

کاربردها و مزایای نانوساختارها در فتودینامیک درمانی

خلاصه

مقدمه: فتودینامیک درمانی (PDT) تلفیقی از نور، اکسیژن و حساسگر نوری است که ویژگی‌هایی مثل انتخاب‌پذیری بالا، حداقل تهاجم، اثرهای جانبی کم و قابل تکرار بودن دارد. فیزیک نور و مکانیسم‌های منجر به مرگ سلولی در فتودینامیک درمانی به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته و فتودینامیک درمانی به‌عنوان روشی برای درمان تومورهای سطحی و بیماری‌های غیر سرطانی در سراسر جهان تأیید شده است. اثر درمانی منتخب در بافت‌های توموری به‌وسیله ماهیت دارو و فیزیولوژی تومور فراهم می‌گردد. هدف‌دار کردن حساسگر نوری به جلوگیری از آسیب به بافت سالم و کاهش دوز دارو و نور کمک می‌کند.

بحث و نتیجه‌گیری: کاربرد نانوتکنولوژی در فتودینامیک درمانی و انتقال حساسگر نوری یک رهیافت مهم است زیرا نانوذرات کارآیی فتودینامیک درمانی را افزایش می‌دهند. پیشرفت‌های اخیر در استفاده از نانوتکنولوژی در فتودینامیک درمانی شامل ساخت نانوذرات زیست تخریب‌پذیر و غیر زیست تخریب‌پذیر به‌عنوان حساسگر نوری و یا حامل غیرفعال یا سنتز ترکیبات حساسگر نوری هدفمند برای انتقال فعال می‌باشد.

هدف این مقاله، تمرکز بر مقالات اخیر و مهم در زمینه کاربرد نانوتکنولوژی در افزایش کارایی فتودینامیک درمانی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فتودینامیک درمانی، نانوذرات، حساسگر نوری، انتقال هدفمند

خاطره خرسندی^۱

محسن فاتح^۲

رضا حسین زاده^۳

۱. استادیار پژوهش، بیوشیمی، گروه پژوهشی لیزر پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲. مربی پژوهش، گروه پژوهشی لیزر پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳. استادیار پژوهش، بیوفیزیک، گروه پژوهشی لیزر در پزشکی مرکز تحقیقات لیزر در پزشکی جهاد دانشگاهی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

نویسنده مسئول: خاطره خرسندی، تلفن ۰۲۱۶۶۴۹۲۵۷۲
پست الکترونیک: khorsandi.kh@ut.ac.ir

مقدمه

برای انجام فتودینامیک درمانی مطمئن و مؤثر لازم است حساسگر نوری در غلظت‌های درمانی به سلول مورد نظر (سلول تومور) فرستاده شود و همچنین به مقدار بسیار کمی توسط سلول‌های غیر هدف جذب گردد و در این صورت اثرهای جانبی ناخواسته در بافت‌های سالم به حداقل می‌رسد. دو مانع اساسی برای رسیدن به این هدف وجود دارد:

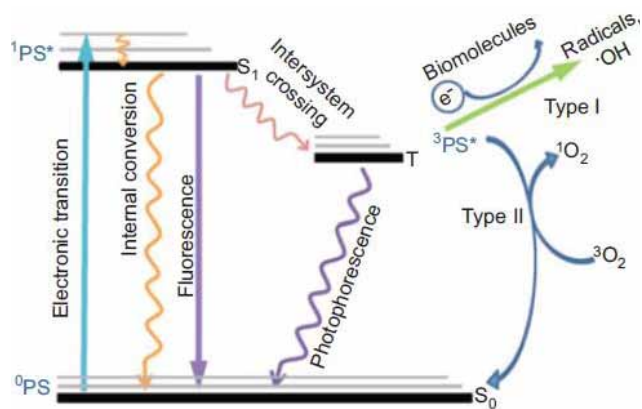
(۱) اغلب حساسگرهای نوری سیستم‌های کونژوگه π دارند که آن‌ها را بسیار مسطح می‌کند همچنین این مولکول‌ها اغلب هیدروفوب هستند و بنابراین در محیط‌های آبی تجمع‌های را ایجاد می‌نمایند. این تجمع‌ها کارایی فتودینامیک درمانی و تبدیل آن‌ها از حالت مونومر به فتواکتیو را کاهش می‌دهد. (۲) به‌طور کلی حساسگرهای نوری به‌صورت مؤثر به سلول‌های توموری منتقل و اتصال پیدا نمی‌کنند. بنابراین در انجام PDT هدفمند کردن آن‌ها به سمت سلول‌های توموری مشکل است [۳]. تلاش‌های قابل توجهی برای حل این مشکلات و طراحی سیستم‌های حاملی که بتواند حساسگرهای نوری را بدون تغییر شکل و از بین بردن فعالیت آن‌ها و بدون ایجاد اثرهای مضر در *in vivo* حمل کند، انجام گرفته است.

بسیاری از این سیستم‌های حامل به‌شکل نانومواد یا نانو ساختارهای دیگر وجود دارند. درواقع، نانو ساختارهای لیپیدی و دترجنتی (میسل‌ها و لیپوزوم‌ها) قبل از اینکه نانوتکنولوژی به‌طور تخصصی وارد این حیطه شود، در PDT مورد استفاده قرار می‌گرفتند. در طراحی سیستم‌های حامل نانوذره باید به چندین سؤال پاسخ داده شود:

(۱) آیا حساسگر باید به‌صورت غیر کوالان درون حامل قرار گیرد یا به‌صورت کوالانی به آن متصل شود؟ اگر حساسگر فقط به‌صورت غیر کوالان متصل شود، بنابراین آسان‌تر رها می‌شود و جذب آن در سلول بهتر انجام می‌گیرد. البته ممکن است حساسگر قبل از ورود به جایگاه مورد نظر و تجمع در آن به‌وسیله اثر افزایش نفوذپذیری و نگهداری (Enhanced Permeability and Retention (EPR در سرم آزاد شود.

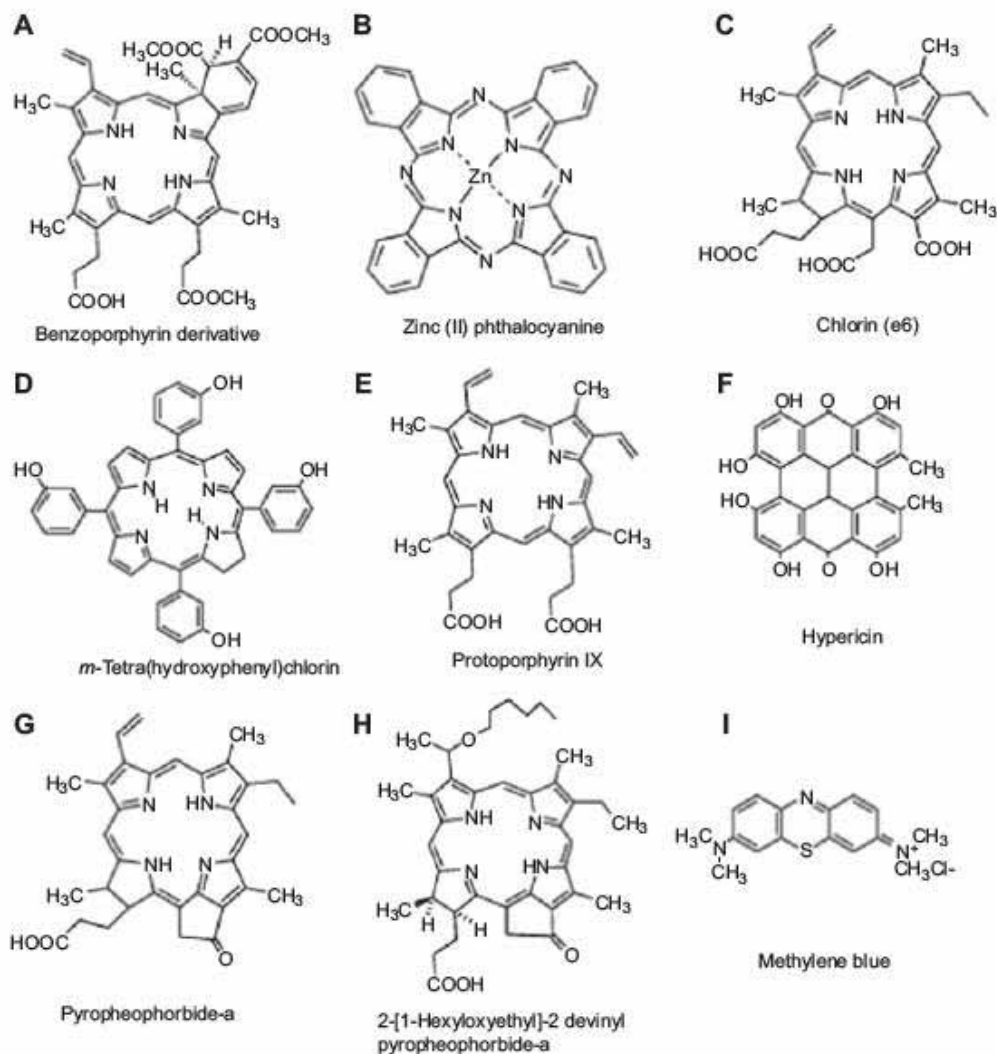
(۲) حساسگر باید زیست‌تخریب‌پذیر و یا غیر تخریب‌پذیر باشد؟ اگر زیست‌تخریب‌پذیر باشد به ساختارهای لیپیدی یا پلیمری محدود می‌شود. نانوذرات غیر زیست‌تخریب‌پذیر نیز برای مدت طولانی در بدن باقی می‌مانند که می‌تواند منجر به ایجاد سمیت توسط سیستم‌های حامل گردد [۴]. قسمت زیادی از نانوذرات برای حمل کردن حساسگرهای نوری شناخته‌شده‌ای مثل تتراپیرول‌ها، رنگ‌های فنوتیوزینیوم یا پرلین کوئینون مورد استفاده قرار گرفته‌اند (شکل ۲ [۴]). علاوه بر این نمونه‌های دیگری نیز وجود دارد که نانومواد به‌عنوان حساسگر نوری عمل می‌کنند. برای این منظور نانومواد خودشان قادر به جذب نور و تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند. نمونه‌هایی از این نانومواد شامل فولرن‌ها، اکسیدزینک (ZnO)، تیتانیوم دی‌اکسید (TiO_2) و کوانتوم‌دات‌ها می‌باشند [۵].

فتودینامیک درمانی یک روش نوظهور برای درمان انواعی از بیماری‌ها می‌باشد که سلول‌های آسیب‌دیده (مثل سلول‌های سرطانی یا سلول‌های آلوده با میکروارگانیسم‌ها و ...) را می‌کشد یا بافت‌های ناخواسته (برای مثال پلاک‌های آترواسکلروتیک در شریان‌ها) را از بین می‌برد. اصول فتودینامیک بر پایه تحریک یک ترکیب حساسگر نوری غیرسمی به‌وسیله نور غیرمضر برای تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد که سلول‌ها را از بین می‌برد. یک حساسگر نوری مناسب دارای ویژگی‌هایی مانند عدم سمیت، برداشت انتخابی و نگهداری توسط بافت تومور، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن با جذب طول موج‌هایی که به‌راحتی بتوانند از بافت عبور کنند، می‌باشد [۱]. یک حساسگر نوری مناسب قادر به واکنش با اکسیژن مولکولی اطراف توسط دو مسیر متمایز است. مسیر انتقال الکترون نوع اول شامل انتقال به یا انتقال از حساسگر نوری است که می‌تواند منجر به تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروکسیل و هیدرو پراکسید شود. مسیر نوع دوم بر این اصل استوار است که مولکول اکسیژن در حالت پایه خود به‌صورت سه‌گانه می‌باشد و بنابراین اسپینی دارد که اجازه می‌دهد با حساسگر نوری سه‌گانه واکنش دهد و دو ترکیب در حالت تک‌گانه تولید می‌کند. مولکول اکسیژن در حالت تک‌گانه ($^1\text{O}_2$) عامل اکسیدکننده بسیار قوی است [۲]. در شکل ۱ [۴] دیاگرام ژابلونسکی و مسیرهای نوع اول و دوم نشان داده شده است.



شکل ۱: دیاگرام ژابلونسکی

درابتدا، با جذب یک فوتون در حالت پایه حساسگر نوری به حالت تک‌گانه با طول عمر کوتاه برانگیخته می‌شود. این حالت ناپایدار است و می‌تواند انرژی خود را به‌صورت فلورسانس، گرما یا ایجاد حالت سه‌گانه با طول عمر بالا از دست بدهد. حساسگر نوری در حالت سه‌گانه به‌صورت کارآمدی به‌وسیله انتقال انرژی به اکسیژن مولکولی (حالت سه‌گانه) و ایجاد حالت تک‌گانه اکسیژن (نوع ۲) یا با انتقال الکترون به مولکول‌های زیستی و ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن (نوع ۱)، خاموش می‌شود.



شکل ۲: ساختار شیمیایی حساسگرهای نوری که در ترکیب با نانوذرات به کار گرفته شده‌اند.

(A) مشتق بنزوپورفیرین، (B) زینک فتالوسیانین، (C) کلورین، (D) m-تترا (هیدروکسی فنیل) کلورین (E)، پروتوپورفیرین (F) هایپرسین، (G) پیروفتوربید-ا (H) ۲- (۱- هگزیلوزتیل)-۲ دینیل پیروفتوربید-ا، (I) متیلن بلو

۱) نانوذرات غیرفعال

۱-۱) نانوذرات زیست تخریب پذیر

۱-۱-۱) نانوذرات بر پایه لیپید

لیپیدها مولکول‌هایی دوگانه دوست با یک بخش آبدوست و یک بخش آبگریز می‌باشند. این مولکول‌ها در محیط آبی ساختارهای منظمی را شکل می‌دهند به طوری که ناحیه آبدوست به سمت آب و ناحیه آبگریز دور از آب جهت گیری می‌کنند. بسیاری از لیپیدها غشایی دولایه را شکل می‌دهند. نانوذرات بر پایه لیپید شامل میسل‌ها، لیپوزوم‌ها، لیپوپلکس‌ها و نانوامولسیون‌ها در دهه‌های اخیر به عنوان حامل حساسگرهای نوری هیدروفوب مورد استفاده قرار گرفته‌اند. در این بخش در مورد یکی از

لیپوزوم‌ها

لیپوزوم یک وزیکول کروی در اندازه نانو است که شامل دولایه فسفولیپیدی با یک فضای مائی احاطه شده می‌باشد.

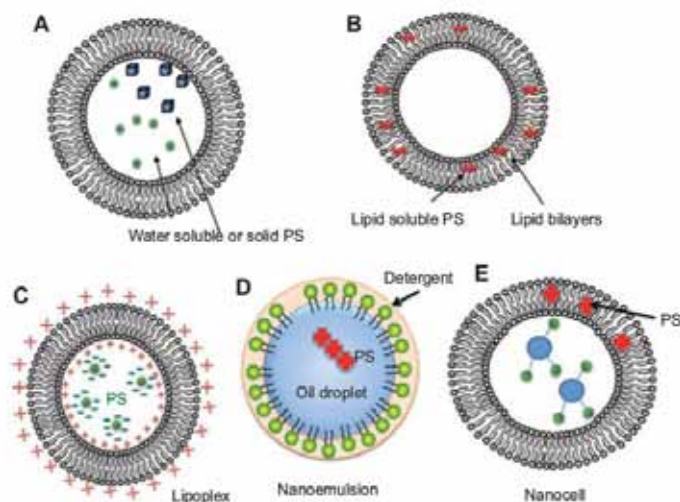
در اوایل دهه ۱۹۶۰، Alec Bangham و شاگردان متوجه شدند که فسفولیپیدها در آب به صورت وزیکول‌های چندجداره درمی‌آیند که هر جداره شامل غشایی دولایه از مولکول‌های فسفولیپیدی می‌باشد. در سال ۱۹۶۸، نام لیپوزوم برای این ساختار پیشنهاد شد. لیپوزوم‌ها می‌توانند با داروها پر شوند و برای انتقال دارو جهت درمان سرطان و بیماری‌های دیگر استفاده شوند [۶]. لیپوزوم‌ها به طور گسترده به عنوان حامل‌هایی برای حساسگرهای نوری مطالعه شده‌اند. به طور کلی ساختار آن‌ها شامل سرهای

برای افزایش پایداری و باقی ماندن لیپوزوم در درون سلول، مدیفیکاسیون‌های مختلفی می‌تواند بر روی لیپوزوم‌ها صورت بگیرد [۱۰]. با مدیفای کردن، لیپوزوم‌ها به نوعی هدفدار می‌شوند. این هدفدار شدن به دو صورت فعال و غیرفعال انجام می‌پذیرد. هدفدار کردن غیرفعال بر این اصل استوار است که لیپوزوم‌ها اجازه دارند برای زمان طولانی در گردش باشند و به صورت طبیعی به سمت سلول‌های توموری می‌روند. این فرآیند به خاطر سرعت بالای فرآیند آنژیوژنز در بافت‌های توموری است که باعث افزایش نفوذ رگی و کاهش عملکرد سیستم لنفاوی، در نهایت مانع از بازگشت ماکرومولکول‌ها به سیستم گردش خون مرکزی می‌شود [۱۱]. برای افزایش نیمه عمر لیپوزوم‌ها بایستی آن‌ها را به نوعی از دید لیپوپروتئین‌ها و فاگوسیت‌ها پنهان کرد. با همراه کردن لیپوزوم‌ها با یک گروه پلی اتیلن گلیکول (PEG) طول عمر لیپوزوم‌ها افزایش می‌یابد و بدین ترتیب لیپوزوم‌ها تثبیت می‌شوند. گروه PEG به طور معمول برای پایدار کردن لیپوزوم‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گروه به مقدار زیاد و در خلوص بالا قابل تولید می‌باشد. همچنین سمیت کمی دارد و آنتی ژنیک و غیر ایمونوژنیک است [۱۲]. برای یکسری از لیپوزوم‌ها مکانیسم‌های رهایش کنترل شده دارو طراحی شده است. در این مورد فاکتورهایی مثل گرما، نور و pH مورد استفاده قرار می‌گیرند. لیپوزوم‌های حساس به گرما با استفاده از لیپیدهای حساس به گرما و یا با پوشیده شدن با پلیمرهای حساس به گرما درست می‌شوند. زمانی که دما به بالاتر از ۴۲ درجه سانتی گراد افزایش می‌یابد، ساختار لیپوزوم‌ها از هم پاشیده می‌شوند [۱۳]. لیپوزوم‌های حساس به pH با اضافه نمودن مولکول‌های حساس به اسید به غشای لیپوزوم‌ها درست می‌شوند و طوری طراحی شده‌اند که محتویات خود را در pH بین ۵ تا ۶/۳ رها می‌سازند. مکانیسم به کاررفته در هر دو مورد بر این اصل استوار است که لیپوزوم‌ها به نوعی دارای یک "سوئیچ" می‌باشند که نفوذ آن‌ها را افزایش می‌دهد و به رهایش محتویات درون آن‌ها کمک می‌کند [۱۴]. در هدفدار کردن فعال، یک یا چند مولکول که تمایل بالایی برای مارکرهای غشایی ویژه بر سطح سلول‌های توموری دارند، به سطح لیپوزوم‌ها اتصال می‌یابند و بدین ترتیب میان کنش لیپوزوم‌ها با سلول‌های تومور افزایش پیدا می‌کند. مولکول‌ها می‌توانند به صورت کوالان از طریق یک لینکر و یا به صورت مستقیم به لنگرهای هیدروفوب در سطح دولایه‌های فسفولیپیدی متصل شوند. مولکول‌های بسیار زیادی برای این منظور استفاده می‌شوند که برای مثال می‌توان به گلیکوپروتئین‌ها، گلیکولیپیدها، پپتیدها، فاکتورهای رشد و آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اشاره نمود [۱۵].

۲-۱-۱) نانوذرات پلیمری

نانوذرات پلیمری از ترکیبات زیست تخریب پذیر درست شده‌اند که می‌توانند بر پایه پلیمرهای طبیعی مثل کیتوسان یا آلژینات یا پلیمرهای سنتتیک مثل پلی لاکتید (PLA)، پلی گلی کولید (PGA) یا کوپلیمری از هردوی آن‌ها یعنی پلی (دی، ال-لاکتید-کو-گلی کولید) (PLGA)

آبدوست و دم‌های آبگریز است به طوری که می‌توانند دو داروی آبدوست و آبگریز را حمل کنند. دو لایه لیپیدی اغلب شامل کلسترول است که برای کنترل فرآیندهای غشایی، ثبات غشاء و تعاملات پروتئین - غشاء به کار می‌رود [۷]. حساسگر نوری می‌تواند بسته به دو رفتار متفاوت چربی دوستی و یا آبدوستی در درون لیپوزوم قرار بگیرد. حساسگرهای نوری که در آب حل می‌شوند و یا شامل بخش‌هایی هستند که قابل حل در آب است، در درون فضای آبی لیپوزوم قرار می‌گیرند (شکل ۳ [۴]) و حساسگرهای نوری هیدروفوب که در آب حل نمی‌شوند در درون زنجیره‌های اسیدهای چرب در داخل لیپوزوم قرار می‌گیرند (شکل ۳ [۴]). زمانی که یک حساسگر در درون لیپوزوم قرار می‌گیرد از دو مسیر اصلی به سلول انتقال می‌یابد، اول لیپوزوم می‌تواند با غشای سلولی اتصال پیدا کند و محتویات خود را به درون سلول بریزد و دوم لیپوزوم می‌تواند توسط فاگوسیت‌ها بلعیده شود و پس از هضم توسط اندوزوم‌ها و یا لیزوزوم‌ها داروی فعال را به درون سلول رها کند [۸]. مطالعات بسیار زیادی نشان داده است که لیپوزوم‌ها می‌توانند حساسگر نوری را انتقال بدهند و کارآیی PDT را افزایش دهند. افزایش کارآیی PDT می‌تواند به نقش لیپوزوم در کاهش تجمع حساسگرهای نوری مرتبط باشد. برای مثال زمانی که حساسگر نوری هیدروفوب مثل هیپوسرلین (HA) درون لیپوزوم قرار می‌گیرد، به صورت مونومر باقی می‌ماند ولی وقتی در DMSO سوسپانسیون می‌شود، تجمع‌اتی را شکل می‌دهد. همچنین HA لیپوزومی بالاترین سطح را در سلول‌های توموری نسبت به حالت سوسپانسیون در سالین دارد [۹].



شکل ۳: نانوذرات لیپیدی. A) لیپوزوم حاوی حساسگر نوری آبدوست در محیط آبی داخل لیپوزوم، B) لیپوزوم حاوی حساسگر نوری چربی دوست در بخش هیدروفوب دولایه لیپیدی، C) لیپوپلکس از لیپیدهای با بار مثبت و حاوی حساسگرهای نوری با بار منفی تشکیل شده است، D) نانوامولسیون از قطرات روغن در اندازه نانو تشکیل شده است و حاوی حساسگرهای نوری هیدروفوب پوشیده شده با دترجنت‌های طبیعی می‌باشد، E) نانوسل‌ها از حساسگرهای نوری هیدروفوب همراه با مولکول‌های هدف کپسوله شده در درون خود مثل آنتی‌بادی‌ها تشکیل شده‌اند.

باشند [۱۶].

پلی (دی، ال-لاکتید-کو-گلی کولید) یا Poly (D,L-lactide-co-glycolide) PLGA

PLGA پلیمری متشکل از مخلوط مونومرهای لاکتیک اسید و گلیکولیک اسید می باشد که به خاطر فرمولاسیون آسان و زیست تخریب پذیر بودن به طور وسیعی به عنوان حامل دارو مورد استفاده قرار می گیرد [۱۷] (شکل ۴ [۴]). حساسگرهای نوری مثل پورفیرین، کلورین، هایپرسیین و فتالوسیانیین (شکل ۲ [۴]) به درون نانوذرات PLGA لود شده و مورد بررسی قرار گرفته اند. مطالعات نشان داده است که هایپرسیین وارد شده به نانوذرات PLGA فعالیت نوری بالاتری نسبت به داروی تنها در سلول های سرطانی تخمدان NuTu-19 نشان می دهد [۱۸]. اثر مشابه در مطالعه دیگری مشاهده شد و کارایی PDT در meso-THPP (شکل ۲ [۴]) وارد شده به نانوذرات نسبت به داروی تنها در سلول های توموری EMT-6 افزایش پیدا کرده بود [۱۹]. همچنین زینک فتالوسیانیین به درون نانوذرات PLGA وارد شده و در PDT مورد استفاده قرار گرفته است [۲۰].

مطالعات بسیار زیادی برای مشخص کردن ارتباط بین کارایی PDT به خصوصیات PLGA مثل اندازه و نسبت مولی کوپلیمرها صورت گرفته است. مطالعات گزارش داده اند که کارایی PDT با کاهش اندازه نانوذره افزایش می یابد [۲۱]. در مطالعه ای meso-THPP در درون سه اندازه متفاوت (۱۱۷، ۲۸۵ و ۵۹۳ نانومتر) از PLGA قرار گرفت. مشخص شد که ذرات ۱۱۷ نانومتر بالاترین سرعت رهایش دارو و بالاترین مقدار تولید ROS را نشان می دهند. افزایش کارایی PDT در حالتی که اندازه نانوذره کوچک تر است می تواند به جذب بیشتر توسط سلول و مقدار بیشتر از ذراتی که در محیط قرار می گیرد و در نهایت سرعت رهایش دارو را افزایش می دهد، مرتبط باشد. مشخص شده است که نسبت مولی پلی لاکتید (PLA) به پلی گلی کولید (PGA)، سرعت

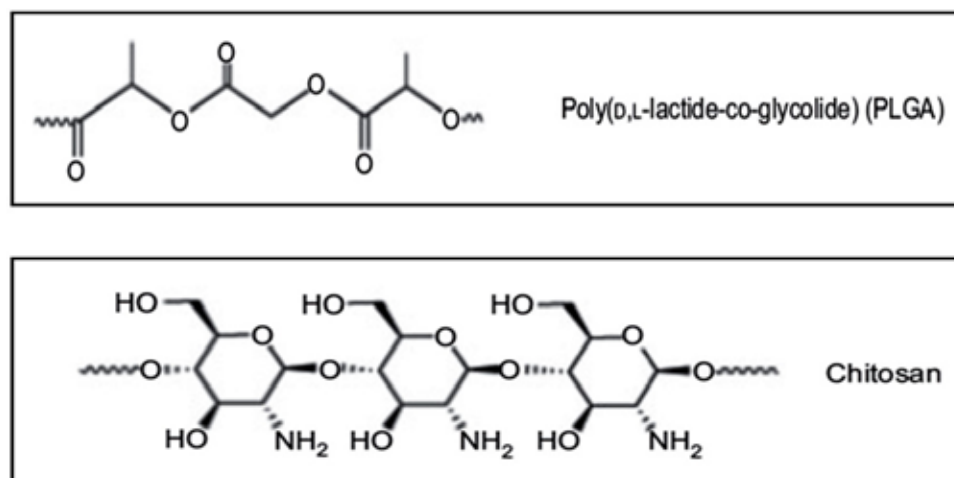
تخریب پذیری و فعالیت نوری حساسگر نوری درون آن ها را تحت تأثیر قرار می دهد [۱۹]. در مطالعه انجام شده بر روی سمیت نوری به ترتیب $PLGA\ 50:50 < PLGA\ 75:25 < PLA$ افزایش می یابد. از PLA آبدوست تر است و بنابراین سمیت نوری حساسگر نوری به چربی دوست بودن نانوذره وابسته است [۲۲].

۲-۱) نانوذرات غیر زیست تخریب پذیر نقش متفاوتی نسبت به نانوذرات زیست تخریب پذیر در PDT دارند. به دلیل اینکه آن ها تخریب نمی شوند و همچنین قادر نیستند دارو را به صورت کنترل شده به محیط آزاد کنند، در انتقال دارو مورد استفاده قرار نمی گیرند. در واقع، نانوذرات غیر زیست تخریب پذیر برای حل این مشکل که حساسگر نوری بتواند برای چندبار فعال شود و تولید گونه سمی اکسیژن کند، مورد استفاده قرار می گیرد. برای مؤثر بودن، نانوذرات باید اندازه بسیار کوچکی داشته باشند تا توزیع آن ها افزایش پیدا کند. بنابراین اندازه آن ها بایستی زیر ۱۰۰ نانومتر و ترجیحاً زیر ۵۰ نانومتر باشد.

۱-۲) نانوذرات بر پایه سرامیک

نانوذرات سرامیکی که حساسگرهای نوری را به صورت غیر کووالان نگه می دارند دارای چندین مزیت نسبت به ذرات پلیمری ارگانیک هستند از جمله این ذرات در مقابل تغییرات PH، دما، حملات میکروبی و آنزیمی مقاوم می باشند. اندازه ذره، شکل و شاخص توزیع اندازه ذره ای آن ها به راحتی در زمان ساخت قابل کنترل است. این ذرات در شرایط دمایی محیط تولید می شوند. سطح آن ها برای هدف گیری انتخابی به سادگی قابل تغییر است ضمناً این ذرات حساسگرهای نوری را از محیط اطراف به خوبی محافظت می کنند [۲۳].

اولین مقاله ای که برای نانوذرات سرامیکی جهت کیسوله کردن حساسگرهای نوری در PDT منتشر شد مربوط به استفاده نانوذرات سیلیکا



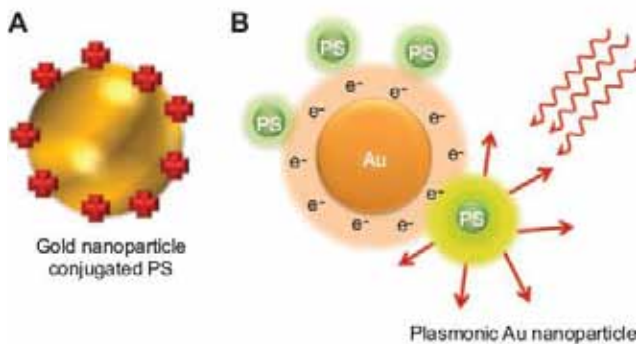
شکل ۴: ساختار شیمیایی پلیمرهای طبیعی (کیتوسان) و سنتتیک (PLGA) به کاررفته برای ساخت نانوذرات پلیمری

حل شد [۲۷].

نانوذرات طلا تقویت شده با پلاسمون

به طور کلی الکترون های آزاد در فلز به وسیله نور تحریک می شوند و همگی به نوسان درمی آیند (فرآیند تشدید پلاسمون سطحی SPR). این نوسان دسته جمعی می تواند در پراکندگی و جذب نور در شرایط تشدید و رنگ های درخشان فلز (مخصوصاً طلا و نقره) مؤثر باشد. وقتی تحریک به وسیله نور در سطح فلز انجام شود، نوسان الکترون باعث پلاریزاسیون بارهای سطح می شود. برخلاف توده فلزی، بارهای نانوذرات تحریک شده نمی توانند پخش شوند (طول موج کوتاه) و روی سطح ذره محدود می شوند که در این صورت تشدید پلاسمای سطحی موضعی (Localized Surface Plasmon Resonance-LSPR) نامیده می شود [۲۸].

این رزونانس به پارامترهایی مثل نوع فلز و ترکیب آن، شکل، اندازه و محیط آن بستگی دارد. در گزارشی از Fales و همکاران پوشش های سیلیکا برای پوشاندن حساسگر نوری متیلن بلو در پوسته اطراف نانوذره طلا به کار برده شد. با برانگیخته کردن در طول موج ۷۸۵ نانومتر، تشدید اسپکتروسکوپی رامان سطحی از رنگ رامان مشاهده شد در حالی که با برانگیختگی در طول موج ۶۳۳ نانومتر، فلورسانس متیلن بلو مشاهده شد. متیلن بلو همراه با نانوذره در مقایسه با نانوذرات بدون متیلن بلو محصول بیشتری از اکسیژن تک گانه تولید کرد. این افزایش در محصول بر روی سلول های سرطانی سینه BT549 با تابش نور لیزر اثر سمی را نشان می دهد [۲۹].



شکل ۵: نانوذرات طلا. نانوپوسته طلا دربرگیرنده حساسگر نوری (A). نانوذره پلاسمونیک (B). میدان الکتریکی سطحی ایجاد شده توسط الکترون ها، میدان نوری نزدیک به سطح را تقویت می کند و فعالیت نوری و فلورسانس حساسگر نوری متصل به آن را افزایش می دهد.

۲) نانوذرات فعال

۲-۱) نانوذرات حساسگر نوری

نقاط کوانتومی به عنوان یک پروب نوری نانوذره ای با بازده کوانتومی بالا، پایداری نوری بالا و خواص فلورسانس، مدت ها است که مورد

حاوی داروی (HPPH) یا 2-devinyl-2-(1-hexyloxyethyl) pyropheophorbide قرار گرفته در درون نانوذرات به طور فعال توسط سلول های توموری HeLa و UCI-107 جذب می شود. در این مطالعه تابش با لیزر در طول موج ۶۵۰ نانومتر منجر به مرگ قابل توجهی در سلول های توموری می شود به طوری که فقط ۱۰ درصد از سلول های HeLa زنده می مانند. این مطالعه بیان کننده پتانسیل بالای نانوذرات سرامیکی در PDT است [۲۴].

۲-۲) نانوذرات طلا

نانوذرات طلا به دو صورت در فتودینامیک درمانی مورد استفاده قرار می گیرند:

۱) انتقال دارو به همان صورتی که برای نانوذرات دیگر وجود دارد (شکل ۴) [۵A]

۲) به صورت سطحی دارای عوامل تقویت کننده پلاسمون برای قرارگیری میدان های نوری غیر خطی در نزدیک نانوذرات فلزی (شکل ۴B) [۴].

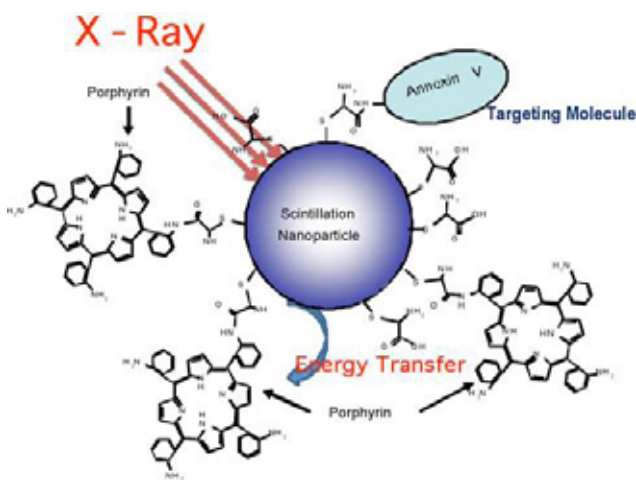
نانوذرات طلا استاندارد

همراه کردن حساسگر نوری با نانوذرات طلا و دیگر ذرات معدنی نشان دهنده ایجاد راهی جدید در درمان هدفمند و کارآمدتر سرطان است. نانوذرات طلا به وسیله اتصالات کوالان یا غیر کوالان به حساسگرهای نوری متصل می شوند. اندازه کوچک نانوذرات طلا به عنوان یک قابلیت به آن ها اجازه نفوذ کافی به بافت تومور را می دهد. علاوه بر این نانوذرات طلا از لحاظ شیمیایی خنثی هستند و همچنین سمیت بسیار پایینی دارند. نانوذرات طلا سازگاری زیستی خوب، سطح چندمنظوره، اندازه های قابل تغییر و خواص نوری منحصر به فردی دارند [۲۵].

نانوذرات طلا می توانند مدیفای شوند. برای مثال آن ها قابلیت پگیله شدن دارند. گروه PEG باعث حلالیت در آب و کاهش جذب توسط پروتئین ها می شود و علاوه بر آن سطح نانوذرات طلا یک محیط دوگانه دوست را برای داروهای PDT چربی دوست فراهم می کند [۲۶]. سیستم حمل دارو نانوذره طلا-PEG برای PDT در سلول های HeLa به کار برده شده است و مشخص شده است که رهاسازی دارو با استفاده از اتصال غیر کوالان حساسگر نوری به نانوذرات طلا افزایش می یابد [۲۷].

در مطالعه ای که توسط cheng و همکاران با به کار بردن فتالوسیانین همراه با نانوذرات طلا پگیله شده انجام شد، مشخص شد که رهاسازی و نفوذ دارو به درون بافت تومور در محیط In-Vivo به صورت کارآمدی افزایش یافت. در مطالعه ای دیگر، نانوذرات طلا پگیله شده و دارای فتالوسیانین به کار برده شد که نشان داده شد انتقال دارو افزایش پیدا کرد. علاوه بر آن فتالوسیانین همراه با نانوذره طلا در محیط آبی به خوبی

نام‌گذاری کرده‌اند. در این روش از نانوذرات لومینسانس براق همراه با حساسگر نوری مثل پورفیرین‌ها در محیط درون‌تنی برای فتودینامیک درمانی استفاده می‌شود. با تابش پرتوی یونیزان مثل اشعه X تابش لومینسانس از نانوذره ساطع می‌شود و حساسگر نوری متصل شده به سطح ذره را فعال می‌کند در نتیجه تولید اکسیژن سمی تشدید می‌شود (به علت ترکیب فتودینامیک درمانی با رادیوتراپی) (شکل ۷ [۳۲]). در این روش با به کار بردن دوزهای پایین تابش می‌توان آسیب به بافت‌های سالم اطراف بافت سرطانی را کاهش داد. وقتی که نانوذراتی مثل حساسگر نوری به مدت طولانی تری برانگیخته می‌شود [۳۲]. این روش هنوز در محیط‌های بیولوژیک به کار نرفته است.



شکل ۷: تصویر شماتیک مکانیسم عملکرد نانوذرات خودتابشی

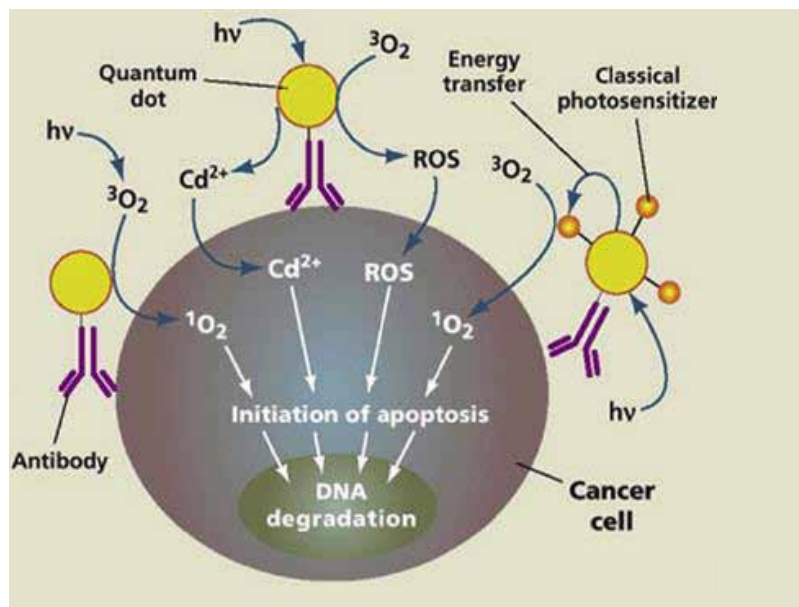
۲-۳) نانوذرات Upconversion

به‌طور کلی مواد لومینسانس با حالت تحریکی سه گانه (که تحت عنوان فسفر نامیده می‌شوند) نور با انرژی بیشتر نسبت به نور تحریکی را با مکانیسم‌های متفاوت از جمله Upconversion و جذب دوفوتونی خودبه‌خودی (Spontaneous two photon absorption) از خود نشر می‌کنند. در جذب دوفوتونی انتقال از حالت پایه به حالت تحریک شده با جذب خودبه‌خود دو فوتون صورت می‌گیرد. از لحاظ مکانیک کوانتوم این امر نیازمند ایجاد یک تراز میانی فرضی یا (Virtual intermediate estate) برای جذب فوتون اول است.

فرآیند Upconversion متکی بر جذب گسسته پی‌درپی و لومینسانس پله‌ای است درحالی‌که حداقل دو جزء ناپایدار (معمولاً یون) در فرآیند درگیر باشند اولین جزء به‌عنوان گیرنده برانگیختگی و جزء دوم به‌عنوان حالت تابش به کار می‌رود (شکل ۸ [۳۵]).

هر دوی این مکانیسم‌ها با انرژی نوری کم (طول موج بالا) ایجاد می‌شوند در نتیجه پتانسیل دسترسی به تومورها و بافت‌های عمقی تر

توجه قرار گرفته‌اند. این نانوذرات را می‌توان در آب قابل حل کرد و یا برای نواحی و بدخیمی‌های خاص به‌طور اختصاصی استفاده کرد. نقاط کوانتومی نیز می‌توانند انرژی را به اکسیژن مولکولی محیطی منتقل کنند و منجر به مرگ سلولی شوند و اخیراً هم مقالاتی در مورد پتانسیل حساسگر نوری بودن آن‌ها چاپ شده است [۳۰]. در یک بررسی انتقال انرژی دومرحله‌ای نقاط کوانتومی از جنس CdSe به حساسگر نوری متصل شده به این ذرات بیان شده است. محققان بیان نموده‌اند که نقاط کوانتومی نیمه‌هادی می‌توانند 1O_2 را بدون وجود حساسگر نوری به دلیل خواص ویژه نقاط کوانتومی تولید کنند (شکل ۶ [۳۷]). آن‌ها فرض کرده‌اند که حالت سه‌گانه (triplet) پایین‌ترین سطح انرژی نقاط کوانتومی CdSe است و انتقال انرژی به تریپلت (Triplet Energy Transfer [TET]) مسئول تولید 1O_2 از 3O_2 است ولی به‌هرصورت کارایی تولید 1O_2 در حدود ۵ درصد (با ۶۵ درصد بازده کوانتومی نشر فلورسانس) درمقایسه با حساسگر نوری تنها ۴۳ درصد باعث محدود کردن استفاده آن‌ها شده است. تلاش‌های بسیاری جهت بهبود کارایی تولید 1O_2 توسط نقاط کوانتومی صورت گرفته است. از آن جمله می‌توان به اتصال کووالان حساسگرهای نوری به نقاط کوانتومی CdSe و ZnS از طریق یک پل ارگانیک اشاره کرد. در این تلاش‌ها مشکلاتی از جمله حلالیت کم سیستم طراحی شده در آب وجود داشته است [۳۱].



شکل ۶: مکانیسم‌های احتمالی ایجاد سمیت نوری در فرآیند فتودینامیک درمانی به‌وسیله نقاط کوانتومی

۲-۲) نانوذرات خودتابشی

در مقالات اخیر، روشی جدید برای درمان سرطان از طریق ترکیب دو روش رادیوتراپی و فتودینامیک درمانی پیشنهاد داده شده است که آن را Self-Lighting Photodynamic Therapy (SLPDT) می‌نامند.

هدف می‌شوند در حالی که نانوذرات غیر تخریب‌پذیر عمدتاً از طریق رهائش گونه‌های اکسیژن فعال به سلول‌های هدف عمل می‌کنند و خود حساسگر نوری به صورت کاتالیست تازمانی که از سلول‌ها خارج نشود، قابل استفاده است. ظهور نانوذرات فعال در PDT می‌تواند باعث افزایش دسترسی به بافت‌های عمقی‌تر در این روش شود. این نانوذرات یا به صورت حساسگر نوری هستند یا اینکه تابش اشعه X و مادون قرمز نزدیک (Near Infra-Red) را تبدیل به طول موج مناسب برای حساسگر نوری متصل شده به نانوذرات می‌کنند [۳۸]. البته، مطالعات کلینیکی کمی با این نانوذرات صورت گرفته و هنوز هم سؤالاتی در مورد دوز مناسب دارو و اشعه، عوارض جانبی و مزایای کلینیکی این نانوذرات مطرح است.

در بسیاری از مقالات اشاره شده در این مقاله مروری، محققان انتقال حساسگر نوری مورد نظرشان را همراه با نانوذره در حالت منفرد حساسگر نوری مقایسه کرده‌اند و در اغلب آن‌ها بهبود قابل توجهی در جذب سلولی، انتقال به بافت تومور و افزایش پاسخ PDT برای حساسگر نوری همراه با نانوذره مشاهده شده است. در برخی موارد هم تفاوت زیادی بین حالت همراه با نانوذره و حالت بدون نانوذره مشاهده نمی‌شود. در برخی از موارد نیز حساسگر نوری در حالت تنها کارایی بالاتری نسبت به حالت همراه با نانوذره دارد. البته باید در نظر داشت بهبود فارماکوکینتیک، هدف‌گیری بهتر تومور و کاهش سمیت برای بافت نرمال موارد قابل توجهی در کنار کاهش فعالیت PDT هستند که در کاهش ضرر برای بافت نرمال قابل توجه هستند. امید می‌رود در آینده حامل‌های دارویی نانو، فارماکوکینتیک، پایداری درون سرم، توزیع زیستی، هدفمند شدن به سمت تومور و فیزیک نوری بسیاری از حساسگرهای نوری را بهبود ببخشند.

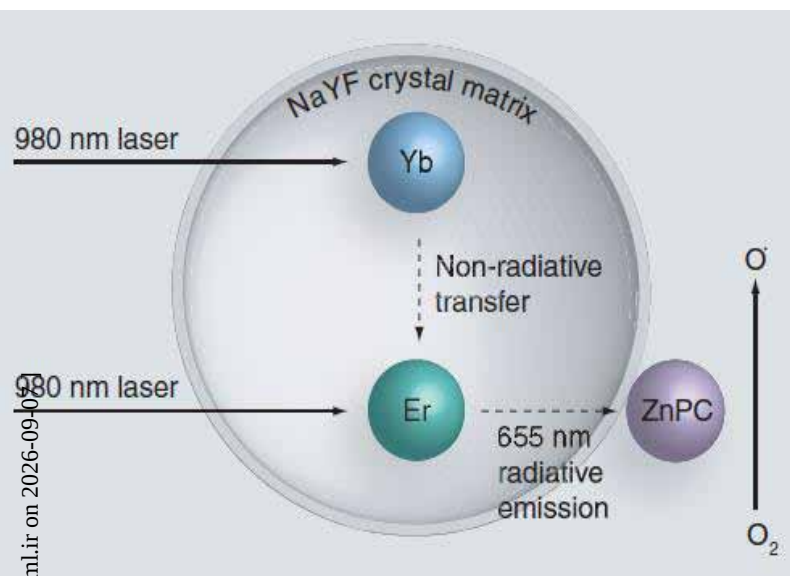
را فراهم می‌آورند و نانوذرات برانگیخته شده با هر دو روش می‌توانند به حساسگرهای نوری فعال تبدیل شوند [۳۳]. یکی از مهم‌ترین مزایای این روش دسترسی فتودینامیک درمانی به بافت تومور تا چندین سانتی‌متر زیر سطح پوست / موکوس می‌باشد [۳۴]. نانوذرات Upconverting ترکیبی در اندازه‌های نانو است که با استفاده از جذب تابش‌های NIR یا IR به وسیله یون فلزات واسطه لانتانیدها (Lanthanides) و اکتینیدها (actinides) که در داخل یک میزبان مناسب قرار داده شده‌اند، تولید فوتون‌هایی با انرژی‌های بالاتر می‌کند. این ذرات برخی اوقات تحت عنوان Up converting phosphor (UCP) نامیده می‌شوند و به عنوان ذرات سرامیکی با اندازه زیر میکرون حاوی لانتانیدها که جذب در ناحیه IR جذب و در ناحیه مرئی تابش دارند، شناخته می‌شوند [۳۵].

مواد مختلفی به عنوان پوشاننده و یا دوپانت (dopant) در نانوذرات Upconverting شناخته شده‌اند که بعضی از آن‌ها کاربردهای بالقوه در بیولوژی دارند. مواد یونی معمولاً کریستال‌های نادر خاکی مثل لانتانیدها و اکتینیدها هستند که در یک ماتریکس کریستالی مناسب دوپ شده‌اند. یکی از هسته‌های معمول برای کاربردهای بیولوژیکی، NaYF_4 است که اخیراً با $\text{Er}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ و یا $\text{TM}^{3+}/\text{Yb}^{3+}$ دوپ شده است و ذراتی در اندازه میکرومتر را تشکیل داده‌اند [۳۵]. در مطالعه‌ای برای استفاده در فتودینامیک درمانی ترکیب حساس به نور زینک فتالوسیانین (ZnPc) بر سطح این نانوذرات قرار داده شد (شکل ۸) [۳۵]. این سیستم نانوذره‌ای دارای سه عملکرد بسیار جالب توجه بود، حل کردن ZnPc غیر قطبی، کمک به تبدیل تابش‌های کم‌انرژی به انرژی‌های بالاتر مورد نیاز برای تحریک ZnPc و کمک به هدفمند کردن ZnPc به سلول‌های سرطانی هدف [۳۶].

بحث و نتیجه‌گیری

فتودینامیک درمانی با وجود سابقه نسبتاً طولانی در مقایسه با سایر روش‌ها در فاز کلینیکی به خوبی به کار گرفته نشده است ولی ظهور نانو مواد و نانو ساختارها امیدهای فراوانی را در جهت افزایش کارایی این روش درمانی ترسیم می‌کند. فتودینامیک درمانی هم‌اکنون با مشکلاتی از جمله عدم تأیید حساسگرهای نوری از طرف سازمان‌های مربوطه، آبریز بودن حساسگر نوری و عدم تجمع انتخابی مقدار کافی از حساسگر نوری در بافت‌های آسیب‌دیده روبه‌رو است. نانوذرات به خوبی می‌توانند داروهای آبریز را در خود جای دهند و با استفاده از اثر Enhanced Permeability and Retention (EPR) و یا اتصال آنتی‌بادی منوکلونال باعث افزایش تجمع حساسگر نوری در بافت هدف شوند. نانوذرات همچنین به عنوان یک جایگاه مناسب برای ترکیب روش PDT با سایر روش‌های درمانی و یا تشخیصی مانند MRI به کار گرفته می‌شوند [۳۷].

نانوذرات تخریب‌پذیر باعث رهائش مناسب حساسگر نوری در بافت‌های



شکل ۸: طرح ساختار و مکانیسم نانوذرات Upconverting این نانوذرات، نور با طول موج بالا را جذب می‌کنند و با تبدیل به نور با طول موج کوتاه و مناسب آن را به حساسگر نوری موجود در سطح نانوذره انتقال می‌دهند.

References

1. Plaetzer K, Krammer B, Berlanda J, Berr F, Kiesslich T. Photophysics and photochemistry of photodynamic therapy: fundamental aspects. *Lasers in Medical Science* 2009; 24: 259–68.
2. Palumbo G. Photodynamic therapy and cancer: a brief sightseeing tour. *Expert Opinion on Drug Delivery* 2007; 4: 131–48.
3. Allison RR, Downie GH, Cuenca R, Hu X-H, Childs CJ, Sibata CH. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2004; 1: 27–42.
4. Huang Y-Y, Sharma SK, Dai T, Chung H, Yaroslavsky A, Garcia-Diaz M. Can nanotechnology potentiate photodynamic therapy? *Nanotechnology Reviews* 2012; 1:111-46.
5. Wang S, Gao R, Zhou F, Selke M. Nanomaterials and singlet oxygen photosensitizers: potential applications in photodynamic therapy. *Journal of Materials Chemistry* 2004; 14: 487-93.
6. BANGHAM AD. A Correlation between Surface Charge and Coagulant Action of Phospholipids. *Nature* 1961; 192: 1197–8.
7. Akbarzadeh A, Rezaei-Sadabady R, Davaran S, Joo SW, Zarghami N, Hanifehpour Y. Liposome: classification, preparation, and applications. *Nanoscale Research Letters* 2013; 8: 102-11.
8. Puri A. Phototriggerable liposomes: current research and future perspectives. *Pharmaceutics* 2013; 6: 1–25.
9. Wang Z-J, He Y-Y, Huang C-G, Huang J-S, Huang Y-C, An J-Y. Pharmacokinetics, Tissue Distribution and Photodynamic Therapy Efficacy of Liposomal-Delivered Hypocrellin A, a Potential Photosensitizer for Tumor Therapy. *Photochemistry and Photobiology* 1999; 70: 773–80.
10. Lestini BJ, Sagnella SM, Xu Z, Shive MS, Richter NJ, Jayaseharan J. Surface modification of liposomes for selective cell targeting in cardiovascular drug delivery. *Journal of Controlled Release* 2002; 78: 235–47.
11. Hirsjarvi S, Passirani C, Benoit J-P. Passive and Active Tumour Targeting with Nanocarriers. *Current Drug Discovery Technologies* 2011; 8: 188–96.
12. Milla P, Dosio F, Cattel L. PEGylation of Proteins and Liposomes: a Powerful and Flexible Strategy to Improve the Drug Delivery. *Current Drug Metabolism* 2012; 13: 105–19.
13. Ta T, Porter TM. Thermosensitive liposomes for localized delivery and triggered release of chemotherapy. *Journal of Controlled Release* 2013; 169: 112–25.
14. Ferreira DDS, Lopes SC de A, Franco MS, Oliveira MC. pH-sensitive liposomes for drug delivery in cancer treatment. *Therapeutic Delivery* 2013; 4: 1099–123.
15. Sugiyama T, Asai T, Nedachi YM, Katanasaka Y, Shimizu K, Maeda N. Enhanced active targeting via cooperative binding of ligands on liposomes to target receptors. *PloS One* 2013; 8: e67550.
16. Chan JM, Valencia PM, Zhang L, Langer R, Farokhzad OC. Polymeric nanoparticles for

drug delivery. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, NJ) 2010; 624: 163–75.

17. Kumari A, Yadav SK, Yadav SC. Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces* 2010; 75: 1–18.

18. Zeisser-Labouèbe M, Lange N, Gurny R, Delie F. Hypericin-loaded nanoparticles for the photodynamic treatment of ovarian cancer. *International Journal of Pharmaceutics* 2006; 326: 174–81.

19. Konan Y. Preparation and characterization of sterile sub-200 nm meso-tetra(4-hydroxylphenyl)porphyrin-loaded nanoparticles for photodynamic therapy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2003; 55: 115–24.

20. Fadel M, Kassab K, Fadeel DA. Zinc phthalocyanine-loaded PLGA biodegradable nanoparticles for photodynamic therapy in tumor-bearing mice. *Lasers in Medical Science* 2010; 25: 283–292.

21. Vargas A, Eid M, Fanchaouy M, Gurny R, Delie F. In vivo photodynamic activity of photosensitizer-loaded nanoparticles: formulation properties, administration parameters and biological issues involved in PDT outcome. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008; 69: 43–53.

22. Lee Y-EK, Kopelman R. Polymeric nanoparticles for photodynamic therapy. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, NJ) 2011; 726: 151–78.

23. Couleaud P, Morosini V, Frochot C,

Richeter S, Raehm L, Durand J-O. Silica-based nanoparticles for photodynamic therapy applications. *Nanoscale* 2010; 2: 1083–95.

24. Roy I, Ohulchanskyy TY, Pudavar HE, Bergey EJ, Oseroff AR, Morgan J. Ceramic-based nanoparticles entrapping water-insoluble photosensitizing anticancer drugs: a novel drug-carrier system for photodynamic therapy. *Journal of the American Chemical Society* 2003; 125: 7860–5.

25. Boisselier E, Astruc D. Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. *Chemical Society Reviews* 2009; 38: 1759–82.

26. Liu Y, Shipton MK, Ryan J, Kaufman ED, Franzen S, Feldheim DL. Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers. *Analytical Chemistry* 2007; 79: 2221–9.

27. Cheng Y, Samia AC, Li J, Kenney ME, Resnick A, Burda C. Delivery and efficacy of a cancer drug as a function of the bond to the gold nanoparticle surface. *Langmuir* 2010; 26: 2248–55.

28. Csaki A, Schneider T, Wirth J, Jahr N, Steinbrück A, Stranik O. Molecular plasmonics: light meets molecules at the nanoscale. *Philosophical Transactions Series A, Mathematical, Physical, and Engineering Sciences* 2011; 369: 3483–96.

29. Fales AM, Yuan H, Vo-Dinh T. Silica-coated gold nanostars for combined surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection and singlet-oxygen generation: a potential

nanoplatfrom for theranostics. *Langmuir* 2011; 27: 12186–90.

30. Yaghini E, Seifalian AM, MacRobert AJ. Quantum dots and their potential biomedical applications in photosensitization for photodynamic therapy. *Nanomedicine* (London, England) 2009; 4: 353–63.

31. Samia ACS, Chen X, Burda C. Semiconductor quantum dots for photodynamic therapy. *Journal of the American Chemical Society* 2003; 125: 15736–7.

32. Chen W. Nanoparticle Self-Lighting Photodynamic Therapy for Cancer Treatment. *Journal of Biomedical Nanotechnology* 2008; 4: 369–76.

33. Chen G, Qiu H, Prasad PN, Chen X. Upconversion nanoparticles: design, nanochemistry, and applications in theranostics. *Chemical Reviews* 2014; 114: 5161–214.

34. Chatterjee DK, Yong Z. Upconverting nanoparticles as nanotransducers for photodynamic therapy in cancer cells. *Nanomedicine* (London, England) 2008; 3: 73–82.

35. Pires AM, Heer S, Güdel HU, Serra OA. Er, Yb doped yttrium based nanosized phosphors: particle size, “host lattice” and doping ion concentration effects on upconversion efficiency. *Journal of Fluorescence* 2006; 16: 461–8.

36. Zhang P, Steelant W, Kumar M, Scholfield M. Versatile photosensitizers for photodynamic therapy at infrared excitation. *Journal of the American Chemical Society* 2007; 129: 4526–7.

37. Chatterjee DK, Fong LS, Zhang Y. Nanoparticles in photodynamic therapy: an emerging paradigm. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008; 60: 1627–37.

38. Allison RR, Mota HC, Bagnato VS, Sibata CH. Bio-nanotechnology and photodynamic therapy--state of the art review. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2008; 5: 19–28.