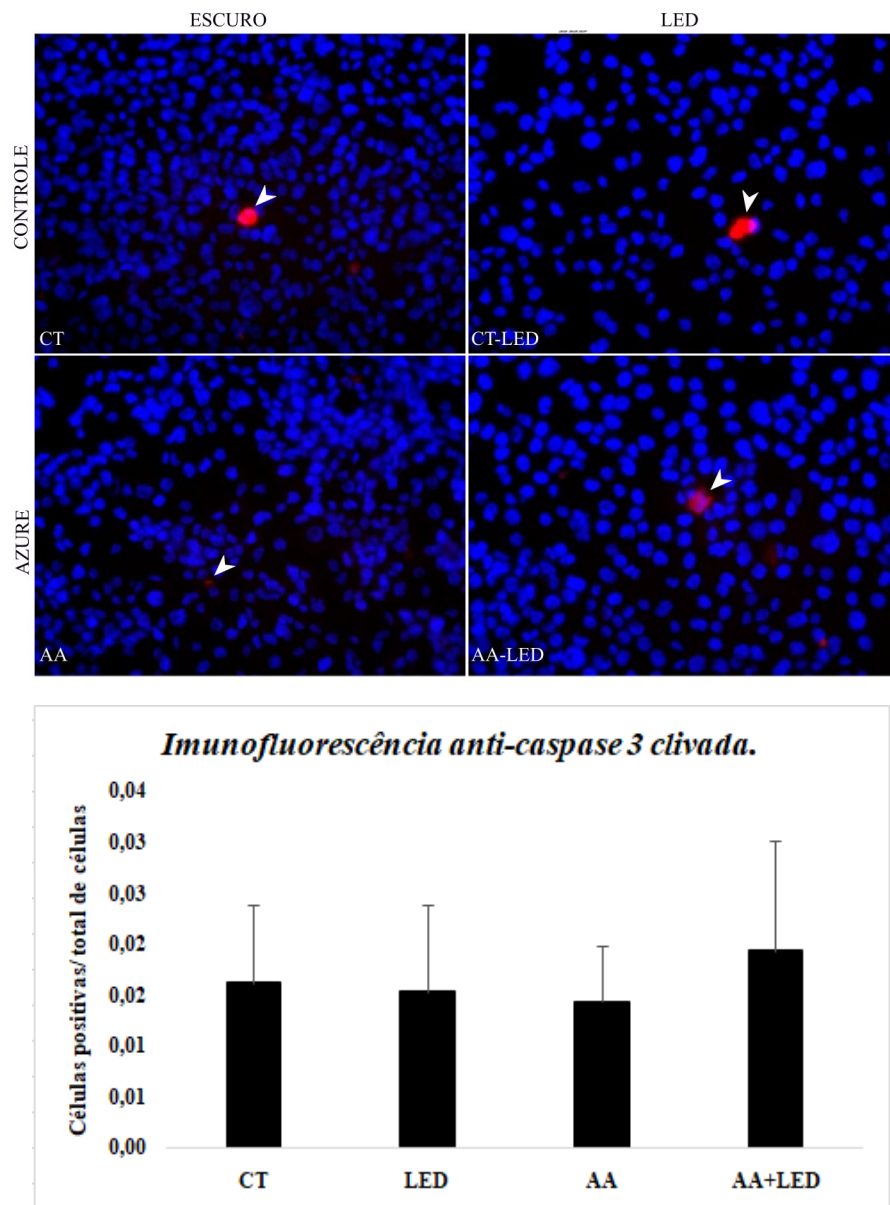
Figura 4 – Imagens representativas e gráfico obtido pela marcação de vimentina dos grupos CT, CT-LED, AA e AA-LED. As setas brancas apontam para a distribuição de vimentina no citoplasma das células cuja fluorescência é vermelha. Núcleos estão marcados em azul. *representa diferença significativa entre os comparados, e ab representa diferença significativa com os grupos CT e CT-LED respectivamente.



4.3 Terapia Fotodinâmica não causou alteração de caspase-3 clivada após 24h.

A caspase-3 é uma das caspases efetoras da via intrínseca da apoptose, sendo um importante marcador para esse tipo de morte celular. Para avaliar se a terapia fotodinâmica reduz a viabilidade das células tumorais da próstata por intermédio da apoptose, foi realizado imunofluorescência para caspase-3 clivada. A análise demonstrou que, embora não haja diferença estatística entre os grupos, foi notado que a apoptose tende a ser maior no grupo AA-LED.

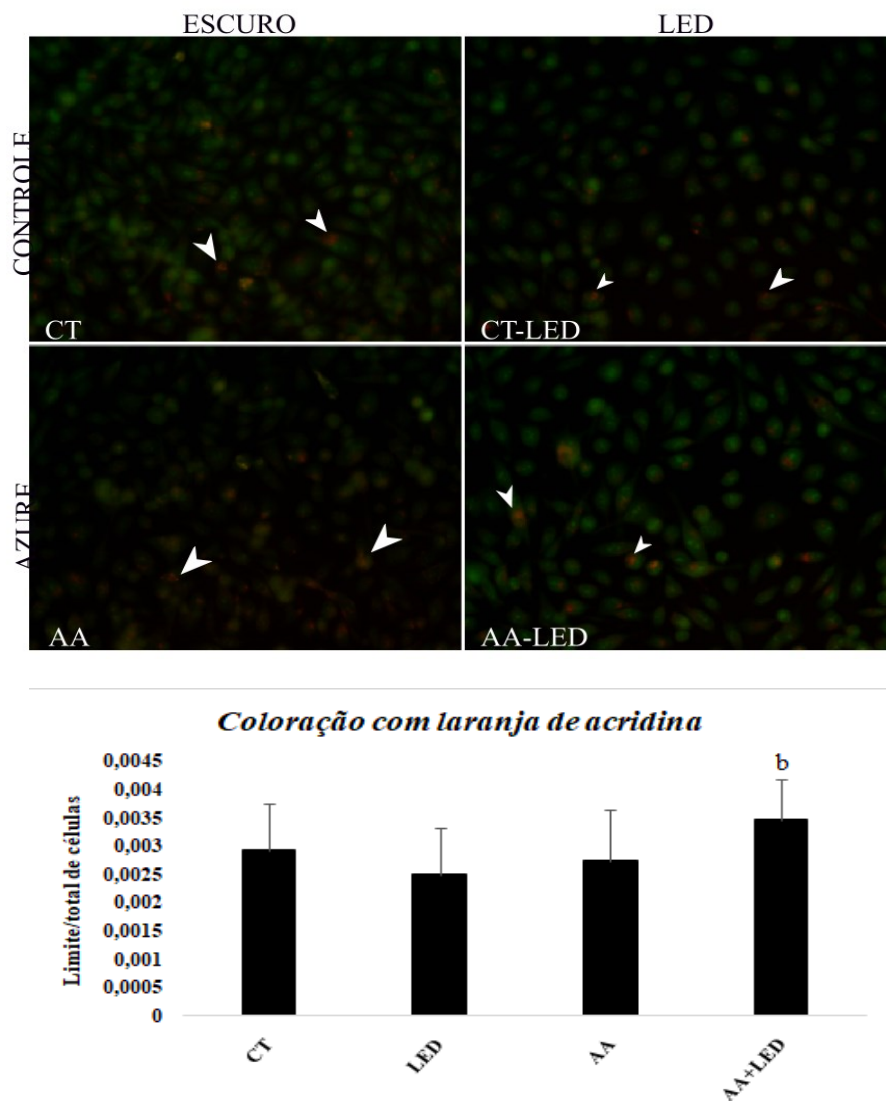
Figura 5- Imagens representativas e gráfico obtido pela marcação da caspase 3 clivada dos grupos CT, CT-LED, AA e AA-LED. As setas indicam células em apoptose.



4.4 Aumento de vesículas ácidas causada pela terapia fotodinâmica indica possível morte celular por autofagia.

O laranja de acridina é um corante que se liga nos compartimentos ácidos das células, exibe fluorescência vermelha e é usado como um indicador de autofagia. Como não houve aumento significativo de apoptose no grupo tratado com terapia fotodinâmica, foi realizada a marcação das células com o corante Laranja de acridina para verificar possível ativação de outras vias de morte celular. A análise demonstrou que houve aumento de 36% na marcação do grupo tratado no grupo AA-LED em relação ao grupo controle na presença de luz, indicando que a terapia desencadeou autofagia nas células tumorais.

Figura 6- Imagens representativas e gráfico obtido pela marcação de laranja de acridina dos grupos CT, CT-LED, AA e AA-LED. As setas brancas apontam para a distribuição de laranja de acridina no citoplasma das células cuja fluorescência é vermelha. Núcleos estão marcados verde. b representa diferença significativa com o grupo CT-LED.



5 DISCUSSÃO

Essa investigação demonstrou, com uso de MTT, uma redução na viabilidade das células PC3 no grupo AA-LED, indicando que a terapia fotodinâmica foi capaz de controlar o crescimento das células tumorais de próstata humana. Embora a terapia fotodinâmica já venha demonstrando eficiência em células tumorais de próstata *in vivo* e *in vitro* com o uso de diferentes classes de fotossensibilizadores (Mesquita *et al.*, 2021; Kocaagaet *al.*, 2023; Azadet *al.*, 2025), em se tratando do Azure A, esse é o primeiro estudo que avaliou o seu uso como fotossensibilizador na terapia fotodinâmica em células tumorais de próstata. Ainda, é preciso notar que observamos que o Azure A teve efeito citotóxico escuro na concentração acima de 5 μM . De Souza et al (2021) também demonstraram efeito citotóxico do Azure A em concentração de 40 μM em tempo superior a 90 minutos. Dados semelhantes também foram encontrados por nosso grupo de pesquisa com o uso do azul de metileno que teve efeito citotóxico escuro em células PC3 humanas (Gomes *et al.*, 2023).

A vimentina é um marcador típico de malignidade tumoral pois é expressa no citoesqueleto, e é bastante comum na transição epitélio mesenquimal das células de câncer, o que é importante pois nessa transição as células ganham mobilidade e geralmente se tornam mais resistentes e agressivas (Parvanian; Eriksson, 2025). Neste estudo, a imunofluorescência para vimentina demonstrou aumento no grupo AA-LED, contudo, esse resultado não deve ser interpretado isoladamente como indicativo de aumento da malignidade celular, uma vez que a expressão de vimentina pode estar associada a diferentes respostas celulares ao estresse, podendo estar associado a outro tipo de comportamento celular (AUGUSTO, 2022). Ainda, a maior intensidade de fluorescência da vimentina pode ser um reflexo de uma reorganização dela em agregados no citoplasma e não necessariamente um aumento na sua expressão.

Genez (2022) obtiveram resultados semelhantes aos nosso de vimentinafosforilada em células de melanoma, e discutem que o aumento da vimentina pode ter sido causado por uma resposta celular ao estresse causado pela própria terapia fotodinâmica, ou até remodelação do citoesqueleto para tentar reparar parte do dano causado nas células que se mantêm vivas após a terapia. Dessa forma, considerando que o Azure A associado à terapia fotodinâmica promove a formação de oxigênio singlete e o consequente estresse oxidativo, sugere-se que o aumento da expressão de vimentina observado neste estudo possa estar relacionado a mecanismos adaptativos das células remanescentes frente ao dano celular induzido pelo tratamento. Nesse sentido, estudos mostram que os filamentos intermediários do citoesqueleto são extremamente sensíveis ao estresse oxidativo e sob condições de estresse, a vimentina sofre reorganização com intenso agrupamento e agregação justanuclear (Mónicoet *al.*, 2019). O significado biológico dessa reorganização citoesquelética ainda é incerta, mas acredita-se que possa atuar como mediadora do dano celular

como também como um mecanismo de defesa. Assim, nossos dados apontam a resposta da vimentina como um indicador do estresse oxidativo e dano celular, e destaca a terapia fotodinâmica baseada no Azure A como um aliado no controle de células tumorais de próstata.

Como a terapia fotodinâmica foi capaz de reduzir a viabilidade das células PC3, decidimos avaliar a morte celular para entender melhor qual via é desencadeada pelo Azure A nessa terapia. Assim, foi analisado principalmente o estímulo a apoptose, que é desencadeada por meio da ativação da cascata de ativação de caspases, sendo a caspase-3 a que tem papel executor fundamental dessa via (Kessel *et al.*, 2006). No presente estudo, não foi observado aumento significativo de apoptose no grupo submetido à terapia fotodinâmica, sugerindo que essa via de morte celular não foi o principal mecanismo responsável pela redução da viabilidade celular observada. Dos Santos *et al* (2017) também demonstraram que a apoptose não é a principal via de morte celular desencadeada pela terapia fotodinâmica baseada no azul de metileno em células tumorais de mama. Dados da literatura de outros estudos com terapia fotodinâmica mostram que as espécies reativas podem burlar mecanismos de resistência canônicos, ativando outros tipos de morte celular além da apoptose, podendo até em alguns casos obter melhor resultado imunológico antitumoral e aumentar a eficiência do tratamento. Dessa forma, os resultados obtidos sugerem a possível participação de vias alternativas de morte celular regulada além da apoptose, sendo necessários estudos complementares para a elucidação dos mecanismos envolvidos na resposta ao tratamento (Matsuyama *et al.*, 2022).

O laranja de acridina é um corante catiônico usado para marcar compartimentos ácidos nas células, tais como lisossomos e autolisossomos, que fluorescem em laranja/vermelho na microscopia de fluorescência (Moriyama *et al.*, 1982). Com base nessa característica, esse corante também tem sido usado como marcador de autofagia em células que não são naturalmente fagocíticas (Thomé *et al.*, 2016). Ashrafizadeh *et al.* (2022) demonstraram aumento da marcação de vesículas ácidas em células PC3 submetidas a diferentes tratamentos, associando esse fenômeno à ativação da autofagia. Os nossos dados mostram que houve aumento de vesículas ácidas marcadas com laranja de acridina no grupo tratado com a terapia fotodinâmica. Gomes *et al.* (2023) também observaram aumento de vesículas ácidas e da expressão de LC3 em células PC3 submetidas à terapia fotodinâmica mediada por azul de metileno. Além disso, os autores não identificaram aumento significativo de marcadores apoptóticos, mas verificaram maior expressão de p-MLKL, marcador associado à necroptose. Em conjunto, esses achados sugerem que a redução da viabilidade celular observada no presente estudo pode estar relacionada não apenas à apoptose, mas também à ativação de mecanismos autofágicos e de vias alternativas de morte celular regulada, como a necroptose.

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a terapia fotodinâmica mediada por Azure A foi capaz de reduzir a viabilidade de células tumorais de próstata humana da linhagem PC3, além de promover aumento da formação de vesículas ácidas e alterações na expressão de vimentina. Os resultados obtidos sugerem que a redução da viabilidade celular não está associada predominantemente à apoptose, indicando o possível envolvimento de outras vias de morte celular regulada, como autofagia e necroptose. Ainda, as células que se mantêm vivas apresentam resposta ao estresse celular com a reorganização do citoesqueleto. Isso indica que a terapia, além de desencadear morte celular imediata, também causa distúrbios nas células remanescentes que poderão entrar em via de morte celular em um segundo momento. Dessa forma, os achados reforçam o potencial uso do Azure A como fotossensibilizador para terapia fotodinâmica, de maneira inédita o seu uso para o controle do câncer de próstata, e demonstram a necessidade de estudos complementares para elucidar os mecanismos moleculares envolvidos na resposta celular observada.

REFERÊNCIAS

AEBISHER, David; CZECH, Sara; DYNAROWICZ, Klaudia; *et al.* Photodynamic Therapy: Past, Current, and Future. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 20, p. 11325, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms252011325>.

AEBISHER, David; WOŹNICKI, Pawel; BARTUSIK-AEBISHER, Dorota; Photodynamic Therapy and Adaptive Immunity Induced by Reactive Oxygen Species: Recent Reports. **Cancers (Basel)**. 2024 Feb 28;16(5):967. DOI: [10.3390/cancers16050967](https://doi.org/10.3390/cancers16050967).

ASHRAFIZADEH, Milad; PASKEH, Mahshid; MIRZAEI, Sepideh; *et al.* Therapeutic targeting of autophagy in prostate cancer: preclinical and clinical evidence for therapeutic response. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 41, p. 105, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02293-6>.

AZAD, Abul; DINAKARAN, Deepak; MOORE, Ronald; Radiation activated photodynamic therapy (radioPDT) induces lipid peroxidation and vascular mediated tumor regression of prostate cancer. **Sci Rep** 15, 29299 (2025). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-14652-2>.

BAPTISTA, Maurício; CADET, Jean; DI MASCIO, Paolo; *et al.* Type I and Type II Photosensitized Oxidation Reactions: Guidelines and Mechanistic Pathways. **Photochemistry and Photobiology**, v. 93, n. 4, p. 912-919, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/php.12716>.

BODA, Sivajyothi; JAIN, Jaya; JAIN, Ashutosh. Prostate and Precancer Cancer: Correlation Between Insulin Levels and Androgens. **CME Journal Geriatric Medicine**, v. 16, n. 2, p. 130-135, 2024. DOI: <https://doi.org/10.61336/cmejgm/24-02-22>.

CHILAKAMARTHI, Ushasri; GIRIBABU, Lingamallu. Photodynamic Therapy: Past, Present and Future. **Chemical Record**, v. 17, n. 8, p. 775-802, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/tcr.201600121>.

CHOU, Wenxin; SUN, Tianzhen; PENG, Nian; *et al.* Photodynamic Therapy-Induced Anti-Tumor Immunity: Influence Factors and Synergistic Enhancement Strategies. **Pharmaceutics**, v. 15, n. 11, p. 2617, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112617>.

DĄBROWSKI, Janusz; ARNAUT, Luis. Photodynamic therapy (PDT) of cancer: from local to systemic treatment. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, n. 10, p. 1765-1780, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5PP00132C>.

DA SILVA, Ana Claudia; DE FREITAS, Camila; CALORI, Italo; *et al.* Liposomal co-formulation of Azure A and rose bengal decylester as a multi-cellular target approach for photodynamic therapy of colorectal cancer. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 117, p. 108018, mar. 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2026.108018>.

DE MARZO, Angelo; NELSON, William; MEEKER, Alan; COFFEY, Donald. Stemcell features of benign and malignant prostate epithelial cells. **The Journal of Urology**, v. 160, n. 6 (pt 2), p. 2381-2392, 1998. DOI: 10.1097/00005392-199812020-00004.

DE SOUZA, Byanca; KLOSOWSKI, Eduardo; MITO, Márcio; *et al.* The photosensitizer A disrupts mitochondrial bioenergetics through intrinsic and photodynamic effects. **Toxicology**, v. 455, p. 152766, maio 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152766>.

DOS SANTOS, Ancély; TERRA, Leticia; WAILEMANN, Rosangela; *et al.* Methylene blue photodynamic therapy induces selective and massive cell death in human breast cancer cells. **BMC Cancer** 17, 194 (2017). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-017-3179-7>.

DOUGHERTY, Thomas; GOMER, Charles; HENDERSON, Barbara; *et al.* Photodynamic therapy. **J Natl Cancer Inst.** 1998 Jun 17;90(12):889-905. DOI: 10.1093/jnci/90.12.889.

FAN, Zhen; DAI, Xuemei; LU, Yuefeng; *et al.* Enhancing targeted tumor treatment by near IR light-activatable photodynamic-photothermal synergistic therapy. **Mol Pharm.** 2014. 7;11(4):1109-16. DOI: 10.1021/mp4002816.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>.

GENEZ, Lucas. Relação da vimentina e autofagia com a morte de células Melan-A e B16-F10 tratadas com RBAC-PDT. 51f. Dissertação Programa de Pós-Graduação em Ciências (Bioquímica). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2015. <https://hdl.handle.net/1884/60672>.

GOMES, Laura; CUNHA, Amanda; PEIXOTO, Luiz; *et al.* Photodynamic therapy reduces cell viability, migration and triggers necroptosis in prostate tumor cells. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 22, n. 6, p. 1341-1356, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00382-9>.

GOOGLE. Zonas da próstata: pesquisa de imagens. Mountain View: **Google**, [2026]. Disponível em: <https://www.google.com/search?q=zonas+da+prostata>. Acesso em: 8 ago. 2026.

GORMAN, Stephen; BELL, Andrea; GRIFFITHS, John; *et al.* The synthesis and properties of unsymmetrical 3,7-diaminophenothiazin-5-ium iodidesalts: Potential photosensitizers for photodynamic therapy. **Dyes and Pigments**, v. 71, n. 2, p. 153-160, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.06.011>.

HAYASHIDA, Yushi; IKEDA, Yuka; SAWADA, Koichi; *et al.* Invention of a novel photodynamic therapy for tumors using a photosensitizing PI3K inhibitor. **Int J Cancer**. 2016. 1;139(3):700-11. DOI: 10.1002/ijc.30097.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (Brasil). Estimativa 2026: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2026. 168 p. Disponível em: https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/17914/1/Estima2026_completo%20%281%29.pdf. Acesso em: 20 jul 2026.

KESSEL, David. Death pathways associated with photodynamic therapy. **Medical Laser Application**, v. 21, n. 4, p. 219–224, nov. 2006. DOI: 10.1111/php.13436.

KOCAAĞA, Nagihan; TÜRKOL, Ayşegül ; BILGIN, Mehmet; ERDOĞMUŞ, Ali. The synthesis of a novel water-soluble zinc (II) phthalocyanine based photosensitizers and exploring of photodynamic therapy activities on the PC3 cancer cell line. **Photochem Photobiol Sci.** 2023 Sep;22(9):2037-2053. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00428-y>.

MALLIDI, Srivalleesha; SPRING, Bryan; HASAN, Tayyaba. Optical imaging, photodynamic therapy and optically-triggered combination treatments. **Cancer Journal**, v. 21, n. 3, p. 194-205, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1097/PPO.000000000000117>.

MATSUYAMA, Yumi; NAKAMURA, Tomoki; YOSHIDA Keisuke; *et al.* Radiodynamic therapy with acridine orange local administration as a new treatment option for primary and secondary bone tumours. **Bone and Joint Research**, v. 11, n. 10, p. 715–722, 1 out. 2022. DOI: 10.1302/2046-3758.1110.BJR-2022-0105.R2.

MCNEAL, John. Anatomy of the prostate: an historical survey of divergent views. **The Prostate**, v. 1, n. 1, p. 3-13, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1002/pros.2990010103>.

MCNEAL, John; *et al.* Zonal Distribution of Prostatic Adenocarcinoma. **The American Journal of Surgical Pathology**, v. 12, n. 12, p. 897–906, dez. 1988.

MESQUITA, Mariana; FERREIRA, Ana Rita; NEVES, Maria; *et al.* Photodynamic therapy of prostate cancer using porphyrinic formulations. **J Photochem Photobiol B.** 2021 Oct;223:112301. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2021.112301>.

MOKOENA, Dimakatso; GEORGE, Blassan; ABRAHAMSE, Heidi. Photodynamic Therapy Induced Cell Death Mechanisms in Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 10506, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms221910506>.

MÓNICO, Andreia; DUARTE, Sofia; PAJARES, María; PÉREZ-SALA, Dolores. Vimentin disruption by lipoxidation and electrophiles: Role of the cysteine residue and filament dynamics. **Redox Biology** 2019 May;23:101098. doi: 10.1016/j.redox.2019.101098.

MOREIRA, Leonardo; LYON, Juliana; TURSI, Suellen; *et al.* Azure dyes as new photosensitizer prototype to application in photodynamic therapy against *Candida* spp. **Journal of Spectroscopy**, v. 24, n. 3-4, p. 621-628, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3233/SPE-2010-0484>.

MORIYAMA, Yoshinori ; TAKANO, Tatsuya; OHKUMA, Shoji .Acridine Orange as a fluorescent probe for lysosomal proton pump. **J Biochem.** 1982;92(4):1333-1336. DOI:<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a134053>.

NICULESCU, Adelina-Gabriela; GRUMEZESCU, Alexandru. Photodynamic Therapy—An Up-to-Date Review. **Applied Sciences**, v. 11, n. 8, p. 3626, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/app11083626>.

OLUWAJEMBOLA, Abimbola; CLEANCLAY, Wisdom; ONYIA, Abimbola; *et al.* Photosensitizers in photodynamic therapy: An advancement in cancer treatment. **Results in Chemistry**, v. 10, p. 101715, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2024.101715>.

PARVANIAN, Sepideh; ERIKSSON, John. Vimentin in the tumor microenvironment: orchestrating invasion, immunity, and metabolism. **European Journal of Cell Biology**, v. 104, n. 4, p. 151523, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2025.151523>.

QUARESMA, Douglas Pereira. **Terapia fotodinâmica de câncer: revisão bibliográfica**. Orientador: José Roberto Tozoni. 2024. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física Médica) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/44090>.

RUSSELL, Pamela; KINGSLEY, Elizabeth. Human prostate cancer cell lines. **Methods in Molecular Medicine**, v. 81, p. 21-39, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1385/1-59259-372-0:21>.

SALDUTTO, Pietro; CAVACECE, Fernando; LA ROCCA, Roberto; *et al.* The Safety and Efficacy of Vascular-Targeted Photodynamic Therapy in Low-Risk Prostate Cancer. **Cancers (Basel)**. 2025;17(4):661. Published 2025 Feb 16. DOI:10.3390/cancers17040661.

SHARMA, Mona; GUPTA, Surabhi; DHOLE, Bodhana; KUMAR, Anand. The Prostate Gland. In: KUMAR, Anand; SINGH, S. K. (org.). *Basics of Human Andrology*. Singapore: **Springer**, 2017. cap. 2, p. 17-35. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-3695-8_2.

SHARMA, Mona; GUPTA, Surabhi; DHOLE, Bodhana; KUMAR, Anand. The Prostate Gland. In: *Male Reproductive System: Anatomy, Physiology, and Disorders*. 3. ed. São Paulo: Editora Saúde, 2020. cap. 2, p. 17-34.

SUNG, Shian-Ying; CHUNG, Leland. Prostate tumor-stroma interaction: molecular mechanism and opportunities for therapeutic targeting. **Differentiation**, 2002, 70: 506-521. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-0436.2002.700905.x>.

THOMÉ, Marcos; FILIPPI-CHIELA, Eduardo; VILLODRE, Emily; *et al.* Ratiometric analysis of Acridine Orange staining in the study of acidic organelles and autophagy. **J Cell Sci.** 2016 Dec 15;129(24):4622-4632. DOI: 10.1242/jcs.195057.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **Global Cancer Observatory (GCO)**. Lyon: IARC, 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/en>. Acesso em: 17 dez. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Prostatecancermortality data**. Genebra: WHO, 2017. Disponível em: <https://platform.who.int/mortality/themes/theme-details/topics/indicator-groups/indicator-group-details/MDB/prostate-cancer>. Acesso em: 17 dez. 2025.

YAMAUCHI, Masaya; HONDA, Norihiro; HAZAMA, Hisanao; *et al.* Effective photodynamic therapy in drug-resistant prostate cancer cells utilizing a non viral anti tumor vector (a secondary publication). **Laser Ther.** 2016. 31;25(1):55-62. DOI:doi:10.5978/islm.16-OR-05.