BRIEF REPORT

Effects of Copper Nanoparticles in Prostate Normal and Cancer Cell Lines

Mohammad Shokrzadeh[1],
Bahare Sayad[2],
Shaghayegh Aghajanshakeri[3]

[1] Professor, Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Pharmacy Student, Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] PhD in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 5, 2022 ; Accepted March 14, 2023)

Abstract

Background and purpose: In clinical treatment of cancer, improving the efficacy of drugs and targeted drug delivery have always been a fundamental problem requiring more focused solutions. The purpose of this study was to investigate the protective effects of copper nanoparticles in prostate normal and cancer cell lines.

Materials and methods: In this experimental study, different concentrations of copper nanoparticles (0, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, and 600 µg) were prepared. Cell growth and oxidative stress in reactive oxygen species (ROS) and reduced glutathione (GSH) were studied in prostate normal and cancer cell lines using MTT assay.

Results: Copper nanoparticles created toxicity in prostate normal cells due to release of ROS and reduction of glutathione reserves. Also, this mechanism inhibited the growth of cancer cells.

Conclusion: According to this study, copper nanoparticles induced toxicity in normal cells through oxidative stress pathway and inducing ROS and decreased the growth of normal cells. Also, copper nanoparticles inhibited the growth of cancer cells by the oxidative stress pathway. So, copper nanoparticles cannot be an effective drug in treatment of prostate cancer as they cause high toxicity in normal cells.

Keywords: copper nanoparticle, normal cell, prostate cancer cell, oxidative stress

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (220): 187-193 (Persian).

Corresponding Author: Bahare Sayad - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.
(E-mail: bh.sayad@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۲۰ اردیبهشت سال ۱۴۰۲ (۱۹۳-۱۸۷)

ارزیابی اثرات نانو ذرات مس بر رده سلولی سلول های نرمال و سلول‌های سرطانی پروستات

محمد شکرزاده[۱]
بهاره صیاد[۲]
شقایق آقاجان شاکری[۳]

چکیده

سابقه و هدف: در درمان بالینی سرطان، بهبود اثربخشی و دارورسانی هدفمند همیشه یک مشکل اساسی بوده است، که باید حل شود. لذا هدف از این مطالعه تجربی بررسی و ارزیابی تاثیر نانو ذرات مس در رده سلولی سلول‌های نرمال و سلول‌های سرطانی پروستات بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی غلظت‌های مختلف از نانو ذره مس (۰،۲۵،۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰،۲۵۰،۳۰۰،۶۰۰ میکروگرم) آماده شد. سپس تست MTT به‌منظور ارزیابی رشد سلولی و فاکتورهای استرس اکسیداتیو گونه‌های اکسیژن فعال(ROS) و گلوتاتیون (GSH) در رده سلولی سلول‌های نرمال و سلول‌های سرطانی پروستات انجام گردید.

یافته‌ها: نانوذرات به واسطه القای ROS و کاهش ذخایر گلوتاتیون باعث ایجاد سمیت در سلول‌های نرمال شد و نیز به واسطه همین مکانیسم در سلول‌های سرطانی منجر به مهار رشد شدند.

استنتاج: بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر نانوذرات مس به واسطه مسیر استرس اکسیداتیو و القای ROS در سلول‌های نرمال، القای سمیت کرده و باعث کاهش رشد سلول‌های نرمال شده است. از طرفی به واسطه مسیر استرس اکسیداتیو در سلول‌های سرطانی توانسته است رشد سلول‌های سرطانی را مهار کند. به همین دلیل نانو ذرات مس به واسطه ایجاد سمیت بالا در سلول‌های نرمال نمی‌تواند داروی موثری در درمان سرطان پروستات باشد.

واژه های کلیدی: نانو ذره مس، سلول‌های نرمال، سلول‌های سرطانی پروستات، استرس اکسیداتیو

مقدمه

سرطان پروستات ناشی از رشد غیرقابل کنترل سلول‌های غیرطبیعی در غده پروستات است. سرطان پروستات شایع می‌باشد اما چون به آرامی رشد می‌کند، همیشه خطرناک نیست(۱). استفاده از داروهای شیمی درمانی درحال حاضر مهم‌ترین راه درمان و یا مهارکننده پیشرفت این بیماری می‌باشد(۲).

اثرات بهداشتی نانوذرات، نگرانی‌های قابل توجه و فزاینده‌ای را از سوی مردم و دولت در سراسر جهان ایجاد کرده است. نانو فلزات شکل‌های جدیدی از فلز با خواص ویژه هستند و با داشتن اندازه ذرات کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر مشخص می‌شوند. مس یک عنصر کمیاب ضروری است و کمبود آن منجر به بیماری‌های مختلفی

مولف مسئول: بهاره صیاد- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: bh.sayad@gmail.com
۱. استاد، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشجوی دکترای حرفه ای داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دکترای تخصصی سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۱/۸/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۱/۹/۳۰ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۱۲/۲۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

در انسان می‌شود. به‌طور کلی، نانوذرات مس از سمی‌ترین نانومواد در پستانداران گزارش شده اند. سمیت نانو مس به جنسیت بستگی دارد. افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و گونه‌های نیتروژن فعال (RNS) نقش مهمی در اختلال عملکرد آلی ناشی از مس ایفا می‌کند(۳).

در حال حاضر در مورد امنیت زیستی و مکانیسم تاثیرات نانومس تحقیقات اولیه را آغاز کرده اند و نتایج نشان می‌دهد که سمیت بالقوه در هر دو سیستم انسانی و اکولوژیکی وجود دارد. در واقع مس در هموستاز بدن انسان حفظ می شود، اما اضافه بار مس در داخل بدن می‌تواند باعث برخی فعالیت‌های سم‌شناسی شود. در مقایسه با مس معمولی و میکرو، نانو مس می‌تواند اثرات سمی جدی ایجاد کند و کبد، کلیه و اندام‌های دیگر، هدف نانوذرات مس هستند(۳). مسمومیت با مس نادر است و در درجه اول بر کبد تاثیر می‌گذارد. درمان سرطان با مس نیز توجه زیادی را به خود جلب می‌کند، زیرا مس به‌عنوان یک عامل محدودکننده برای جنبه‌های متعدد پیشرفت سرطان از جمله رگ‌زایی و متاستاز شناخته شده است(۴).

با توجه به نتایج متفاوت مطالعات مبنی بر سمیت نانو ذرات مس در رده سلولی نرمال، بر آن شدیم تاثیر نانو ذرات مس در رده سلولی نرمال و سرطانی پروستات را بررسی کنیم.

مواد و روش ها

در این مطالعه از رده سلولی: نرمال (HFF-1) و سرطانی (PC-3) پروستات استفاده شد.

گروه های مطالعه:

گروه کنترل منفی: محیط کشت به همراه سوسپانسیون سلولی سلول‌های سرطانی و نرمال پروستات (حاوی 10^5 سلول).

گروه کنترل مثبت: سلول‌های سرطانی و نرمال پروستات در مواجهه با H2O2 (۳۰µM) به‌مدت ۴۸ ساعت.

گروه های درمانی : سلول های سرطانی و نرمال پروستات در مواجهه با غلظت های مختلف از نانو ذرات مس به مدت ۴۸ ساعت (تهیه شده از شرکت پیشگام) (۰،۲۵،۵۰،۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰،۲۵۰،۳۰۰،۶۰۰ میکروگرم).

آماده سازی نانو ذرات :

پودر نانو مس بعد از محاسبات ریاضی و آماده سازی غلظت‌های مختلف در محیط کشت سلولی DMEM حل شد و بعد از ورتکس کردن به سلول‌ها اضافه گردید.

کشت سلولی:

رده‌های سلولی HFF-1 و PC-3 انسانی از انستیتو پاستور ایران در تهران خریداری شد. سوسپانسیون‌های سلولی حاوی محیط DMEM، ۱ درصد pen-strep و ۱۰ درصد سرم جنین گاوی در یک فلاسک کشت سلولی قرار داده و انکوبه شد تا به مرحله رشد لگاریتمی برسد. پس از آن یک میلی‌لیتر تریپسین–EDTA به فلاسک اضافه و انکوبه شد تا سلول‌ها به‌طور کامل از فلاسک جدا شدند. ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون سلولی (حاوی 10^5 سلول) در پلیت ۹۶ خانه به هر چاهک اضافه شد و پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند(۶،۵).

سنجش MTT

رده های سلولی در معرض دوزهای مختلف نانو ذرات مس قرار گرفت. پس از ۴۸ ساعت ۱۰ میکرولیتر محلول MTT به سلول‌ها اضافه شد و به‌مدت ۴ ساعت انکوبه گردید، با استفاده از میکروپلیت خوان BioTek ELx800، جذب در حداکثر= ۴۹۰ و ۶۳۰ نانومتر تعیین شد(۸،۷).

اندازه گیری میزان ROS:

۲۰ میکرولیتر DCFH-DA به ۲۰۰۰ میکرولیتر از نمونه اضافه شد و در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس جذب در طول موج تحریکی ۳۱۲nM و نشری ۴۲۰nM اندازه‌گیری شد(۱۰،۹).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

اندازه گیری سطح گلوتاتیون (GSH):

سوسپانسیون سلولی را برداشته و به آن TCA اضافه گردید و مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. یک میلی‌لیتر از محلول شفاف رویی را برداشته و به DTNB اضافه کرده و ورتکس شد. سپس میزان جذب در طول موج ۴۱۲ نانومتر خوانده شد(۱۲،۱۱).

ارزیابی آماری:

کلیه محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری Graph Pad Prism Ver.8 انجام شد و مقایسه داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرف و Post test مربوطه (Tukey-Kramer multiple comprehension test) صورت گرفت.

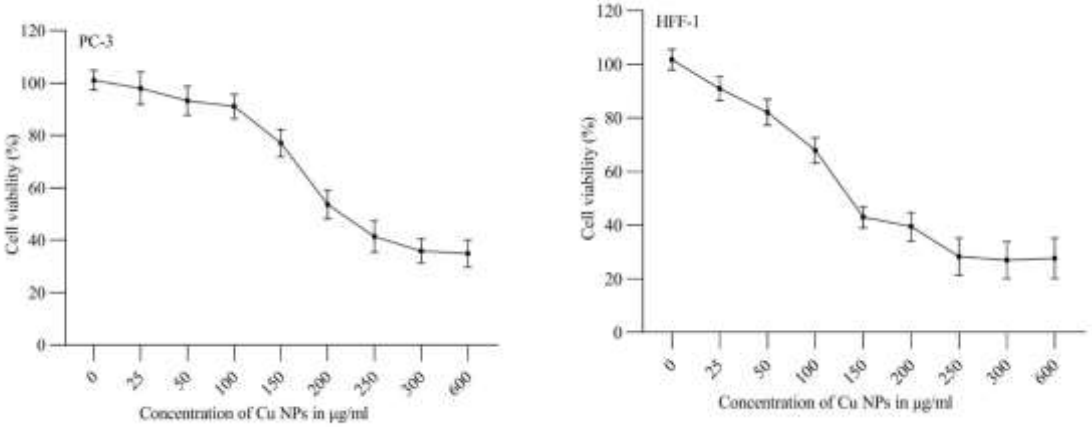
یافته‌ها و بحث

ارزیابی اثرات نانو ذرات مس بر رشد سلولی و فاکتورهای استرس اکسیداتیو در سلول‌های نرمال و سرطانی پروستات

نانو ذرات مس در سلول‌های نرمال، از غلظت ۱۰۰ µg/ml به بعد، اثرات سمی را ایجاد کرد و در مواجهه با سلول‌های سرطانی پروستات، از غلظت ۱۵۰ µg/ml به بعد، باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شد. نانو ذرات مس در بالاترین غلظت، به میزان ۸۰ درصد مانع از رشد سلول‌های نرمال و به میزان ۷۰ درصد باعث مهار سلول‌های سرطانی شد (نمودار شماره ۱ A و B). $IC_{50\text{-Normal}}$=۱۴۵/۹± ۵/۵µg/ml و IC50-cancer =۲۲۴/۴۱± ۱۰/۲۵ µg/ml محاسبه شد.

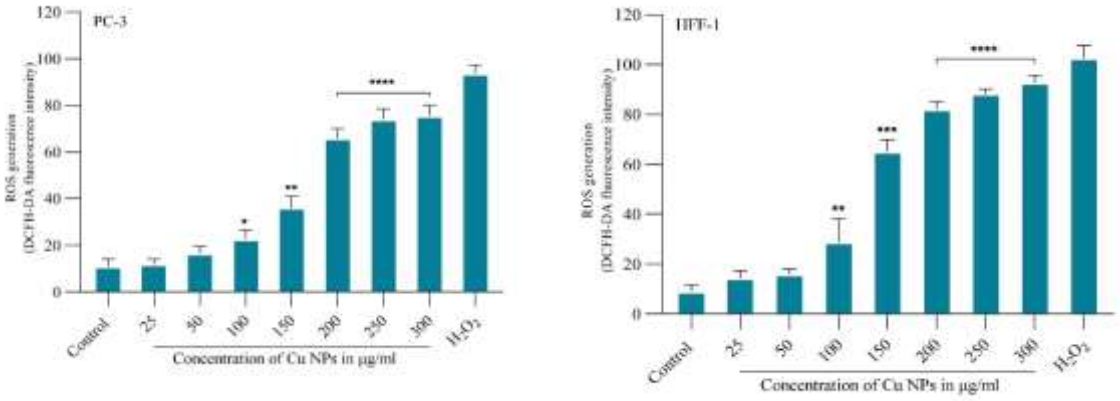
نانوذرات مس باعث القای تولید ROS در سلول‌های نرمال و سرطانی شد که این خود گواهی بر القای سمیت در سلول‌های نرمال نیز می‌باشد. تولید ROS از غلظت ۱۰۰ µg/ml به بعد در هر دو رده سلولی مشهود بود. از لحاظ آماری در مقایسه با گره کنترل منفی تمامی غلظت‌ها به جز غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ µg/ml اختلاف معنی‌داری داشتند (نمودار شماره A۲ و B).

نانو ذرات بر میزان گلوتاتیون درون سلولی در سلول‌های نرمال و سرطان پروستات به یک شکل رفتار کرده و در هر دو رده سلولی باعث کاهش ذخایر گلوتاتیون شدند. در سلول‌های نرمال کاهش ذخایر آنتی‌اکسیدانی منجر به تداوم سمیت می‌گردد و در سلول‌های سرطانی کاهش ذخایر گلوتاتیون باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شده است. در مقایسه آماری با گروه کنترل منفی، غلظت‌های ۱۵۰ µg/ml در هر دو رده سلولی اختلاف معنی‌داری را نشان داد (نمودار شماره A۳ و B).

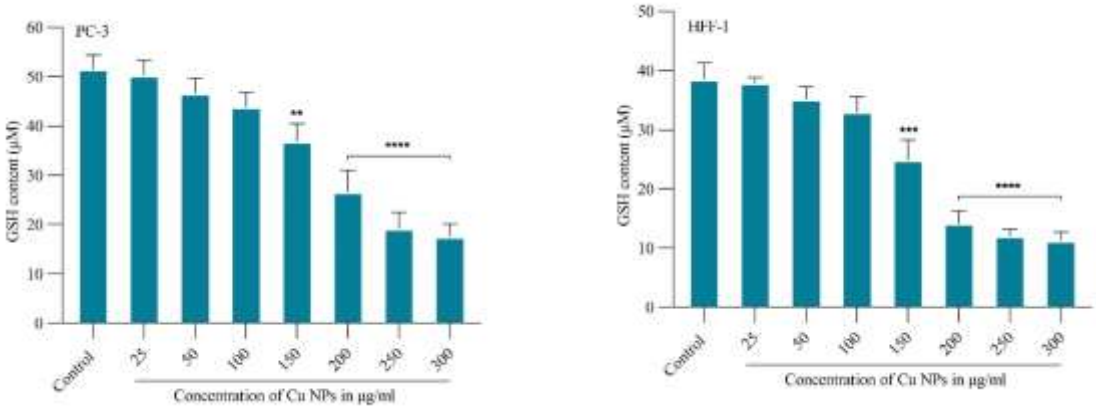


نمودار شماره ۱: اثر نانو ذرات در غلظت‌های مختلف بر میزان رشد سلول های نرمال پروستات HFF-1 (A) و سلول‌های سرطانی پروستات PC-3 (B)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]



نمودار شماره ۲: اثر نانو ذرات مس در غلظت های مختلف بر میزان تولید ROS در سلول های نرمال پروستات HFF-1 (A) و سلول های سرطانی پروستات PC-3 (B) (P<0.0001 **** P<0.001 *** P<0.01 ** P<0.05*در مقایسه با گروه کنترل منفی)



نمودار شماره ۳: اثر نانو ذرات مس در غلظت های مختلف بر میزان ذخایر گلوتاتیون رده سلولی نرمال پروستات (A) HFF-1 و رده سلولی سرطان پروستات (B) PC-3 (P<0.0001 **** P<0.001 *** P<0.01 ** در مقایسه با گروه کنترل منفی)

مقادیر LD50 نانو مس (۲۳/۵ نانومتر) ۴۱۳ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن است و مواد نسبتاً سمی در نظر گرفته می‌شوند. سمیت نانو مس ممکن است با یونیزاسیون درون‌تنی مرتبط باشد. بنابراین در مقایسه با ذرات ریز مس، نانو مس (همان جرم)، احتمال بیش‌تری دارد که با مواد زیستی در داخل بدن برخورد کنند. برای ذرات مس با اندازه نانومتر، یک سطح بزرگ منجر به واکنش‌پذیری فوق‌العاده بالا می‌شود. چندین مطالعه از این واقعیت حمایت می‌کنند که افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های نیتروژن فعال (RNA) نقش مهمی در اختلال عملکرد آلی ناشی از مس ایفا می‌کند. قرار گرفتن در معرض نانوذرات مس باعث تغییر سطوح تولید داخل سلولی ROS و NO شد(۳).

در مطالعه ای تاثیر ضدتکثیری نانوذرات اکسید مس بر روی رده سلولی توموری k562 را مورد بررسی قرار داد و در آن سیتوتوکسیسیتی نانوذرات اکسید مس در سلول‌های سرطانی k562 (سلول لوسمی میلوئیدی مزمن انسان رده k562) و سلول‌های نرمال PBMCS (سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی) آزمایش شد. نتایج نشان داد که نانوذرات اکسید مس روی زنده مانی سلولی از طریق کشتن سلول‌های سرطانی k562 در یک روش وابسته به غلظت اثر دارد، در حالی که هیچ سمیتی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

روی سلول‌های نرمال نشان داده نشد. نتایج فلوسیتومتری، سلول کشی وابسته به غلظت نانوذرات اکسید مس علیه سلول‌های k562 را از طریق تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن ROS تائید کرد. القای آپوپتوز نیز در سلول‌های k562 توسط نانوذرات اکسید مس توسط رنگ آمیزی اکریدین اورنج (Acridine Orange) و پروپیدیوم یداید (propidium iodide) تایید شد. سطوح mRNA ژن مهارکننده تومور p53 و نسبت bax/bcl-2 در سلول‌های تیمار شده با نانوذرات اکسید مس در مقایسه با سلول‌های کنترل، افزایش یافته بود. هم‌چنین در بررسی‌ها مشاهده شد، سطح mRNA ژن کاسپاز۳ زیاد تغییر نکرد. نانوذرات اکسید مس سبب القا آپوپتوز می‌شوند با توجه به یافته‌ها، پژوهش حاضر نانوذرات اکسید مس را انتخاب مناسبی به‌عنوان مواد ضدسرطانی جدید با توجه به پاسخ آپوپتوزی بواسطه p53 سلول‌های سرطانی k562 معرفی می‌کند(۱۳). نتایج مطالعات انجام شده بر روی رده سلولی سرطان پروستات هم راستا با نتایج این مطالعه بوده است و نتایج این مطالعه نیز نشان داد که نانو ذرات مس با القای ROS باعث مهار رشد سلول‌های سرطانی شده است.

سنتز سبز نانوذرات مس با استفاده از عصاره برگ Eclipta prostrata و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و سمیت سلولی آن‌ها در مطالعه ای مورد بررسی قرار گرفت. CuNP های بیوسنتز شده دارای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بودند. مطالعات ضد سرطانی در شرایط in vitro ارزش سمیت سلولی CuNPs سنتز شده را در برابر سلول‌های HepG2 نشان داد. یافته های مطالعه حاضر نشان داد که CuNP های بیوسنتز شده که از عصاره E. prostrata استفاده می‌کنند، ممکن است برای کاربرد درمانی استفاده شوند و بنابراین یک نانومواد امیدوارکننده هستند(۱۴). نتایج مطالعات انجام شده بر روی رده سلولی نرمال بر خلاف مطالعه ذکر شده است و ممکن است به این دلیل باشد که نوع نانو شده مس در مطالعه فوق بر اساس سنتز سبز و با استفاده از عصاره گیاهی باعث کاهش سمیت مس شده باشد.

نتایج این مطالعه نشان داده است که نانو ذرات مس در سلول‌های نرمال ایجاد سمیت بالایی می‌کند و باعث تولید ROS و کاهش ذخایر آنتی‌اکسیدانی گلوتاتیون می‌گردد. هم‌چنین نانو ذرات در سلول‌های سرطانی به واسطه تولید ROS و کاهش گلوتاتیون مهار رشد سلول‌های سرطانی را القا می‌کنند. در نتیجه نانوذرات مس هم در سلول‌های نرمال و هم در سلول‌های سرطانی القای سمیت کرده است. به همین دلیل نانو ذرات مس به واسطه ایجاد سمیت بالا در سلول‌های نرمال نمی‌تواند داروی موثری در درمان سرطان پروستات باشد.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر دارای تاییدیه کمیته اخلاق معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران (کد اخلاق: IR.MAZUMS.REC.1401.221) می‌باشد.

References

1. Zhai D-D, Supaibulwatana K, Zhong J-J. Inhibition of tumor cell proliferation and induction of apoptosis in human lung carcinoma 95-D cells by a new sesquiterpene from hairy root cultures of Artemisia annua. Phytomedicine 2010; 17(11): 856-861.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015; 65(2): 87-108.
3. Hejazy M, Koohi MK, Bassiri Mohamad Pour A, Najafi D. Toxicity of manufactured copper nanoparticles-A review. J Nanomed Res 2018; 3(1): 1-9.
4. Denoyer D, Clatworthy SA, Cater MA. Copper complexes in cancer therapy. Met Ions Life

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

Sci 2018; 18: 469-506.

5. Motafeghi F, Khayambashi B, Mortazavi P, Eghbali M, Salmanmahiny A, Shahsavari R, et al. Synergistic Effect of Selenium/Zinc with Sulfasalazine on the Human Colorectal Cancer Cell Line (HT-29). Toxicol In Vitro 2022.
6. Motafeghi F, Shokrzadeh M, Mortazavi P, Habibi E. Evaluation of the cytotoxic effect of the tarragon (Artemisia dracunculus L.) hydroalcoholic extract on the HT-29, MKN45, and MCF-7 cell lines. Pharm Biomed Res 2023; 9(1): 27-36.
7. Shokrzadeh M, Mortazavi P, Moghadami A, Khayambashi B, Motafeghi F. Synergistic Antiproliferative and Anticancer Activity of Carotenoid Lutein or Coenzyme Q10 in Combination with Doxorubicin on the MCF7 Cell Line. Toxicol In Vitro 2021; 7(4): 167-174.
8. Motafeghi F, Mortazavi P, Ghassemi-Barghi N, Zahedi M, Shokrzadeh M. Dexamethasone as an anti-cancer or Hepatotoxic. Toxicol Mech Methods 2022; 33(2): 161-171.
9. Motafeghi F, Mortazavi P, Salman Mahiny AH, Abtahi MM, Shokrzadeh M. The role of ginger's extract and N-acetylcysteine against docetaxel-induced oxidative stress and genetic disorder. Drug Chem Toxicol 2022: 1-8.
10. Motafeghi F, Gerami M, Mortazavi P, Khayambashi B, Ghassemi-Barghi N, Shokrzadeh M. Green synthesis of silver nanoparticles, graphene, and silver-graphene nanocomposite using Melissa officinalis ethanolic extract: Anticancer effect on MCF-7 cell line. Iran J Basic Med Sci 2023; 26(1): 57-68.
11. Motafeghi F, Mortazavi P, Mahdavi M, Shokrzadeh M. Cellular effects of epsilon toxin on the cell viability and oxidative stress of normal and lung cancer cells. Microb Pathog 2022; 169: 105649.
12. Motafeghi F, Shahsavari R, Mortazavi P, Shokrzadeh M. Anticancer effect of paroxetine and amitriptyline on HT29 and A549 cell lines. Toxicol Vitro 2022: 105532.
13. Chung IM, Abdul Rahuman A, Marimuthu S, Vishnu Kirthi A, Anbarasan K, Padmini P, et al. Green synthesis of copper nanoparticles using Eclipta prostrata leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities. Exp Ther Med 2017; 14(1): 18-24.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]