

Złoto – właściwości fizykochemiczne i zastosowania medyczne

Gold – physicochemical characteristic and medical applications

AGATA KOŁODZIEJ^{1,2/}, ANDRZEJ ŚLĘZAK^{1/}

^{1/} Zakład Procesów i Systemów Biomedycznych, Instytut Nauk o Zdrowiu i Żywieniu, Politechnika Częstochowska

^{2/} studentka, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Bogata historia złota sięgająca tysiącleci i odkrywane na nowo możliwości wielorakiego wykorzystania tego metalu, zwłaszcza w kilku gałęziach medycyny oraz farmakologii przykuwają uwagę naukowców z całego świata. Prowadzi się coraz więcej badań nad potencjalnym zastosowaniem złota w postaci nanocząstek (GNPs), zwłaszcza w leczeniu nowotworów. Każdego roku pojawiają się kolejne wyniki eksperymentów porównujących właściwości różnych form nanocząstek i ich modyfikacji. Być może już wkrótce uda się opracować taką formę złota, która będzie w pełni bezpieczna jako lek i pomoże skutecznie zwalczać choroby, wobec których ludzkość jest nadal w dużej mierze bezsilna. Praca ta stanowi zbiór informacji dotyczących związków złota z medycyną poczynwszy od czasów zamierzonych do współczesnych.

Rich history of gold going back thousands of years and current rediscovering of various possibilities of its use, especially in some medical and pharmaceutical branches, focus attention of scientists worldwide. More and more studies on the potential of gold nanoparticles (GNPs) in cancer therapies are conducted. The results of experiments in comparing properties of different nanoparticle forms and their modifications emerge every year. Maybe it will be possible soon to create a form of gold which would be completely safe as a medicine and could eliminate illnesses which mankind is still largely helpless to cure. This paper is an information set concerning connections between gold and medicine since ancient times until now.

Key words: gold, medicine, nanostructures, pharmacology, neoplasms

Słowa kluczowe: złoto, medycyna, nanostruktury, farmakologia, nowotwory

© Probl Hig Epidemiol 2018, 99(2): 122-133

www.phie.pl

Nadesłano: 20.09.2017

Zakwalifikowano do druku: 10.04.2018

Adres do korespondencji / Address for correspondence

mgr farm. Agata K. Kołodziej
Zakład Procesów i Systemów Biomedycznych
Instytut Nauk o Zdrowiu i Żywieniu, Politechnika Częstochowska
al. Armii Krajowej 36b, 42-201 Częstochowa
tel. 503 50 79 68, e-mail: akm.kolodziej@gmail.com

Wprowadzenie

Złoto (Au; łac. *aurum*) – pierwiastek, który wprowadził na manowce wielu z jego najdumniejszych posiadaczy, już w starożytności było wysoko cenionym kruszcem [1-3]. Wzmianki o nim można znaleźć nawet w Biblii, gdyż znalazło się pośród darów przyniesionych Jezusowi przez Trzech Króli [1]. Złoto jest jednym z najstarszych, a zarazem najszlachetniejszych materiałów stosowanych w medycynie [2, 4-6]. Należy do miedziowców (grupa IB/11 układu okresowego) i jest zaliczane do metali szlachetnych [7] z uwagi na chemiczną bierność, jaką wykazuje wobec kwasów, zasad, a nawet silnych utleniaczy [2, 8]. Rozpuszczeniu ulega w mieszaninie stężonych kwasów azotowego (V) i solnego – w tzw. wodzie królewskiej [8]. Ze względu na regularność sieci przestrzennej atomów, złoto jest metalem wykazującym dobre przewodnictwo cieplne i elektryczne [7]. W przyrodzie występuje zwykle w stanie rodzimym, rzadko w postaci tellurku i najczęściej towarzyszy kwarcowi [8]. Duże ilości złota

znajdują się w wodzie morskiej, lecz w znacznym rozcieńczeniu (10^{-3} - 10^{-5} mg/m³). Znany jest tylko jeden trwały izotop złota – ¹⁹⁷Au [7]. Odległości między atomami tego pierwiastka wynoszą 2,89 Å, a długość jego promienia jonowego ma wartość 62 pm [9]. Możliwe stopnie utlenienia wahają się między -I a +V, najczęściej jednak występuje +I i +III [5]. Jony Au⁺ oraz Au³⁺ mogą występować w roztworach jedynie w postaci skompleksowanej, inaczej ulegają redukcji do postaci metalicznej [8]. W ludzkim organizmie pierwiastek ten jest obecny w ilości ok. 2,4 mg, co równa się stężeniu 0,17 μM/L [2, 10]. Złoto znalazło zastosowanie w wielu nowoczesnych technikach badawczych i diagnostyce medycznej [11-17], w inżynierii genetycznej [17, 18], a od lat jest wykorzystywane w terapii rozmaitych schorzeń [17, 19, 20], w tym nowotworów [4, 21-23].

Zwiększające się w ciągu ostatnich dekad ponowne zainteresowanie złotem ze względu na jego unikatowe właściwości optyczne i coraz szersze możliwości

zastosowania w medycynie, a także w sektorach pozamedycznych sugeruje, że warto zapoznać się z historią tego szlachetnego metalu. Praca ta powstała celem omówienia i podsumowania roli, jaką złoto odegrało w dziejach medycyny oraz szerokiach możliwości jego wykorzystania.

Właściwości złota i jego zastosowanie

Historyczne znaczenie złota

Historia złota sięga starożytności. W dawnych wiekach wierzono w magiczne właściwości złota. Stanowiło element świętych ceremonii [1], a także znajdowało zastosowanie w medycynie [1, 4, 5, 24-26], gdyż przypisywano mu zdolność podnoszenia sił witalnych organizmu, przeciwdziałanie melancholii i wszelkim zniechęceniom oraz korzystny wpływ na funkcjonowanie gruczołów skórnych i pracę nerek [1]. Złoto odegrało wielką rolę w dziejach alchemii [1, 6], ale dopiero z początkiem XX w. zaczęto udowadniać jego korzystne właściwości i możliwość zastosowania w leczeniu niektórych jednostek chorobowych [1, 2, 4, 6]. Farmakologia i metabolizm złota są niezwykle złożone i zależą m.in. od jego stopnia utlenienia [2].

Odkrycie leczniczych właściwości złota; leczenie gruźlicy i reumatoidalnego zapalenia stawów

W 1890 r. Robert Koch odkrył przeciwgruźlicze oraz bakteriostatyczne właściwości złota [1, 4-6], a w 1935 r. francuski internista Jacques Forestier po raz pierwszy zastosował sole złota jako leki [5], które okazały się skuteczne w terapii gruźlicy oraz reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS) [1, 2, 4-6, 27]. W tym drugim przypadku złoto polecane było głównie w przebiegu postępującym, a także w chorobie Stila (młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów) [1]. Terapia złotem okazywała się bardzo efektywna u części pacjentów, lecz nie u wszystkich dawała wymierne korzyści. Co więcej, relatywnie często występowały działania niepożądane [27, 28], choć zwykle przewlekłe. Pierwsze efekty leczenia także pojawiały się dopiero po dłuższym czasie, nieraz nawet po kilku miesiącach od pierwszego podania leku [29]. W terapii RZS znalazły zastosowanie przede wszystkim tiojabłczan sodowy złota (miokryzyna) [1, 30] i tiosiarczany złota, podawane dożylnie lub domięśniowo [30] w dawkach 10-150 mg oraz podawany doustnie kompleksowy związek złota – auranofina [29] i właśnie te związki okazały się najbardziej skuteczne [27, 29, 30]. Auranofina jest mniej toksyczna niż wspomniane sole złota, ale posiada też nieco słabsze działanie lecznicze oraz wykazuje efekt przeciwszczający [29]. Złoto koloidalne miało zdecydowanie gorsze parametry, co udowodniono w badaniach porównawczych. Poza tym, preparaty złota koloidalnego wykazywały bardzo zróżnicowane działania u różnych

pacjentów [27, 29, 30]. Po podaniu *p.o.* oraz *i.m.* stężenie złota w osoczu krwi było stosunkowo niskie [30]. Po podaniu soli krystalicznych złoto było obecne we krwi pacjentów jeszcze przez kilkanaście tygodni od wstrzyknięcia. Stężenie pierwiastka w mazi stawowej osiągało zbliżone wartości jak w osoczu [19, 27]. Eliminacja złota zachodziła głównie przez nerki [30].

Mechanizm terapeutycznego działania złota w RZS nie został do końca wyjaśniony, ale wiadomo, że zmienia metabolizm i funkcje komórek zapalnych [6, 19] oraz prawdopodobnie jest związany z hamowaniem aktywności proteinaz rozkładających macierz zewnątrzkomórkową (ECM) [19]. Tiojabłczan sodowy złota zmniejsza stężenie immunoglobulin oraz czynnika reumatoidalnego w osoczu krwi, a także szybciej niż auranofina redukuje ból [6]. Obecnie sole złota stosuje się w leczeniu RZS, jako leki ostatniego rzutu [4], zostały wyparte głównie przez metotreksat [6]. Podejmowano też efektywne próby terapii złotem innych schorzeń autoimmunologicznych, tj. toczeń rumieniowaty, łuszczycowe zapalenie stawów czy pęcherzyca [29].

Właściwości i zastosowanie złota koloidalnego

Złoto koloidalne charakteryzuje się właściwościami, które pozwalają na wykorzystanie go jako nośnika leków [31]. Dotychczasowe eksperymenty pozwoliły na określenie sposobu transportowania jego cząstek do komórki oraz dalsze losy w jej obrębie [32, 33]. Gdy w procesie endocytozy cząstki złota koloidalnego przenikną do cytozolu, są następnie gromadzone w wakuolach, co może wpływać na tworzenie filamentów aktynowych oraz syntezę składników macierzy zewnątrzkomórkowej [32]. Złoto koloidalne znalazło też zastosowanie jako marker ostrego zapalenia płuc *in vivo*. Stan zapalny powoduje wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych i wysięk płynu do jamy opłucnej, co może zostać precyzyjnie określone poprzez zbadanie transportu międzypęcherzykowego znakowanej złotem albuminy podanej *i.v.* [12]. Roztwory złota koloidalnego charakteryzują się różnym zabarwieniem w zależności od stopnia rozdrobnienia cząsteczek złota. Bardzo drobne cząstki warunkują jasnoczerwoną barwę roztworu, a te o większych rozmiarach – fioletową lub niebieską [7]. Koloidalną postać złota wykorzystuje się w mikroskopii atomowej (ATM) w celu poprawy jakości obrazu [34], do znakowania tkanek – często w połączeniu z przeciwciałami [35, 36], a także ultrastruktur u pierwotniaków [37]. Złoto koloidalne znalazło zastosowanie również do znakowania lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) w celu zbadania ich wychwytu i metabolizmu komórkowego [38]. Metoda znakowania złotem ma kilka zalet – jest prosta i relatywnie tania, a złoto posiada wysoką gęstość elektronową [35, 36] i możliwe jest

zastosowanie do różnych pomiarów cząsteczek o odpowiednio dobranej średnicy [35, 39]. Ponieważ koloidalne złoto jest transportowane w obrębie komórki przez kanały wielkości min. 200 Å, wykorzystuje się je jako znacznik służący określeniu warunków transportu przez pory w błonach biologicznych [40]. Cząstki złota koloidalnego o średnicy 50-250 nm zastosowano jako model w badaniu dotyczącym cytotoksyczności nanocząstek [32].

Złoto i nanotechnologie

Poza terapią wspomnianych wyżej schorzeń, złoto znalazło jeszcze inne zastosowania w nauce. Złote nanostruktury spotkały się z zainteresowaniem badaczy ze względu na fakt, że posiadają niezwykle właściwości, m.in. optyczne, zależne od kształtu [21, 41-43]. Połączone z organicznymi polimerami lub nieorganicznymi kryształami ustanowiły prawdziwy przełom w dziedzinie biodiagnostyki i farmakoterapii, w tym przeciwnowotworowej [22]. Nanocząstki powstają poprzez redukcję soli złota, najczęściej AuCl₃, w obecności czynników stabilizujących [14, 16]. Alternatywą dla toksycznych związków redukujących jest biosynteza [16, 44-47]. Jak dotąd opisano metody otrzymywania nanocząstek złota z wykorzystaniem kilku gatunków roślin, m.in. *Diospyros kaki*, *Azadirachta indica*, *Medicago sativa*, *Aloe vera*, *Cinnamomum camphora* [45], *Phoenix dactylifera* [46] czy *Zingiber officinale* [47]. Niektóre doniesienia sugerują, że kluczowym komponentem takiej syntezy są zawarte w tych roślinach związki flawonoidowe, których grupy -OH pełnią rolę reduktora [45]. Otrzymuje się także połączenia nanocząstek złota z peptydami, proteinami, przeciwciałami, oligosacharydami i kwasami nukleinowymi [14]. Kontrola warunków reakcji pozwala wpływać na ich wielkość i kształt [45]. Nanocząstki posiadają wysoką gęstość elektronową [36], silnie absorbują światło widzialne (VIS) i promieniowanie podczerwone (IR) [14], są fotostabilne i nietoksyczne [48]. Odpowiednio zmodyfikowane mogą być wykorzystywane w celach diagnostycznych i terapeutycznych [14, 22], np. w fotothermalnej metodzie niszczenia bakterii patogennych [48], czy w terapii nowotworów [14, 21, 22]. W tym ostatnim zastosowaniu wykorzystuje się zwiększenie absorpcji promieniowania X w obrębie danej tkanki, w której obecne są cząsteczki złota [21]. Ponadto nanostruktury łatwo wnikają do komórek nowotworowych, a ich retencja jest odpowiednio długa, aby wykazały skuteczność terapeutyczną. Efekt fotothermalny dodatkowo sprzyja niszczeniu tych komórek [22]. Nanocząstki złota wykorzystuje się także jako nośniki leków w przeciwnowotworowej terapii celowanej [49]. Ich duża powierzchnia ułatwia przyłączanie i zwiększa stabilność cząstek leków, a także poprawia rozpuszczalność i parametry farmakokinetyczne [22].

Złote nanostruktury mogą pełnić również funkcję wektorów przy wprowadzaniu obcych genów do komórek podczas eksperymentów biotechnologicznych [18]. Są także wykorzystywane do wykrywania mutacji i specyficznych sekwencji DNA, gdyż w obecności cysteiny mogą ulec agregacji i samozorganizowaniu, formując strukturę sieci, co z kolei skutkuje zmianą ich barwy [13, 50]. Modyfikacja powierzchni nanocząstek wpływa na specyfikę ich wiązania z konkretnymi strukturami biologicznymi. Nowe technologie pozwalają także uzależnić uwalnianie przenoszonych przez nie substancji od rozmaitych czynników wewnętrznych (np. pH) lub zewnętrznych (np. bodźce świetlne). Również kształt cząstek ma wpływ na ich właściwości, m.in. zakres absorbowanego promieniowania. W przypadku mniejszych nanostruktur przeważa absorpcja promieniowania, a większych – rozpraszanie [22]. Jeszcze lepsze zdolności absorpcyjne i parametry optyczne wykazano dla nanoprecieków bimetalicznych zawierających atomy Au i Ag [20]. Dowiedziono, że im mniejszy jest rozmiar nanocząstek złota, tym większa ich reaktywność [32, 42]. Jednak mają na to wpływ również ich kształt, pole powierzchni, ładunek, stopień rozproszenia oraz czystość [32]. Niektóre doniesienia sugerują, że nanopreciki mają przewagę nad nanosferami i innymi kształtami nanostruktur ze względu na większą powierzchnię i bardziej modyfikowalne właściwości optyczne [51]. Nanocząstki mogą istnieć jako pojedyncze struktury, a także aglomeraty czy agregaty [32], z kolei ich połączenia z innymi cząstkami mają charakter jonowy, kowalencyjny lub fizycznej absorpcji [17, 20]. Typ wiązania pomiędzy nanocząstką, a molekułą funkcyjną odpowiada za uwalnianie substancji leczniczej w komórce [17]. Ze względu na swoje unikalne właściwości, nanocząstki złota mogą znaleźć jeszcze wiele zastosowań biomedycznych [52, 53], ale wymagane są dalsze badania nad tym nowatorskim materiałem, aby móc całkowicie wykluczyć jego potencjalną toksyczność [17]. Fakt, że struktury te mogą być syntezowane z wykorzystaniem niektórych roślin, w połączeniu z łatwością ich późniejszej modyfikacji chemicznej, czyni je jeszcze atrakcyjniejszymi dla nauki [16].

Złoto w leczeniu nowotworów

Przeciwnowotworowe właściwości złota odkryto na przełomie lat 70. i 80. XX wieku. Badania wykazują ok. 10-krotnie większą cytotoksyczność związków złota w stosunku do komórek nowotworowych niż zdrowych [5]. Grupy związków Au wykazujące właściwości lecznicze, to organiczne związki złota, kompleksy jednojądrowe złota, kompleksy dwujądrowe oraz kompleksy porfiryrowe. Ze względu na mechanizm działania leki przeciwnowotworowe na bazie złota dzieli się na 3 grupy:

1. proleki zdolne łączyć się z bocznymi łańcuchami biomolekuł, np. auranofina;
2. duże kationy, które mogą przenikać przez membrany i wiążą się niekowalencyjnie z biomolekułami, tj. enzymy, białka, DNA – interkalatory DNA;
3. związki reagujące z biomolekułami poprzez reakcje redox i wywołujące zniszczenia oksydacyjne [24].

Kompleksy złota (III) są potencjalnym lekiem przeciwnowotworowym o większej aktywności niż inne leki metaliczne [54].

Kompleks porfiryny 1a ze złotem (III) posiada udowodnioną skuteczność niszczenia wielu linii komórek nowotworowych [23, 55]. Ligandy porfirynewe znacząco stabilizują jon Au (III) i ograniczają jego reaktywność oraz tendencję do ulegania redukcji [5, 24]. Apoptoza komórek nowotworowych następuje na skutek obniżenia potencjału błony mitochondrialnej, a następnie uwolnienia cytochromu c, translokację jądrową czynnika indukującego apoptozę (AIF) oraz powstanie reaktywnych form tlenu (ROS) [23, 24, 56, 57]. Z kolei pobudzenie kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK) i fosforylacja białka p38 prowadzi do aktywacji kaskady kaspaz, zatem porfirynewy kompleks złota pobudza apoptozę dwutorowo [5, 23]. Badania porównawcze wykazały, że posiada on większą niż cisplatyna cytotoksyczność w stosunku do komórek nowotworowych przy mniejszej ilości działań niepożądanych [4, 54]. Fakt ten nie jest jednak związany z fotocuczalną aktywnością złota [54]. Połączenie związków kompleksowych złota z atomami chloru powoduje wzrost właściwości cytotoksycznych nawet w przypadku linii komórek nowotworowych opornych na cisplatynę. Nie zaobserwowano też lekooporności krzyżowej [24]. Porfiryny tworzą szkielet, który chroni centralnie wbudowany jon złota (III) przed reakcjami redoks, co sprawia, że kompleksy te są stabilne w warunkach fizjologicznych [5, 24].

Postuluje się również, że oddziaływanie kompleksów złota (III) z DNA są odpowiedzialne za ich cytotoksyczne właściwości względem komórek nowotworowych [23]. Porfiryne łączy się z kwasem nukleinowym monowalencyjnie i zatrzymuje cykl komórkowy w fazie G₀, a następnie indukuje apoptozę zależną od p53 [54]. Lek na bazie Au (III) wiąże się prawdopodobnie z atomami N1 i N7 adenozyne, N7/C6 guanozyne, N3 cytydyny i N3 tymidyny. Mogą również wiązać się z białkami [4, 5], np. ludzką albuminą czy glutationem [5]. Pomimo tej samej geometrii planarnej co cisplatyna, związki kompleksowe złota (III) interkalują DNA w innych miejscach, inna jest też kinetyka działania tych leków [24]. Porfirynewy kompleks złota (III) wykazuje duże powinowactwo do dwuniciowego DNA i może prowadzić do jego

defragmentacji [54]. Celem związków na bazie złota (III) są także proteasomy, których inhibicja prowadzi do śmierci komórek nowotworowych [4, 24, 47]. Za stabilność związków Au (III) w środowisku organicznym odpowiadają ligandy powiązane z jonem złota [4, 24].

Prowadzi się również badania nad dwurdzeniowymi związkami kompleksowymi złota, zawierającymi połączenie Au₂O₂, które działają antyproliferacyjnie na niektóre linie komórek nowotworowych. Istnieje związek pomiędzy ich stopniem utlenienia, a właściwościami cytotoksycznymi [24].

Z kolei leki na bazie Au (I) są w istocie prolekami, które ulegają w organizmie przemianom do postaci aktywnych. W przypadku auranofiny dochodzi do rozszczepienia wiązania Au-S i utworzenia związków koordynacyjnych z grupą tiolową albuminy lub glutationu [4, 24]. Auranofina hamuje syntezę DNA, RNA i białek. Jednak DNA nie jest pierwotnym celem związków złota (I), a ich cytotoksyczność wynika przede wszystkim z oddziaływania na funkcje mitochondriów, inhibicji syntezy białek oraz wpływu na interakcje białek z DNA [4]. Zahamowaniu ulega też sygnał transkrypcyjny JAK1/STAT3 oraz aktywność kinaz tyrozynowych z rodziny Janus. W obecności jonów Ca²⁺ auranofina powoduje obrzęk mitochondriów, spadek ich potencjału błonowego, wzmacnia procesy oddychania komórkowego oraz procesy oparte na przepuszczalności błony komórkowej tych organelli [24]. Inne badania wykazały zdolność auranofiny i jej analogów do produkcji reaktywnych form tlenu w obrębie komórek nowotworowych i skuteczność w leczeniu białaczek oraz czerniaka. Nie wykazano natomiast ich skuteczności wobec guzów litych [4].

Pomimo wielu badań, mechanizmy odpowiadające za cytotoksyczność złota względem komórek nowotworowych pozostają w dużej mierze nieznane [4].

W terapii nowotworów wykorzystuje się także fototermalne właściwości nanocząstek złota [45, 59-62], które dzięki rezonansowi magnetycznemu (MR) zwiększają absorpcję promieniowania elektromagnetycznego w obrębie danej tkanki, a następnie uwalniają duże ilości ciepła [21, 60]. Ponadto mogą służyć jako nośniki leków w terapii celowanej [14, 15, 20, 21, 45, 47, 61, 63]. Złote nanocząsteczki (GNPs; AuNPs) ulegają preferencyjnej akumulacji w komórkach nowotworowych ze względu na większą przepuszczalność naczyń krwionośnych w obrębie guzów oraz słabszy odpływ limfy [17]. Transport i uwalnianie leków z nanocząstek mogą być ściśle kontrolowane poprzez zastosowanie rozmaitych modyfikacji ich powierzchni [17, 20], jak również za pośrednictwem bodźców ze środowiska wewnętrznego, tj. zmiany pH, temperatury czy obecności innych

cząsteczek, np. glutationu [20, 64]. Dzięki temu można wydłużyć czas cyrkulacji nanocząstek w krwioobiegu i zapobiegać ich agregacji. Przykładowo, podany w ten sposób metotreksat osiąga 7-krotnie wyższe stężenie w komórkach nowotworowych, co czyni terapię zdecydowanie skuteczniejszą [65]. Kształt cząstek ma wpływ na zakres absorbowanego promieniowania oraz kinetykę uwalniania leku, a wyniki badań sugerują, że lepsze parametry można osiągnąć w przypadku zastosowania nanopręcików w porównaniu z nanosferami [22, 51]. Jeszcze lepsze wyniki otrzymano w badaniach dotyczących nanostruktur z wypustkami (*nanohexapods*), w przypadku których kontrola długości ramion umożliwia wpływ na penetrację promieniowania w głąb tkanek miękkich [66].

Na uwagę zasługują także nanocząstki o gwiaździstym kształcie, które poprzez swój unikalny kształt i bardzo dużą powierzchnię właściwą mogą transportować zdecydowanie większe ilości substancji leczniczych. Co więcej, wykazują zdecydowanie większą zdolność przenikania do jądra komórkowego niż nanocząstki o innych kształtach. Charakteryzują się także powinowactwem do pewnych białek obecnych na błonie komórek nowotworowych, co jest bardzo istotną cechą, biorąc pod uwagę możliwość zastosowania tych struktur w terapiach celowanych [67].

Ponieważ guzy nowotworowe mają zwiększoną ekspresję receptorów dla nabłonkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor receptor* – EGFR), przeciwciała wiążące się z tymi receptorami mogą pomóc w efektywnym dostarczaniu GNPs do komórek nowotworowych [68]. Ważnym celem są również receptory dla czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), odgrywające istotną rolę w angiogenezie. GNPs są w stanie zahamować ten proces. Obiecujące wydaje się także wiązanie nanocząstek z aptamerami dla białek lub ligandami dla innych receptorów wykazujących nadekspresję w komórkach nowotworowych [17].

Prowadzono badania dotyczące wnikania do komórek nowotworowych GNPs połączonych z lekami onkologicznymi (m.in. doksorubicyną [69-71], herceptyną [72], tamoksifenem [73], chlorochiną [74], topotekaniem [75]). W tym przypadku nanocząstki złota okazały się być nie tylko nośnikiem leku, ale stanowiły również jego osłonę przed dezaktywacją przez białka osocza na drodze do komórki nowotworowej [17].

Komórki nowotworowe mogą być też niszczone mechanicznie z wykorzystaniem nanocząstek złota oraz promieniowania pulsacyjnego (*vapour bubbles*) [60]. Złote nanostruktury znalazły również zastosowanie w diagnostyce i detekcji nowotworów [15, 45, 60, 63] oraz w teranostyce [17].

Wykorzystanie złota w leczeniu innych jednostek chorobowych

W ostatnich latach wszczęto badania nad zastosowaniem auranofiny i innych związków złota w terapii osób zakażonych wirusem HIV [4, 76, 77], ze względu na fakt, że wewnątrzkomórkowe stężenie złota może osiągnąć wartości na tyle wysokie, że hamuje replikację wirusa [28]. Również terapia nanocząstkami złota przynosi efekty w tym schorzeniu [26, 78].

Organiczne związki złota wykorzystuje się od kilkunastu lat także w leczeniu chorób wywołanych przez pierwotniaki, m.in. malarii czy choroby Chagasa [4], pierwotniakowego zapalenia rogówki [79], a także półpaśca czy ostrej postaci astmy [4]. Tiojabłczan sodowy złota (I) wykazuje właściwości przeciwaagregacyjne, co ma znaczenie w prewencji zawału mięśnia sercowego [6]. Z kolei implanty wykonane ze złota znajdują zastosowanie w mikrochirurgii ucha [4, 10].

Nanocząstki złota wykazują ogromny potencjał, jako nośniki leków w terapii celowanej rozmaitych schorzeń, nie tylko nowotworowych. Mogą być wykorzystywane także jako nośniki DNA w terapii genowej. Pod wpływem impulsów laserowych lub elektroporacji następuje uwalnianie kwasu nukleinowego z nanostruktur bez uszkodzenia jego nici. Skuteczność takiej terapii jest zdecydowanie większa niż w przypadku podania samych cząsteczek DNA [20].

Sole złota mogą zwiększać aktywność jąder. Relatywnie wysokie stężenia tego pierwiastka wykazano w komórkach Leydiga. Fakt ten może w przyszłości znaleźć kliniczne zastosowanie w stymulowaniu płodności. Niektóre preparaty złota wykazują działanie znieczulające, jednak jego mechanizm nie został jeszcze poznany [3].

Złote nanocząstki wielkości 20-45 μm zastosowane w przypadku uszkodzenia mózgu znacząco obniżają poziom czynnika martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor* – TNF- α), a także redukują stopień oksydacyjnego uszkodzenia komórek i poziom markerów apoptozy (kaspazy 3 oraz cytochromu c) [56].

Nanocząstki złota dzięki reakcjom z lipidami skóry są w stanie otwierać warstwę rogową naskórka i przenikać przez nią [80], a stopień przenikania jest uzależniony od ich właściwości fizykochemicznych [81]. Z przeprowadzonego przed kilkanaście laty badania wynika, że zastosowane do leczenia przewlekłych owrzodzeń poza działaniem przeciwbakteryjnym, wykazują działanie przeciwzapalne w obrębie uszkodzenia, jak również posiadają właściwości antyoksydacyjne. Złoto zawarte w specjalistycznych opatrunkach wykazuje nie tylko działanie przeciwbakteryjne, ale także przyczynia się do migracji fibroblastów i przyspiesza proces gojenia owrzodzeń [82]. Co więcej, nanocząstki złota nasilają działanie innych

przeciwutleniaczy, m.in. wit. E, co w połączeniu z ich zdolnością do ułatwiania transportu związków przez warstwę rogową naskórka, może zostać wykorzystane w zaawansowanych procesach pielęgnacji skóry [80] i leczeniu ran [82, 83].

Nanocząstki otrzymane na drodze biosyntezy przy udziale strążyńca (*Cassia auriculata*), który ma właściwości antydiabetyczne, w eksperymentach prowadzonych *in vivo* wykazały podobną zdolność obniżania stężenia glukozy we krwi. Jeśli dalsze badania wypadną pomyślnie, będzie to kolejna droga do walki z cukrzycą [84].

Metabolizm cząstek złota

W transporcie złota, zarówno zewnątrz-, jak i wewnątrzkomórkowym, uczestniczy transferyna – enzym zaangażowany również w transport żelaza [14]. Ogólna retencja złota zaaplikowanego w postaci koloidu jest dość długa, choć z czasem liczba jego cząsteczek w organizmie ulega zmniejszeniu. Do oceny i uwidocznienia miejsc kumulacji stosuje się przede wszystkim autoradiografię, mikroskopię świetlną oraz transmisyjną mikroskopię elektronową [33].

Wartość potencjału ζ ma znaczenie w procesie wychwytu nanocząstek złota z przewodu pokarmowego po podaniu doustnym, ze względu na obecność po wewnętrznej stronie jelita ujemnie naładowanego glikokaliksu [16].

Po podaniu parenteralnym nanocząstki są wychwytywane na drodze fagocytozy głównie przez komórki wątroby (w tym komórki Kupfera) [17, 85] oraz śledzony i wydalane w kał [17]. Skumulowane w wątrobie GNP's są wydzielane do dwunastnicy w połączeniu z lipoproteinami [63]. Mniejsze nanocząstki (\varnothing 5-15 nm) wykazują większą biodystrybucję narządową [61]. W komórkach mogą jednak pozostawać przez wiele miesięcy, a ich lokalizacja obejmuje głównie endosomy [17, 86], które nie są rozdzielane równomiernie podczas podziału komórkowego [87]. Cząstki o średnicy mniejszej niż 5,5 nm mogą być szybko i efektywnie metabolizowane, a następnie filtrowane przez nerki i wydalane z moczem [17, 86]. Nanocząstki złota o średnicy <15 nm mogą z powodzeniem pokonywać barierę krew-mózg [61]. Internalizacja nanocząstek jest zależna przede wszystkim od ich wielkości i kształtu, ale także modyfikacji powierzchni [17, 87]. GNP's bez żadnej modyfikacji powierzchni mogą silnie agregować w osoczu krwi [62].

Proces wychwytu komórkowego jest związany z oddziaływaniem powierzchni nanocząstek z białkami [26]. Podczas kontaktu GNP's z krwią, limfą, sokiem żołądkowym czy innym medium biologicznym, tworzy się na ich powierzchni białkowy wieniec – dynamiczna, biopolimerowa warstwa, która silnie wpływa na proces endocytozy [17, 22]. Spośród

69 białek mogących wiązać się z nanocząstkami złota, jedynie niektóre (albuminy, apolipoproteiny, immunoglobuliny, białka układu dopełniacza oraz fibrynogen) uczestniczą w jego tworzeniu. Nanocząstki połączone z PEG są słabiej rozpoznawane przez układ immunologiczny organizmu ze względu na mniejszy stopień opłaszczenia przez białka osocza [17]. Wychwytywanie komórkowe GNP's to endocytoza receptorowo-zależna [17, 22, 26, 51], najprawdopodobniej klatryno-zależna [17, 26, 51]. Wniknięcie GNP's do komórki na drodze nieendocytarnej w większości przypadków nie jest możliwe. Dla bardzo małych cząstek w przypadku niektórych komórek możliwy jest z kolei inny mechanizm wnikania – makropinocytoza, czyli endocytoza receptorowo-niezależna. Eksperymenty pokazały, że nasilenie endocytozy większych nanocząstek jest wprost proporcjonalne do ilości czółenek lipidowych obecnych w błonie komórkowej. Z kolei dla makropinocytozy ważna jest obecność kaweoliny. Obecność inhibitora receptorów klatrynowych zupełnie nie wpływa na ten rodzaj transportu [17], w przeciwieństwie do temperatury, której obniżenie hamuje makropinocytozę [17, 51], a nie oddziałuje w większym stopniu na proces endocytozy receptorowo-zależnej. Sferyczne nanocząstki łatwiej wnikają do komórki, ale te o podłużnym kształcie są z niej szybciej eliminowane. Również im mniejsze cząstki, tym szybciej są eliminowane z komórki [17]. Inne badania sugerują, że kształt GNP's wpływa nie tylko na wychwytywanie komórkowe, ale również na odpowiedź ze strony układu immunologicznego [86]. Niektóre rodzaje komórek wykazują tendencję do wychwytywania przede wszystkim GNP's o określonym kształcie, przykładowo dla komórek mikrogleju są to nanogwiazdy, a dla nefagocytykujących neuronów – nanopręciki [88]. Maksymalny wychwytywanie komórkowe dla nanocząstek połączonych z transferyną lub herceptyną stwierdza się w przypadku, gdy ich średnica mieści się w zakresie 25-50 nm [89]. Również typ komórki, a co za tym idzie – grubość plazmolemy warunkuje w znacznym stopniu stopień wychwytywania nanocząstek. Inne ważne czynniki to wspomniana już temperatura, stężenie zawiesiny GNP's oraz czas kontaktu z komórką, modyfikacja powierzchni cząsteczek poprzez związanie z innymi substancjami [17]. Polimery pokrywające powierzchnię GNP's w szczególności wpływają na udział mikrotubuli w procesie endocytozy [90]. W przeprowadzonych badaniach podczas inkubacji nanocząstek połączonych z PEG endocytoza rozpoczęła się po ok. 5 minutach, a po ok. pół godziny były już widoczne endosomy zawierające nanocząstki złota. Ładunek powierzchniowy GNP's odgrywa znaczącą rolę w modulowaniu potencjału błonowego komórek zdrowych, jak i nowotworowych, a co za tym idzie – wychwytywanie cząstek [17]. Zanim zostanie utworzony endosom, mogący wchłonąć nanocząstkę

do komórki, musi zostać przewyciężona energia aktywacji. Niektóre wielkości są wychwytywane łatwiej niż inne, ale ma to również związek z przyłączonym do nich ligandem [59]. Badania wykazały, że GNPs inkorporowane w liposomach są lepiej wychwytywane i wykazują mniejszą toksyczność. Podobnie jest w przypadku cząstek połączonych z chitozaniem [91]. Komórki nowotworowe wychwytywały w dużym stopniu GNPs połączone z glutationem, kwasem liponowym [92], przeciwciałami [93] czy oligonukleotydami [94]. Peptydy penetrujące połączone z GNPs stanowią z kolei możliwość, która może ułatwić dostarczenie nanocząsteczek w obręb jądra komórkowego oraz mitochondriów [22]. Są to krótkie sekwencje peptydowe, zawierające sporą ilość aminokwasów z ładunkiem dodatnim (lizyny i argininy) [14, 95] lub sekwencje naładowane dodatnio, przedzielone fragmentami niepolarnymi. Zostały wyizolowane z wirusów, a także organizmów kręgowców. Peptydy te wykazują interakcje z różnymi cząstkami, tworząc wiązania kowalencyjne i niekowalencyjne, a dzięki swojej budowie, zwiększają ich wychwyt komórkowy [95]. Przenikanie GNPs do jądra komórkowego osiągnięto także poprzez połączenie ich z nukleoplazminą, a transport do mitochondriów uległ zwiększeniu po związaniu nanocząstek zamkniętych w liposomach z okta-argininą [14].

Białka osocza spłaszczające GNPs pośredniczą w procesie endocytozy [17, 26]. Następnie cały kompleks jest transportowany w obrębie komórki w pęcherzykach endosomalnych do lizosomów, gdzie odłączany jest ligand, a nanocząstki ulegają agregacji. Z lizosomów agregaty mogą trafić do mitochondriów, gdzie aktywują apoptozę [17]. Z pewnością w procesie internalizacji złota bierze udział transferyna i jej receptor [14]. Cytrynian, z którym można połączyć nanocząstki złota, stanowi dogodny rusztowania dla połączeń z białkami, ze względu na ujemny ładunek powierzchniowy [26].

Ponieważ po internalizacji większość nanocząstek złota pozostaje w endosomach lub lizosomach [14, 51, 85], aby zwiększyć skuteczność i efektywność wnikania GNPs do komórek i poszczególnych organeli można wykorzystać metody fizyczne. Sonoporacja, która polega na wytwarzaniu nieselektywnych porów w błonie komórkowej przy użyciu ultradźwięków [14, 51], czy fototerapia wpływająca na otwieranie endosomów bez powodowania śmierci komórki mogą znacząco wpłynąć na sukces terapii nanocząstkowym złotem [14]. Podobnie, jak umiejętnie zastosowana mikroiniekcja [14, 51]. Również niektóre związki chemiczne, jak toksyny bakteryjne, zwiększające chwilowo przepuszczalność błony komórkowej lub chlorochina poprawiająca wewnątrzkomórkową dostępność i stabilność nanocząstek mogą znaleźć tu

zastosowanie [14]. Z kolei w terapii genowej korzysta się z impulsów laserowych, pod wpływem których następuje odłączanie plazmidów DNA od nanocząstek złota [20].

Badania kinetyki wychwytu GNPs pokazały, że po ok. 5,5 h nastąpiło plateau spowodowane wysyceniem receptorów. Uzyskano znaczne ich rozproszenie w obrębie komórek, a na jedną przypadają 250-50 tys. nanocząstek złota (średnio 20 tys.). Ilość GNPs w komórce ma charakter rozkładu normalnego, zależy od liczby receptorów i może się różnić w komórkach siostrzanych [59]. W badaniach określających dystrybucję wewnątrzkomórkową złota wykorzystuje się przede wszystkim mikroskopię ciemnego pola, konfokalno-fluorescencyjną oraz fluorescencję dwufotonową [96]. Badania farmakokinetyczne przeprowadzono już na kilku gatunkach zwierząt. Do ekstrapolacji na organizm ludzki najlepiej nadają się wyniki otrzymane w przypadku szczurów i świń [90].

W przypadku komórek układu immunologicznego, największą zdolnością wychwytu nanocząstek złota charakteryzują się makrofagi, komórki endotelium, niedojrzałe komórki dendrytyczne. Niektórzy badacze sugerują, że w wychwycie GNPs przez te komórki biorą udział receptory scavenger [17]. Kumulacja nanocząstek złota w przedziałach komórkowych może mieć wpływ na produkcję cytokin i odpowiedź układu immunologicznego [17, 40], ale nie zmienia się pod ich wpływem fenotyp komórek dendrytycznych (prezentujących antygeny). Nie stwierdza się także nasilonej aktywacji tych komórek [17].

Badanie dystrybucji złota w obrębie płuc pozwoliło na określenie miejsc gromadzenia się jego cząsteczek, które jako 'ciała obce' były w większości wychwytywane przez makrofagi tkankowe, a następnie kumulowane w wakuolach komórkowych lub bezpośrednio w cytoplazmie [33]. Złoto wykorzystywano także jako znacznik przy określaniu warunków i sposobów transportu innych cząstek przez pory w błonie jądrowej (między cytoplazmą a nukleoplazmą). Wiadomo, że marker przenika przez kanały o średnicy ok. 200 Å lub większej, ale obserwowano też gromadzenie się agregatów na powierzchni jądra komórkowego [40].

W organizmie złoto podane w postaci soli łączy się z albuminami i globulinami [2, 6], a jego obecność w osoczu krwi można wykryć jeszcze przez wiele miesięcy. Ponad 3/4 podanej dawki wędruje do tkanek i tam pozostaje. Narządami, w których złoto kumuluje się najintensywniej są nerki, wątroba, śledziona i szpik kostny, a także wytwory skóry – włosy i paznokcie [2, 28] i maź stawowa. Dystrybucja następuje przede wszystkim w układzie siateczkowo-śródbłonkowym [6]. Po podaniu *i.m.* złoto jest bardzo szybko absorbowane do krwiobiegu. Piek maksymalnego stężenia we krwi występuje po 2-6 h. Związki złota, które

nie odkładają się w tkankach są wydalane głównie przez nerki (ok. 75%) [2, 6], a reszta z kałem [6]. Wydalane z organizmu złoto występuje na I stopniu utlenienia, który jest stabilny w warunkach biologicznych [2, 6]. Duże ilości złota podanego pacjentowi w postaci soli są obecne później w komórkach, w fagolizosomach [2, 23] zwanych aurosomami [2]. Nie są znane dokładne mechanizmy działania jonów złota w warunkach biologicznych [56]. W badaniach *in vitro* związki złota hamują syntezę prostaglandyn, mogą inaktywować 1 komponent układu dopełniacza (C1) oraz lizosomalne enzymy hydrolityczne (kwaśne fosfatazy, β -glukuronidazę, katepsynę G). Obniżeniu ulega stężenie przeciwciał oraz czynnika reumatoidalnego w osoczu krwi, blokowana jest też odpowiedź autoimmunologiczna poprzez zakłócanie reakcji peptydy-MHC. Inhibitory metaliczne blokują zdolność komórek prezentujących antygeny do aktywacji limfocytów T [6].

Metabolizm złota w organizmach żywych wymaga jeszcze dalszych badań, a terapię tym metalem – dokładnej oceny skuteczności [17]. Pożądane jest też opracowanie w pełni metabolizowanej postaci złota [61].

Kształt i morfologia nanocząstek złota mają wpływ na ich biodystrybucję oraz cyrkulację w organizmie [66].

Aby w pełni bezpiecznie zastosować nanocząstki złota w praktyce klinicznej konieczna jest jeszcze poprawa farmakokinetyki, wydajności w terapii celowanej oraz określenie odroczonej toksyczności [66].

Toksykologia

Toksyczność nanocząstek złota jest ściśle związana z ich wielkością [62, 85, 96], kształtem, modyfikacją powierzchni [62, 96], dawką oraz drogą podania [96]. Połączenie GNPs z innymi cząsteczkami może ochronić zdrowe komórki, przed potencjalnie toksycznym działaniem złota [85]. Duże nagromadzenie w komórkach wątroby i śledziony prowadzi czasem do martwicy tych narządów i zmian w genach [96]. Z kolei obecność dużych ilości złota w skórze może skutkować wystąpieniem szaro-niebieskiego zabarwienia (*chrysois*) głównie twarzy i dłoni, a także innych części ciała eksponowanych na promieniowanie słoneczne [2].

Działania niepożądane terapii złotem stwierdza się u 30-50% pacjentów. Są to najczęściej wysypki skórne (ok. 30%) [6, 27, 29], owrzodzenia jamy ustnej – bolesne i bezbolesne (ok. 20%), trombocytopenia [6], rzadko anemia plastyczna [29], proteinuria (0-40%). Rzadko pojawia się hematuria, ale jeśli wystąpi, należy przerwać leczenie. Również trombocytopenia osiągająca wartości poniżej 200000/mm³ stanowi znak ostrzegawczy, gdyż może świadczyć

o supresji szpiku kostnego. U pacjentów leczonych złotem może wystąpić także żółtaczka cholestatyczna. Czasem dochodzi do akumulacji złota w obrębie soczewki i rogówki, jednak bez wpływu na proces widzenia [6]. Po podaniu doustnym auranofiny, poza wymienionymi już objawami, mogą wystąpić biegunki [6, 29]. Generalnie osoby starsze są bardziej narażone na wystąpienie działań niepożądanych podczas terapii złotem [6]. Również u palaczy stwierdza się więcej spośród wspomnianych objawów niż u osób niepalących. Jednak związki złota rzadko powodują wyraźne objawy toksyczne [28, 104]. Nanocząstki złota są uważane za materiał biokompatybilny [97].

Oddziaływanie złota na mikroorganizmy

Dwojaki jest związek złota z organizmami bakteryjnymi. Z jednej strony pierwiastek ten wykazuje działanie przeciwbakteryjne w przypadku niektórych szczepów, co ma zastosowanie w leczeniu zakażeń [98]. Poza zdolnością nanocząstek złota do hamowania transkrypcji DNA u mikroorganizmów patogennych, wykazano ich synergistyczne działanie z antybiotykami, np. rifampicyną i kanamycyną [47]. Z drugiej strony organizmy bakteryjne (np. *Escherichia coli*) odpowiednio zmodyfikowane genetycznie mogą służyć do wytwarzania złotych nanostruktur, które są następnie wykorzystywane jako czynniki niszczące mikroorganizmy patogenne [98, 99]. Przypuszcza się, że pewne szczepy bakteryjne z rodzaju *Geobacter* są zaangażowane w powstawanie rud złota dzięki zdolności do precypitowania jego cząsteczek poprzez redukcję jonów Au³⁺ do Au⁰ [100]. Przeciwbakteryjne właściwości złota i jego nanostruktur są też od pewnego czasu wykorzystywane w opatrunkach stosowanych do leczenia przewlekłych owrzodzeń podudzi o różnej etiologii [80, 82].

Niemedyczne zastosowania związków złota

Na początku lat 90. XX w. Eastman Kodak opatentował materiał fotograficzny zawierający mikrokryształiczne poliselenowe związki złota (I), charakteryzujące się zwiększoną czułością w porównaniu z kliszami powlekanymi związkami srebra [77]. Inna firma fotograficzna – Fuji Film – uzyskała patenty dla kilku kationowych, dwujądrowych benzyloselenowych związków złota, które inkorporowane na materiały fotograficzne bazujące na solach srebra poprawiały jakość obrazu i skracają czas wywoływania. Zastosowanie związków złota w fotografii zwiększyło czułość, a zmniejszyło zamglenie obrazu [77, 101].

Ze względu na bardzo dobre przewodnictwo elektryczne, złoto znajduje zastosowanie w produkcji elektrod, drutów i kabli [102, 103]. Dzięki swoim właściwościom elektrochemicznym stanowi przyszłościowy surowiec dla przemysłu elektrotechnicznego [104].

Złoto wykorzystuje się także do produkcji szkła rubinowego [7].

Złoto już od wielu lat jest wykorzystywane w produkcji skafandrów dla astronautów, jako element zapewniający ochronę przed promieniowaniem elektromagnetycznym [105, 106].

Zdolność do absorbowania pasma promieniowania bliskiego podczerwonemu sprawia, że złoto okazuje się użyteczne nawet w przestrzeni powietrznej [107], gdyż wykorzystuje się je do powlekania szyb niektórych typów samolotów, jako ochronę przed zamazaniem [106].

Tradycja wykorzystania złota w jubilerstwie trwa nieprzerwanie od zamierzchłych czasów po dzień dzisiejszy [25]. Ze względu na wierzenia, że złoto jest w stanie zapewnić młodość i siły witalne, pierwiastek ten znalazł swoje miejsce także w sztuce kulinarnej. Początkowo jako *aurum potabile* czy składnik wynalazku alchemików – ‘eliksiru młodości’ [1], a współcześnie raczej jako ozdoba wykwintnych produktów cukierniczych czy komponent słynnego od XVI w. likieru Goldwasser [108].

Podsumowanie

Złoto od wieków znajdowało szereg zastosowań, a w ubiegłym stuleciu udało się potwierdzić ekspery-

mentalnie jego właściwości lecznicze w przypadku niektórych schorzeń. Pomimo potencjalnych działań niepożądanych, cząstki złota nadal stanowią źródło możliwości terapeutycznych, a nowatorskie technologie wykorzystujące nanostruktury oraz wysoko zaawansowane metody diagnostyczne mogą przyczynić się do jeszcze szerszego zastosowania tego szlachetnego pierwiastka w medycynie.

Pomimo znacznej ilości badań oceniających bezpieczeństwo stosowania GNPs, nadal istnieje pewna doza niepewności odnośnie ich toksycznego potencjału. W literaturze spotyka się sprzeczne dane na ten temat. Aby zmniejszyć prawdopodobieństwo wystąpienia objawów toksycznych spowodowanych nagromadzeniem nanocząstek w narządach, należałoby opracować taką formę złota, która będzie w pełni metabolizowana. Pokrycie powierzchni GNPs odpowiednimi związkami wpływa na zwiększenie biokompatybilności.

Źródło finansowania: Praca została sfinansowana w ramach projektu MNiSzW dla Politechniki Częstochowskiej BS/PB-622/3020/2018/P (A.Ś.).

Konflikt interesów: Autorzy deklarują brak konfliktu interesów.

Piśmiennictwo / References

- Hillson RM. Gold, frankincense and myrrh. *J R Soc Med* 1988, 81(9): 542-543.
- Merchant B. Gold, the Noble metal and the paradoxes of its toxicology. *Biologicals* 1998, 26(1): 49-59.
- Biswas NM, Chattopadhyay A, Sarkar M. Effects of gold on testicular steroidogenic and gametogenic functions in immature male albino rats. *Life Sci* 2004, 76(6): 629-636.
- Milacic V, Dou QP. The tumor proteasome as a novel target for gold(III) complexes: implications for breast cancer therapy. *Coord Chem Rev* 2009, 253(11-12): 1649-1660.
- Wai-Yin Sun R, Che C-M. The anti-cancer properties of gold(III) compounds with dianionic porphyrin and tetradentate ligands. *Coord Chem Rev* 2009, 253(11): 1682-1691.
- Kean WF, Kean IR. Clinical pharmacology of gold. *Inflammopharmacology* 2008, 16(3): 112-125.
- Trzebiatowski W. Miedziowce. [w:] *Chemia nieorganiczna*. Trzebiatowski W (red). PWN, Warszawa 1969: 457-461.
- Pajdowski L. Pierwiastki przejściowe. [w:] *Chemia ogólna*. Pajdowski L. PWN, Warszawa 1977: 434-436.
- Howard-Lock HE. Structures of gold(I) and silver(I) thiolate complexes of medicinal interest: a review and recent results. *Met Based Drugs* 1999, 6(4-5): 201-209.
- Kwok P, Schuster M, Boch K, et al. Safety of gold in stapes surgery. *Biomaterials* 2005, 26(34): 7132-7135.
- Sanghoon K, Sundaram G, Jaehyuck Y. Self-indicating nanobiosensor for detection of 2,4-dinitrophenol. *Food Control* 2010, 21(2): 155-161.
- Heckel K, Kiefmann R, Dörger M, et al. Colloidal gold particles as a new in vivo marker of early acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004, 287(4): L867-L878.
- Huang H, Liu X, Hu T, Chu PK. Ultra-sensitive detection of cysteine by gold nanorod assembly. *Biosens Bioelectron* 2010, 25(9): 2078-2083.
- Lévy R, Shaheen U, Cesbron Y, Sée V. Gold nanoparticles delivery in mammalian live cells: a critical review. *Nano Rev* 2010: 1.
- Lund T, Callaghan MF, Williams P, et al. The influence of ligand organization on the rate of uptake of gold nanoparticles by colorectal cancer cells. *Biomaterials* 2011, 32(36): 9776-9784.
- Mohan Kumar K, Mandal BK, Kiran Kumar HA, Maddinedi SB. Green synthesis of size controllable gold nanoparticles. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2013, 116: 539-545.
- Khlebtsov N, Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of in vitro and in vivo studies. *Chem Soc Rev* 2011, 40(3): 1647-1671.
- Christou P, McCabe DE, Swain WF. Stable transformation of soybean callus by DNA-coated gold particles. *Plant Physiol* 1988, 87(3): 671-674.
- Mallya SK, Van Wart HE. Mechanism of inhibition of human neutrophil collagenase by Gold(I) chrysotherapeutic compounds. Interaction at a heavy metal binding site. *J Biol Chem* 1989, 264(3): 1594-1601.

20. Pissuwan D, Niidome T, Cortie MB. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *J Control Release* 2011, 149(1): 65-71.
21. Butterworth KT, Coulter JA, Jain S, et al. Evaluation of cytotoxicity and radiation enhancement using 1.9 nm gold particles: potential application for cancer therapy. *Nanotechnology* 2010, 21(29): 295101.
22. Alkilany AM, Thompson LB, Boulos SP, et al. Gold nanorods: their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. *Adv Drug Deliv Rev* 2012, 64(2): 190-199.
23. Wang Y, He QY, Che CM, et al. Modulation of gold(III) porphyrin 1a-induced apoptosis by mitogen-activated protein kinase signaling pathways. *Biochem Pharmacol* 2008, 75(6): 1282-1291.
24. Nobili S, Mini E, Landini I, et al. Gold compounds as anticancer agents: chemistry, cellular pharmacology, and preclinical studies. *Med Res Rev* 2010, 30(3): 550-580.
25. Paduch DA, Niedzielski J. Materiały biomedyczne. Część I. Pojęcie filmu biologicznego (biofilmu) i fizykochemiczne podstawy przyczepności substancji organicznych do biomateriałów. *Chir Pol* 2005, 7(3): 180-191.
26. Giljohann DA, Seferos DS, Daniel WL, et al. Gold nanoparticles for biology and medicine. *Angew Chem Int Ed Engl* 2010, 49(19): 3280-3294.
27. Freyberg RH, Block WD, Levey S. Metabolism, toxicity and manner of action of gold compounds used in the treatment of arthritis. I. Human plasma and synovial fluid concentration and urinary excretion of gold during and following treatment with gold sodium thiomalate, gold sodium thiosulfate and colloidal gold sulfide. *J Clin Invest* 1941, 20(4): 401-412.
28. Zhang Y, Hess EV, Pryhuber KG, et al. Gold binding sites in red blood cells. *Inorg Chim Acta* 1995, 229: 271-280.
29. Graham GG, Champion GD, Ziegler JB. The cellular metabolism and effects of gold complexes. *Met Based Drugs* 1994, 1(5-6): 395-404.
30. Freyberg RH, Block WD, Levey S. Metabolism, Toxicity and Manner of Action of Gold Compounds used in the Treatment of Arthritis: Complete Excretion Studies and Comparison of Intravenous and Intramuscular administration of Some Gold Salts. *Ann Rheum Dis* 1942, 3(2): 77-89.
31. Gong J, Ito Y. Peptide immobilized on gold particles enhances cell growth. *Cytotechnology* 2008, 58(3): 141-144.
32. Gosens I, Post JA, de la Fonteyne LJ, et al. Impact of agglomeration state of nano- and submicron sized gold particles on pulmonary inflammation. *Part Fibre Toxicol* 2010, 7(1): 37.
33. Patrick G, Stirling C. Transport of particles of colloidal gold within and from rat lung after local deposition by alveolar microinjection. *Environ Health Perspect* 1992, 97: 47-51.
34. Vesenka J, Manne S, Giberson R, et al. Colloidal gold particles as an incompressible atomic force microscope imaging standard for assessing the compressibility of biomolecules. *Biophys J* 1993, 65(3): 992-997.
35. Geuze HJ, Slot JW, van der Ley PA, Scheffer RC. Use of colloidal gold particles in double-labeling immunoelectron microscopy of ultrathin frozen tissue sections. *J Cell Biol* 1981, 89(3): 653-665.
36. Kozuka S, Yasuda Y, Tochikubo K. Ultrastructural localization of dipicolinic acid in dormant spores of *Bacillus subtilis* by immunoelectron microscopy with colloidal gold particles. *J Bacteriol* 1985, 162(3): 1250-1254.
37. Soeiro Mde N, De Meirelles Mde N. Endocytosis of albumin-gold particles by *Trypanosoma cruzi* infected and non infected heart muscle cells. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992, 87(2): 325-327.
38. Paavola LG, Strauss JF 3rd, Boyd CO, Nestler JE. Uptake of gold- and [³H]cholesteryl linoleate-labeled human low density lipoprotein by cultured rat granulosa cells: cellular mechanisms involved in lipoprotein metabolism and their importance to steroidogenesis. *J Cell Biol* 1985, 100(4): 1235-1247.
39. Bajer AS, Sato H, Mole-Bajer J. Video microscopy of colloidal gold particles and immuno-gold labelled microtubules in improved rectified DIC and epi-illumination. *Cell Struct Funct* 1986, 11(3): 317-330.
40. Dworetzky SI, Feldherr CM. Translocation of RNA-coated gold particles through the nuclear pores of oocytes. *J Cell Biol* 1988, 106(3): 575-584.
41. Singh AK, Senapati D, Wang S, et al. Gold Nanorod Based Selective Identification of *Escherichia coli* Bacteria Using Two-Photon Rayleigh Scattering Spectroscopy. *ACS Nano* 2009, 3(7): 1906-1912.
42. Abdelhalim MA. Uptake of gold nanoparticles in several rat organs after intraperitoneal administration in vivo: a fluorescence study. *Biomed Res Int* 2013, 2013: 353695.
43. Bolocan A, Mihaiescu DE, Meșterca AR, et al. In vitro and in vivo applications of 3D dendritic gold nanostructures. *Rom J Morphol Embryol* 2015, 56(3): 915-924.
44. Guo M, Li W, Yang F, Liu H. Controllable biosynthesis of gold nanoparticles from a *Eucommia ulmoides* bark aqueous extract. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2015, 142: 73-79.
45. Guo Q, Guo Q, Yuan J, Zeng J. Biosynthesis of gold nanoparticles using a kind of flavonol: Dihydromyricetin. *Colloids Surfaces A* 2014, 441: 127-132.
46. Zayed MF, Eisa WH. Phoenix dactylifera L. leaf extract phytosynthesized gold nanoparticles; controlled synthesis and catalytic activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2014, 121: 238-244.
47. Patra JK, Baek KH. Novel green synthesis of gold nanoparticles using *Citrullus lanatus* rind and investigation of proteasome inhibitory activity, antibacterial, and antioxidant potential. *Int J Nanomedicine* 2015, 10: 7253-7264.
48. Zharov VP, Mercer KE, Galitovskaya EN, Smeltzer MS. Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophys J* 2006, 90(2): 619-627.
49. Kudgus RA, Bhattacharya R, Mukherjee P. Cancer nanotechnology: emerging role of gold nanoconjugates. *Anticancer Agents Med Chem* 2011, 11(10): 965-973.
50. Li ZP, Duan XR, Liu CH, Du BA. Selective determination of cysteine by resonance light scattering technique based on self-assembly of gold nanoparticles. *Anal Biochem* 2006, 351(1): 18-25.
51. Untener EA, Comfort KK, Maurer EI, et al. Tannic acid coated gold nanorods demonstrate a distinctive form of endosomal uptake and unique distribution within cells. *ACS Appl Mater Interfaces* 2013, 5(17): 8366-8373.
52. Glennäs A. Gold resistance in cultured human cells possible role of metallothionein. *Scand J Rheumatol Suppl* 1983, 51: 42-44.
53. Azzazy HM, Mansour MM, Samir TM, Franco R. Gold nanoparticles in the clinical laboratory: principles of preparation and applications. *Clin Chem Lab Med* 2011, 50(2): 193-209.

54. Wang Y, He QY, Sun RW, et al. Cellular pharmacological properties of gold(III) porphyrin 1a, a potential anticancer drug lead. *Eur J Pharmacol* 2007, 554(2-3): 113-122.
55. Hu D, Liu Y, Lai YT, et al. Anticancer Gold(III) Porphyrins Target Mitochondrial Chaperone Hsp60. *Angew Chem Int Ed Engl* 2016, 55(4): 1387-1391.
56. Pedersen MØ, Larsen A, Pedersen DS, et al. Metallic gold reduces TNF α expression, oxidative DNA damage and proapoptotic signals after experimental brain injury. *Brain Res* 2009, 1271: 103-113.
57. Magherini F, Modesti A, Bini L, et al. Exploring the biochemical mechanisms of cytotoxic gold compounds: a proteomic study. *J Biol Inorg Chem* 2010, 15(4): 573-582.
58. Nardon C, Schmitt SM, Yang H, et al. Gold(III)-dithiocarbamate peptidomimetics in the forefront of the targeted anticancer therapy: preclinical studies against human breast neoplasia. *PLoS One* 2014, 9(1): e84248.
59. Jeynes JC, Jeynes C, Merchant MJ, Kirkby KJ. Measuring and modelling cell-to-cell variation in uptake of gold nanoparticles. *Analyst* 2013, 138(23): 7070-7074.
60. Kitz M, Preisser S, Wetterwald A, et al. Vapor bubble generation around gold nanoparticles and its application to damaging of cells. *Biomed Opt Express* 2011, 2(2): 291-304.
61. Zhang XD, Wu D, Shen X, et al. Size-dependent in vivo toxicity of PEG-coated gold nanoparticles. *Int J Nanomedicine* 2011, 6: 2071-2081.
62. Zhang XD, Wu D, Shen X, et al. In vivo renal clearance, biodistribution, toxicity of gold nanoclusters. *Biomaterials* 2012, 33(18): 4628-4638.
63. Hirn S, Semmler-Behnke M, Schleh C, et al. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Eur J Pharm Biopharm* 2011, 77(3): 407-416.
64. Ghosh P, Han M, De M, et al. Gold nanoparticles in delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev* 2008, 60(11): 1307-1315.
65. Chen YH, Tsai CY, Huang PY, et al. Methotrexate conjugated to gold nanoparticles inhibits tumor growth in a syngeneic lung tumor model. *Mol Pharm* 2007, 4(5): 713-722.
66. Wang H, Cai HH, Zhang L, et al. A novel gold nanoparticle-doped polyaniline nanofibers-based cytosensor confers simple and efficient evaluation of T-cell activation. *Biosens Bioelectron* 2013, 50: 167-173.
67. Guerrero-Martínez A, Barbosa S, Pastoriza-Santos I, Liz-Marzán LM. Nanostars shine bright for you: Colloidal synthesis, properties and applications of branched metallic nanoparticles. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 2011, 16(2): 118-127.
68. Jiang W, Kim BY, Rutka JT, Chan WC. Nanoparticle-mediated cellular response is size-dependent. *Nat Nanotechnol* 2008, 3(3): 145-150.
69. Tomuleasa C, Soritau O, Orza A, et al. Gold nanoparticles conjugated with cisplatin/doxorubicin/capecitabine lower the chemoresistance of hepatocellular carcinoma-derived cancer cells. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21(2): 187-196.
70. Kim B, Han G, Toley BJ, et al. Tuning payload delivery in tumour cyllindroids using gold nanoparticles. *Nat Nanotechnol* 2010, 5(6): 465-472.
71. Wang F, Wang YC, Dou S, et al. Doxorubicin-tethered responsive gold nanoparticles facilitate intracellular drug delivery for overcoming multidrug resistance in cancer cells. *ACS Nano* 2011, 5(5): 3679-3692.
72. Eghtedari M, Liopo AV, Copland JA, et al. Engineering of hetero-functional gold nanorods for the in vivo molecular targeting of breast cancer cells. *Nano Lett* 2009, 9(1): 287-291.
73. Dreaden EC, Mwakwari SC, Sodji QH, et al. Tamoxifen-poly(ethylene glycol)-thiol gold nanoparticle conjugates: enhanced potency and selective delivery for breast cancer treatment. *Bioconjug Chem* 2009, 20(12): 2247-2253.
74. Joshi P, Chakraborti S, Ramirez-Vick JE, et al. The anticancer activity of chloroquine-gold nanoparticles against MCF-7 breast cancer cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2012, 95: 195-200.
75. Kim M, Ock K, Cho K, et al. Live-cell monitoring of the glutathione-triggered release of the anticancer drug topotecan on gold nanoparticles in serum-containing media. *Chem Commun* 2012, 48(35): 4205-4207.
76. Fonteh P, Meyer D. Novel gold(I) phosphine compounds inhibit HIV-1 enzymes. *Metallomics* 2009, 1(5): 427-433.
77. Molter A, Mohr F. Gold complexes containing organoselenium and organotellurium ligands. *Coord Chem Rev* 2010, 254(1-2): 19-45.
78. Bowman MC, Ballard TE, Ackerson CJ, et al. Inhibition of HIV fusion with multivalent gold nanoparticles. *J Am Chem Soc* 2008, 130(22): 6896-6897.
79. Aqeel Y, Siddiqui R, Anwar A, et al. Gold nanoparticle conjugation enhanced anti-Acanthamoebic effects of chlorhexidine. *Antimicrob Agents Chemother* 2015, 60(3): 1283-1288.
80. Leu JG, Chen SA, Chen HM, et al. The effects of gold nanoparticles in wound healing with antioxidant epigallocatechin gallate and α -lipoic acid. *Nanomedicine* 2012, 8(5): 767-775.
81. Labouta HI, Liu DC, Lin LL, et al. Gold Nanoparticle Penetration and Reduced Metabolism in Human Skin by Toluene. *Pharm Res* 2011, 28(11): 2931-2944.
82. Cozad MJ, Bachman SL, Grant SA. Assessment of decellularized porcine diaphragm conjugated with gold nanomaterials as a tissue scaffold for wound healing. *J Biomed Mater Res A* 2011, 99(3): 426-434.
83. Lee J, Kim J, Go J, et al. Transdermal treatment of the surgical and burned wound skin via phytochemical-capped gold nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2015, 135: 166-174.
84. Venkatachalam M, Govindaraju K, Sadiq AM, et al. Functionalization of gold nanoparticles as antidiabetic nanomaterial. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2013, 16: 331-338.
85. Dragoni S, Franco G, Regoli M, et al. Gold nanoparticles uptake and cytotoxicity assessed on rat liver precision-cut slices. *Toxicol Sci* 2012, 128(1): 186-197.
86. Sadauskas E, Danscher G, Stoltenberg M, et al. Protracted elimination of gold nanoparticles from mouse liver. *Nanomedicine* 2009, 5(2): 162-169.
87. Cho EC, Zhang Y, Cai X, et al. Quantitative analysis of the fate of gold nanocages in vitro and in vivo after uptake by U87-MG tumor cells. *Angew Chem Int Ed Engl* 2013, 52(4): 1152-1155.
88. Hutter E, Boridy S, Labrecque S, et al. Microglial response to gold nanoparticles. *ACS Nano* 2010, 4(5): 2595-2606.
89. Chithrani BD, Chan WC. Elucidating the mechanism of cellular uptake and removal of protein-coated gold nanoparticles of different sizes and shapes. *Nano Lett* 2007, 7(6): 1542-1550.

90. Lin Z, Monteiro-Riviere NA, Kannan R, Riviere JE. A computational framework for interspecies pharmacokinetics, exposure and toxicity assessment of gold nanoparticles. *Nanomedicine* 2016, 11(2): 107-119.
91. Boca SC, Potara M, Gabudean AM, et al. Chitosan-coated triangular silver nanoparticles as a novel class of biocompatible, highly effective photothermal transducers for in vitro cancer cell therapy. *Cancer Lett* 2011, 311(2): 131-140.
92. Amarnath K, Mathew NL, Nellore J, et al. Facile synthesis of biocompatible gold nanoparticles from *Vitis vinifera* and its cellular internalization against HBL-100 cells. *Cancer Nanotechnol* 2011, 2(1-6): 121-132.
93. Dreaden EC, Alkilany AM, Huang X, et al. The golden age: gold nanoparticles for biomedicine. *Chem Soc Rev* 2012, 41(7): 2740-2779.
94. Massich MD, Giljohann DA, Seferos DS, et al. Regulating immune response using polyvalent nucleic acid-gold nanoparticle conjugates. *Mol Pharm* 2009, 6(6): 1934-1940.
95. Vivès E, Schmidt J, Pèlegriin A. Cell-penetrating and cell-targeting peptides in drug delivery. *Biochim Biophys Acta* 2008, 1786(2): 126-138.
96. Zhang W, Ji Y, Wu X, Xu H. Trafficking of gold nanorods in breast cancer cells: uptake, lysosome maturation, and elimination. *ACS Appl Mater Interfaces* 2013, 5(19): 9856-9865.
97. Abdelhalim MA, Abdelmottaleb Moussa SA. The gold nanoparticle size and exposure duration effect on the liver and kidney function of rats: In vivo. *Saudi J Biol Sci* 2013, 20(2): 177-181.
98. Mishra A, Tripathy SK, Yun SI. Bio-synthesis of gold and silver nanoparticles from *Candida guilliermondii* and their antimicrobial effect against pathogenic bacteria. *J Nanosci Nanotechnol* 2011, 11(1): 243-248.
99. Niide T, Goto M, Kamiya N. Biocatalytic synthesis of gold nanoparticles with cofactor regeneration in recombinant *Escherichia coli* cells. *Chem Commun* 2011, 47(26): 7350-7352.
100. Kashefi K, Tor JM, Nevin KP, Lovley DR. Reductive precipitation of gold by dissimilatory Fe(III)-reducing Bacteria and Archaea. *Appl Environ Microbiol* 2001, 67(7): 3275-3279.
101. US 7407740, T. Kariya, H. Suzuki assigned to Fuji Film Co (2008). <https://patents.google.com/patent/US7407740B2/en> (10.06.2018).
102. Maurer JH, González-García L, Reiser B, et al. T Sintering of ultrathin gold nanowires for transparent electronics. *ACS Appl Mater Interfaces* 2015, 7(15): 7838-7842.
103. Liu JW, Wang JL, Wang ZH, et al. Manipulating nanowire assembly for flexible transparent electrodes. *Angew Chem Int Ed Engl* 2014, 53(49): 13477-13482.
104. Flavel BS, Yu J, Ellis AV, et al. Solution chemistry approach to fabricate vertically aligned carbon nanotubes on gold wires: towards vertically integrated electronics. *Nanotechnology* 2008, 19(44): 445301.
105. Mallan L. *Suiting up for space: the evolution of the space suit*. John Day Co, New York 1971.
106. https://www.nasa.gov/audience/foreducators/spacesuits/home/clickable_suit_nf.html (10.06.2018).
107. Hribar KC, Metter RB, Burdick JA. Novel nano-composite biomaterials that respond to light. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2009, 2009: 2409-2411.
108. <http://www.reise-nach-ostpreussen.de/weitere-informationen/danziger-goldwasser.html> (10.06.2018).