

اثر امواج صدا بر نفوذپذیری نانوذرات اکسید آهن در یاخته‌های (سلول‌های) سرطانی

شهرام عزیزی*^۱، غلام‌حسین ریاضی^۲، علی‌اصغر شکری^۱

۱. گروه فیزیک، دانشگاه پیام نور

۲. مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران

چکیده

داروهایی که معمولاً به‌عنوان ضد سرطان استفاده می‌شوند سمی هستند. این سموم ملکول‌های آلی یا غیرآلی هستند که به یاخته‌های سالم به اندازه یاخته‌های سرطانی آسیب وارد می‌کنند. امروزه، محققین سعی دارند داروهای هدف‌مند تولید کنند که مستقیماً یاخته‌های سرطانی را نابود کنند. روش‌های متفاوتی برای نابودی یاخته‌های سرطانی توسعه یافته‌اند مثلاً حرارت دادن داروهای سمی با میدان برق‌مغناطیسی یا فعال کردن موضعی دارو با امواج حرارتی یا امواج صدا. این شیوه‌ها غیرتهاجمی هستند. در این پژوهش از دو عامل فیزیکی صدا با بسامد ۵۲۸ هرتز و میدان مغناطیسی نانو ذرات اکسید آهن در جهت مرگ یاخته‌های سرطانی استفاده شد. سنتر نانو ذرات و کشت و تیمار یاخته‌ای انجام گردید. زنده بودن یاخته‌ها پس از اعمال نانو ذرات و امواج صوتی به روش اِتی‌تی مشخص شد. با توجه به حجم و اندازه نانو ذرات در مدت استفاده، به نظر می‌رسد نانو ذره مزبور به غشای بیرونی یاخته سرطانی چسبیده و با میدان مغناطیسی ساختار پروتئین‌های غشایی را تغییر می‌دهد. با توجه به امکان تغییر بسامد و شدت به نظر می‌رسد که کارایی امواج صوتی در زمان کوتاه بیش‌تر از نانو ذرات می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: صدا، بسامد ۵۲۸ هرتز، نانو ذرات Fe_2O_3 ، یاخته سرطانی، روش اِتی‌تی.

۱. مقدمه

درمانی با مشکلاتی همراه بود اما با قدم‌هایی که برداشته شد، بتدریج این شاخه درمانی تکامل یافت و انجمن‌های متعددی تشکیل گردیدند. بسامد یک ویژگی فیزیکی امواج صوتی است زیرا به کمک لوازم الکترونیکی می‌توان آن را اندازه گرفت. در مقابل، بسامد در گوش انسان به عنوان یک اثر کیفی است به طوری که با آن زیر و یا بمی صدا تشخیص داده می‌شود. یک صدای خالص با بسامد کم به عنوان صدای بم و صدای دیگر با بسامد زیاد به عنوان صدای زیر شنیده می‌شود.

امواج صوتی بر حسب بسامد به سه گروه فراصدا، فروصدا و محدوده شنوایی تقسیم می‌شوند. در دهه‌های اخیر اثرات بیولوژی امواج فراصدا به طور گسترده‌ای در تشخیص و درمان استفاده شده‌اند [۱-۲]. اگر چه سازوکارهای ایجادشده بوسیله امواج فروصدا هنوز مشخص نشده است ولی اثرات بیولوژیکی آن به دلیل اثرات مضر احتمالی مطرح هستند [۳-۶]. در ضمن مطالعات نشان

صدا نوعی از انرژی است که از تحرک ذرات ماده بوجود می‌آید به این گونه که یک ذره با حرکت (برخورد) خود به ذره‌ای دیگر آن را به حرکت درمی‌آورد و به همین ترتیب است که صدا نشر می‌یابد. صدا ارتعاشی است که توسط حس شنوایی انسان درک می‌شود. معمولاً انسان امواج صوتی که در هوا حرکت می‌کنند را می‌شنود ولی این امواج می‌توانند در گاز، مایع و حتی جامدات نیز حرکت کنند.

تاریخچه استفاده از موسیقی به عنوان روشی برای درمان به زمان ارسطو و افلاطون باز می‌گردد. از آن زمان به بعد رگه‌هایی از استفاده امواج صوتی و آهنگ‌ها برای درمان بیماری‌های مختلف بکار رفته است. اما در قرن بیستم تفکر رسمی استفاده از موسیقی برای درمان مصدومین جنگ جهانی اول آغاز شد و هر چند استفاده از این روش

* نویسنده پاسخگو: sazizi@ut.ac.ir

نیز به زودی به‌عنوان یک روش درمانی در دسترس قرار خواهد گرفت. علی‌رغم آنکه امروزه ممکن است فن‌آوری نانو در مقایسه با علوم رایج و کاربردی بیش‌تر از یک عبارت متداول جلب توجه نکند، اما اصلاً نباید از توانمندی‌های آتی آن غفلت کرد [۲۱-۳۲].

در این پژوهش دو عامل فیزیکی صدا با بسامد ۵۲۸ هرتز و میدان مغناطیسی حاصل از نانو ذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) در جهت مرگ یاخته‌های سرطانی استفاده گردید.

سنتز نانو ذرات، کشت و تیمار یاخته‌ای انجام شد. بررسی زنده بودن یاخته‌ها پس از اعمال نانو ذرات و امواج صوتی به روش ام‌تی‌تی^۲ مشخص گردید.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. سنتز نانوذرات به روش هم رسوبی

۱۰ گرم کلرید آهن ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) در ۱۵۰ میلی‌لیتر آب خالص حل شد. سپس ۲ میلی‌لیتر آمونیاک به محلول اضافه گردید. پس از گذشت ۲ ساعت و ۲۰ دقیقه به پودری قهوه‌ای رنگ تبدیل شد. pH محلول بین ۰ و ۱ تنظیم شد سپس پودر حاصل برای مدت ۴ ساعت درون کوره با حرارت ۵۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و پس از سرد شدن نانو ذره مورد نظر تحلیل شد [۳۳].

۲-۲. کشت و تیمار یاخته‌ای

۲-۲-۱. رده‌های یاخته‌ای مورد استفاده

در این پژوهش از سلول‌های سرطانی پی سی ۱۲^۳ استفاده شد. بدلیل اینکه یاخته آدرنال (فوق کلیوی) بوده که شبیه یاخته‌های عصبی عمل می‌کند به همین جهت این یاخته به صورت یاخته عصبی در نظر گرفته شده است. از محیط کشت دی‌ام‌بی‌ام^۴ برای کشت رده‌های یاخته‌ای استفاده شد.

۲-۲-۲. بررسی زنده بودن یاخته‌ها با استفاده از روش

ام‌تی‌تی

فعالیت متابولیکی یاخته‌های انکوبه شده در حضور

می‌دهند که امواج محدوده شنوایی، مثل موسیقی، در مراقبت‌های پزشکی مثل کاهش درد و تنش (استرس) در بیماران تحت عمل جراحی، سرطانی و بیماران سوختگی می‌توانند مفید واقع گردند [۷-۱۲]. هم‌چنین پاسخ به موسیقی می‌تواند پیچیده‌تر بوده و باعث تغییر در آزادسازی هورمون و سیتوکین مربوط به شادی شود [۱۳]. در ضمن مطالعات حاکی از رشد یاخته در بسامد واحدی از محدوده شنوایی بوده است [۱۴، ۱۶-۱۹]. برخی امواج صوتی مثل موسیقی می‌توانند به طور مستقیم یاخته‌های غیرشنوایی را تحت تاثیر قرار دهند [۱۵-۲۰]. هم‌چنین تحقیقات قبلی آزمایشگاهی نشان داد که بسامد ۵۲۸ هرتز در تحقیقات پزشکی به طور وسیعی مورد استفاده قرار گرفته است و هم‌چنین باعث اختلال در پیچیدگی‌های مولکولی می‌گردد. آقای ابو نصر فارابی هم در کتاب موسیقی کبیر خود بسامد بین ۵۰۰ تا ۶۰۰ هرتز را بسامد خوب و یا بسامد سلامتی می‌داند. از طرفی فن‌آوری نانو راه‌حل‌های جدیدی را جهت افزایش سرعت و صحت شناسایی ژن و مواد ژن، جهت کشف داروها و بهبود آن‌ها و تهیه فرآیندهای تشخیص بیماری‌ها ارائه نموده است. استفاده از ترکیبات و ساختارهای طبیعی در تحقیقات فن‌آوری نانو جایگاهی ویژه دارد [۲۱]. یکی دیگر از کاربردهای فن‌آوری نانو در زمینه دارورسانی ژن‌هاست. حامل‌های ویروسی (وکتور^۱)، ویروس‌های اصلاح‌شده‌ای می‌باشند که روی سامانه ایمنی بدن دارای اثراتی هستند بنابراین تحقیقات روی ساخت ذرات نانو که قابلیت حمل ژن‌ها را داشته باشند از موارد مورد نیاز می‌باشد. سایر روش‌های آزادسازی و دارورسانی به منظور افزایش تاثیر دارو و کاهش اثرات جانبی آن‌ها نیز وجود دارند که مورد تحقیق می‌باشند. این تحقیقات هم‌چنین بر روی ذرات مغناطیسی که به کمک آن بتوان داروها را به محل اصلی هدایت نمود نیز انجام می‌شوند. پوشش ذرات غیرنانو با بسپارهایی (پلیمرهایی) نظیر پلی اتیلن گلیکول نیز از مواردی است که به کمک آن داروها را می‌توان به محل اصلی هدایت نمود. این روش سبب می‌شود تا ویژگی‌های دارو تغییر نماید و دارو از متابولیسم در کبد در امان باقی بماند. این راه دارورسانی

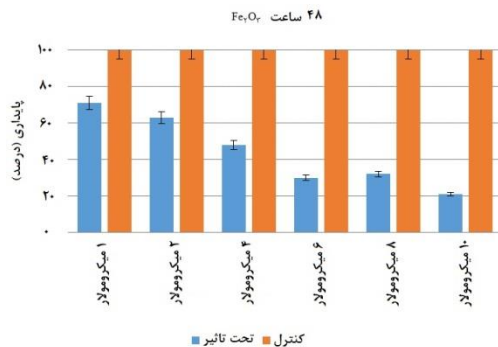
² MTT

³ PC 12

⁴ DMEM

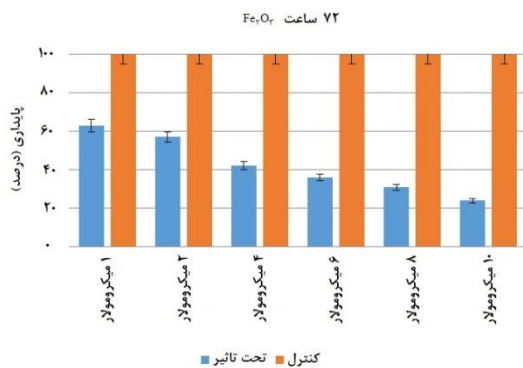
¹ vector

عرض ۴۸ ساعت این تاثیرات مشاهده می‌شوند که هر چه زمان بیش‌تر باشد پایداری یاخته‌ها کم‌تر می‌گردند.



شکل ۲ اثر نانوذرات Fe₂O₃ بر یاخته‌های سرطانی (پی سی ۱۲) در ۴۸ ساعت.

در شکل ۳ مانند دو شکل قبل، یاخته کنترل به رنگ قهوه‌ای و یک یاخته تحت تاثیر نانو ذرات Fe₂O₃ به رنگ آبی در غلظت‌های مختلف نشان داده شده‌اند.



شکل ۳ اثر نانو ذرات Fe₂O₃ بر یاخته‌های سرطانی (پی سی ۱۲) در ۷۲ ساعت.

شکل ۴ بیانگر تاثیر موج ۵۲۸ هرتز در شدت‌ها و زمان‌های مختلف است با توجه به اینکه معمولا زمان آزمایش بین ۲ الی ۱۵ ساعت می‌باشد.

مشاهده می‌گردد که هر چه شدت صوتی و زمان تاثیرگذاری بیش‌تر باشد پایداری یاخته‌ها کم‌تر بوده بطوری که در شدت ۱۲۰ دسی‌بل و زمان ۸ ساعت پایداری صفر گردیده و اکثر یاخته‌ها می‌میرند.

در این آزمون نیز بسامد مرگ^۲ (موثر) یا ال‌اف^۱ برابر ۵۲۸ هرتز و ۸۰ دسی‌بل در ۶ ساعت بود.

غلظت‌های مختلف از دارو با استفاده از آزمون ام‌تی‌تی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۲-۳. تعیین ال‌سی-۵۰

به منظور تعیین ال‌سی ۵۰، برای یافتن دز مناسب جهت آزمایش‌های بعدی، یاخته‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در ظروف کشت ۹۶ خانه‌ای، با غلظت‌های مختلفی از دارو تیمار گردیدند.

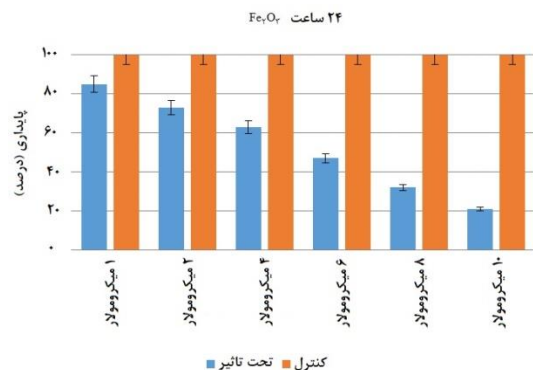
۲-۲-۴. بررسی زنده بودن یاخته‌ها با استفاده از رنگ

آمیزی تریپان بلو

به منظور بررسی اثرات دارو بر توانایی زنده ماندن یاخته‌ها از رنگ تریپان بلو استفاده شد.

۳. نتایج

در شکل ۱ یاخته کنترل به رنگ قهوه‌ای در غلظت‌های مختلف و تاثیر Fe₂O₃ به رنگ آبی نشان داده شده‌اند. در این شکل، که مشاهده می‌گردد هر چه غلظت نانو ذرات بیش‌تر باشد پایداری یاخته‌ها (فعالیت) کم‌تر شده یا به عبارت دیگر تعداد یاخته‌های مرده بیش‌تر می‌گردند. مقدار غلظت ال‌سی ۵۰ که برای یاخته‌های سرطانی بدست آمد ۶ میکرومولار بود.



شکل ۱ اثر نانوذرات Fe₂O₃ بر یاخته‌های سرطانی (پی سی ۱۲) در ۲۴ ساعت.

در شکل ۲ مانند شکل ۱ یاخته کنترل به رنگ قهوه‌ای و تاثیر نانو ذرات Fe₂O₃ بر روی آن‌ها به رنگ آبی در غلظت‌های مختلف نشان داده شده با این تفاوت که در

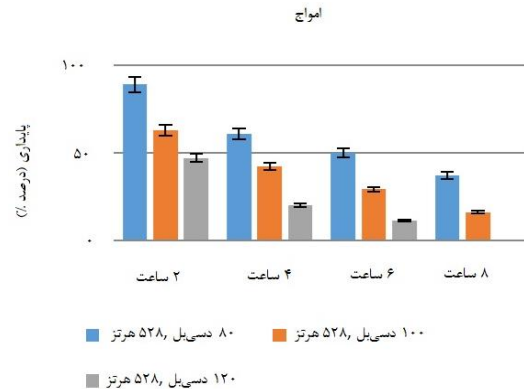
² Lethal frequency

¹ LC-50

سرطان و آلزایمر که امروزه بسیار شایع هستند و به عنوان پر هزینه‌ترین عوامل در اقتصاد جوامع بشری محسوب می‌شوند و نیز در مورد بیماری سرطان که سابقه آن به چند هزار سال پیش می‌رسد، راه‌های متعددی بکار گرفته شده‌اند که هیچ‌کدام نتوانستند بیماری را ریشه کن یا حداقل درمان نمایند. عمدتاً مواد شیمیایی که به عنوان داروهای ضد سرطان مصرف می‌شوند برای به تاخیر انداختن مرگ بیمار مورد استفاده قرار می‌گیرند. امروزه تحقیقات برای یافتن راه‌های جدید در درمان جزو اولویتهای مراکز درمانی است. مواد شیمیایی مصرفی به عنوان داروهای ضد سرطان علاوه بر از بین بردن یاخته سرطانی، اثرات مختل‌کننده دیگری بر روی یاخته‌های سالم نیز می‌گذارند که قابل نظر کردن نیستند.

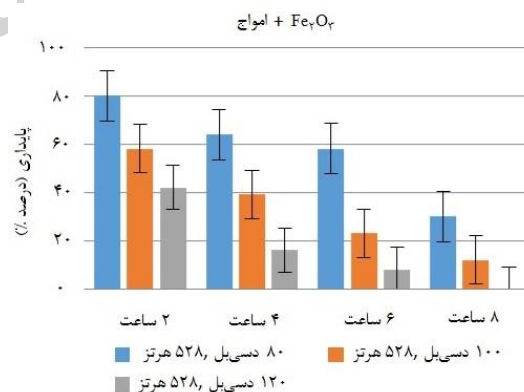
از طرف دیگر عوامل فیزیکی مانند امواج الکترومغناطیس، امواج صوتی و میدان مغناطیسی به عنوان عوامل اثرگذار بر حیات یاخته‌های سرطانی نیز می‌توانند مورد توجه قرار گیرند. طبعاً هرکدام از اثرگذارندهای فیزیکی مزایا و معایبی دارند ولی اثر مفید عوامل فیزیکی، غیرتهاجمی بودن آنها است و از طرفی اثرات سامان‌مند نیز به جای نمی‌گذارند.

سازوکار عملکرد امواج بسامد پایین تاکنون مشخص نشده است ولی مطالعات مختلفی به دلیل احتمال اثرات تخریبی برخی از این امواج انجام شده است [۳۷-۳۴]. مطالعات مختلفی که در محدوده امواج شنوایی به خصوص امواج با شدت ۱۲۰ دسی‌بل و بسامد ۸ هرتز انجام شده است نشان می‌دهند که تحریکات به وجود آمده توسط این امواج می‌توانند در کاهش درد و تنش (استرس) در بیماران که تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند و همچنین بیماران سرطانی موثر باشد [۷-۱۲]. در دهه اخیر مطالعات متعددی در زمینه اثر امواج مختلف بر آزاد شدن هورمون‌هایی از قبیل هورمون رشد و سیتوکینین‌ها انجام شده است. در این مطالعات مشخص شده است که با به کار بردن برخی از طول‌موج‌ها میزان تولید هورمون رشد و سیتوکینین افزایش می‌یابد [۱۳]. پاسخ عضلات قلبی به امواج صوتی دامنه شنوایی با سازوکار متفاوتی انجام می‌گیرد که وابسته به شخص نیست. برخلاف



شکل ۴ تاثیر امواج صوتی در شدت‌های مختلف بر روی یاخته‌های سرطانی (پی‌سی ۱۲).

نتایج شکل ۵ دقیقاً مانند شکل ۴ است با این تفاوت که در حضور نانوذرات Fe_2O_3 امواج صوتی در شدت‌ها و زمان‌های مختلف تاثیر داده شده‌اند. مشاهده گردید که هر چه شدت صوتی و زمان تاثیرگذاری بیشتر باشد پایداری یاخته‌ها نسبت به شکل ۴ کم‌تر و کم‌تر می‌گردد. لازم به ذکر است که تمام اثرگذاری‌های در LD_{50} می‌باشد یعنی مقدار دوزی که ۵۰ درصد یاخته‌ها را از بین می‌برد.



شکل ۵ تاثیر امواج صوتی به همراه نانوذرات Fe_2O_3 بر یاخته‌های سرطانی پی‌سی ۱۲.

۴. بحث

عامل ایجادکننده تعدادی از بیماری‌های امروزی ناشناخته مانده است در نتیجه درمان این نوع بیماری‌ها نیز با مشکلاتی روبرو است. برای بیماری‌هایی نظیر

¹ LF50

² LD50; Lethal Dose 50

صوتی با ایجاد حرارت و احتمالاً افزایش دما عملکرد آنزیمی یاخته را مختل می‌نمایند. با توجه به اینکه آنزیم‌های داخل یاخته که تعداد آن‌ها بی‌شمار است کنترل حیات و ماندگاری یاخته را فراهم می‌کنند و از طرفی پیام‌رسان درون یاخته‌ای وابسته به پروتئین‌های متحرکی مانند میکروتوبول-ها می‌باشند که بسیار به حرارت، حرکت و تقارن حساس می‌باشند. لذا امواج صوتی با بسامد ۵۲۸ که قبلاً در کارکردهای دیگر یاخته‌ای نیز مورد استفاده بوده‌اند به کار گرفته شدند طبعاً تناسب شدت و بسامد صوتی مورد نظر قرار گرفت. با توجه به امکان تغییر بسامد و شدت به نظر می‌رسد که کارایی امواج صوتی در زمان کوتاه بیش‌تر از نانو ذرات است. از طرفی برای دسترسی نانو ذرات با تومور سرطانی نیاز به تزریق وجود دارد و ممکن است که به نقاط دیگر بدن نیز سرایت کرده و باعث تخریب یاخته‌های سالم گردد در حالی که امواج صوتی می‌توانند به صورت موضعی و از بیرون اداره گردند.

ترکیب دو حالت موج صوتی و نانو ذره مغناطیسی نیز نشان داد که یاخته تحت تاثیر موج صوتی به طرف مرگ برنامه‌ریزی شده می‌رود و می‌تواند سریع‌تر از صحنه بافت خارج گردد.

۵. فهرست منابع

- [1] A. Lisa D, G. David, B. Derek, "Exposure to low amounts of ultrasound energy does not improve soft tissue shoulder pathology, a systematic review," *Physical Therapy*, vol. 90, no. 1, pp. 14-25, 2010.
- [2] P.W. Peng, S. Narouze, "Ultrasound-guided interventional procedures in pain medicine: a review of anatomy, sonoanatomy, and procedures: Part I: Nonaxial structures," *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, vol. 34, no. 5, pp. 458-474, 2009.
- [3] M. Alves-Pereira, N.A.C. Branco, "Vibroacoustic disease: Biological effects of infrasound and low-frequency noise explained by mechanotransduction cellular signalling," *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 93, no. 1, pp. 256-279, 2007.
- [4] T. Neil, P. McAngus, S.M. Rosengren, J.G. Colebatch, "Tuning and sensitivity of the human vestibular system to low-frequency

اعتقادات رایجی که تصور می‌شود پاسخ به موزیک از طریق تحریکات یاخته‌های شنوایی انجام می‌شود، امواج صوتی می‌توانند روی یاخته‌هایی غیر از یاخته‌های شنوایی نیز اثر بگذارند [۳۸-۳۹]. بیش‌تر مطالعات انجام‌شده بر روی یاخته‌های شنوایی و تحریک آن‌ها انجام شده است و اعتقاد بر این است که تبدیل تحریکات ایجاد شده در یاخته‌های مو به تپ‌های (پالس‌های) برقی عصبی و انتقال آن به مغز، شروع سازوکار تحریک توسط امواج صوتی می‌باشد [۴۰].

از آنجایی که نانو ذرات Fe_2O_3 مغناطیسی بوده و در محیط، تشکیل لخته یا کره‌های بزرگ‌تر از نانو ذره را می‌دهند به همین جهت برای جداسازی مولکول‌ها از یکدیگر و تاثیر بیش‌تر به وسیله دیگر نیاز می‌باشد. لذا در این تحقیق دو عامل فیزیکی صوتی با بسامد ۵۲۸ هرتز و میدان مغناطیسی حاصل از نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) در جهت مرگ یاخته‌های سرطانی استفاده گردید. با توجه به حجم و اندازه Fe_2O_3 و در مدت استفاده به نظر می‌رسد که نانو ذره مزبور به غشاء بیرونی یاخته سرطانی چسبیده و با میدان مغناطیسی ساختار پروتئین‌های غشایی را تغییر می‌دهد. از آنجایی که کلیه پروتئین‌های غشایی دارای لیگاند ساکاریدی هستند و الیگوساکارید-های متصل به گلیکوپروتئین-های غشایی دارای سیالیک‌اسید با بار منفی می‌باشند در نتیجه احتمالاً گلیکوپروتئین-ها در میدان مغناطیسی به صورت ایستا یا نیمه بلور (کریستال) قرار می‌گیرند. لذا اختلال در سامانه پیام‌رسان یاخته‌ای میزان عبور آب از غشاء و داخل غشاء را مختل کرده و به همراه آن تغذیه یاخته نیز مختل می‌شود. به این دلیل یاخته به طرف آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده پیش می‌رود. با توجه به نتایج به دست آمده در شکل ۱ و ۳ تغییر پیام در یاخته باعث آپوپتوز شده و تغذیه یاخته‌ای در فرایند مرگ تاثیر چندانی نداشته است. نتیجه آزمایش با نانو ذرات نشان داد که می‌تواند حدود ۵۰ درصد از یاخته‌های سرطانی را نابود نماید از آنجایی که تغییرات غشایی و حتی درون یاخته‌ای وابسته به یک نوع زمان‌بندی متقارن در فرایندهای متابولیسمی یاخته می‌باشد لذا امواج صوتی نیز می‌توانند بر روی این تقارن تاثیرگذار باشند. امواج

- protein production unchanged.” *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 27, no. 11, pp. 832-838, 2000.
- [16] W. Xiujuan, W. Bochu, J. Yi, H. Danqun, D. Chuanren, “Effect of sound stimulation on cell cycle of chrysanthemum (*Gerbera jamesonii*),” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 29, no. 2-3, pp. 103-107, 2003.
- [17] H.C. Zhao, J. Wu, L. Zheng, T. Zhu, B.S. Xi, B. Wang, W. Younian, “Effect of sound stimulation on *Dendranthema morifolium* callus growth,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 29, no. 2, pp. 143-147, 2003.
- [18] J.C.L. Ying, J. Dayou, C.K. Phin, “Experimental investigation on the effects of audible sound to the growth of *Escherichia coli*,” *Modern Applied Science*, vol. 3, no. 3, pp. 124, 2009.
- [19] G. Shaobin, Y. Wu, K. Li, S. Li, S. Ma, Q. Wang, R. Wang, “A pilot study of the effect of audible sound on the growth of *Escherichia coli*,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 78, no. 2, pp. 367-371, 2010.
- [20] H. Moller, C.S. Pedersen, “Hearing at low and infrasonic frequencies,” *Noise and Health*, vol. 23, no. 6, pp. 37, 2004.
- [21] D. Grade, “Chemo bomb nanotechnology effective in halting tumors,” *Fierce Drug Delivery*, 2012.
- [22] C.M. Niemeyer, “The developments of semisynthetic DNA-protein conjugates,” *Trends in Biotechnology*, vol. 20, no. 9, pp. 395-401, 2002.
- [23] O.G. Schmidt, K. Eberl, “Nanotechnology: Thin solid films roll up into nanotubes,” *Nature*, vol. 410, no. 6825, pp. 168, 2001.
- [24] G.M. Studnicka, G.M. Rahn, I.W. Cummings, W.A. Salser, “Computer method for predicting the secondary structure of single-stranded RNA,” *Nucleic Acids Research*, vol. 5, no. 9, pp. 3365-3388, 1978.
- [25] N.L. Yap, V.B. Rao, “Novel mutants in the 5' upstream region of the portal protein gene 20 overcome a gp40-dependent prohead assembly block in bacteriophage T4,” *Journal of Molecular Biology*, vol. 263, no. 3, pp. 539-550, 1996.
- [26] M. Zuker, “On finding all suboptimal foldings of an RNA molecule,” *Science*, vol. 244, no. 4900, pp. 48-52, 1989.
- [27] J.A. Jaeger, J. SantaLucia Jr, I. Tinoco Jr, “Determination of RNA structure and thermodynamics,” *Annual Review of Biochemistry*, vol. 62, no. 1, pp. 255-285, 1993.
- vibration,” *Neuroscience Letters*, vol. 444, no. 1, pp. 36-41, 2008.
- [5] E. Dommès, H.C. Bauknecht, G. Scholz, Y. Rothmund, J. Hensel, R. Klingebiel, “Auditory cortex stimulation by low-frequency tones-An fMRI study,” *Brain Research*, vol. 1304, pp. 129-137, 2009.
- [6] Z. Pei, Z. Zhuang, P. Xiao, J. Chen, H. Sang, J.R. Zhenbiao, “Influence of infrasound exposure on the whole L-type calcium currents in rat ventricular myocytes,” *Cardiovascular Toxicology*, vol. 9, no. 2, pp. 70-77, 2009.
- [7] X. Tan, C.J. Yowler, D.M. Super, R.B. Fratianne, “The efficacy of music therapy protocols for decreasing pain, anxiety, and muscle tension levels during burn dressing changes: a prospective randomized crossover trial,” *Journal of Burn Care & Research*, vol. 31, no. 4, pp. 590-597, 2010.
- [8] P. Judith, “Patient-directed music therapy as an adjunct during burn wound care,” *Critical Care Nurse*, vol. 30, no. 2, pp. 74-76, 2010.
- [9] S.H.T. Huang, M. Good, J.A. Zauszniewski, “The effectiveness of music in relieving pain in cancer patients: a randomized controlled trial,” *International Journal of Nursing Studies*, vol. 47, no. 11, pp. 1354-1362, 2010.
- [10] T.N. Nguyen, S. Nilsson, A.L. Hellestrom, A. Bengtson, “Music therapy to reduce pain and anxiety in children with cancer undergoing lumbar puncture: A randomized clinical trial,” *Journal of Pediatric Oncology Nursing*, vol. 27, no. 3, pp. 146-155, 2010.
- [11] M. Good, J.M. Albert, G.C. Anderson, S. Wotman, X. Cong, D. Lane, S. Ahn, “Supplementing relaxation and music for pain after surgery,” *Nursing Research*, vol. 59, no. 4, pp. 259-269, 2010.
- [12] K.D. Allred, J.F. Byers, M.L. Sole, “The effect of music on postoperative pain and anxiety,” *Pain Management Nursing*, vol. 11, no. 1, pp. 15-25, 2010.
- [13] C. Conard, H. Niess, K.W. Jauch, C.J. Bruns, W.H. Hartle, L. Welker, “Overture for growth hormone: Requiem for interleukin-6?,” *Critical Care Medicine*, vol. 35, no. 12, pp. 2709-2713, 2007.
- [14] H.C. Zhao, J. Wu, B.S. Xi, B.C. Wang, “Effects of sound-wave stimulation on the secondary structure of plasma membrane protein of tobacco cells,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 25, no. 1, pp. 29-32, 2002.
- [15] H. Jones, L. Feth, D. Rumpf, A. Hefti, A. Maritti, “Acoustic energy affects human gingival fibroblast proliferation but leaves

- [28] C.W.A. Pleij, L. Bosch, "[21] RNA pseudoknot: Structure, detection, and prediction," *Methods in Enzymology*, vol. 180, pp. 289-203, 1989.
- [29] C.C. Correll, B. Freeborn, P.B. Moore, T.A. Steitz, "Metals, motifs, and recognition in the crystal structure of a 5S rRNA domain," *Cell*, vol. 91, no. 5, pp. 705-712, 1997.
- [30] P. Guo, "The emerging field of RNA nanotechnology," *Nature Nanotechnology*, vol. 5, no. 12, pp. 833-842, 2010.
- [31] J. Liu, S. Guo, M. Cinier, L.S. Shlyakhtenko, Y. Shu, C. Chen, G. Shen, P. Guo, "Fabrication of stable and RNase-resistant RNA nanoparticles active in gearing the nanomotors for viral DNA packaging," *ACS Nano*, vol. 5, no. 1, pp. 237-246, 2010.
- [32] D. Shu, Y. Shu, F. Haque, S. Abdelmawla, P. Guo, "Thermodynamically stable RNA three-way junction for constructing multifunctional nanoparticles for delivery of therapeutics," *Nature Nanotechnology*, vol. 10, no. 6, pp. 658-667, 2011.
- [33] M. Farahmandjou, F. Soflaee, "Synthesis of iron oxide nanoparticles using borohydride reduction," *International Journal of Bio-Inorganic Hybrid Nanomaterials*, vol. 3, no. 4, pp. 203-206, 2014.
- [34] M. Alves-Pereira, N.A.C. Branco, "Vibroacoustic disease: biological effects of infrasound and low-frequency noise explained by mechanotransduction cellular signalling," *Progress In Biophysics and Molecular Biology*, vol. 93, no. 1, pp. 256-279, 2007.
- [35] N.P.M. Todd, S.M. Rosengren, J.G. Colebatch, "Tuning and sensitivity of the human vestibular system to low-frequency vibration," *Neuroscience Letters*, vol. 444, no. 1, pp. 36-41, 2008.
- [36] E. Dommès, H.C. Bauknecht, G. Scholz, Y. Rothmund, J. Hensel, R. Klingebiel, "Auditory cortex stimulation by low-frequency tones-An fMRI study," *Brain Research*, vol. 1304, pp. 129-137, 2009.
- [37] Z. Pei, Z. Zhuang, P. Xiao, J. Chen, H. Sang, J. Ren, G. Yan, "Influence of infrasound exposure on the whole L-type calcium currents in rat ventricular myocytes," *Cardiovascular Toxicology*, vol. 9, no. 2, pp. 70-77, 2009.