

جایگاه نانوذرات طلا در تشخیص و درمان

سیمین جانی تبار^۱، فاطمه اسدی^۱ و حجیه بسطامی^{۲*}

^۱ تهران، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده مواد و سوخت هسته‌ای

^۲ تهران، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، دانشکده فنی شریعتی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: Hbastami@tvu.ac.ir

چکیده

نانوذرات طلای کلوییدی از قرون پیش در برخی کاربردهای پزشکی مورد استفاده قرار گرفته است و استفاده از علوم متنوع در سنتز و ارزیابی نانوذرات طلا بسیار سودمند واقع شده است. امروزه ارسال دارو و نوکلئیک اسید و ... به بافت هدف در بدن، یکی از چشم‌اندازهای روشن استفاده از نانوذرات طلاست. همچنین نانوذرات طلا با دارا بودن ویژگی‌های جذب نور، علاوه بر درمان مؤثر بافت‌های سرطانی به شیوه فوتوداینامیک‌تراپی، فوتوترمال‌تراپی و درمان رادیوفرکانس، در تشخیص بسیاری از بیماری‌ها نیز سودمند واقع شده‌اند. با توجه به این‌که نانوذرات طلا یکی از کاندیدهای نویدبخش در ارسال هدفمند دارو، نوکلئیک اسید و تعدیل‌کننده فرآیند رگ‌زایی است، روش سنتز، شکل و اندازه آن و همچنین عامل‌دار کردن آن می‌تواند نقش کلیدی در چگونگی هدفمندی و فرآیند اثر آن داشته باشد. ویژگی‌های توزیع زیستی و سمیت نانوذرات طلا در بدن و همچنین کارایی آن و پیامدهای ایمونولوژیک ترکیبات حاوی آن به شرایط افزودن عوامل بسیار وابسته است و این مهم مستلزم انجام پژوهش بیشتر و کارآمدتر است. در این مقاله به خلاصه‌ای از پژوهش‌های انجام شده بر روی نانوذرات طلا در ارتباط با دانش پزشکی پرداخته می‌شود.

کلیدواژگان: نانوذرات طلا، عامل‌دار سازی، درمان‌های سرطان، ایمونونرسیته نانوذرات طلا

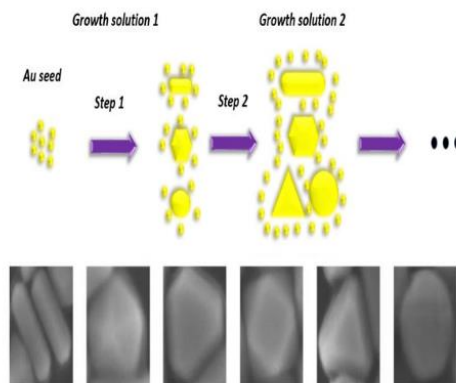
مقدمه

نابودی سلول‌های سرطانی، یکی از گسترده‌ترین حوزه‌ها در مبحث درمان به شمار می‌آید. سرطان یک نام عمومی است که به مجموعه بیماری‌های ژنتیکی اطلاق می‌شود که مشخصه آن تقسیم نامحدود و غیر قابل کنترل سلولی و تهاجم است. سرطان اغلب با جهش‌ها و یا دگرگونی در ژن‌های پروتوانکوژن (ژن‌های تنظیم‌کننده چرخه سلولی)، سرکوبگرهای تومور و همچنین ژن‌های ترمیم‌کننده‌های DNA در طی همانند سازی گسترش می‌یابد. قطع شدن سیگنال‌های پیش برنده آپوپتوز سلولی و بیان بیش از حد پروتئین‌های متعدد تسهیل‌کننده رشد سلول، مانع فرآیند نابودی سلول‌های سرطانی می‌شود. یکی از عمده‌ترین دلایل تشدید سرطان، اثرات ناشی از عوامل محیطی مانند قرار گرفتن در معرض تشعشعات و آلاینده‌ها می‌باشد اما مهمترین شان سبک زندگی ناسالم مانند نداشتن فعالیت بدنی، رژیم غذایی غیر متعادل، کشیدن سیگار و استرس است. تنها ۵ الی ۱۰ درصد سرطان‌ها علت ژنتیکی دارند. براساس گزارش جهانی سازمان سرطان (NCI) ۱۴ میلیون

طلا یکی از اولین فلزهای کشف شده در طول تاریخ است که تاکنون مطالعات زیادی بر روی ساختار و کاربردهای آن صورت گرفته است. اولین اطلاعات در رابطه با طلای کلوییدی در متون چینی، عربی و هندی یافت شده است که به دنبال ارزش دارویی این ماده و استفاده از آن در علوم پزشکی بوده‌اند. همچنین در قرون وسطی در بسیاری از آزمایشگاه‌های شیمی در اروپا از طلای کلوییدی استفاده می‌شده است. پاراسلوس^۱ در رابطه با ویژگی‌های تشخیصی و درمانی ماده طلا (essentia auri gold quintessence, quinta) گزارشی را تهیه کرد که بر اساس آن طلا به فرم کلرید را به وسیله عصاره سبزیجات در الکل و یا نفت احیا کرد. او برای درمان تعدادی از بیماری‌های روانی و همچنین سیفلیس از طلای آشامیدنی^۲ استفاده کرد. همچنین ژيووانی آندره^۳ محقق معاصر پاراسلسوس، از طلای آشامیدنی برای درمان بیماران جذامی، طاعون، بیماری صرع و اسهال استفاده کرد (۱). با وجود این پژوهش‌ها که بر اساس ویژگی‌های اعجاب‌انگیز درمانی طلا انجام شده است، نقش نانوذرات طلا در

¹ Giovanni Andrea
² potable gold
³ Giovanni Andrea

سال بعد ویژگی‌های نانو ذرات طلا در جذب نور مرئی توسط معادلات الکترومغناطیسی ماکسول بررسی شد (۴). در سال ۱۹۷۱ فالک^۳ و تیلور^۴ محققان بریتانیایی از روش انقلابی اتصال طلای کلوییدی - آنتی‌بادی برای مشاهده مستقیم آنتی‌ژن‌های سطح سالمونلا با میکروسکوپ الکترونی پرده برداشتند (۵). این کشف سرآغاز مطالعات دیگر تا ۴۰ سال بعد شد و در کاربردهای زیست‌پزشکی نانوذرات طلا و شناسایی اختصاصی بیوماکرومولکول‌های متنوع در سطوح عامل‌دار مفید واقع شد. بعدها تحقیقات اغلب بر روی کنترل روش‌های سنتز متمرکز شد که به وسیله آن نانوذرات طلا با شکل و اندازه مشخص حاصل می‌گشت (شکل ۱). نانوذرات طلا با داشتن ویژگی‌هایی همچون اثر اندازه کوانتومی، خواص الکتریکی وابسته به اندازه، خواص مغناطیسی و دارا بودن کاربردهایی همچون کاتالیز کردن واکنش‌های شیمیایی، به عنوان یکی از پایدارترین نانوذرات موجود نام برده می‌شوند که در علوم پزشکی و بیولوژی بسیار حائز اهمیت‌اند.



شکل ۱- فرآیند تشکیل شکل‌های متفاوت نانوذرات طلا (۶).

۲- توزیع زیستی، سمیت و عامل‌داری نانوذرات طلا

با توجه به کاربردهای بالقوه نانوذرات طلا در تشخیص و درمان سرطان، آنالیز و فهم الگوهای توزیع زیستی و سمیت آنها در بدن، بسیار مهم است تا جایی که این دو پارامتر معیار درستی استفاده از نانوذرات طلا را در این حوزه تعیین

مورد سرطان جدید در سال ۲۰۱۲ اتفاق افتاده است که ۸/۲ میلیون مورد به مرگ منجر شده است. پیشگویی می‌شود که تا دو دهه آینده موارد سرطان به ۲۴ میلیون برسد و تقریباً ۴۰ درصد از مردم در طول زندگی خود ممکن است دچار سرطان شوند (۲). با در نظر گرفتن همه این عوامل و خطرات، توسعه استراتژی‌های مؤثر پیشگیری و تشخیص به موقع و درمان سرطان به شدت احساس می‌شود. در طی سالهای اخیر، رشد استثنایی در تحقیقات و کاربردهای نانو تکنولوژی و علوم نانو مشاهده شده است که به وسیله آن می‌توان معایب درمانهای قدیمی و کلاسیک سرطان را پشت سر گذاشت. به طور کلی، نانو تکنولوژی به عنوان سیستم‌های مهندسی شده در قالب مولکولی توصیف می‌شود. در حال حاضر دانشمندان می‌توانند با بهره‌گیری از بسیاری از علوم مانند شیمی، فیزیک و زیست‌شناسی، ذراتی در اندازه‌های ۱ الی ۱۰۰ نانومتر با ویژگی‌های مشخص طراحی کنند. با داشتن روش‌های بهینه در سنتز، نانوذرات با ویژگی‌هایی از جمله سمیت کمتر، الگوهای توزیع قابل کنترل و ساز و کارهای اختصاصی در تعامل با لیگاند مطلوب خود قابل تولیدند.

۱- معرفی نانوذرات طلا

طلا (Au) با عدد اتمی ۷۹ یکی از اولین فلزهایی است که هزاران سال پیش کشف شد و جزء عناصر با کم‌ترین واکنش‌پذیری به شمار می‌آید. این ماده در خالص‌ترین شکل به صورت درخشان، زرد، متراکم، نرم و رسانا است و در شرایط استاندارد، یک ماده جامد است. از ابتدا، ماده طلا به علت نادر بودن، شکل‌پذیری آسان، مقاومت در برابر زنگ زدگی و رنگ و جلای منحصر به فردش از ارزش زیادی برخوردار بوده است تا جایی که به سرعت، سمبلی از قدرت و ثروت شد و در صنعت سکه و جواهرات مورد استفاده قرار گرفت (۳). کاربردهای طلا و مشتقاتش در پزشکی تاریخچه‌ای طولانی دارد. اولین مقاله در رابطه با نانوذرات طلا در سال ۱۸۵۷ توسط فارادی ارائه شد که در آن رنگ قرمز به ماهیت کلوییدی نانوذرات طلا نسبت داده شده و توضیحاتی در رابطه با تفرق نور آنها بیان شده بود. پنجاه

¹ Giovanni Andrea
² Giovanni Andrea
³ Faulk
⁴ Taylor

می‌کند. با اینکه در رابطه با پاسخ‌های التهابی ناشی از تجمع فلزات در ارگان‌سیم زنده نگرانی‌هایی وجود دارد اما هنوز بررسی‌های کامل در این باره به صورت درون تنی (in-vivo) انجام نشده است و با توجه به اهمیت بالای این آزمایش‌ها، نیاز است که محققان با دقت بررسی‌های لازم را انجام دهند. علاوه بر این، به علت متفاوت بودن دوزهای مورد استفاده نانوذرزات در حیوانات و یا در محیط سلولی، مسأله امکان تجمع این نانوذرزات در شرایط فیزیولوژیکی دارای داده‌هایی متناقض است (۷).

بسیاری از ویژگی‌های نانوذرزات طلا متأثر از شکل و اندازه آنها است. یکی از مهمترین پارامترهای مورد استفاده در نانوذرزات طلا توزیع زیستی آنهاست که از این قاعده مستثنی نیست و به شدت تحت تأثیر دو عامل شکل و اندازه ذرات قرار دارد. اولین مطالعات بر روی توزیع زیستی طلای کلوییدی در سال‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ نشان داد که پس از تزریق، غلظت نانوذرزات طلا به سرعت در کبد افزایش پیدا می‌کند و سپس با ترشح از صفرا توسط مدفوع خارج می‌شود. بعدها این پدیده توسط فعالیت مهم سلول‌های کوپفر در حذف نانوذرزات طلا در کبد توجیه شد. به طور کلی ارگان‌های مربوط به سیستم‌های رتیکولاندوتلیال بیشترین میزان نانوذرزات طلا با اندازه ۱۰ الی ۱۰۰ نانومتر را به سوی خود جذب می‌کنند (۷). با کوچکتر شدن اندازه نانوذرزات، توزیع یکنواخت آنها نیز کمتر می‌شود. هر چه سیستم کبدی- صفراوی عملکرد بهتر و کارآمدتری داشته باشد، از غلظت نانوذرزات در خون و مدت زمان حضور آنها در بدن سریع‌تر کاسته می‌شود (۳). پس از ورود نانوذرزات طلا به بدن چه به صورت دهانی و یا تزریق داخل وریدی، آنها به سمت کبد، کلیه‌ها، طحال و ریه‌ها جهت‌گیری می‌کنند و این مسأله به اندازه و شکل ذرات بستگی دارد. همچنانکه ذرات با اندازه کوچکتر در اندام‌های مختلف دارای غلظت بیشتری هستند (۷).

همچنین نانوذرزات با اندازه کوچکتر به لایه‌های عمقی‌تر پوست نفوذ می‌کنند در حالی که نانوذرزات با اندازه ۱۰۰ الی ۲۰۰ نانومتر بر سطح پوست باقی می‌مانند که کارایی نانوذرزات با قطر کوچکتر را اثبات می‌کند. جدا از نانوذرزات کروی طلا، چندین مورد گزارش از توزیع و سمیت نانوذرزات طلا با شکل‌های مختلف دیگر به خصوص نانومیله‌ها و نانوصدفاها وجود دارد. نانوذرزات میله‌ای طلا

اغلب با استفاده از سورفاکتانت‌های کاتیونی تثبیت‌کننده و شکل دهنده نانوذرزات مانند ستریمونیوم بروماید (CTAB) سنتز می‌شوند. این ترکیبات در غلظت‌های بالاتر از ۱ میکرو مولار در محیط کشت سلولی موجب سمیت شده‌اند. اما در فرایند سنتز، با شست و شوی زیاد، نانوذرزات طلا از مولکول‌های تثبیت‌کننده CTAB قابل پاک‌سازی هستند و کاهش سمیت مشاهده شده، حاکی از این است که سمیت این سیستم‌ها ناشی از وجود CTAB‌های آزاد است و خود نانو میله‌ها فاقد اثرات سمی‌اند. هر چند ارزیابی اینکه آیا سمیت نانوذرزات طلا از پایداری کم و تجمع آنها به آزاد سازی CTAB‌ها ناشی می‌شود مشکل به نظر می‌رسد. به همین دلیل برای اصلاح نانومیله‌های طلا پس از سنتز آنها با استفاده از CTAB، از برخی گروه‌های شیمیایی به منظور تبدلات شیمیایی و عامل‌دار کردن سطوح استفاده شد تا ذراتی با پوشش جدید و سمیت کمتر تولید شوند (۸). چندین مطالعه که بر روی نانوذرزات تثبیت شده با CTAB‌ها انجام شد، نشان داد که بیشتر آنها در سلول‌های کوپفر کبد تجمع می‌کنند و غلظت‌شان هم با گذشت زمان تغییری نمی‌کند. همچنین در پی تجمع این نانوذرزات در ارگان‌های دیگر سرعت پاک‌سازی بسیار آهسته است. علاوه بر این، نانوذرزات میله‌ای طلا در مغز هم می‌توانند دیده شوند که بدان معنی است که نانوذرزات میله‌ای با اندازه‌ای نزدیک ۲۰ نانومتر مشابه با نانوذرزات کروی طلا می‌توانند بر سد خونی- مغزی غالب شوند. اطلاعات نسبتاً کم و متناقضی در رابطه با سمیت نانوصدفا‌های (AuNSs) اصلاح نشده وجود دارد. طبق گزارش‌های رسیده برای این نانوذرزات در سلول‌های پرورستات انسان و سلول‌های سرطانی کبد سمیتی دیده نشده است. اما سمیت وابسته به مقدار دوز برای نانو صدفا‌های طلا- مس در غلظت‌های پایین در حین انجام آزمایش روی سلول‌های کلیه میمون آفریقایی دیده شده است. دانش ما هنوز در رابطه با توزیع زیستی نانوذرزات طلای صدفی بدون پوشش کامل نیست. برای اشکال دیگر نانوذرزات طلا، مانند نانوذرزات منشوری و ذرات مکعبی تحقیقاتی محدود به منظور کاربرد آنها در پزشکی در حال انجام است (۷). البته برای مقابله با اثرات سمیت ناخواسته نانوذرزات طلا فرضیات و تحقیقات جالبی نیز انجام شده است. برای مثال در یکی از این پژوهش‌های بسیار جالب، از ساخت ماشین از بین

۳- نقش نانوذرات طلا در تشخیص

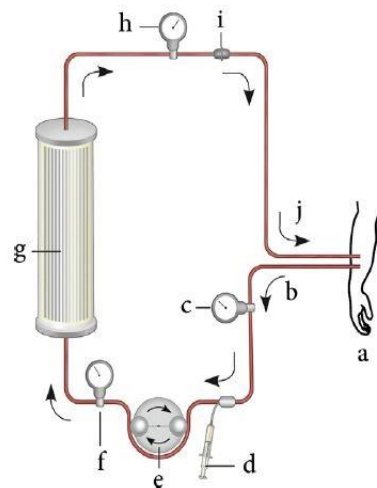
نانوذرات طلا در شناسایی و تشخیص عوامل زیستی و شیمیایی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. میکروسکوپ‌های الکترونی (عمدتاً میکروسکوپ الکترونی انتقالی، TEM^۲) با سابقه‌ای طولانی و با استفاده از ذرات کلوییدی طلا (به علت چگالی بالای الکترون) برای شناسایی برهمکنش‌های اختصاصی در سلول‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند. استفاده از ابزارهای با قابلیت تفکیک بالا (میکروسکوپ الکترونی انتقالی با قدرت تفکیک‌پذیری بالا^۳) و سیستم‌های دیجیتالی ثبت‌کننده و پردازش‌کننده تصاویر فقط نمونه‌هایی از کاربردهای پیشرفته تجهیزات میکروسکوپ الکترونی هستند. امروزه طیف‌سنجی الکترونی ایمنی^۴ در مطالعات پیشرفته پزشکی - زیستی برای شناسایی عوامل ایجادکننده بیماری‌های عفونی و آنتی‌ژن‌های سطحی آنها بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۳-ا). میکروسکوپ کاوشی پویشی (شکل ۳-ب)، میکروسکوپ الکترونی پویشی، میکروسکوپ فلئورسانس نیز بدین منظور بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳).

۴- نقش نانوذرات طلا در درمان

۴-۱- فتوداینامیک تراپی با استفاده از نانوذرات طلا

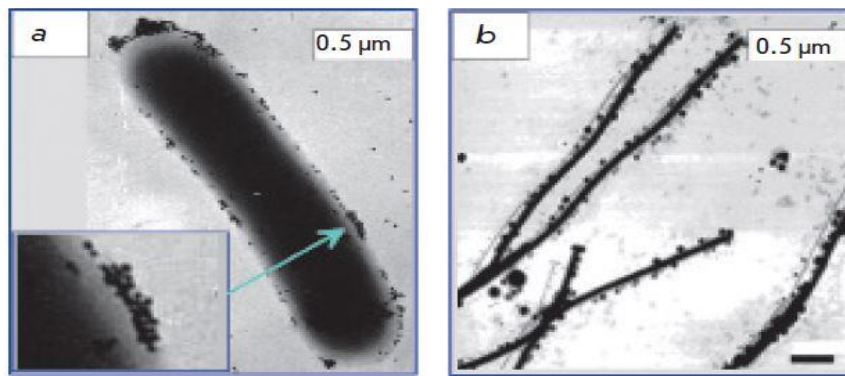
فتوداینامیک تراپی (۱۰) روشی است که برای درمان سرطان و یکسری بیماری‌های پوستی و عفونی معین به کار برده می‌شود و اساس آن استفاده از نور مرئی با طول موج مشخص و به‌کارگیری حسگرهای نوری مانند رنگ‌ها و پورفیرین‌ها است. یک دسته مجزا از داروهای ضد سرطان شامل حسگرهای نوری^۵ است که در درمان فتوداینامیک تراپی^۶ استفاده می‌شود. این روش درمانی بر مبنای ترکیبات حساس به نور بنا شده است که به منظور ایجاد سمیت برای سلول‌های سرطانی، از نور با طول موج مشخصی استفاده می‌شود.

برنده اثرات سمی طلا^۱ در بدن در حین درمان سرطان، مطالبی نقل شده است. روش کار این‌گونه بود که پس از گذشتن زمان مناسب برای حضور نانوذره طلا-آنتی‌بادی در خون، خون بیمار سرطانی تحت درمان از دستگاه NDM - دستگاهی شبیه دستگاه دیالیز بیماران کلیوی - گذارنده می‌شود. این دستگاه در هر دو طرف با یک لایه نفوذناپذیر از نانولوله‌ها پوشش داده شده است که نه تنها سطح وسیعی را برای تماس مستقیم با اجزای خون داراست بلکه آنتی‌ژن‌های اختصاصی سلول‌های سرطانی که به اجزای خون متصل هستند را نیز جذب می‌کند (شکل ۲) (۹). در نهایت هدف این دستگاه گرفتن نانو ذرات طلای آزاد از خون بیمار و جلوگیری از اثرات سمی ناخواسته آن در اندام‌های سالم است.



شکل ۲- طرح ساده‌ای از دستگاه NDM برای حذف نانوذرات آزاد طلا از جریان خون بیماران سرطانی تحت درمان. (a) بازوی بیمار (b) جریان خون شریانی بیمار که وارد دستگاه می‌شود. c. فشارسنج شریانی (d) تزریق هپارین به خون بیمار (e) پمپ خون (f) فشارسنج داخلی دستگاه (g) ستون بی‌حرکت‌کننده (تثبیت‌کننده) نانو ذرات طلا (h) فشارسنج سیاهرگی (i) شکاف هواگیر از جریان خون (برای از بین بردن جریان هوا در خون) (j) خون فاقد نانو ذرات طلا به بدن بیمار بازمی‌گردد (۹).

¹ NDM, Nanogold detoxifying machine
² Transmission electron microscopy
³ HRTEM
⁴ immune electron spectroscopy
⁵ Photosensitizers
⁶ PDT



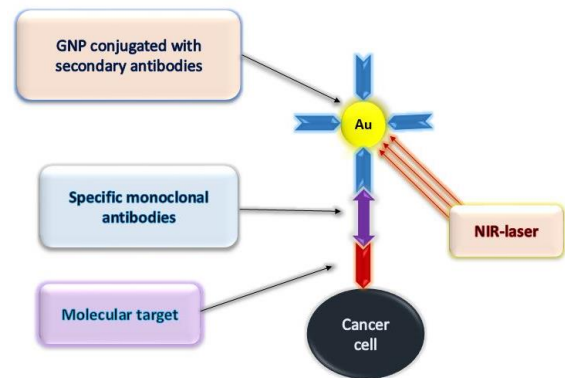
شکل ۳- تصویر TEM از سلول مونوسیتوژن باکتری لیستریا (a). و تصویر AFM از ویروس موزائیک تنباکو نشاندار با نانوذرات طلا کلوییدی متصل به آنتی‌بادی‌های مربوطه (b).

شدت فلئورسانس با ذرات پلاسماونی تقویت می‌شود در صورتی که مولکول‌ها در مطلوب‌ترین فاصله از ذرات فلزی قرار داشته باشند و این مسأله از لحاظ نظری برای افزایش کارایی PDT مطرح می‌شود. شماری از کارهای علمی به منظور ارسال دارو از کپسول‌های پلی‌الکترولیت بر روی نانو ذرات طلا استفاده کرده اند که این کپسول‌ها با تابش نور لیزر متلاشی می‌شوند تا عوامل تشخیصی درمانی به بافت‌های هدف خود ارسال شوند و نانوذرات طلا در نهایت مورد استفاده قرار گیرند. طبق داده‌های به دست آمده، نانوذرات متصل به رنگ‌های فتو داینامیک دارای اثرات ضد میکروبی سینرژتیک^۴ می‌باشند. همچنین نانوساختارهای طلا با رزونانس پلاسماونی^۵ کاندیدای نوید بخش برای درمان بیماری‌های سرطانی و ... به شمار می‌آیند (شکل ۴). یکی از اولین جنبه‌های القای مرگ سلول با واسطه تشعشعات، رادیولیز در محیط آبی است که موجب تولید رادیکال‌های آزاد و واکنشگرهای اکسیژن (ROS) است که با ترکیبات مختلف سلولی واکنش می‌دهند (۳). ROS ها شامل رادیکال‌های سوپر اکسید ($O_2^{\cdot-}$)، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسی (OH^{\cdot}) هستند که می‌توانند به طور مستقیم توسط واکنش با مولکول‌های بیولوژیک داخل بدن همچون پروتئین‌ها و نوکلئیک‌اسیدها و یا به طور غیر مستقیم با اعمال استرس اکسیداتیو، مرگ سلول را توسط آپوپتوز سلولی و نکروز القا کنند.

ایی قبیل عوامل تشخیصی- درمانی^۱ مانند رز بنگال یا فتالوسیانین که دارای بخش کروموفور (مولکول‌های حلقوی تراپیرولیک) هستند به واسطه پرتوافکنی، انرژی آنها به O_2 سلولی منتقل شده و اکسیژن تک ظرفیتی^۲ و گونه‌های رادیکال اکسیژن^۳ تولید می‌شود که برای ساختارهای سلولی بسیار سمی هستند (۱۱). حسگر نوری به طور عمومی به صورت داخل وریدی به بدن ارگانیزم زنده وارد می‌شود؛ البته به صورت خوراکی نیز می‌توان از آن استفاده کرد. این عوامل فتودینامیک‌تراپی پس از تزریق و یا وارد شدن به بدن، به صورت انتخابی در تومور و یا بافت‌های هدف تجمع می‌کنند. سپس بافت‌های مورد نظر تحت تابش نور لیزر با طول موجی که حسگر نوری جذب ماکزیمم دارد، قرار می‌گیرند. علاوه بر گرمای آزاد شده ناشی از جذب نور که اولین سازوکار فتو داینامیک‌تراپی است، دومین سازوکار نیز از اهمیت زیادی برخوردار است. دومین سازوکار مربوط به تولید اکسیژن تک ظرفیتی و تشکیل رادیکال‌های فعال به مقدار زیاد است که نکروز و آپوپتوز سلول‌های توموری را القا می‌کنند. PDT با بر هم زدن چرخه غذا رسانی به تومور و آسیب زدن به رگ‌های کوچک اطراف تومور، موجب مرگ آنها می‌شود. تنها نقطه تاریک و زیان‌آور در PDT این است که حسگر نوری به مدت طولانی در بدن موجود باقی می‌ماند و در نتیجه بافت‌های بیمار در این مدت همچنان به نور حساس هستند. نانوذرات فلزی، عوامل مؤثر خاموش‌کننده فلئورسانس هستند (۱۲). هرچند اخیراً نشان داده شده که

¹ Therapeutics
² Singlet oxygen
³ ROS
⁴ synergic
⁵ PPTT Plasmonic photothermal therapy

موجب می‌شود زمان و شدت کمتری از اشعه لیزر در طول درمان استفاده شود. ناحیه NIR برخلاف ناحیه مرئی به علت داشتن طول موج‌های بلند نور که توانایی نفوذ به درون بافت‌های زنده را دارند بسیار حائز اهمیت است. کاربرد نانوذرات طلا در فوتوترمال تراپی با توجه به اندازه، شکل و ساختار آنها تعیین می‌شود که به شدت جنبه‌های مختلف فوتوترمال تراپی را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. به همین جهت نانومیله‌های طلا برای استفاده پیشرفته در فوتوترمال تراپی مناسب به نظر می‌رسند زیرا امکان تغییر طول و پهنای آنها وجود دارد بنابراین؛ امکان تغییر در باندهای جذب و نشر از ناحیه مرئی به مادون قرمز وجود دارد. مسأله‌ای که مهم است گرمای سریع نانوذرات طلا است که موجب تشکیل حباب‌های بخار می‌شود که علاوه بر سوراخ کردن سلول با تابش نور مرئی و یا مادون قرمز نزدیک به سلول موجب آسیب و یا مرگ سلول می‌شود. ظرفیت تشکیل حباب‌های بخار با تجمع نانوذرات افزایش می‌یابد (۷). اولین مطالعه که در آن از نانوذرات طلا برای اهداف فوتوترمال تراپی استفاده شده بود توسط هیرش^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شد. آنها از نانوصدق‌های طلای کامپوزیت شده با سیلیکای اصلاح شده با PEG که در محدوده ۸۲۰ نانومتر دارای یک پیک جذب بود استفاده کردند. با انکوباسیون سلول‌های اپیتلیالی سرطان پستان انسانی (BR-3) با ترکیبات سنتزی ذکر شده و سپس پرتو افکنی به آنها، تخریب سلول‌های سرطانی افزایش پیدا کرد. در مقابل، سلول‌های تیمار نشده با این ترکیبات نیز در همین شرایط قرار گرفتند، اما از نظر زیستی تغییری در آنها دیده نشد. علاوه بر آن، مطالعات *in vivo* نشان داد که تومورهای جامدی که در معرض نانوذرات صدفی طلا و دوزهای پایین پرتو مادون قرمز نزدیک قرار گرفتند، دمای قابل ملاحظه‌ای را تولید کردند که به موجب آن قابلیت آسیب به بافت تومور، به طور برگشت‌ناپذیری بالا رفت (۱۴). در همین گونه مطالعات و در سرطان کولون مدل‌های زئوگرافت موشی، حذف کامل تومور در اثر تیمار با نانوصدق‌های طلا/سیلیکای پوشیده شده با PEG و سپس تابش دهی به آن، حاصل گشت (۷). شکل ۵ نمونه‌ای از درمان فوتوترمال تراپی برای موش سرطانی را نشان می‌دهد که توسط نانو لوله‌های طلا و اشعه لیزر اعمال شده است.

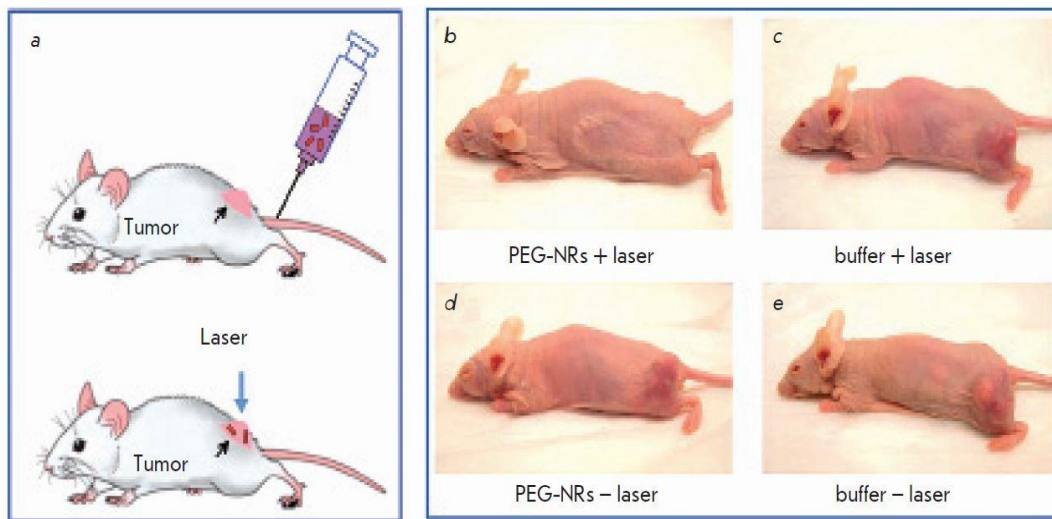


شکل ۴- تصویری شماتیک از پلاسمون فوتوترمال تراپی با ارسال هدفمند نانوذرات طلا به سلول‌های سرطانی، اقتباس شده از (۳).

۴-۲- فوتوترمال تراپی با استفاده از نانوذرات طلا

به علت ویژگی‌های منحصر به فرد نانوذرات طلا مانند جذب و نشر پرتوهای الکترومغناطیسی، آنها در کاربردهای فوتوترمال تراپی (PTT) از محبوبیت ویژه‌ای برخوردارند. این استراتژی درمانی از پرتوهای الکترومغناطیسی برای تولید گرما به منظور تخریب حرارتی سلول‌های سرطانی استفاده می‌کند. این فرآیند حرارتی، هم به صورت گرمایش موضعی و هم هیپرترمی کل بدن، از قرن ۱۸ برای درمان تومور مورد استفاده قرار گرفته است. این هیپرترمی موضعی و عمومی، موجب نابودی غشای سلولی و دنا توره شدن پروتئین‌ها و در نهایت مرگ سلول می‌شود. متأسفانه در طول این فرآیند سلول‌های سالم هم در معرض آسیب قرار می‌گیرند که اصلی‌ترین اشکال فوتوترمال تراپی و مانع بزرگی در کاربردهای بالینی آن است. این مشکل تا حدودی توسط اشعه لیزر که موجب تخریب دقیق و کنترل‌شده بافت‌های سرطانی می‌شود بر طرف شده است (۱۳). اثرگذاری PTT به وسیله به کارگیری ترکیبات در مقیاس نانو که سبب می‌شود مقدار بیشتری از نور به گرما تبدیل شود، چشمگیرتر خواهد بود. بدین منظور عوامل تشخیصی درمانی با استفاده از مواد نانو مقیاس مختلف همچون نانو کربن‌ها، فلزات واسطه، ترکیبات سولفیدی و اکسیدی و ترکیبات آلی به وفور مورد آزمایش قرار گرفتند. نانوذرات طلا با شکل‌های متنوع دارای جذب بالا در گستره وسیعی از طیف‌های ناحیه UV تا مادون قرمز نزدیک (NIR) هستند. همچنین نانوذرات طلا نسبت به رنگ‌های مرسوم مقاطع جذبی بالایی دارند که

¹ Hirsch



شکل ۵- فتوترمال‌تراپی در موش دارای تومور، ۲-۳ هفته پس از تزریق سلول‌های سرطانی MDA-MB-435 انسانی به پهلوهای موش (a) تصویر شماتیک (b) تاباندن اشعه لیزر به مدت ۵ دقیقه، ۷۲ ساعت بعد از تیمار موش با نانوذرات طلای اصلاح شده با پلی اتیلن گلیکول (c) تاباندن اشعه لیزر به موش تیمار شده با بافر سالین (d) موش تیمار شده با نانوذرات طلا اصلاح شده با PEG بدون تاباندن اشعه لیزر (e) موش تیمار شده با بافر سالین بدون تاباندن اشعه لیزر (۳).

تهاجم برای بیمار می‌باشد. به دلیل قابلیت نانوذرات طلا در جذب اشعه X با قرار گرفتن در سلول‌های توموری، وقتی در میدان رادیو فرکانس خارجی قرار می‌گیرند، به عنوان مولکول‌های هدف برای افزایش تولید گرما به کار می‌روند که به این ترتیب نابودی سلول‌های سرطانی را موجب می‌شوند.

۳-۴- نقش نانوذرات طلا در درمان رادیو فرکانس^۱

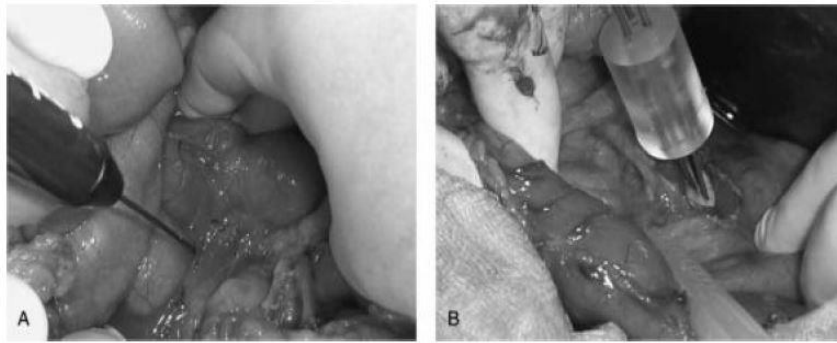
ریشه‌کنی رادیو فرکانس (RFA) یکی از روش‌های درمان سرطان با کمترین تهاجم است که از طریق تولید گرما با تغییرات ملایم جریان فرکانس موجب تخریب بافت‌های توموری می‌شود. در طول فرآیند RFA پروب‌های شبه سوزنی به داخل بافت توموری الحاق می‌شوند و با افزایش دما در نهایت موجب تخریب بافت توموری می‌شوند (شکل ۶). RFA به‌ویژه برای درمان تومورهای اولیه و همچنین متاستاتیک با اندازه کوچک در ریه‌ها، کبد و کلیه‌ها سودمند است. برای درمان سرطان پانکراس و مجرای صفراوی نیز از این روش درمانی استفاده می‌شود.

همانطور که در شکل ۵-b مشاهده می‌شود تزریق نانولوله‌های طلای اصلاح شده با PEG و تاباندن اشعه لیزر به مدت ۵ دقیقه پس از گذشت ۷۲ ساعت از تزریق، موجب از بین رفتن تومور شده است (۳).

چرخه سلولی، یکی از مهم‌ترین جنبه‌های تعیین‌کننده حساسیت سلول‌ها به پرتو است. در حالی که سلول‌ها در اواخر فاز G₂ و میتوز به پرتو خیلی حساس هستند در اواخر فاز S در برابر پرتوها مقاومت زیادی نشان می‌دهند. با فعال شدن چک پوینت‌های چرخه سلولی، سلول‌ها با تأخیر بیشتری فازهای G₁، S و G₂ را می‌گذرانند که این موجب فعال شدن پاسخ سلول‌ها در برابر آسیب به DNA ناشی از پرتو IR است که با ممانعت و یا آهسته‌تر کردن پیشروی چرخه سلول، محتوای ژنگانی (genomic) خود را در آسیب‌های ناشی از پرتو با موفقیت حفظ می‌کنند و یا در صورت تعمیر ناموفق DNA فرآیند مرگ سلول فعال می‌شود. نانوذرات طلا با دارا بودن خصوصیات فیزیکوشیمیایی متنوع، موجب نابودی چرخه سلولی می‌شوند (۱۵).

همچنین نابودی سلول‌های سرطانی، توسط فرکانس رادیویی از دیگر روش‌های از بین بردن تومور با کمترین ریسک و

¹ Radiofrequency ablation



شکل ۶- (a) موبیلیزاسیون کوچر و درمان RFA برای تومور ابتدای پانکراس. (b) RFA با الکترودهای دسته‌ای برای تومور پانکراس (v).

به شدت به فرکانس پرتو مورد استفاده بستگی دارد، همچنانکه اندازه و شکل نانوذرات طلا در آن بسیار مهم است (۷). در درمان‌های سرطان بر مبنای رادیو فرکانسی، نانوذرات کروی بیشتر مطالعه شده‌اند. این نانوذرات برای چندین محیط کشت سلول‌های انسانی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. پس از قرارگیری در میدان رادیو فرکانس، میزان مرگ سلول‌ها افزایش یافت که ناشی از تخریب ساختارهای داخل سلولی القا شده توسط گرما بود. علاوه بر آن افزایش قابل توجه دما و آسیب ناشی از آن در مدل‌های رت تیمار شده با نانوذرات طلا و قرار گرفتن در معرض میدان RF با قدرت ۳۵ W این نتایج را اثبات کرد (۱۶). به منظور ارسال هدفمند نانوذرات طلا، آنها به ستوکسیمب که یک آنتی‌بادی اختصاصی برای رسپتور EGF (EGFR) است متصل شده تا نابودی رادیو فرکانسی در هر دو محیط برون تنی و درون تنی ارزیابی گردد (شکل ۶). نتایج نشان داد که نانوذرات طلا به سرعت وارد سلول‌های سرطانی بیان‌کننده رسپتور فاکتور رشد اپیدرمی شده و پس از قرار گرفتن در معرض RF، در نهایت مرگ سلولی القا شده در اثر گرما به طور کامل مشاهده شد. در مقابل، سلول‌هایی که بیان‌کننده رسپتور فاکتور رشد نبودند، تخریبی در آنها مشاهده نشد (۱۷). این نتایج توسط مدل‌های مورد آزمایش به صورت درون تنی نیز اثبات شد. تومور زئوگرافت پانکراس در موش‌های مبتلایی که با نانوذرات متصل به آنتی‌بادی ستوکسیمب تیمار شده بودند، در معرض میدان رادیو فرکانس قرار گرفتند و سپس اندازه تومور، میزان نکروز در آنها و سطح کاسپاز ۳

درمان رادیو فرکانس با حداقل تهاجم، بدون برش پوست و اجرای آسانتر در مقایسه با عمل جراحی به عنوان یک روش سودمند مطرح است. این روش نسبتاً امن است و برای بیماران در سراسر طول درمان، کمترین ریسک را دارد زیرا به طور مستقیم ماهیچه‌های قلبی و اعصاب را تحریک نمی‌کند و بنابراین بدون داروی بیهوشی انجام می‌شود. امکان انجام این روش چند باره، (برای درمان سرطان‌های بازگشت پذیر و یا تومورهایی که حذف شان مشکل است و یا انجام عمل جراحی برای آن ممکن نیست) وجود دارد. از محدودیت کاربرد RFA به الزام و اهمیت تعیین سوزن صحیح و اندازه تومور و محل آن، ناکافی بودن تخریب بافت‌های توموری (۴۰٪ - ۵٪) و اختصاصی بودن ناکافی می‌توان اشاره کرد. بنابراین روش‌های غیر مهاجم و دقیق برای گرمایش موضعی القایی رادیو فرکانس مورد نیاز است. به دلیل قابلیت نانوذرات طلا در جذب اشعه X، با قرار گرفتن در سلول‌های توموری، وقتی در میدان رادیو فرکانس خارجی قرار می‌گیرند، به عنوان مولکول‌های هدف برای افزایش تولید گرما به کار می‌روند. نور مرئی و مادون قرمز نزدیک دارای قابلیت القای رزونانس پلاسمونی سطحی در نانوذرات طلا می‌باشند که تحریک‌کننده گرمایش فتو ترمال با مکانیسم‌های ذکر شده می‌باشد. اگر چه در مورد تابش دهی رادیو فرکانس، مکانیسم گرمایش افزایش یافته به وسیله نانوذرات به درستی مشخص نشده است، تا کنون سه حالت برای آن در نظر گرفته شده است: گرمایش استنتاجی، گرمایش مغناطیسی و گرمایش الکتروفوریتیک. هر مکانیسم

¹- Selectivity
²- Cetuximab

کلوییدی بر پاسخ ایمنی غیر اختصاصی به دست آمده است. به خصوص که ۲ ساعت پس از تزریق ۵ میلی‌لیتر از طلای کلوییدی به صورت داخل سیاهرگی به خرگوش، محتوای لوکوسیتی در ۱ میلی‌لیتر خون به میزان قابل توجهی افزایش یافت (از ۹۹۰۰ به ۱۹۸۰۰). در مقابل فرم‌های تک‌هسته‌ای دارای کاهش ناچیز (از ۵۲۰۰ به ۴۹۰۰) و فرم‌های چند هسته‌ای دارای افزایش قابل توجهی (از ۴۷۰۰ به ۱۴۹۰۰) بودند. باید توجه داشت که این نتایج پس از تزریق فلزات کلوییدی دیگر مشاهده نشدند. به هر حال با توسعه ایمونولوژی و نفی برخی از ابعاد تئوری بوردت، علایق محققان به ویژگی‌های ایمونولوژیک کلویدها، کاهش خواهد یافت. هر چند تحقیقات در مورد تقویت پاسخ ایمنی به وسیله آنتی‌ژن‌های جذب شده به ذرات کلوییدی با طراحی ادجوانت‌های^۳ مختلف (ترکیبات مؤثر در افزایش ایمونوژنسیته ایمونوژن‌های ضعیف) ادامه دارد. امروزه اثبات شده است که ساخت آنتی‌بادی توسط عواملی مانند پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها و پلیمرهای سنتزی معین با ساختارهای گسترده و ایمونوژنسیته بالا، افزایش می‌یابد. در مقابل بخش بزرگی از ترکیبات فعال بیولوژیک (ویتامین‌ها، هورمون‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها، مسکن‌ها و ...) با وزن مولکولی پایین، فقط قادر به تحریک ضعیف پاسخ ایمنی هستند. برای غلبه بر این محدودیت با روش‌های استاندارد می‌تواند برای تولید آنتی‌بادی در محیط *in-vivo* استفاده می‌شود، عواملی مانند هاپتن‌ها به طور شیمیایی به حامل‌هایی با وزن مولکولی بالا (غالباً پروتئین‌ها) متصل می‌شوند که امکان تولید آنتی‌سرم‌های اختصاصی را فراهم می‌کنند. هر چند چنین آنتی‌سرم‌هایی غالباً دارای آنتی‌بادی‌هایی در برابر ساختارهای آنتی‌ژنیک حامل‌ها هستند (۳). در سال ۱۹۸۶ مطالعه‌ای توسط محققان ژاپنی (۲۱) انجام شد که داده‌های موفقیت‌آمیزی از تولید آنتی‌بادی در برابر گلوتامیک اسید با استفاده از ذرات کلوییدی طلا به عنوان حامل منتشر شد. تحقیقات دیگری با همین روش متعاقباً انجام شد که برای تولید آنتی‌بادی برای هاپتن‌ها و آنتی‌ژن‌های سخت: مانند آمینواسیدها، فاکتور فعال‌کننده پلاکت، کواینولینیک اسید، بیوتین، پپتیدهای نوترکیب، لیزوفسفاتید اسید، اندواستاتین، پپتیدهای کپسید و ویروس‌های هپاتیت B و C، آنفلونزا، پپتیدهای a- آمینه، اکتین، آنتی‌بیوتیک‌ها، آزو بنزن،

تقسیم‌شده، ارزیابی گردید. بافت‌های توموری زئوگرافت به طور قابل ملاحظه‌ای پس از قرار گرفتن در معرض میدان رادیو فرکانس، تخریب شده بودند بدون اینکه به بافت‌های سالم آسیبی برسد. همچنین افزایش سطح کاسپاز ۳ تقسیم شده و نکروز در موش‌های تیمار شده مشاهده شد (۱۸).

۴-۴- نقش نانوذرات طلا در ارسال دارو

به طور کلی داروهای ضد سرطانی، بر اساس مرحله‌ای خاص از چرخه‌ی سلولی (نابودی سلول‌های در حال تکثیر، اغلب در طول مرحله‌ای خاص از چرخه سلولی) و یا غیر اختصاصی برای چرخه سلولی (با داشتن اثر برابر بر روی سلول‌های سرطانی و نرمال صرف نظر از مرحله رشد یا میزان تقسیم) طبقه‌بندی می‌شوند. این داروها شامل عوامل آلکیل‌کننده، فلزات سنگین (موجب ایجاد کراس-لینک در پایه DNA که مانع همانندسازی DNA و القای آپوپتوز می‌شود)، آنتی‌متابولیت‌ها، آنتی‌بیوتیک‌های سایتوتوکسیک و مهارکننده‌های آنزیم توپوایزومراز می‌باشند (۱۹).

۵- ویژگی‌های ایمونولوژیک نانوذرات طلا

از سال ۱۹۲۰ محققان برای پی بردن به ویژگی‌های ایمونولوژیک فلزات کلوییدی (به خصوص طلا) علاقه زیادی نشان دادند. خصوصیات ایمونولوژیک طلا احتمالاً مربوط به ایمونوژنسیته ناشی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی (غیر اختصاصی) بود که توسط آقای بودت^۱ مطرح شد که ادعا داشت خصوصیت ایمونوژنیک و آنتی‌ژنیک عمدتاً بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی ترکیبات و در درجه نخست به حالت کلوییدی آنها وابسته است. زیلبر^۲ هم پس از تلاش فراوان موفق به آگلوتینه کردن (هم‌چسبی، اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن نامحلول و تشکیل رسوب و یا لخته) سرم با استفاده از طلای کلوییدی شد (۲۰). علاوه بر آن تعدادی از تحقیقات نشان داده‌اند که آنتی‌ژن‌های سخت به همراه فلزات کلوییدی تولید آنتی‌بادی در بدن را تحریک می‌کنند. همچنین تعدادی از هاپتن‌ها با اتصال به ذرات کلوییدی قادر به تحریک تولید آنتی‌بادی هستند. در یکی از بهترین مطالعات انجام شده، اطلاعات مفیدی از اثر طلای

¹ Bordet
² Zilber
³ Adjuvant

نانوذرات طلا فقط محدود به یک روش نیست و علاوه بر فوتوترمال‌تراپی، فوتودینامیک‌تراپی و نابودی با فرکانس رادیویی روش‌های متنوعی برای بسط تحقیقات وجود دارد. هرچند هنوز گزارش‌های دقیقی از ساز و کار عمل نانوذرات طلا در این حوزه وجود ندارد و تحقیقات بیشتری باید انجام شود که ناشی از تفاوت در مدل‌های *in-vivo* و *in-vitro* تفاوت در پروسه آزمایش و دوزهای اعمال شده و شیوه سنتز می‌باشد. تجمع احتمالی نانوذرات طلا و تشخیص مشکل آن بدون استفاده از نشاندارسازی، موانع متعددی را در تفسیر نتایج آزمایشگاهی ایجاد می‌کند. به خصوص ترکیباتی که برای پوشش‌دهی و عامل‌دار کردن نانوذرات طلا استفاده می‌شوند به دلیل اثرات جانبی احتمالی و یا ایجاد سمیت در ارگانیسم‌های زنده باید به طور کامل آزمایش شوند. ارزیابی سازگاری زیستی نانو ذرات طلا نه فقط از لحاظ سمیت بلکه در فرآیندهای داخل سلولی بسیار حائز اهمیت است. در حال حاضر این مسأله پذیرفته شده است که ترکیبات متصل به نانوذرات طلا از عوامل نشاندار عالی برای حل مشکلات در تصویربرداری هستند که با استفاده از تکنولوژی‌های نوری متنوع شامل میکروسکوپ زمینه تاریک با تفرق رزونانسی، میکروسکوپ لیزری کانفوکال، توموگرافی نوری کوهرن و... می‌توانند اجرا شوند. ارسال هدفمند دارو، DNA، آنتی‌ژن‌ها و... چشم‌اندازهایی هستند که محققان بسیار به نقش نانوذرات طلا در آن امیدوارند.

پپتیدهای -AB، آنتی‌ژن‌های سطحی یرسینیا، ویروس‌های مسری گوارشی (اسهال و استفراغ) و توبرکولین این روش به کار گرفته شد (۲۲،۲۳).

۶- نتیجه‌گیری

نانوذرات طلا به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد، به عنوان یکی از محبوب‌ترین ترکیبات در کاربردهای پزشکی به خصوص در درمان‌های ضد سرطانی مطرح شده‌اند. بسیاری از روش‌های سنتز نانوذرات طلا به ما این امکان را می‌دهند که آنها را با معماری و مشخصات دلخواه به دست آوریم. علاوه بر آن قابلیت آنها در عامل‌دار شدن و اصلاح سطح، دسترس پذیری زیستی و خصوصیات ایمونولوژیک موجه آنها، از دیگر دلایل استفاده آنها در حوزه پزشکی است. با استفاده از حامل‌هایی مانند نانوذرات طلا می‌توان خصوصیت آنتی‌ژنیک آنتی‌ژن‌های ضعیف را افزایش داد تا با تحریک سیستم ایمنی در بدن پاسخ ایمنی ایجاد شود. ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی فراوان و متنوع نانوذرات طلا، آنها را از نانوذرات دیگر مجزا کرده است و به خصوص در ارسال دارو، تعدیل و تنظیم فرآیند آنژیوژنز و به عنوان عوامل نابود کننده بافت توموری در شرایط القای گرما می‌توان به آنها امیدوار بود. نابودی تومور با استفاده از

منابع

1. Dykman, L., Khlebtsov, N., (2017) *Gold nanoparticles in biomedical applications*. 2017: CRC Press.
2. Rodriguez, S., Vanderford, N. L., Huang, B., & Vanderpool, R. (2018). *A social-ecological review of cancer disparities in Kentucky*. Southern medical journal, 111(4), 213..
3. Dykman, L. and N. Khlebtsov, (2011) *Gold nanoparticles in biology and medicine: recent advances and prospects*. Acta Naturae (انگلیزبانه نسخه)، 32 (9).
4. Mie, G., (1976) *Contributions to the optics of turbid media, particularly of colloidal metal solutions*. Contributions to the optics of turbid media, particularly of colloidal metal solutions Transl. into ENGLISH from Ann. Phys.(Leipzig), 25(3), 377-445..
5. Faulk, W.P., Taylor, G.M., (1971) *Communication to the editors: an immunocolloid method for the electron microscope*. Immunochemistry, 8(11), 1081-1083.
6. Chen, M., He, Y., Liu, X., Zhu, J., & Liu, R. (2017). *Synthesis and optical properties of size-controlled gold nanoparticles*. Powder technology, 311, 25-33.
7. Sztandera, K., Gorzkiewicz, M., B. Klajnert-Maculewicz, B., (2018) *Gold nanoparticles in cancer treatment*. Molecular pharmaceutics, 16(1), 1-23.
8. Wang, S., Lu, W., Tovmachenko, O., Rai, U. S., Yu, H., & Rav, P. C. (2008). *Challenge in understanding size and shape dependent toxicity of gold nanomaterials in human skin keratinocytes*. Chemical physics letters, 463(1-3), 145-149.
9. Bonjar, L.S., (2013), "Nanogold detoxifying machine" to remove idle nanogold particles from blood stream of cancer patients treated with antibody-nanogold therapeutics. Medical hypotheses, 80(5), 601-605.

10. Wilson, B.C., (2010), *Photodynamic Therapy/Diagnostics: Principles, Practice, and Advances*, in *Handbook of Photonics for Biomedical Science.*, CRC Press. 685-722.
11. Klajnert, B., Rozanek, M., Bryszewska, M., (2012) *Dendrimers in photodynamic therapy*. *Current medicinal chemistry*, . (19)29,4903-4912.
12. Lakowicz, J. R., Rav, K., Chowdhury, M., Szmajcinski, H., Fu, Y., Zhang, J., & Nowaczyk, K. (2008). *Plasmon-controlled fluorescence: a new paradigm in fluorescence spectroscopy*. *Analyst*, 133(10), 1308-1346.
13. Zou, L., Wang, H, He, B, Zeng, L, Tan, T, Cao, H, Zhang, Z, Guo, S, Li, Y., (2016) *Current approaches of photothermal therapy in treating cancer metastasis with nanotherapeutics*. *Theranostics.* 6(6), 762.
14. Hirsch, L. R., Stafford, R. J., Bankson, J. A., Sershen, S. R., Rivera, B., Price, R. E., ... & West, J. L. (2003). *Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(23), 13549-13554.
15. Her, S., Jaffray, D.A. Allen, C., (2017), *Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: Mechanisms and recent advancements*. *Advanced drug delivery reviews*, 109, 84-101.
16. Cardinal, J., Chory, E., Klune, J., Icli, T., Kanzius, J., & Geller, D. (2008). 158. *Non-Invasive Radiowave Ablation of Cancer Targeted by Gold Nanoparticles*. *Journal of Surgical Research*, 144(2), 247.
17. Glazer, E. S., Massey, K. L., Zhu, C., & Curley, S. A. (2010). *Pancreatic carcinoma cells are susceptible to noninvasive radio frequency fields after treatment with targeted gold nanoparticles*. *Surgery*, 148(2), 319-324.
18. Glazer, E. S., Zhu, C., Massey, K. L., Thompson, C. S., Kaluarachchi, W. D., Hamir, A. N., & Curley, S. A. (2010). *Noninvasive radiofrequency field destruction of pancreatic adenocarcinoma xenografts treated with targeted gold nanoparticles*. *Clinical Cancer Research*, 16(23), 5712-5721.
19. Payne, S., Miles, D., (2008), *Mechanisms of anticancer drugs*. *Scott-Brown's Otorhinolaryngology: Head and Neck Surgery* 7Ed: 3 volume set, 134.
20. Zilber, L., W. Friese, W., (1929), *Über die antigene Eigenschaften kolloidaler Metalle*. *Zh. Eksp. Biol*, 11(12) 8-13.
21. Shiosaka, S., Kiyama, H., Wanaka, A., & Masaya, T. (1986). *A new method for producing a specific and high titre antibody against glutamate using colloidal gold as a carrier*. *Brain research*, 382(2), 399-403..
22. Dvkman, L. A., Staroverov, S. A., Bogatvrev, V. A., & Shchyogolev, S. Y. (2010). *Adjuvant properties of gold nanoparticles*. *nanotechnologies in russia*, 5(11), 748-761.
23. Mulens-Arias, V., Nicolás-Boluda, A., Pinto, A., Balfourier, A., Carn, F., Silva, A. K., Gazeau, F. (2021), *Tumor-Selective Immune-Active Mild Hyperthermia Associated with Chemotherapy in Colon Peritoneal Metastasis by Photoactivation of Fluorouracil-Gold Nanoparticle Complexes*. *ACS nano*, 15(2), 3330-3348.