

声动力学疗法在细菌感染类疾病治疗中的应用与展望^{*}

张洪波 综述, 毕良佳[△] 审校

(哈尔滨医科大学附属第四医院口腔科, 哈尔滨 150001)

关键词: 声动力学疗法; 超声; 声敏剂; 细菌; 感染性疾病**DOI:** 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.24.052 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)24-3698-03

自然界的细菌种类繁多, 对人类有用亦有危害。由于细菌可以产生内毒素, 很多细菌, 如金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、牙龈卟啉单胞菌等成为导致人体疾病如肺炎、破伤风、慢性牙周炎等的致病菌, 如何有效控制细菌感染, 是治疗这些疾病的关键。

1 细菌感染类疾病的传统疗法

临床上常见的抗菌疗法主要包括手术疗法, 例如清创术、口腔方面的龈上洁治术、龈下刮治及根面平整术等; 全身或局部应用抗菌药物, 如红霉素、青霉素、万古霉素等^[1]。尽管手术疗法能有效清除致病微生物群体, 但过程中会导致患者出血, 反复进行这些手术会给患者带来一定的疼痛及创伤。为了有效对抗细菌引起的感染类疾病, 很多患者会选择局部涂布、全身或口服抗菌药物, 这种方法的确可以控制细菌感染, 但长期应用抗菌药物的结果并不理想, 而且容易导致细菌耐药性产生^[2]。当细菌获得耐药性之后, 再次应用这种抗菌药物的效果就会较之前大大降低, 如果长期应用这种抗菌药物, 病症很可能不仅没有得到改善, 反而加重。除此之外, 抗菌药物的应用还可使患者产生一些不良反应, 例如胃部不适、口腔干燥等^[3]。为了尽量减小对正常组织的损伤, 避免细菌耐药性产生, 寻找一种新的抗菌疗法已经成为人们研究的热点。

2 超声在细菌感染类疾病治疗中的应用

超声是一种可以在连续介质中产生周期振动的机械声波, 人类听觉的声波频率范围为 16~20 kHz, 而超声的作用频率大于 20 kHz。超声波有散射、反射、吸收等形式, 发出的声波在液体中形成气泡, 这些气泡不断产生、扩大、破裂, 这一现象称为声空化作用^[4]。当液体中的气泡不断破裂导致温度和张力超过 10 000 K 和 1 000 atm 时, 声空化作用可以产生光, 这一现象称为声致发光^[5]。超声在组织中的穿透能力优于光, 这种效果主要取决于超声的强度和频率。超声强度越大, 产热效果越好, 超声频率越低, 产生的声空化作用越明显。基于超声的这些作用, 使其可以达到生物体表面, 甚至用来研究生物体的内部结构, 如辅助疗法(组织修复、血栓溶解、血管形成术、药物传递、龈上洁治术等)和临床诊断。超声在临床的应用主要分为 3 种作用途径: 热效应、化学效应、机械效应, 每种途径不同, 产生的作用效果也不同。热效应主要用于临床治疗, 例如高强度聚焦超声通过聚焦超声束作用于肿瘤部位, 在一定区域内产生热效应引起细胞坏死, 从而治疗肿瘤类疾病。机械效应主要是由于超声可以在短时间改变细胞膜的通透性, 在压力和张力作用下使细胞膜内结构变形, 从而增强细胞对大分子药物的摄取, 这种效果可以在很多治疗领域有效促进药物的靶向治疗及控制药物的释放^[6]。化学效应主要是由于超声在作用过

程中生成了一些自由基产物, 这些产物可以引起氧化反应, 造成细胞膜脂质过氧化、蛋白质及 DNA 损伤^[7]。然而如何利用这种短暂生成的自由基产物治疗疾病, 目前处于研究阶段。

超声在抗菌领域中的应用研究要追溯到 1927 年, 有研究结果表明, 超声可以有效杀灭藻类微生物水棉属的绿藻。随后的一些研究发现, 单独应用超声可以对一些其他微生物, 如细菌、真菌、病毒等作用并取得良好的杀菌效果。1994 年有研究首次发现, 当低强度超声(67 kHz, 0.3 W/cm²)联合 12 μg/mL 庆大霉素相对于单独应用庆大霉素对铜绿假单胞菌和大肠埃希菌的杀菌效果明显增强, 且单纯超声组并没有杀灭细菌。有研究发现, 低强度超声(70 kHz, 3 W/cm²)分别联合三类抗菌药物: 氨基糖苷类(庆大霉素、链霉素、卡那霉素)、四环素类(四环素)、青霉素类(氨苄青霉素)相对于单独应用抗菌药物对革兰阴性杆菌(产气肠杆菌、沙雷菌、沙门菌)和革兰阳性球菌(轻链球菌、表皮葡萄球菌)有明显杀菌效果, 且单纯超声组并没有杀灭细菌。随后研究发现, 可能是由于声空化作用改变了细菌细胞膜的通透性, 从而使抗菌药物更易进入细菌。超声对细菌生物膜的研究始于 1996 年, 有研究发现, 当超声(500 kHz, 10 mW/cm²)联合 12 μg/mL 庆大霉素相对于单独应用庆大霉素对铜绿假单胞菌生物膜有明显杀菌效果, 然而单纯超声组并没有杀灭细菌, 他们推测这种抗菌机制更多是由于超声的声空化作用, 而不是热效应。有研究发现, 超声可以打通细菌生物膜的细胞外基质, 推测在超声作用下, 大分子抗菌药物、氧和营养物质可以迅速通过这些孔道进入细菌生物膜, 从而增大抗菌药物在生物膜中的药物浓度, 有效杀灭细菌。基于这些研究, 超声开始作为一种抗菌方法应用在食品工业的去污、手术器械的消毒及临床治疗等多个方面。

3 SDT 在抗菌领域中的应用

1989 年有研究首次发现, 超声联合一种敏化剂血卟啉可以有效诱导细胞凋亡, 并将这种可以被超声激活的敏化剂定义为声敏剂, 这种能够杀伤细胞的方法定义为 SDT。由于 SDT 具有相对较小的毒副作用、无创、穿透力强等优点, 一经提出立刻受到全世界学者的高度重视, 众多治疗肿瘤疾病的基础与临床研究相继展开。大量研究表明, 超声激活声敏剂治疗肿瘤细胞产生的声敏作用类似于激光的激活过程, 并产生相似的产物, 如单线态氧、过氧化物、自由基等活性氧物质^[6]。

2009 年 Ma 等^[8]发表的一篇关于 SDT 抗微生物治疗前景展望的综述中推测, SDT 不仅可以诱导肿瘤细胞凋亡, 或许可以对微生物有杀伤作用。2011 年 Liu 等^[9]首次尝试证实这一推测, 研究结果显示, 超声(40 kHz, 1 W/cm²)联合 0.01 mg/mL 环丙沙星或左氧氟沙星可以有效杀灭大肠埃希菌, 研

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81670994)。

[△] 通信作者, E-mail: stevenchuang88@126.com。

究认为环丙沙星或左氧氟沙星的作用效果与声敏剂的作用效果类似,这种治疗方法可能就是 SDT 的抗菌疗法。关于 SDT 抗菌可能性的第 2 次尝试是在 2013 年,Nakonechny 等^[10]选用一种已经明确的声敏剂(孟加拉红)作为试验用声敏剂,研究发现,超声(28 kHz,0.84 W/cm²)联合 15 μ mol/L 孟加拉红可以有效杀灭金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌,研究认为产生这种效果的原因可能是由于在介质中声空化作用产生的闪光激活了声敏剂,即声致发光现象。然而在 2014 年,本课题组 Zhuang 等^[11]研究发现,声敏剂血卟啉单甲醚(10~50 μ g/mL)联合超声(1 MHz,1~6 W/cm²)对金黄色葡萄球菌有明显杀菌效果,并推测 SDT 对于微生物的杀伤作用很可能是利用声敏剂对细菌的聚集特性,在适当频率及强度的超声波作用下,声敏剂被激活产生大量活性氧,通过氧化应激作用灭活细菌、真菌、病毒等微生物。到目前为止,国内外已发表的关于 SDT 的抗菌研究所选用的声敏剂均为经研究证实的声敏剂,超声频率均采用 1 MHz,超声的强度也均在 1~6 W/cm² 内,这些研究结果表明,SDT 可以有效杀灭金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、耐甲西林金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌等^[12]。

4 SDT 的作用机制

SDT 作为一种超声联合声敏剂抑制细菌的前沿方法,其作用机制尚未阐明。近期研究结果表明,SDT 的作用机制与超声在液体介质中产生的气泡不断破裂激活声敏剂,与声空化效应有关^[5]。在纳秒的瞬间,声空化效应可以使温度达到约 5 000 K,并产生约 250 mPa 的压力,从而形成高液体剪切力、冲击波、局部升温和自由基。通过对这些现象的分析人们认为,SDT 的作用机制可能与声控效应、超声化学和声致发光有关。

声控效应是指超声可以穿透细胞膜。一些研究证实,超声可以改变细胞膜的通透性,破坏肿瘤细胞的细胞膜,从而诱导细胞凋亡^[13]。正如上文所述,超声还可以打通细菌生物膜的细胞外基质,推测在超声作用下,大分子抗菌药物、氧和营养物质可以迅速通过这些孔道进入细菌生物膜,从而增大抗菌药物在生物膜中的药物浓度,有效杀灭细菌。

大多数研究指出,超声激活声敏剂产生活性氧,活性氧可以与含富电子的细胞内成分(细胞膜脂质、DNA 和蛋白质)发生反应,从而使细胞死亡^[14]。然而,活性氧是如何产生的?声敏剂的作用位点在哪里?超声是如何激活声敏剂产生活性氧的?SDT 的作用机制是仅由于超声激活声敏剂产生活性氧吗?对这些问题研究从 1990 年开始不断展开,有学者在以卟啉类声敏剂介导的 SDT 过程中加入了组氨酸(检测单线态氧和羟自由基)、甘露醇(检测羟自由基,不包括单线态氧)和超氧化物歧化酶(检测超氧化物自由基)等自由基清除剂,他们的研究发现,单线态氧和超氧化物在 SDT 的过程中起关键作用。在 2000 年,一项综述推测 SDT 是通过超声化学反应达到杀伤效果的,声敏剂产生的活性氧是通过直接裂解或与水裂解生成的其他活性氧反应得到的,这些已经生成的活性氧与其他活性氧物质(如过氧化氢、烷基自由基等)形成溶解氧反应,从而使细胞死亡^[15]。Yumita 等^[16]于 2010 年以 DCPH-P-Na(I)为声敏剂介导的 SDT 研究发现,组氨酸可以抑制 SDT 的作用,但甘露醇不能抑制,从而得出单线态氧在 SDT 中起关键作用的结论。随后越来越多的研究证实,活性氧与 SDT 的作用机制密切相关,且活性氧的产生与超声激活声敏剂有关,但活性氧到底是如何产生的依然是个疑问。

在声空化效应过程中,超声空化泡的破裂产生了闪光,这一现象称为声致发光。然而,声致发光是如何产生的?由于

SDT 产生的效果与光动力学疗法的作用效果相似,人们推测 SDT 的作用机制是否也与光动力学疗法相似,甚至是由于 SDT 过程中产生了声致发光现象,光电子激发声敏剂产生活性氧,从而使细胞死亡。1989 年有研究结果表明,超声可以在生理盐水中产生声致发光现象,光谱显示声致发光产生的光波长 400~450 nm,研究认为这种光可以激活血卟啉(既是声敏剂也是光敏剂)产生活性氧,从而解释了 SDT 为什么会与光动力学疗法相似的效果。然而,有学者在 2000 年的研究中发现,随着温度升高,声致发光现象逐渐减弱,在低频超声作用下,声致发光现象最明显。进一步证实声致发光在 SDT 过程中起关键作用的研究是在 2002 年,da Graca 等^[17]的研究发现,当超声频率为 40 kHz、声压为 0.2 mPa 时,可以在体内检测到声致发光现象。虽然上述研究认为声致发光在 SDT 过程中起关键作用,由于光敏剂具有光毒副作用,当已吸收了光敏剂的皮肤暴露在光下,可以引起光毒反应,这使光敏剂在临床中的应用受到了限制,越来越多只有声敏特性而不具光敏特性的声敏剂相继问世。2007 年 Hachimine 等^[18]的研究发现,在以 DPCH-P-Na(I)为声敏剂介导的 SDT 过程中,声致发光并没有起到关键作用,因为这种声敏剂虽然具有声敏特性,但并没有光敏性能。他们还选用了活性氧清除剂组氨酸和甘露醇来证明单线态氧在 SDT 过程中发挥了重要作用。在临床应用的角度,这种声敏剂排除了光毒副作用,更适合用于临床,且同样也可以取得良好的 SDT 作用效果。但从研究 SDT 作用机制的角度,这一研究使人们陷入了沉思,声致发光现象还是不是 SDT 过程中的关键呢?且声致发光是否是唯一可以解释 SDT 作用效果?2010 年 Rahman 等^[19]研究表明,SDT 主要是由于声致发光现象激发二氧化钛,导致大肠埃希菌死亡。2013 年 Eshghi 等^[20]研究发现,在以金纳米粒子结合的血卟啉Ⅸ为声敏剂介导的 SDT 中,在琼脂凝胶中检测出 350~650 nm 的声致发光信号,并阐明不能排除声致发光现象在 SDT 过程中的作用。

5 SDT 治疗细菌感染类疾病的应用前景与展望

相对于传统抗菌方法,SDT 不良反应小,无创,可以避免产生细菌耐药性。相对于光动力学疗法,SDT 穿透力更强,随着越来越多仅有声敏特性的声敏剂产生,SDT 会逐步摆脱光毒性的困扰,且超声设备与激光设备相对造价更低廉,基于超声已在临床应用了近百年的历史,更易为人民群众接受,适合用于临床,SDT 可能在未来用于临床消毒和细菌感染性疾病的治疗。虽然 SDT 的作用机制尚未阐明,但 SDT 在抗菌领域的基础研究已逐渐展开,为未来临床应用 SDT 治疗细菌感染类疾病提供了理论基础。然而,SDT 对尚未研究的病原菌的杀伤效果及体内试验进行进一步研究还是有必要的,且 SDT 对细菌的杀伤机制同样有待研究。

参考文献

- [1] Zandbergen D, Slot DE, Cobb CM, et al. The clinical effect of scaling and root planing and the concomitant administration of systemic amoxicillin and metronidazole: a systematic review[J]. J Periodontol, 2013, 84(3): 332-351.
- [2] Nunn ME. Understanding the etiology of periodontitis: an overview of periodontal risk factors [J]. Periodontol, 2003, 32(1): 11-23.
- [3] Oda S, Nitta H, Setoguchi T, et al. Current concepts and advances in manual and power-driven instrumentation[J]. Periodontol, 2004, 36(1): 45-58.

[4] Komura K, Inamoto T, Masuda H, et al. Experience with high-intensity focused ultrasound therapy for management of organ-confined prostate cancer: critical evaluation of oncologic outcomes[J]. Acta Biomed, 2012, 83(3): 189-196.

[5] Harris F, Dennison SR, Phoenix DA. Sounding the death knell for microbes[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(7): 363-367.

[6] Rosenthal I, Sostaric JZ, Riesz P. Sonodynamic therapy-a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound [J]. Ultrason Sonochem, 2004, 11(6): 349-363.

[7] Trendowski M. The promise of sonodynamic therapy[J]. Cancer Metastasis Rev, 2014, 33(1): 143-160.

[8] Ma X, Pan H, Wu G, et al. Ultrasound may be exploited for the treatment of microbial diseases[J]. Med Hypotheses, 2009, 73(1): 18-19.

[9] Liu B, Wang DJ, Liu BM, et al. The influence of ultrasound on the fluoroquinolones antibacterial activity[J]. Ultrason Sonochem, 2011, 18(5): 1052-1056.

[10] Nakonechny F, Nisnevitch M, Nitzan Y, et al. Sonodynamic excitation of Rose Bengal for eradication of gram-positive and gram-negative bacteria[J]. Biomed Res Int, 2013, 11(19): 684930.

[11] Zhuang D, Hou C, Bi L, et al. Sonodynamic effects of hematoporphyrin monomethyl ether on Staphylococcus aureus in vitro[J]. FEMS Microbiol Lett, 2014, 361(2): 174-180.

[12] Xu C, Dong J, Ip M, et al. Sonodynamic action of chlorin e6 on Staphylococcus aureus and Escherichia coli[J]. Ultrasonics, 2016, 64(1): 54-57.

[13] Chen H, Zhou X, Gao Y, et al. Recent progress in development of new sonosensitizers for sonodynamic cancer therapy[J]. Drug Discov Today, 2014, 19(4): 502-509.

[14] Wang X, Leung AW, Jiang Y, et al. Hypocrellin B-mediated sonodynamic action induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells[J]. Ultrasonics, 2012, 52(4): 543-546.

[15] Misik V, Riesz P. Free radical intermediates in sonodynamic therapy[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000, 899(2): 335-348.

[16] Yumita N, Iwase Y, Nishi K, et al. Sonodynamically induced cell damage and membrane lipid peroxidation by novel porphyrin derivative, DCPH-P-Na(I) [J]. Anticancer Res, 2010, 30(6): 2241-2246.

[17] da Graca J, Kojima H. Single-bubble sonoluminescence from noble gas mixtures. [J]. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 2002, 66(2): 066301.

[18] Hachimine K, Shibaguchi H, Kuroki M, et al. Sonodynamic therapy of cancer using a novel porphyrin derivative, DCPH-P-Na(I), which is devoid of photosensitivity [J]. Cancer Sci, 2007, 98(6): 916-920.

[19] Rahman MM, Ninomiya K, Ogino C, et al. Ultrasound-induced membrane lipid peroxidation and cell damage of Escherichia coli in the presence of non-woven TiO₂ fabrics [J]. Ultrason Sonochem, 2010, 17(4): 738-743.

[20] Eshghi H, Sazgarnia A, Rahimizadeh M, et al. Protoporphyrin IX-gold nanoparticle conjugates as an efficient photosensitizer in cervical cancer therapy[J]. Photodiagnosis Photodyn Ther, 2013, 10(3): 304-312.

(收稿日期: 2017-06-29 修回日期: 2017-09-13)

• 综 述 •

国内外移动医疗现状及前景分析*

张 渊 综述, 方 惠, 李成帅 审校

(川北医学院图书馆, 四川南充 637000)

关键词: 移动医疗; 医疗模式; 移动互联网; 医疗信息

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2017. 24. 053 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)24-3700-03

随着电子技术的日新月异, 加上互联网技术的崛起, 电子科技融入到医疗领域, 电子医疗的雏形开始逐渐形成。顾名思义, 电子医疗就是在借助信息通讯技术及电子科技通过网络、语音、视频等远程方式来交换患者的医疗临床资料及专家意见的一种远程治疗模式。近年来, 移动通讯技术迅猛发展及智能手机、智能手表等智慧电子产品的出现, 作为电子医疗其中的一个重要分支——移动医疗逐渐进入了大众的视野。借助手机完成疾病资料的管理、对话医务人员获取信息咨询等都给人们的生活带来了极大的便利。在欧美等发达国家, 移动医疗的优势得到更加彰显, 例如在一些慢性疾病的监测、临床信息的收录、健康咨询的管理等方面开始崭露头角。移动医疗的意义不仅仅是医院内部借助智能电子产品帮助医生、护士等开

展临床作业, 更重要的是借助互联网通信技术, 实现了远距离医疗信息传递、远距离健康情况监测、远距离医患辅导等非普通型医疗服务。医院、医生、患者都可以从中获取便利, 使在中国本就不富裕的医疗资源能得到充分利用。2013 年国务院发布《“十二五”国家自主创新能力建设规划》, 明确提出医疗卫生领域信息化, 这标志着移动医疗健康进入快速发展阶段^[1]。

1 移动医疗概述

20 世纪 50 年代末, 远程医疗这个词汇便出现在人们视野中, 美国学者首先将双向电视系统用于医疗, 远程医疗的出现给落后地区的医院带来希望和曙光, 形成了以大型综合医院与社区医院相帮互助为基础的服务模式^[2]。设施先进、人才雄厚的大型医院借助电话、电视视频交流等通讯方式给偏远地区医

* 基金项目: 2016 年川北医学院校级课题资助项目(CBY16-B-YB12)。