

## تازه‌های درمان فتودینامیکی ضد میکروبی

### خلاصه

**مقدمه:** با افزایش خطر ناشی از ارگان‌سیم‌های مقاوم به دارو ضروری است به دنبال راهکارهایی برای جلوگیری از ظهور عفونت‌های مقاوم و غیر قابل درمان باشیم. این راهکارهای جدید باید غیر تهاجمی باشند و کارآمدتر و سریع‌تر از آنتی‌بیوتیک‌های رایج عمل کنند. یکی از رویکردهای امیدبخش، درمان فتودینامیکی ضد میکروبی است که شامل استفاده از رنگ‌ها (حساسگرهای نوری) غیر سمی است که در مجاورت نور مرئی برانگیخته می‌شوند و در حضور اکسیژن، رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌کنند. گونه‌های واکنشگر اکسیژن می‌توانند تمام کلاس‌های میکروارگانسیم‌ها (باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها) را از بین ببرند. انتخابی بودن کشتن سلول‌های میکروبی در مقابل سلول‌های نرمال میزبان اجازه می‌دهد تا این رویکرد به‌عنوان یک راهکار درمانی دیگر برای عفونت‌های موضعی خصوصاً عفونت‌های مقاوم به دارو کاربرد داشته باشد.

**یافته‌ها:** تفاوت در ساختار سلولی کلاس‌های مختلف میکروبی، در برهم‌کنش حساسگر نوری با بخش‌های مختلف سلولی تأثیرگذار است و می‌تواند بر کارایی و مکانیسم عمل درمان فتودینامیکی ضد میکروبی با عوامل بیماری‌زای مختلف اثر گذارد. همچنین باکتری‌ها مکانیسم‌هایی را دارند تا به استرس اکسیداتیو ناشی از aPDT پاسخ دهند.

**نتیجه‌گیری:** بنابراین کارایی این روش را می‌توان با استفاده از حساسگرهای نوری جدید، حاملین حساسگر نوری (که رهایش آن را بهبود می‌بخشند) و استراتژی‌های تقویت واکنش‌های فتوشیمیایی افزایش داد و سپس کاربردی بودن این روش را ارزیابی کرد.

**واژه‌های کلیدی:** درمان فتودینامیکی ضد میکروبی، مکانیسم‌های فتوشیمیایی، رهاسازی دارو، پاسخ به استرس اکسیداتیو، تقویت درمان فتودینامیکی ضد میکروبی، عفونت‌های موضعی

### نسیم کاشف<sup>۱</sup>

۱. دانشیار باکتری‌شناسی پزشکی، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی، بخش میکروبیولوژی

نویسنده‌مسئول: نسیم کاشف تلفن: ۰۲۱۶۱۱۳۵۵۸  
پست الکترونیک: kashfn@ut.ac.ir

## مقدمه

انتقال انرژی منجر به تولید اکسیژن نوزاد می‌شود. رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن نوزاد، هر دو گونه‌های بسیار واکنش‌گر اکسیژن (ROS) هستند که می‌توانند تقریباً به تمامی بیومولکول‌ها (پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک) آسیب برسانند و سلول‌ها و هر نوع میکروارگانیسمی (باکتری‌های گرم مثبت و منفی، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها) را از بین ببرند. شکل ۱، دیاگرام جابلونسکی را نشان می‌دهد که چگونگی تولید فتوشیمیایی ROS های مختلف را در حین PDT به نمایش می‌گذارد [۹].

## درمان فتودینامیکی ضد میکربی

در دهه ۱۹۹۰ پیشنهاد شد که PDT می‌تواند به‌عنوان یک عامل ضد میکربی قوی عمل کند، به شرطی که PS طوری طراحی شود که به شکل انتخابی به سلول‌های میکربی متصل شود و این اتصال به سلول‌های نرمال میزبانی اتفاق نیفتد [۱۰]. بهترین روش برای رسیدن به این هدف، داشتن PS با بار مثبت است، زیرا به‌نظر می‌رسد سلول‌های میکربی در کل، در مقایسه با سلول‌های پستانداران، دارای بار منفی هستند. بنابراین، PS کاتیونی به‌شکل انتخابی به آن‌ها متصل می‌شود. به‌علاوه، اتصال PS به سلول میکربی نسبتاً سریع است، درحالی‌که جذب PS کاتیونی توسط سلول‌های پستانداران به‌کندی اتفاق می‌افتد. بنابراین، هنگامی که زمان انکوباسیون با رنگ کوتاه باشد (چند دقیقه)، رنگ به‌شکل انتخابی عمل خواهد کرد [۱۱]. رنگ‌های فنوتیازینی (همانند متیلن‌بلو) که در آب محلول هستند و در pH فیزیولوژیک دارای بار مثبت می‌باشند، اغلب به‌عنوان PS در aPDT استفاده می‌شوند. تراپیرول‌های کاتیونی همانند پورفیرین‌ها و فتالوسیانین‌ها نیز در aPDT کاربرد دارند [۱۲].

## فواید درمان فتودینامیکی ضد میکربی

فواید aPDT به‌عنوان یک درمان ضد میکربی بالقوه بالینی، زمانی مشخص شد که محققان نشان دادند aPDT قادر است سلول‌های میکربی را صرف‌نظر از وضعیت مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها از بین ببرد [۱۳] و همچنین تاکنون هیچ‌گونه مقاومتی در باکتری‌ها علیه این روش مشاهده نشده است [۱۴]. فایده دیگر این روش این است که رنگ به

با کشف آنتی‌بیوتیک‌ها در دهه ۱۹۵۰، معجزه‌ای در علم پزشکی برای درمان بیماری‌های عفونی رخ داد. اما، چندی نگذشت که مقاومت دارویی در باکتری‌ها به‌عنوان معضل دیگری خود را نشان داد [۱]. در سال ۲۰۱۵، گزارش O'Neil جهان را متوجه این مطلب کرد که اگر هم‌اکنون راهکاری برای مقابله با باکتری‌های مقاوم به دارو یافت نشود، تا سال ۲۰۵۰ دنیا با حدود ۳۰۰ میلیون مورد مرگ مواجه خواهد شد که برای اقتصاد جهانی مبلغ ۱۰۰ تریلیون دلار هزینه به‌همراه دارد [۲].

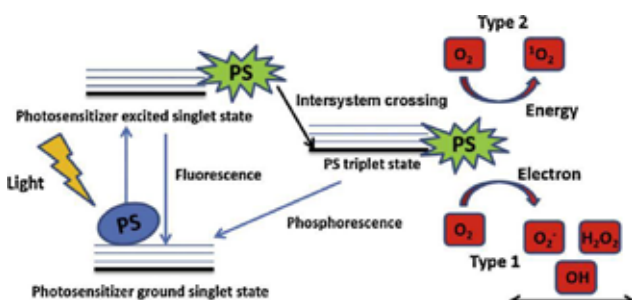
افزایش جهانی مقاومت دارویی باکتری‌های بیماری‌زا در سرتاسر دنیا و کاهش تلاش برای دستیابی به عوامل ضد میکربی جدید، درمان بیماری‌های عفونی را با مشکل مواجه کرده است. لذا، باید به‌دنبال کشف روش‌های درمانی جدیدی بود که از نظر ایمنی و کارایی مطلوب باشند و سریع‌تر از آنتی‌بیوتیک‌های رایج اثر کنند و حداقل امکان مقاومت نسبت به آن‌ها وجود داشته باشد [۳]. یکی از راهکارهای جایگزین و امیدبخش در آینده، درمان فتودینامیکی ضد میکروبی است.

## تاریخچه

درمان فتودینامیکی ضد میکربی (aPDT) در سال ۱۹۹۰، توسط یک دانشجوی پزشکی به نام اسکار راب کشف شد. او مشاهده کرد هنگامی که پارامسی (میکروارگانیسم تک‌سلولی) با رنگ فلورسنت آکریدین نارنجی انکوبه می‌شود و در معرض نور قرار می‌گیرد، از بین می‌رود، درحالی‌که میکروارگانیسم‌هایی که در تاریکی نگهداری می‌شوند، زنده می‌مانند [۴]. پس از کشف این موضوع که این پدیده نیازمند اکسیژن است، واژه "فتودینامیک" انتخاب شد [۵]. در سال ۱۹۱۰، محققان پی بردند که از اثر فتودینامیکی می‌توان به‌عنوان یک درمان پزشکی برای تخریب بافت‌های ناخواسته بیولوژیک مانند سرطان‌های پوست استفاده کرد [۶]. استفاده از PDT به‌عنوان درمانی برای عفونت‌های باکتریایی در سال ۱۹۴۰ و با کشف آنتی‌بیوتیک‌هایی چون پنی‌سیلین به فراموشی سپرده شد [۷] و به‌جای استفاده از PDT به‌عنوان یک عامل ضد میکربی قوی، این درمان به‌شکل وسیع برای درمان سرطان‌ها به‌کار برده شد [۸].

## مکانیسم عمل درمان فتودینامیکی

مکانیسم عمل هنوز به‌شکل کامل مشخص نیست، اما این مطلب به‌خوبی روشن است که جذب یک فوتون نور توسط یک رنگ (حساسگر نوری، PS) منجر به برانگیخته شدن آن می‌شود. PS برانگیخته (پایدار در حد نانو ثانیه) با انتقال الکترون به حالت پایدارتر سه‌گانه (پایدار در حد میکروثانیه) می‌رسد. این حالت پایدارتر کمک می‌کند تا PS با اکسیژن واکنش دهد که می‌تواند از دو مسیر متفاوت فتوشیمیایی (تیپ ۱ و تیپ ۲) اتفاق افتد. در مسیر تیپ ۱، انتقال الکترون منجر به تولید رادیکال‌های سوپراکسید و سپس هیدروکسیل می‌شود. درحالی‌که در مسیر تیپ ۲،



شکل ۱: اساس درمان فتودینامیکی در دیاگرام جابلونسکی (برگرفته از مرجع شماره ۹)

اعماق بدن برسانند [۲۰]. همچنین با استفاده از فیبرهای نوری، رهایش نور به شکل مستقیم به بافت‌های عمقی تر امکان پذیر شده است [۲۱]. یکی دیگر از روش‌های نوین، تفکر استفاده از منابع نوری LED بدون سیم است [۲۲]. این ابزار در ابتدا برای کاربردهای اپتوژنتیک (رهایشی طولانی مدت نور آبی به مغز موش‌های آزمایشگاهی) طراحی شدند [۲۳]. با این وجود، استفاده از این ابزار برای PDT با نور قرمز یا نزدیک مادون قرمز امکان پذیر است.

### حساسگر نوری و سیستم‌های رهایش آن

یک PS ایدئال برای aPDT باید دارای خصوصیتی باشد که از آن جمله می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: تولید محصولات واکنش‌های فتوشیمیایی با بهره‌ی بالا، یک ماده‌ی خالص با ترکیب پایدار، محلول در آب، ترجیحاً دارای بار مثبت، انتخابی برای سلول‌های هدف، ایمن و غیرسمی برای سلول‌های نرمال میزان [۲۴]. PSS جدید که می‌توانند شرایط یک PS ایدئال را داشته باشند، عبارت‌اند از: پلیمرهای پلی کاتیونی، فولرن‌ها و باکتریوکلرین‌ها [۲۵].

بسیاری از PSS از جمله پورفیرین‌ها، کلرین‌ها و فتالوسیانین‌ها به شدت لیئوفیل هستند و تمایل دارند در محیط‌های آبی در شرایط فیزیولوژیک تجمع یابند و این امر منجر به کاهش فعالیت PS می‌شود [۲۶]. بنابراین یکی از مشکلات مهم در aPDT، اپتیم کردن رها سازی PS است. مطالعات مختلف، حاملین مناسبی را برای PS گزارش کرده‌اند که رها سازی PS را افزایش می‌دهند از آن جمله لیپوزوم‌ها [۲۷ و ۲۸]، میسل‌ها [۲۹] و نانوذرات [۳۰-۳۲] را می‌توان نام برد (شکل ۲).

نانوذرات، با ابعاد حدود ۲۰۰-۱ نانومتر قادرند از بسیاری از سدهای بیولوژیک عبور کنند و محتویات خود را به مولکول‌ها و سیستم‌های بیولوژیک حیاتی برسانند، بنابراین رهایش دارو را در منطقه‌ی هدف افزایش می‌دهند و فواید درمانی زیادی را به دنبال دارند. استفاده از نانوذرات برای رهایش PS به میکروارگانیسم‌ها و افزایش کارایی aPDT می‌تواند از چند روش انجام شود: کپسوله کردن PS درون نانو ذرات، اتصال کوالان PS به سطح نانو ذرات و یا مخلوط کردن PS و نانوذرات [۱۹].

لیپوزوم‌ها به شکل معمول برای کپسوله کردن PSS لیئوفیل استفاده شده‌اند و افزایش کارایی aPDT را با انواعی از PSS نشان داده‌اند. لیپوزوم‌ها حلالیت و پایداری PSS را افزایش می‌دهند و نفوذ PS به باکتری را به واسطه‌ی فرآیند فیوژن یا آسیب به دیواره‌ی سلولی تسهیل می‌کنند [۲۷ و ۲۸].

سیستم‌های رهایش به واسطه‌ی میسل‌های پلیمریک نیز می‌توانند حلالیت دارو را افزایش دهند. در مقایسه با لیپوزوم‌ها، تهیه‌ی میسل‌های پلیمریک، ارزان‌تر و آسان‌تر است [۲۹].

یکی دیگر از روش‌های رهایش دارو، استفاده از سوزن‌های بسیار ریز (microneedles) است. در درمان زخم‌های مزمن، اغلب به علت وجود یک لایه‌ی ضخیم هایپرکراتوتیک و یا بافت نکروتیک، رهایش PS با مشکل

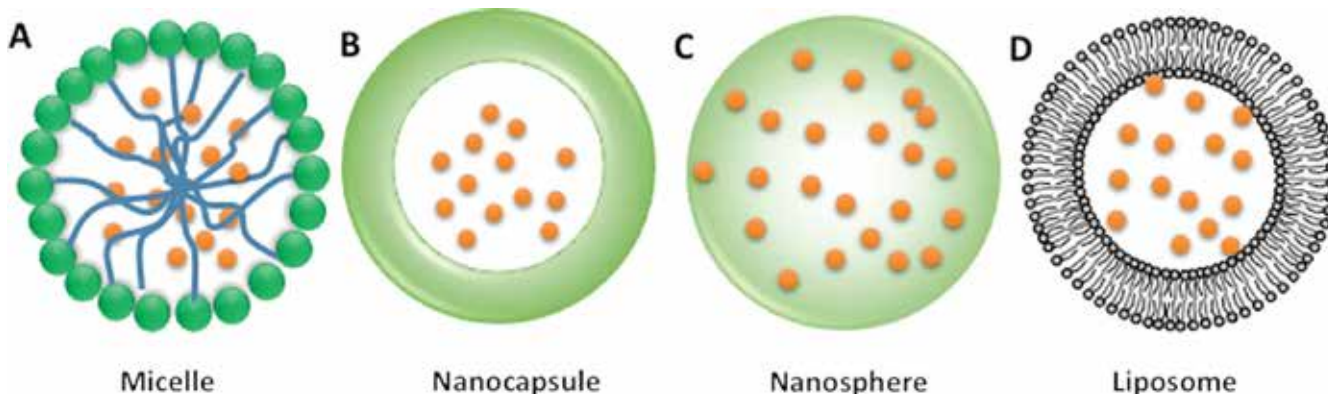
شکل موضعی بر روی منطقه‌ی عفونی استفاده می‌شود. بسیاری از عفونت‌های مزمن، درگیر بیوفیل‌های میکربی هستند که تجویز آنتی‌بیوتیک‌های سیستمیک نیز برای از بین بردن این ساختارهای میکربی کارآمد نیست. در حالیکه aPDT برای کشتن سلول‌های موجود در بیوفیل نیز کارایی نشان داده است [۱۵]. کاربرد ضد بیوفیل‌های در عفونت‌های دندانی همانند پریودنتیت استفاده خاص دارد [۱۶]. همچنین در عفونت‌های سوختگی یا بافت‌های آسیب دیده، خون‌رسانی دچار نقص می‌شود و تجویز سیستمیک آنتی‌بیوتیک‌ها نیز در منطقه‌ی عفونت به غلظت‌های کافی نمی‌رسد. استفاده از aPDT در چنین عفونت‌هایی که احتمال گسترش سریع عفونت وجود دارد، می‌تواند امیدبخش باشد. زیرا کشتن میکرب‌ها به واسطه‌ی aPDT بسیار سریع (در حد چند ثانیه) است، در حالیکه عمل آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند ساعت‌ها یا روزها به طول انجامد. به علاوه، ماهیت وسیع‌الطیف بودن aPDT به این معنی است که این درمان می‌تواند قبل از آنکه عامل عفونی شناسایی شود، آغاز گردد [۱۷]. گرچه بسیاری از عفونت‌ها در مناطق عمقی تر بدن رخ می‌دهند، اما امروزه، این امکان وجود دارد که رنگ و نور تقریباً به هر منطقه‌ی آناتومیک‌ی رها شوند. این امر به واسطه‌ی اندوسکوپ‌ها، سوزن‌های بسیار ریز و فیبرهای نوری قابل انجام است [۱۸].

### منبع نور و سیستم‌های رهایش آن

یک اصل مهم در PDT این است که به طور کلی، طول موج منبع نور باید با ماکزیم جذب PS تنظیم شود. طول موج‌های بلندتر در مقایسه با طول موج‌های کوتاه‌تر برای کاربردهای بالینی ترجیح داده می‌شوند زیرا نفوذ بهتری درون بافت دارند. طول موج‌های مورد استفاده در PDT شامل مافوق بنفش A (۴۰۰-۳۳۰ نانومتر)، آبی (۴۹۰-۴۰۰ نانومتر)، سبزی (۵۵۰-۴۹۰ نانومتر)، زرد (۶۰۰-۵۵۰ نانومتر)، قرمز (۷۰۰-۶۰۰ نانومتر) و نزدیک مادون قرمز (۸۱۰-۷۰۰ نانومتر) هستند [۱۹].

زمانی که PDT در دهه ۱۹۷۰ در بالین استفاده شد، کاربرد لیزرها به عنوان منبع نوری معمول بود. ماهیت تک‌رنگ نور و اشعه‌ی متمرکز از جمله مزیت‌های استفاده از لیزرها است. امروزه، دیودهای ساطع کننده‌ی نور (LEDs) به علت فواید آن‌ها (ایمن، ارزان و راحتی در کار) مورد استقبال قرار گرفته‌اند [۱۹].

بافت زنده هم نور مرئی را جذب می‌کند و هم منعکس می‌کند. جذب و انعکاس نور با افزایش طول موج کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، انواع بافت‌ها خصوصیات نوری متفاوتی دارند. بنابراین از آنجایی که نفوذ نور به درون برخی بافت‌ها با مشکل مواجه می‌شود، روش‌های جدیدی برای رهایش نور به بافت‌های عمقی تر بدن طراحی شده است. بسیاری از ارگان‌های بدن که دچار آسیب‌های عفونی یا بدخیمی شده‌اند، از طریق لوله‌هایی (همانند مری، نای/پرونش، روده یا مجرای ادراری) به محیط بیرون راه دارند. امروزه، اندوسکوپ‌هایی طراحی شده‌اند تا نور را از این راه به



شکل ۲: حاملین PS که برای افزایش رهایش دارو به کار برده می‌شوند (برگرفته از مرجع شماره ۱۹)

و متخلخل هستند که اطراف غشاء سیتوپلاسمی را پوشانده است، در حالیکه باکتری‌های گرم منفی دارای یک غشاء خارجی، یک لایه نازک پپتیدوگلیکان و غشاء داخلی هستند [۳۸]. برای انجام aPDT کارآمد، رنگ باید به دیواره نفوذ کند و یا حداقل به آن اتصال یابد و در نهایت به غشاء پلاسمایی یا درون سیتوپلاسم برسد. سدهای غشایی باکتری‌ها از انتشار ساده رنگ به درون سیتوپلاسم ممانعت می‌کنند [۳۹]. بنابراین aPDT باکتری‌های گرم مثبت راحت‌تر از باکتری‌های گرم منفی است. دیواره سلولی قارچ‌ها ساختاری دارد که از نظر نفوذپذیری حد واسط باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. بخش خارجی، یک لایه نسبتاً متخلخل از پلی‌ساکاریدهای گلوکان و مانان است. شکل ۳ یک طرح شماتیک از سه ساختار سلولی متفاوت را نشان می‌دهد [۱۹].

#### مکانیسم‌های تعیین‌کننده حساسیت باکتری‌ها به aPDT

مهم‌ترین مولکول‌هایی که به واسطه aPDT استرس اکسیداتیو را در باکتری‌ها القاء می‌کنند، اکسیژن نوزاد، رادیکال‌های هیدروکسیل، آنیون‌های سوپراکسید و هیدروژن پراکسید هستند. میزان تولید ROS مختلف، به منشأ شیمیایی PS و ریز محیط آن بستگی دارد [۱۴] و آسیب ناشی از aPDT به محل قرارگیری PS وابسته است. این به آن معنی است که اگر PS تنها به سطح باکتری اتصال یابد، آسیب اکسیداتیو پروتئین‌ها و اسیدهای چرب، تنها در محل قرارگیری ظاهر می‌شود که این امر ناشی از واکنش‌گری زیاد، نیمه‌عمر کوتاه و انتشار محدود ROS تولید شده است [۴۰].

در حال باکتری‌ها مکانیسم‌هایی را دارند تا به استرس‌های ناشی از aPDT پاسخ دهند. این مکانیسم‌ها عبارت‌اند از: تولید رنگدانه‌های حفاظتی (همانند رنگدانه‌های *Pseudomonas aeruginosa* و رنگدانه کاروتنوئیدی *Staphylococcus aureus*)، تولید کیسول پلی‌ساکاریدی، پمپ‌های دفع دارو و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (همانند کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز) [۹].

مواجه می‌شود و از کارآیی درمان می‌کاهد. سوزن‌های بسیار ریز می‌توانند بدون آنکه باعث ایجاد درد یا آسیب بافتی شوند، به لایه‌های خارجی پوست نفوذ کنند [۳۳]. اندازه طولی این سوزن‌ها ۲۵-۲۰۰ میکرومتر است و به‌گونه‌ای طراحی شده‌اند که حدود ۲۰۰۰ سوزن در هر سانتی متر مربع قرار می‌گیرند [۳۴]. رهاسازی PS توسط این ساختار، بدون درد، با کاهش قرمزی و افزایش رهایش داخل پوستی همراه بوده است [۳۵].

#### آسیب سلول میکروبی ناشی از درمان فتودینامیکی ضد میکروبی

چنین به نظر می‌رسد که ROS ایجادشده از طریق PS فعال شده می‌تواند از خلال سه مکانیسم باعث کشته شدن میکروب‌ها و تخریب سلولی آن‌ها شود:

۱. آسیب به غشاء سلولی (یا پوشش ویروس)

۲. غیرفعال کردن آنزیم‌ها و پروتئین‌های ضروری

۳. آسیب به DNA [۳۶]

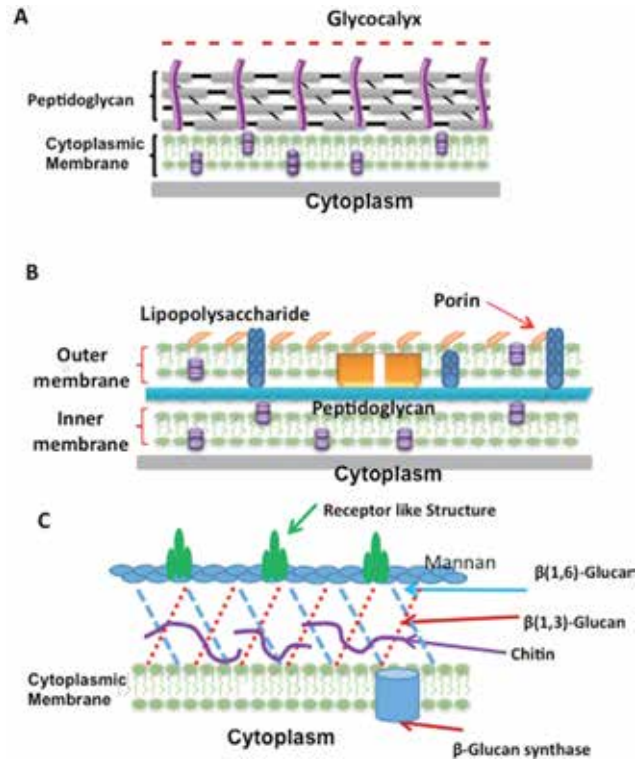
آسیب ناشی از aPDT می‌تواند منجر به تغییرات عملکردی و مورفولوژیکی قابل ملاحظه‌ای در سلول‌های میکروبی شود. تغییرات عملکردی منجر به از دست رفتن فعالیت‌های آنزیماتیک، اکسیداسیون پروتئین‌ها و ممانعت از فرآیندهای متابولیک (همانند سنتز DNA و انتقال گلوکز) می‌شود. تغییرات مورفولوژیک شامل تغییر در ساختار مزوزوم است. آسیب مستقیم به غشاء سلولی، باعث نشت محتویات سلول و غیرفعال شدن سیستم انتقال غشایی می‌شود [۳۷].

تفاوت چشمگیری در ساختار سلولی کلاس‌های مختلف میکروبی وجود دارد. این تفاوت ساختاری در برهم‌کنش PS اگزوزن با بخش‌های مختلف سلولی تأثیرگذار است و می‌تواند بر کارآیی و مکانیسم عمل aPDT با عوامل بیماری‌زای مختلف، اثر گذارد. تفاوت در دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نقش مهمی در حساسیت باکتری‌ها به aPDT دارد. باکتری‌های گرم مثبت دارای چندین لایه پپتیدوگلیکان ضخیم

انجام گرفت. aPDT به‌عنوان یک درمان ضد میکربی جدید برای زخم‌های مزمن پا و زخم‌های پای دیابتی استفاده شد [۴۹]. در این مطالعه، PP904 به‌عنوان PS به‌کار برده شد. ۱۶ بیمار با زخم‌های مزمن پا و ۱۶ بیمار با زخم‌های پای دیابتی (هر گروه شامل ۸ نفر درمان فعال/۸ نفر درمان پلاسبو) در این مطالعه بالینی شرکت کردند. تمام بیماران دارای زخم مزمن (بیش از ۳ ماه) بودند که با  $CFU/ml > 10^4$  باکتری کلونیزه شده بود. پس از شمارش بار میکربی، PP904 یا پلاسبو به‌شکل موضعی بر روی زخم‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه استفاده شدند و به‌دنبال آن تابش‌دهی با نور قرمز ( $50 J/cm^2$ ) انجام شد. مجدداً از زخم برای شمارش میکربی نمونه‌گیری شد. محیط زخم تا ۳ ماه پس از درمان اندازه‌گیری شد. بدون هیچ گزارشی از درد، به‌خوبی تحمل شد. در مقایسه با گروه پلاسبو، بیمارانی که درمان فعال را دریافت کرده بودند، بلافاصله پس از درمان کاهش بار میکربی را نشان دادند ( $p < 0.001$ ). پس از ۳ ماه، ۵۰ درصد از بیماران دارای زخم مزمن پا (۴ نفر از ۸ نفر)، در مقایسه با گروه پلاسبو (۱۲/۵ درصد، یک نفر از ۸ نفر) التیام کامل زخم را نشان دادند.

در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۵، فعالیت ضد میکربی aPDT با رنگ آمینولولونیک‌اسید (ALA) و اثر آن بر التیام زخم‌های مزمن پوستی آلوده به *Pseudomonas aeruginosa* بررسی شد. سطح زخم‌های بیماران با ALA-aPDT یا نور قرمز به‌تنهایی، یک‌بار در هفته به‌مدت دوهفته تیمار شد. قبل از تیمار، مساحت زخم و تعداد باکتری‌های آلوده‌کننده زخم در هر دو گروه تقریباً یکسان بود. نتایج مطالعه نشان داد تعداد باکتری‌ها در زخم‌هایی که تنها با نور قرمز تیمار شده بودند، ۲۴ ساعت پس از درمان تفاوت معنی‌داری با پیش از درمان نداشت، درحالی‌که این تعداد در گروه aPDT کاهش یافت. همچنین ۷ روز پس از درمان، میانگین مساحت زخم در گروه aPDT در مقایسه با گروه دیگر کاهش بیشتری نشان داد. التیام زخم نیز در گروه aPDT بهتر انجام شده بود [۴۵].

بیماری‌های دهان و دندان نیز به‌خوبی با aPDT و با استفاده از رنگ‌های معمول درمان شده‌اند [۵۴-۵۰]. پلاک‌های دندانی یکی از علل اصلی بیماری‌های دهانی هستند. گرچه روش‌های شیمیایی و مکانیکی برای کنترل تشکیل پلاک استفاده می‌شوند، بیماری‌های مرتبط با پلاک دندانی همچنان وجود دارند. aPDT می‌تواند به‌عنوان ابزار دیگری برای کنترل این عفونت‌ها به‌کار رود. برای مثال، در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷، کارآیی بالینی این روش با رنگ اریتروزین بر روی میکروارگانیزم‌های هوازی پلاک‌های دندانی بیماران ارزیابی شد. نتایج نشان داد که این تیمار، شمارش میکربی را کاهش می‌دهد و می‌تواند به‌عنوان یک راهکار پیشگیرانه و درمانی در کلینیک‌های دندانپزشکی به‌کار رود [۵۳]. در تحقیقی دیگر، اثرهای بالینی aPDT به‌همراه جراحی برای درمان پریودنتیت مزمن ارزیابی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که تنها یک بار aPDT به‌همراه درمان جراحی عوامل بیماری‌زای دهانی - دندانی (*Treponema denticola*) را حذف می‌کند [۵۴].



شکل ۳: ساختار سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و قارچ‌ها (برگرفته از مرجع شماره ۱۹)

### افزایش کارآیی درمان فتودینامیکی ضد میکربی

روش‌هایی که برای افزایش کارآیی aPDT در مقابل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در مطالعات مختلف انجام شده است عبارت‌اند از: استفاده از ممانت‌کننده‌های پمپ‌های دفع دارو و اضافه کردن نمک‌های غیرآلی [۱۹]. از آنجایی‌که رنگ‌های فنوتیازینیوم (مانند متیلن‌بلو) سوبسترای برای پمپ‌های دفع دارو در باکتری‌ها هستند، استفاده از ممانت‌کننده‌های این پمپ‌ها می‌تواند باعث افزایش اثر کشندگی aPDT با رنگ‌های فنوتیازینی شود [۴۱-۴۳]. همچنین مطالعات مختلف نشان داده‌اند که اضافه کردن نمک‌هایی چون آزید، تیوسیانات، یدید و برومید می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی کارآیی aPDT را افزایش دهد [۱۹]. از بین این نمک‌ها، یدیدپتاسیم قوی‌ترین، ارزان‌ترین و غیرسمی‌ترین نمک است و از آنجایی‌که برای درمان‌های ضد قارچی مجوز دارد، احتمال استفاده بالینی از آن در aPDT تقویت می‌شود [۱۲].

### aPDT برای درمان عفونت‌های موضعی

PS با عملکرد انتخابی و همچنین تابش‌دهی موضعی، از جمله مزایای استفاده از aPDT در درمان بیماری‌های عفونی موضعی همانند عفونت زخم است [۴۴]. چندین آزمون بالینی، aPDT را برای درمان عفونت‌های زخم به‌کار برده‌اند [۴۹-۴۵]. برای مثال در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳

PDT برای درمان لشمانييازيس جلدی [۵۵]، پاراکوکسیديودومايکوزيس [۵۶] و آکنه وولگاریس [۵۷] نیز به شکل کارآمد استفاده شده است.

### نتیجه گیری

aPDT یک رویکرد جدید و امیدبخش برای غیرفعال کردن و پاکسازی عوامل بیماری‌زا است. از آنجایی که مقاومت دارویی به عنوان یک معضل جهانی رو به افزایش است، این روش می‌تواند به زودی در سطح گسترده به بالین معرفی شود، اما، ضروری است که کارایی این روش به شکل کاربردی ارزیابی شود. بنابراین، استفاده از PSS جدید، استراتژی‌های جدید تقویت واکنش‌های فتوشیمیایی و استفاده از مدل‌های حیوانی مناسب می‌تواند در این زمینه کمک‌کننده باشد.

## References:

1. Tenover FC, McGowan JE Jr. Reasons for the emergence of antibiotic resistance. *Am J Med Sci* 1996; 311: 9–16.
2. O'Neill J. Tackling a global health crisis: initial steps. *The Review on Antimicrobial Resistance* Chaired by Jim O'Neill, 2015.
3. Taylor PW, Stapleton PD, Paul Luzio J. New ways to treat bacterial infections. *Drug Discov Today* 2002; 7: 1086–91.
4. Von Tappenier H. Über die wirkung fluoreszierender stoffe auf infusorien nach versuchen von O. Raab Muench *Med Wochenschr.* 1900; 47: 5.
5. Von Tappeiner H, Jodlbauer A. Über wirkung der photodynamischen (fluoreszierenden) stoffe auf protozoan und enzyme. *Dtsch Arch Klin Med.* 1904; 80: 427–87.
6. Hausman W. Die sensibilisierende wirkung des hematoporphyrins. *Biochem Z.* 1911; 30: 276.
7. Lobanovska M, Pilla G. Penicillin's discovery and antibiotic resistance: lessons for the future? *Yale J Biol Med.* 2017; 90(1): 135–45.
8. Agostinis P, Berg K, Cengel KA. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA Cancer J Clin.* 2011; 26; 61(4): 250–81.
9. Kashef N, Hamblin MR. Can microbial cells develop resistance to oxidative stress in antimicrobial photodynamic inactivation? *Drug Resist Updat.* 2017; 31: 31–42.
10. Malik Z, Ladan H, Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *J Photochem Photobiol B.* 1992; 14: 262–6.
11. Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections-State of the art. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2009; 6: 170–88.
12. Hamblin MR. Potentiation of antimicrobial photodynamic inactivation by inorganic salts, *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 2017; DOI:10.1080/14787210.2017.1397512.
13. Vera DM, Haynes MH, Ball AR, Dai T, Astrakas C, Kelso MJ, Hamblin MR, Tegos GP. Strategies to potentiate antimicrobial photoinactivation by overcoming resistant phenotypes. *Photochem Photobiol.* 2012; 88: 499–511.
14. Maisch T. Resistance in antimicrobial photodynamic inactivation of bacteria. *Photochem Photobiol Sci.* 2015; 14: 1518–26.
15. de Melo WC, Avci P, de Oliveira MN, Gupta A, Vecchio D, Sadasivam M, Chandran R, Huang YY, Yin R, Perussi LR. Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11 :669–93.
16. Kikuchi T, Mogi M, Okabe I, Okada K, Goto H, Sasaki Y, Fujimura T, Fukuda M, Mitani A. Adjunctive Application of Antimicrobial Photodynamic Therapy in Nonsurgical Periodontal Treatment: A Review of Literature. *Int J Mol Sci.* 2015; 16: 24111–26.
17. Ferreyra DD, Reynoso E, Cordero P, Spesia MB, Alvarez MG, Milanesio ME, Durantini EN. Synthesis and properties of 5,10,15,20-tetrakis[4-(3-N,N-dimethylaminopropoxy)phenyl] chlorin as potential broad-spectrum antimicrobial photosensitizers. *J Photochem Photobiol B.* 2016; 158: 243–51.
18. Gad F, Zahra T, Francis KP, Hasan T, Hamblin MR. Targeted photodynamic therapy of established soft-tissue infections in mice. *Photochem Photobiol Sci.* 2004; 3: 451–8.
19. Kashef N, Huang YY, Hamblin MR. Advances in antimicrobial photodynamic inactivation at the nanoscale. *Nanophotonics.* 2017; 6(5): 853–79.
20. van den Bergh H. On the evolution of some endoscopic light delivery systems for photodynamic therapy. *Endoscopy* 1998; 30: 392–407.
21. Swartling J, Axelsson J, Ahlgren G. System for interstitial photodynamic therapy with online dosimetry: first clinical experiences of prostate cancer. *J Biomed Opt* 2010; 15: 058003.

22. Montgomery KL, Yeh AJ, Ho JS. Wirelessly powered, fully internal optogenetics for brain, spinal and peripheral circuits in mice. *Nat Methods* 2015; 12: 969–74.
23. Kim TI, McCall JG, Jung YH. Injectable, cellular-scale optoelectronics with applications for wireless optogenetics. *Science* 2013; 340: 211–6.
24. Engelhardt V, Krammer B, Plaetzer K. Antibacterial photodynamic therapy using water-soluble formulations of hypericin or mTHPC is effective in inactivation of *Staphylococcus aureus*. *Photochem Photobiol Sci* 2010; 9: 365–9.
25. Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes *Curr Opin Microbiol.* 2016; 33: 67–73.
26. Sibani SA, McCarron PA, Woolfson AD, Donnelly RF. Photosensitizer delivery for photodynamic therapy. Part 2: systemic carrier platforms. *Expert Opin Drug Deliv* 2008; 5: 1241–54.
27. Bombelli C, Bordi F, Ferro S. New cationic liposomes as vehicles of m-tetrahydroxyphenylchlorin in photodynamic therapy of infectious diseases. *Mol Pharm* 2008; 5: 672–9.
28. Ferro S, Ricchelli F, Mancini G, Tognon G, Jori G. Inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by liposome-delivered photosensitising agents. *J Photochem Photobiol B* 2006; 83: 98–104.
29. Tsai T, Yang YT, Wang TH, Chien HF, Chen CT. Improved photodynamic inactivation of gram-positive bacteria using hematoporphyrin encapsulated in liposomes and micelles. *Lasers Surg Med* 2009; 41: 316–22.
30. Schwartz J, Wiehe A, Grafe S, Gitter B, Epple M. Calcium phosphate nanoparticles as efficient carriers for photodynamic therapy against cells and bacteria. *Biomaterials* 2009; 30: 3324–31.
31. Guo Y, Rogelj S, Zhang P. Rose Bengal-decorated silica nanoparticles as photosensitizers for inactivation of gram-positive bacteria. *Nanotechnology* 2010; 21: 065102.
32. Paszko E, Ehrhardt C, Senge MO, Kelleher DP, Reynolds JV. Nanodrug applications in photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2011; 8: 14–29.
33. Larraneta E, McCrudden MT, Courtenay AJ, Donnelly RF. Microneedles: A new frontier in nanomedicine delivery. *Pharm Res* 2016; 33: 1055–73.
34. Kolli CS, Microneedles: bench to bedside. *Ther Deliv* 2015; 6: 1081–8.
35. Kearney MC, Brown S, McCrudden MT, Brady AJ, Donnelly RF. Potential of microneedles in enhancing delivery of photosensitizing agents for photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2014; 11: 459–66.
36. Hamblin MR, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3: 436–50.
37. Jori G, Fabris C, Soncin M. Photodynamic therapy in the treatment of microbial infections: basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med* 2006; 38: 468–81.
38. Sperandio, F.F., Huang, Y.Y., Hamblin, MR. Antimicrobial photodynamic therapy to kill gram-negative bacteria. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 2013; 8(2): 108–20.
39. Maisch, T. Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2004; 3(10): 907–17.
40. Sabbahi, S. The role of reactive oxygen species in *Staphylococcus aureus* photoinactivation by methylene blue. *Water Sci. Technol.* 2008; 58(5): 1047–54.
41. Tegos GP, Masago K, Aziz F, Higginbotham A, Stermitz FR, Hamblin MR. Inhibitors of bacterial multidrug efflux pumps potentiate antimicrobial photoinactivation. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 3202–9.
42. Kishen A, Upadya M, Tegos GP, Hamblin MR. Efflux pump inhibitor potentiates antimicrobial photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* biofilm. *Photochem Photobiol* 2010; 86: 1343–9.
43. Prates RA, Kato IT, Ribeiro MS, Tegos GP, Hamblin MR. Influence of multidrug efflux systems on methylene blue-mediated photodynamic inactivation of *Candida*

albicans. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66: 1525–32.

44. Kharkwal GB, Sharma SK, Huang YY, Dai T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for infections: clinical applications. *Lasers Surg Med* 2011; 43: 755–67.

45. Lei X, Liu B, Huang Z, Wu J. A clinical study of photodynamic therapy for chronic skin ulcers in lower limbs infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Dermatol Res*. 2015; 307(1): 49-55.

46. Wang C(1), Huang S, Zhu T, Sun X, Zou Y, Wang Y. Efficacy of photodynamic antimicrobial therapy for wound flora and wound healing of pressure sore with pathogen infection. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2014; 94(31): 2455-9.

47. Brown S. Clinical antimicrobial photodynamic therapy: phase II studies in chronic wounds. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012; 10 Suppl 2: S80-3.

48. Morley S, Griffiths J, Philips G, Moseley H, O'Grady C, Mellish K, Lankester CL, Faris B, Young RJ, Brown SB, Rhodes LE. Phase IIa randomized, placebo-controlled study of antimicrobial photodynamic therapy in bacterially colonized, chronic leg ulcers and diabetic foot ulcers: a new approach to antimicrobial therapy. *Br J Dermatol*. 2013; 168(3): 617-24.

49. Morley S, Griffiths J, Philips G. Phase IIa randomized, placebo-controlled study of antimicrobial photodynamic therapy in bacterially colonized, chronic leg ulcers and diabetic foot ulcers: a new approach to antimicrobial therapy. *Br J Dermatol* 2013; 168: 617–24.

50. Abduljabbar T. Effect of mechanical debridement with adjunct antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of peri-implant diseases in type-2 diabetic smokers and non-smokers. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2017; 17: 111–4.

51. Pavlič A, Matoh U, Rajić V, Petelin M. Effect of repeated antimicrobial photodynamic therapy in treatment of periodontitis associated with Fanconi anemia. *Photomed Laser Surg* 2017; 35: 64–8.

52. Panhoca VH, Esteban Florez FL, Correa TQ, Paolillo FR, de Souza CW, Bagnato VS. Oral decontamination of orthodontic patients using photodynamic therapy mediated by blue-light irradiation and curcumin associated with

sodium dodecyl sulfate. *Photomed Laser Surg* 2016; 34: 411–7.

53. Bhat M, Acharya S, Prasad KVV, Kulkarni R, Bhat A, Bhat D. Effectiveness of erythrosine-mediated photodynamic antimicrobial chemotherapy on dental plaque aerobic microorganisms: A randomized controlled trial. *J Indian Soc Periodontol*. 2017; 21(3): 210-5.

54. Martins SHL, Novaes AB Jr, Taba M Jr, Palioto DB, Messora MR, Reino DM, Souza SLS. Effect of surgical periodontal treatment associated to antimicrobial photodynamic therapy on chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2017; 44(7): 717-28.

55. Asilian A, Davami M. Comparison between the efficacy of photodynamic therapy and topical paromomycin in the treatment of Old World cutaneous leishmaniasis: a placebo-controlled, randomized clinical trial. *Clin Exp Dermatol* 2006; 31: 634–7.

56. Dos Santos LFM, Melo NB, de Carli ML, Mendes ACSC, Bani GMAC, Verinaud LM, Burger E, de Oliveira I Moraes G, Pereira AAC, Brigagão MRL, Hanemann JAC, Sperandio FF. Photodynamic inactivation of *Paracoccidioides brasiliensis* helps the outcome of oral paracoccidioidomycosis. *Lasers Med Sci*. 2017; 32(4): 921-30.

57. Xu X, Zheng Y, Zhao Z, Zhang X, Liu P, Li C. Efficacy of photodynamic therapy combined with minocycline for treatment of moderate to severe facial acne vulgaris and influence on quality of life. *Medicine (Baltimore)*. 2017; 96(51): e9366.