

AĞIZ ENFEKSİYONLARININ TEDAVİSİNDE YENİ BİR YAKLAŞIM: ANTİMİKROBİYEL FOTODİNAMİK TERAPİ

A NOVEL APPROACH FOR THE TREATMENT OF ORAL INFECTIONS: ANTIMICROBIAL PHOTODYNAMIC THERAPY

Nurgül KÖMERİK*

ÖZET

Antimikrobiyel fotodinamik terapi, mikroorganizmaların duyarlaştırıcı bir ajan ve belirli bir dalga boyundaki ışık vasıtası ile oksijen varlığında yok edilmesi esasına dayanır. Birçok Gram-negatif ve -pozitif bakterilerin, mantarların ve virüslerin fotodinamik etkiye ileri derecelerde duyarlı oldukları gösterilmiştir. Fotodinamik terapide etki oksidatif hasar vasıtası ile meydana gelir ve mikroorganizmaların bu yaklaşıma direnç geliştirme olasılığı oldukça düşük bir ihtimal olduğu öne sürülmüştür. Ayrıca, bu yaklaşım ile bakterilerin lipopolisakkarit ve proteolitik enzimleri gibi önemli virulans faktörlerinin de inhibe edildiği bildirilmiştir. Bugün için topikal ve lokal etkisi olan fotodinamik terapi oral kavitede oluşabilecek enfeksiyonların tedavisi için antimikrobiyel ilaçlara ideal bir alternatif olabilir. Fotodinamik terapinin diğer kullanım alanları maksiller sinüs, kadın genital organları, yara ve yanık enfeksiyonları olabilir.

Anahtar kelimeler: antimikrobiyel fotodinamik terapi, lokal enfeksiyonlar, oral kavite

SUMMARY

Antimicrobial photodynamic therapy is based on the eradication of microorganisms by a photosensitising agent in conjunction with light of an appropriate wavelength in the presence of oxygen. Numerous Gram-negative and -positive bacteria, yeasts and viruses have been shown to be highly susceptible to photodynamic action. The effect of photodynamic therapy is by oxidative damage and, the development of resistance to this approach has been claimed to be very unlikely. Furthermore, inhibition of important virulence factors such as lipopolysaccharide and proteolytic enzymes by this approach has been reported. Currently, photodynamic therapy has local and topical effects and may be an ideal alternative to antimicrobial agents for infections in the oral cavity. Other possible applications of photodynamic therapy may be infections in the maxillary sinus, female genitalia, wound and burn infections.

Key words: Antimicrobial photodynamic therapy, local infections, oral cavity.

* Yrd. Doç. Dr. Süleyman Demirel Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi, Ağız, Diş, Çene Hast ve Cer. AB Dalı, Isparta

GİRİŞ

Fotodinamik etki (FDE), 1900'lerin başında Raab adında Alman tıp öğrencisinin, histolojik bir boya maddesi olan eozinin ışık varlığında protozalara toksik etkisinin olduğunu tesadüfen gözlemlemesi ile keşfedilmiştir.³⁰ İlerleyen yıllarda bu esasa dayanarak geliştirilen fotodinamik terapi (FDT), kanser tedavisinde üzerinde yoğun araştırmaların yapıldığı bir konu olmuştur.^{5,10,15,26,32} Keşfedildiği yıllardan sonra FDE'nin antimikrobiyel uygulamaları üzerine çalışmalar, antibiyotiklerin altın çağlarını yaşaması ile ihmal edilmiştir. Ancak son yıllarda birçok bakterinin

antibiyotiklere direnç geliştirilmesiyle yeni antimikrobiyel yaklaşımlara ilgi artmış ve FDE üzerinde çalışmalar yeniden ivme kazanmıştır.

FDE, hedeflenen hücrelerin, duyarlaştırıcı bir madde ve ışığın reaksiyonu sonucu ortaya çıkan sitotoksik ürünler vasıtası ile elimine edilmesi olarak tanımlanabilir. Duyarlaştırıcı madde oksijen varlığında belirli bir dalga boyundaki ışını absorbe edince, bir seri reaksiyonlar zinciri sonucunda ortamdaki oksijen molekülü *singlet* durumuna yükselir. *Singlet* oksijen, FDE'nin mekanizmasında rol oynayan primer toksik üründür. Ayrıca, daha az miktarda olmak üzere

re serbest radikallerin jenerasyonu da meydana gelebilir. Bu sitotoksik ürünler biomoleküllerin hasarına yol açarlar.⁶

Bugüne kadar birçok duyarlaştırıcı ajan ve ışık kombinasyonunun mikroorganizmalar üzerindeki etkileri araştırılmış ve FDE'nin bakteriler, mantarlar ve virüsler üzerinde toksik etkisinin olduğu belirlenmiştir. Duyarlaştırıcı ajan olarak porfirin derivatörleri ve analogları (talosiyeninler), ve toluidin mavisi, metilen mavisi, azur B, akridin turuncusu gibi çeşitli histolojik boya maddeleri değerlendirilmiştir. Plazmanın FDE ile sterilizasyonu Almanya ve İsviçre kan merkezlerinde 1992'den beri uygulanmaktadır. Virüslerin (hepatit B virüsü, hepatit C virüsü, herpes simpleks tip 1, suid herpes virüsü tip 1, human immunodeficiency virüsü, ve enveloped parvovirüs B19)^{22, 23, 29, 31} ve mantarların^{8,9,27,28,34}, çeşitli ajanlarla yapılan FDE'ye duyarlı oldukları bildirilmiştir. Gram-pozitif bakteriler genel olarak FDE'ye oldukça duyarlı olmakla birlikte, Gram-negatif bakterilerin inaktivasyonu katyonik ajanlar (örneğin, toluidin mavisi) kullanarak sağlanabilmiştir.^{2,12, 16,18,21, 25}

Uygun spektrum ve güçteki herhangi bir ışık kaynağı FDT için kullanılabilir. Işık kaynağı duyarlaştırıcı ajanın maksimum absorpsiyon bandına eşdeğerde dalga boyuna ve bu ajanı aktive etmek için de yeterli enerjiye sahip olmalıdır. Lazerler, yüksek enerji jenerasyonu sağlayabilmeleri, monokromatik ışık üretebilmeleri ve fiber optikler vasıtası ile istenilen bölgeye ulaşım kolaylığı nedeniyle sıradan ışığa üstünlük sağlarlar ve FDT'de standart ışık kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Işık kaynağı olarak daha önceleri komplike 'boya' lazer sistemleri kullanılmaktaydı ancak son yıllarda taşınabilir, çok daha ucuz ve kullanımı son derece kolay olan 'diot' lazerler geliştirilmiştir. Ayrıca lazer olmayan ışık kaynakları da kullanıma girmiştir.

FDT'de tedavi derinliği, duyarlaştırıcı maddenin dokulardaki lokalizasyonu ve lazer ışığının dokulara penetrasyonu ile orantılıdır. Duyarlaştırıcı ajanın dokulardaki lokalizasyonu ise ajanın verilmiş şekline göre (topikal, oral veya intravenöz) değişiklik gösterir. Lazer ışığının dalga boyu arttıkça dokulara penetrasyonu da artar. Bugün kullanılan duyarlaştırıcı maddeleri aktive eden ışık dalga boyu 630-660 nm civarındadır ve kırmızı ışık verir. Bu ışık yoğunluğunu 3 mm den sonra logaritmik olarak kaybederek dokularda 1 cm kadar penetre olabilir.

FDE'NİN ETKİ MEKANİZMASI

Kullanılan birçok antibiyotik etkilerini mikroorganizmaların belirli bölgelerinde hasara yol açmak suretiyle gösterir. Örneğin, penisilinler hücre membranı sentezine etkilidirler. Buna karşılık FDE'de oluşan sitotoksik ürünler, etkilerini oksidatif hasar ile gösterir ve hücrelerin birden çok bölgesinde yıkıma neden olur. Hasara uğrayan tüm bölgelerin FDE'ye direnç kazanması ise oldukça düşük bir ihtimaldir. Hücre membranında meydana gelen hasarın lipid peroksidasyonu ve protein hasarı yolu ile olduğu gözlenmiştir. Hücre dışı membranı hasarını sitoplazmik membranın parçalanması veya biyokimyasal fonksiyonlarının kaybı takip eder.^{2,9} DNA hasarı, plazmidlerin ayrışması şeklinde gözlenmiştir.^{1,24}

Antibiyotiklerin kullanımı ile ilgili diğer bir sorun da, Gram-negatif bakterilerin antibiyotiklerle tahribi ile hücre duvarında bulunan lipopolisakkaritlerin salınımı sonucunda dokulardaki yıkımın artmasıdır. Lipopolisakkarit, pro-inflamatuar sitokinlerin hücrelerden salınımını artırır. Bu mediatörler (örneğin, IL-1, IL-6, IL-8, TNF-a ve TNF b) yüksek miktarlarda iken kollajenaz ve osteoklastları aktive ederek dokularda hasara yol açarlar.³⁷ FDE'nin ise bakterilerin canlılığına olduğu kadar lipopolisakkarit ve proteolitik enzimler gibi virülans faktörlerine de etkili olduğu gösterilmiştir¹⁴. Ayrıca, kandida hücrelerinin fermentasyon, glikoliz ve oksidatif fosforilasyon yapan intraselüler enzimlerinin de FDE ile inaktive olduğu bildirilmiştir.²⁷

FDE'NİN DOKULARA ETKİSİ

FDE'nin dokulara etkisi kullanılan duyarlaştırıcı ajana ve ışık enerji dozuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Yapılan hayvan çalışmaları topikal olarak uygulanan toluidin mavisi ile yapılan FDE'nin mikroorganizmaların ölümüne yol açan dozlardan çok daha yüksek dozlarla bile (200 mg/ml toluidin mavisi ve 340 J/cm²) oral mukozaya herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir.¹¹ Bununla birlikte, 5 mg/kg talosiyenin ve 50 J ışık ile gingival ülserasyonlar, 100 J ışık ile ise kaslarda nekroz ve tükürük bezlerinde nekrotizan sialometaplazi not edilmiş ancak iyileşme rejenerasyonla ve komplikasyonsuz seyretmiştir.¹⁹ Başka bir çalışmada ise hematoporfirinle yapılan FDE'nin tavşan karotid arterinde kollajen ve elastine herhangi bir etkisinin olmadığı ve damar çeperlerinde nekroz olmasına rağmen mekanik özelliklerinin devamlılığını koruduğu gösterilmiştir.⁷ Fare dilinde hematoporfirinle yapılan FDE'nin etkisinin kullanılan

ışık dozu ile orantılı olduğu gösterilmiştir. 20 mg/kg hematoporfirinle birlikte 90 J/cm² ve 180 J/cm² ışık dozları ödem, selüller infiltrasyon ve epitelde hasar meydana getirmesine rağmen kas lifleri etkilenmemiştir. iyileşme ise 5 günde ve rejenerasyonla tamamlanmıştır.²⁰

FDE VE İNTRA-ORAL ENFEKSİYONLAR

Ağızda çürük ve periodontal hastalıklara neden olan birçok bakterinin FDE'ye ileri derecede duyarlı oldukları gösterilmiştir.³³ Örneğin, 25 mg/ml toluidin mavisi ve 4.4 J/cm² ışık *in vitro* olarak ortamdaki *Porphyromonas gingivalis*'in tümünün ölümüne neden olmuştur.³ Bakteriler en çok serum fizyolojik içerisindeyken duyarlı olmakla birlikte, tükürük süspanyonu içerisindeyken de kayda değer derecelerde canlılık sayımları azalmıştır. Ortamdaki serum ve kan varlığında bakterilerin duyarlılıklarında düşüş kaydedilmiş ancak ışık enerji dozlarının artırılmasıyla eşit derecelerde bakteri ölümü sağlanabilmiştir.^{3,35,36} Ortamın pH'sının mikroorganizmaların canlılığı üzerine etkisi değişik duyarlaştırıcı ajanlar kullanıldığında ve çeşitli organizmalarda farklı sonuçlar vermekle birlikte nötral ve alkalen ortamlarda etki daha yüksek bulunmuştur.^{3,13} Tedaviden önce serum fizyolojik veya bikarbonat içeren solüsyonlarla ağızın çalkalanması tedavinin etkinliğini artırılabilir.

Antimikrobiyel FDT'nin geniş bir yelpazeyi kapsayan kullanım alanları arasında periodontal hastalıklar, endodontik tedavi, implantların çevresinde meydana gelen enfeksiyonlar, immün sistemi baskılanmış hastalarda meydana gelen mukozal enfeksiyonlar ve viral kaynaklı enfeksiyonlar sayılabilir. Yapılan çalışmalar incelenen tüm ağız içi bakterilerin bu modaliteye benzer duyarlılıkta cevap verdiklerini göstermiştir. Tedavi sonrası ağızın yerli organizmalarının da yok olması bir sorun olabilir ancak, pulpanın sterilizasyonu gibi lokal bölgelere uygulanacak FDT'de ışığın istenen bölgeye hedeflenmesi ile bu problem ortadan kaldırılabilir. Bununla birlikte kullanılan duyarlaştırıcı ajanın hedef bakterilere karşı geliştirilmiş antikorlar ile konjuge edilmesi yolu ile tedavinin spesifikliğinin artırılması sağlanabilir. Periodontopatojenlerden *P. gingivalis*'in, *Streptococcus sanguis* ile karışık kültürü içerisinde antikora konjuge edilmiş toluidin mavisi ile spesifik olarak öldürüldüğü ancak *S. sanguis*'in FDE'den çok az etkilendiği gösterilmiştir.⁴ Duyarlaştırıcı ajanların antikorlarla konju-

ge edilmesinin diğer bir avantajı ise tedavinin daha düşük dozlarla daha güçlü bir etki yaratmasıdır.

Toluidin mavisinin, *S. sanguis*, *P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ve *Fusobacterium nucleatum* gibi periodontopatojenlere³³, *Staphylococcus aureus*³⁵, fırsatçı aerobik basillere¹² ve mantarlara^{8,34} oldukça etkili bir duyarlaştırıcı ajan olduğu bildirilmiştir. Toluidin mavisi kullanılarak yapılan FDE ile mikroorganizmalar etkin olarak yok edilirken dokular devamlılığını korumaktadır. %1 konsantrasyondaki toluidin mavisi, 1960'lardan beri premalign lezyonların teşhisinde ağız gargarası şeklinde kullanılmaktadır.¹⁷ Ağız enfeksiyonlarının tedavisinde toluidin mavisi topikal olarak uygulanabilir. Topikal uygulamada toluidin mavisinin epitelin tüm tabakalarına penetre olduğu ancak bağ dokusunda önemsenmeyecek miktarlarda penetre olduğu gösterilmiştir.¹¹

SONUÇ

FDT antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkilidir ve FDT'nin etkinliği klinik olarak da kanıtlandığı takdirde her enfeksiyon için ayrı bir antimikrobiyel ilaç kullanımı gerekliliğini ortadan kaldırabilir. FDT'nin bir dezavantajı tedavinin hasta tarafından kullanılmayıp uzman bir doktor tarafından uygulanma gerekliliğidir. Ancak bu tedavi ile, bir veya birkaç seansta patojenlerin tamamen yok edilmesi mümkün olabilir.

Bugün için antimikrobiyel FDT lokal ve yüzeysel enfeksiyonlarla sınırlı olmakla birlikte orofarengeal kavitenin enfeksiyonu dışında maksiller sinüs, kadın genital organları enfeksiyonu gibi vücudun diğer kavitelerinin enfeksiyonunun tedavisi FDT ile mümkün olabilir. Ayrıca, FDT yara ve yanık enfeksiyonları için de ideal bir alternatif olabilir. Bununla birlikte FDT tekniğinde kaydedilecek ilerlemelerle derin yerleşmiş enfeksiyonların da bu metotla tedavisi mümkün olabilir.

FDT'nin vücut dokularına etkileri hayvan deneyleri ile gösterilmiş olmasına rağmen bu tedavi türünün uygulanmasına geçilmeden önce insan dokularındaki etkilerinin incelenmesi gerekmektedir. FDT'nin konvansiyonel antibiyotiklere güvenilir bir alternatif olması ve rutin olarak yerini alabilmesi için, özellikle enfeksiyon nedeni ile hasar görmüş dokularda FDT'nin oluşturacağı yıkıcı etki minimum olmalıdır. Bu nedenle optimal dozların oluşturulması için iyi planlanmış kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Aft RL, Mueller GC. Hemin-mediated DNA strand scission. *J Biol Chem* 258: 12069-12072, 1983.
2. Bertoloni G, Rossi F, Valduga G, Jori G, van Lier J. Photosensitising activity of water- and lipid-soluble phthalocyanines on *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett* 71: 149-156, 1990.
3. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. Effect of dosimetric and physiological factors on the lethal photosensitisation of *Porphyromonas gingivalis*. *Photochem Photobiol* 65: 1026-1031, 1997.
4. Bhatti M, MacRobert A, Henderson B, Shepherd P, Cridland J, Wilson M. Antibody targetted lethal photosensitisation of *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 2615-2618, 2000.
5. Dougherty TJ, Gomer CJ, Henderson BW, Jori G, Kessel D, Korbelik M, Moan J, Peng Q. Photodynamic therapy. *J Natl Cancer Inst* 90: 889-905, 1998.
6. Foote CS. Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem Photobiol* 54: 659-664, 1991.
7. Grant WE, Buonaccorsi G, Speight P, MacRobert AJ, Hopper C, Bown SC. The effect of photodynamic therapy on the mechanical integrity of normal rabbit carotid arteries. *Laryngoscope* 105: 867-71, 1995.
8. Ito T. Toluidine blue: the mode of photodynamic action in yeast cells. *Photochem Photobiol* 25: 47-53, 1977.
9. Ito T, Kobayashi K. In vivo evidence for the photodynamic membrane damage as a determining step of the inactivation of yeast cells sensitized by toluidine blue. *Photochem Photobiol* 25: 399-401, 1977.
10. Kato H, Okunaka T, Shimatani H. Photodynamic therapy for early stage bronchogenic carcinoma. *J Clin Laser Med Surg* 14: 235-238, 1996.
11. Kömerik N, Curnow A, MacRobert AJ, Hopper C, Speight PM, Wilson M. Fluorescence biodistribution and photosensitising activity of toluidine blue O on rat buccal mucosa. *Lasers Med Sci* 17: 86-92, 2002.
12. Kömerik N, Hopper C, Wilson M. Lethal Photosensitisation of mucositis-associated bacteria. *J Dental Res* 76: 1024, 1997.
13. Kömerik N, Wilson M. Factors influencing the susceptibility of Gram-negative bacteria to toluidine blue O-mediated lethal photosensitization. *J Appl Microbiol* 92: 618-623, 2002.
14. Kömerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol* 72(5): 676-680, 2000.
15. Kubler AC, Haase T, Staff C, Kahle B, Rheinwald M, Muhling J. Photodynamic therapy of primary nonmelanomatous skin tumours of the head and neck. *Lasers Surg Med* 25: 60-68, 1999.
16. Martinetto P, Gariglio M, Lombard GF, Fiscella B, Boggio F. Bactericidal effects induced by laser irradiation and haematoporphyrin against Gram-positive and Gram-negative microorganisms. *Drugs Exp Clin Res* 12: 335-342, 1986.
17. Mashberg A. Final evaluation of tolonium chloride rinse for screening of high-risk patients with asymptomatic squamous carcinoma. *J Am Dent Assoc* 106: 319-323, 1983.
18. Merchat M, Bertoloni G, Giacomini P, Villanueva A, Jori G. Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Photochem Photobiol [B]* 32: 153-157, 1996.
19. Meyer M, Speight P, Bown SG. A study of the effects of photodynamic therapy on the tissues of the rabbit jaw. *Br J Cancer* 64: 1093-1097, 1991.
20. Michael BP. Effects of photodynamic therapy in the normal mouse tongue. *J Oral Maxillofac Surg* 51: 1129-1134, 1993.
21. Minnock A, Vernon DI, Schofield J, Griffiths J, Parish JH, Brown ST. Photo-inactivation of bacteria. Use of a cationic water-soluble zinc phthalocyanine to photoinactivate both Gram-negative and Gram-positive bacteria. *J Photochem Photobiol [B]* 32: 159-164, 1996.
22. Mohr H, Bachmann B, Klein-Struckmeier A, Lambrecht B. Virus inactivation of blood products by phenothiazine dyes and light. *Photochem Photobiol* 65: 441-445, 1997.
23. Muller-Breitkreutz K, Mohr H, Briviba K, Sies H. Inactivation of viruses by chemically and photochemically generated singlet molecular oxygen. *J Photochem Photobiol [B]* 30: 63-70, 1995.
24. Nir U, Ladan H, Malik Z, Nitzan Y. In vivo effects of porphyrins on bacterial plasmid DNA. *J Photochem Photobiol [B]* 11: 295-306, 1991.
25. Nitzan Y, Shainberg B, Malik Z. Photodynamic effects of deuteroporphyrin on Gram-positive bacteria. *Curr Microbiol* 15: 251-258, 1987.
26. Nseyo U, Dehaven J, Dougherty T. Photodynamic therapy (PDT) in the management of patients with resistant superficial bladder cancer: a long term experience. *J Clin Laser Med Surg* 16: 61-68, 1998.
27. Paardekooper M, De Bruijne AW, Steveninck JV, van den Broek PJ. Intracellular damage in yeast cells caused by photodynamic treatment with toluidine blue. *Photochem Photobiol* 61: 84-89, 1995.
28. Paardekooper M, van Den Broek JA, De Bruijne AW, Elferink JGR, Dubbelman TMAR, Staveninck JV. Photodynamic treatment of yeast cells with the dye toluidine blue: all-or-none loss of plasma membrane barrier properties. *Biochem Biophys Acta* 1108: 86-90, 1992.
29. Perlin M, Mao JCH, Otis ER, Shipkowitz NL, Duff RG. Photodynamic inactivation of influenza and herpes viruses by haematoporphyrin. *Antiviral Res* 7: 43-51, 1987.
30. Raab O. On the effect of fluorescent substances on infusoria. *Z Biol* 39: 524-526, 1900.
31. Specht KG. The role of DNA damage in PM2 viral inactivation by methylene blue photosensitization. *Photochem Photobiol* 59: 506-514, 1994.

32. Wang I, Bendsoe N, Klinteberg CA, Enejder AM, Andersson-Engels S, Svanberg S, Svanberg K. Photodynamic therapy vs. cryosurgery of basal cell carcinomas: results of a phase III clinical trial. *Br J Dermatol* 144: 832-840, 2001.
33. Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* 25: 77-81, 1992.
34. Wilson M, Mia N. Sensitisation of *Candida albicans* to killing by low-power laser light. *J Oral Pathol Med*; 22: 354-357, 1993.
35. Wilson M, Pratten J. Lethal photosensitisation of *Staphylococcus aureus* in vitro: Effect of growth phase, serum, and pre-irradiation time. *Lasers Surg Med*; 16: 272-276, 1995.
36. Wilson M, Sarkar S, Bulman JS. Effect of blood on lethal photosensitization of bacteria in subgingival plaque from patients with chronic periodontitis. *Lasers Med Sci*; 8: 297-303, 1993.
37. van Der Zee E, Everts V, Beertsen W. Cytokines modulate routes of collagen breakdown. *J Clin Periodontol*; 24: 297-305, 1997.

Yazışma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Nurgül KÖMERİK
Süleyman Demirel Üniversitesi
Dişhekimliği Fak. Isparta
Tel: 0246 2113270
Faks: 0246 2370607
E-posta: nkomerik@med.sdu.edu.tr