

اثرات آمیگدالین بر ساختار بافتی کبد موش کوچک آزمایشگاهی

فرزاد رجایی^۱، فرهاد مشایخی^۲، آیدا محمدیان^۳

چکیده

زمینه و هدف: گزارشات ضد و نقیضی از سمیت کبدی آمیگدالین به عنوان یک داروی ضد سرطان وجود دارد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات هیستولوژیک آمیگدالین بر کبد موش سوری بود.

روش تحقیق: ۳۲ سر موش سفید آزمایشگاهی نر بالغ به ۴ گروه کنترل، آمیگدالین 10 mg/kg.ip ، ۲۵ و ۵۰ تقسیم شدند. به موش‌های گروه تجربی، به مدت ۳۰ روز آمیگدالین با غلظت‌های مورد نظر و به موش‌های گروه کنترل سالیین نرمال تزریق گردید. سه روز بعد از آخرین تزریق، حیوانات بیهوش شدند و کبد آنها وزن شد و لام‌های میکروسکوپی از کبد تهیه شد. تعداد سلول‌های کوپفر، نکروزه و چند هسته‌ای کبدی آنان شمارش گردید. داده‌های حاصله با استفاده از آزمون *Kruskal-Wallis* و نرم‌افزار *SPSS* (ویرایش ۱۶) آنالیز آماری شدند.

یافته‌ها: یافته‌ها اختلاف آماری معنی‌داری را در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه از نظر میانگین وزن کبد و تعداد سلول‌های نکروزه کبد نشان نداد. تعداد سلول‌های کوپفر در گروه آمیگدالین ۲۵ و ۵۰ نسبت به گروه آمیگدالین ۱۰ و کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($P=0/001$)؛ همچنین میانگین تعداد سلول‌های چند هسته‌ای کبد در گروه آمیگدالین ۵۰ در مقایسه با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری را نشان داد ($P=0/04$).

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان داد که تزریق آمیگدالین به صورت وابسته به دوز می‌تواند به افزایش تعداد سلول‌های چند هسته‌ای کبدی و سلول‌های کوپفر در کبد موش منجر شود.

واژه‌های کلیدی: آمیگدالین، کبد، موش، ساختار بافتی

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۰؛ ۱۸(۴): ۲۴۲-۲۴۹

دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۷ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۱۷

^۱ نویسنده مسؤل، دانشیار، گروه علوم تشریحی، مرکز تحقیقات تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

آدرس: قزوین- بلوار شهید باهنر- دانشگاه علوم پزشکی قزوین- گروه علوم تشریحی- کدپستی: ۳۴۱۹۷-۵۹۸۱۱

تلفن: ۰۲۸۱-۳۳۳۶۰۰۱، نمابر: ۰۲۸۱-۳۳۳۴۹۷۰، پست الکترونیک: farzadraj@yahoo.co.uk

^۲ دانشیار، گروه علوم تشریحی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

^۳ پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

مقدمه

ویتامین B₁₇ که با نام علمی آمیگدالین خوانده می‌شود، یک گلوکوزید سیانوزن می‌باشد که فعالیت ضد سرطان داشته و تحت نام تجاری لیترایل (*laetrile*) به فروش می‌رسد (۱). به نظر می‌رسد این ماده نقش مؤثری در درمان آسم، آمفیژم، جذام، کاهش فشار خون و درمان بسیاری از سرطان‌ها و تسکین درد دارد (۲، ۳). آمیگدالین در دانه بسیاری از میوه‌ها مانند: زردآلو، بادام، هلو، سیب، گیلاس، گردو، فندق و گیاه *Armeniaca semen* به فراوانی یافت می‌شود (۴، ۵). ساختمان شیمیایی آمیگدالین از دو ملکول گلوکز، یک بنزوالدئید که موجب بی‌حسی می‌شود و یک هیدروسیانیک‌اسید تشکیل شده است که یک ترکیب ضد سرطان است (۶، ۷). اگرچه آمیگدالین به عنوان یک ترکیب ضد سرطانی مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی ممکن است برای انسان و یا حیوانات مضر بوده و حتی باعث مرگ افراد شود (۸)؛ به طوری که یک مورد مرگ در سال ۱۹۸۶ بعد از مصرف ۳ گرم لیترایل در بیمار مبتلا به سیروز و هپاتوما گزارش شده است که در پی مصرف آن، بیمار دچار هایپوتانسیون (افت فشار خون) و اسیدوز شده؛ به کوما عمیق رفته بود و در نهایت، آسیب شدید کبدی منجر به مرگ وی گردید. در این گزارش، به احتمال وجود رابطه بین سمیت کبدی آمیگدالین و نکروز شدید کبدی اشاره شده است (۹).

در آزمایشات پایلوت جهت یافتن دوز مناسب مشاهده شد که دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آمیگدالین، به مرگ حیوانات منجر می‌شود (۱۰). در مطالعه دیگری نشان داده شد که برخی از بیمارانی که از مقادیر زیادی بادام خام استفاده کرده بودند، علائم مسمومیت با سیانید را نشان دادند (۱۱)؛ همچنین در بعضی از متون به احتمال وجود اثرات سمی این ماده بر کبد، به دلیل فعالیت آنزیم بتا-گلوکوزیداز در کبد و آزاد شدن سیانید از ملکول آمیگدالین اشاره شده است؛ بر اساس نتایج مطالعه مذکور، شاید افزایش غلظت نسبی این آنزیم در کبد، عاملی در آسیب‌پذیر بودن این عضو در برابر

آمیگدالین باشد. *Strigala* و همکاران نیز نشان دادند که آمیگدالین اولین بار در روده باریک موش‌های صحرایی توسط ۱ و ۶- β گلوکوزیداز به پرونازین هیدرولیز می‌شود و سیانید آزاد شده عامل مسمومیت با آمیگدالین است (۱۲-۱۴). سلول‌های کوپفر، ماکروفاژهای ساکن در کبد هستند که همراه با سلول‌های آندوتلیال، جداره سینوزوئیدهای کبدی را مفروش می‌کنند. هسته نوک مدادی و برآمده این سلول‌ها به سمت سینوزوئیدها، آنها را از سلول‌های آندوتلیال در رنگ‌آمیزی معمول آزمایشگاه متمایز می‌کند (۱۵). این سلول‌ها با ترشح سیتوکین‌ها مانند عامل نکروزکننده تومور ($TNF-\alpha$) و انواع مختلفی از اینترلوکین‌های ترشحی، نه تنها باعث پاسخ التهابی می‌شوند بلکه در برابر سلول‌های توموری، سیتوتوکسیک می‌شوند؛ به طوری که محصولات ترشحی آنها می‌توانند به نکروز پارانشیم کبد منجر شود (۱۶). در نمای میکروسکوپی، سلول‌های نکروزی معمولاً به صورت سلول‌هایی در یکی از مراحل تراکم هسته^۱، متلاشی‌شدن هسته^۲ و تحلیل‌رفتن هسته^۳ همراه با افزایش در میزان اسیدوفیلی سیتوپلاسم دیده شوند (۱۷). با توجه به اهمیت کبد در سم‌زدائی مواد و وجود مطالعات محدود در ارتباط با اثرات آمیگدالین بر ساختار بافتی کبد، در مطالعه حاضر سلول‌های کوپفر، سلول‌های کبدی چند هسته‌ای و سلول‌های نکروزی در کبد موش سوری به دنبال تجویز آمیگدالین مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق

این مطالعه از نوع تجربی در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. در ابتدا ۳۲ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر با وزن تقریبی ۲۰-۲۵ گرم از نژاد *balb/c* از انستیتو رازی کرج تهیه گردیدند. موش‌ها به مدت یک هفته در درجه حرارت 21 ± 2 و دوره نوری طبیعی (۶ صبح تا

میکروسکوپی، از سه میدان دید از هر لام به طور تصادفی انتخاب و با دوربین دیجیتال (Coolpix-4500, Japan) با درشتنمایی ۴۰ میکروسکوپ (Olympus, AH2) عکس تهیه شد. سپس تعداد سلول‌های کوپفر کبد، تعداد سلول‌های نکروزه کبد، تعداد سلول‌های چند هسته‌ای کبد به صورت کور (*blind*) توسط محققین شمارش شد. داده‌های حاصله در گروه‌های مورد مطالعه، توسط نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش ۱۶) و با استفاده از آزمون *Kruskal-Wallis* آنالیز آماری و با هم مقایسه گردیدند. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که میانگین وزن کبد موش‌ها بر حسب گرم در گروه شاهد، آمیگدالین ۱۰، آمیگدالین ۲۵ و آمیگدالین ۵۰ اختلاف آماری معنی‌داری ندارد؛ همچنین مقایسه تعداد سلول‌های کوپفر موجود در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که میانگین تعداد سلول‌های کوپفر در گروه آمیگدالین ۲۵ و ۵۰ نسبت به گروه آمیگدالین ۱۰ و کنترل افزایش معنی‌داری دارد (شکل ۱)، ($P < 0.001$)؛ در حالی که تفاوت بین گروه آمیگدالین ۲۵ و ۵۰ معنی‌دار نبوده است. مقایسه تعداد سلول‌های نکروزه کبد موجود در گروه‌های مورد مطالعه نیز نشان داد که میانگین تعداد آنها در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری ندارد (جدول ۱).

عصر)، در حیوان‌خانه دانشگاه به منظور تطابق با شرایط محیطی جدید نگهداری شده و امکان دسترسی به آب و غذای کافی فراهم گردید. موش‌ها به صورت تصادفی به ۴ دسته ۸ تایی تقسیم گردیدند. موش‌های هر گروه، در قفس‌های مخصوص و مشابه به ابعاد $20 \times 20 \times 40$ سانتی‌متر قرار گرفتند؛ یک گروه به عنوان شاهد و سه گروه دیگر به عنوان گروه‌های تجربی در نظر گرفته شد. به هر کدام از گروه‌های تجربی آمیگدالین (*Sigma, Germany*) با دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و به صورت درون صفاقی به مدت ۳۰ روز تزریق گردید. به موش‌های گروه شاهد نیز سالیان نرمال به صورت درون صفاقی تزریق گردید. سه روز بعد از آخرین تزریق آمیگدالین، حیوانات در گروه‌های مورد مطالعه به روش جابجایی مهره‌های گردنی بیهوش شدند و سپس شکم حیوانات باز گردید. کبد حیوان خارج شده و پس از اندازه‌گیری وزن کبد، نمونه از بافت کبد تهیه شده و نمونه‌های مورد نظر در فرمالین ۱۰٪ ثابت (فیکس) شد. سپس مراحل پاساژ بافتی توسط دستگاه *Tissue Processor (Shandon-citadel 1000)* شامل فیکساسیون، آبگیری، شفاف سازی و آغشتگی انجام شد. سپس از نمونه‌ها توسط دستگاه میکروتوم دوار (*Shandon-UK*) برش‌های سریالی به ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. در نهایت از هر نمونه ۵ برش (برش‌های ۵، ۸، ۱۱، ۱۷ و ۱۴) انتخاب و پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین و تهیه لام‌های

جدول ۱- مقایسه شاخص‌های تشریحی مورد مطالعه در میان گروه‌ها

شاخص / گروه	کنترل	آمیگدالین ۱۰	آمیگدالین ۲۵	آمیگدالین ۵۰
وزن کبد (گرم)	۱/۸۸±۰/۲۷	۱/۹۰±۰/۴۴	۱/۸۲±۰/۱۸	۲/۲۳±۰/۴۸
تعداد سلول‌های کوپفر	۳/۵۴±۱/۱۷	۳/۸۳±۱/۴۹	۷/۱۷±۲/۹۸ [†]	۸/۱۷±۳/۲۱ [†]
تعداد سلول‌های نکروزه	۰/۳۵±۰/۴۴	۰/۳۳±۰/۴۸	۰/۳۳±۰/۵۶	۰/۶۲±۰/۷۱
تعداد سلول‌های چند هسته‌ای	۰/۷۵±۰/۷۹	۱/۱۲±۰/۹۹	۱/۶۲±۱/۱۲۷	۲/۰۰±۱/۲۸ ^{††}

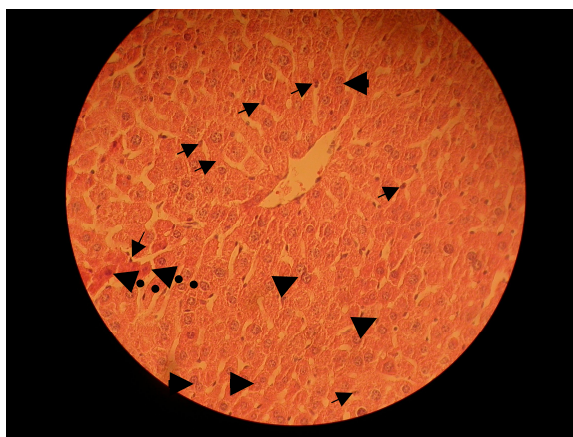
اعداد جدول فوق بیانگر تعداد سلول‌های شمارش شده در پانزده میدان میکروسکوپی با درشت‌نمایی ۴۰ بوده است. داده‌ها به صورت $Mean \pm SD$ ارائه شده است. [†]: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه آمیگدالین ۱۰ و کنترل ($P = 0.001$) ^{††}: افزایش معنی‌دار نسبت به گروه کنترل ($P = 0.04$)

دنبال استفاده از غلظت‌های مختلف آمیگدالین مورد بررسی قرار دهد، به دست نیامد و بیشتر مطالعاتی که در گذشته بر روی آمیگدالین انجام گرفته است، بر خصوصیات ضد سرطانی و ضد درد این ماده و مخصوصاً عوارض ناشی از سمیت کبیدی این ماده در افراد تأکید دارد (۱۸-۲۰). Zhu و همکاران نشان داده‌اند که آمیگدالین می‌تواند نقش دوگانه‌ای داشته باشد؛ به طوری که در غلظت‌های پایین (غلظت $200\text{ }\mu\text{mol}$ - $50\text{ }\mu\text{mol}$)، نقش تحریکی در تقسیم سلولی و در غلظت‌های بالا (غلظت‌های $400\text{ }\mu\text{mol/L}$) اثرات معکوس داشته؛ باعث مهار رشد و تکثیر سلولی در سلول‌های اپی‌تلیال آلوئول جدا شده از ریه جنین ۲۰ روزه رت در محیط کشت سلولی شود (۱۸)؛ به طور مشابه، در مطالعه حاضر نیز با توجه به اینکه حداکثر از غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آمیگدالین استفاده شده است، به نظر می‌رسد که پایین‌تر از دوز آستانه‌ای بوده و لذا با افزایش غلظت آن در زیر حد آستانه‌ای، نقش تحریکی داشته است و لذا تعداد سلول‌های کوپفر و سلول‌های چندهسته‌ای نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است و افزایش تعداد سلول‌ها وابسته به غلظت آمیگدالین بوده است؛

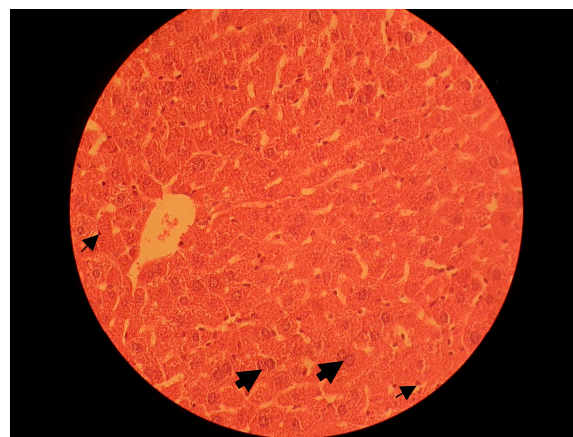
همچنین یافته‌ها نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول‌های چند هسته‌ای کبد در گروه آمیگدالین ۵۰ در مقایسه با گروه کنترل اختلاف آماری معنی‌داری دارد (شکل ۱ و ۲)، ($P < 0.05$)؛ در صورتی که در سایر گروه‌ها اختلاف آماری معنی‌داری از نظر تعداد سلول‌های چند هسته‌ای وجود ندارد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میانگین وزن کبد و میانگین تعداد سلول‌های نکروزه اگرچه با افزایش غلظت‌های مختلف تزریقی آمیگدالین تغییراتی را نشان می‌دهند، ولی آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری را در بین گروه‌های مورد مطالعه نشان نمی‌دهد؛ همچنین نتایج نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول‌های کوپفر در گروه آمیگدالین ۲۵ و ۵۰ نسبت به گروه آمیگدالین ۱۰ و شاهد، افزایش معنی‌داری دارد؛ در حالی که تعداد سلول‌های چندهسته‌ای فقط در گروه آمیگدالین ۵۰ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری یافته است. با جستجوی پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر (*ISI* و *Scopus*)، مطالعه‌ای که تغییرات بافت شناختی کبد را به



شکل ۲- نمای میکروسکوپ نوری از کبد گروه تجربی (آمیگدالین ۵۰) که سلول‌های کبیدی دو هسته‌ای (پیکان پررنگ)، سلول‌های کوپفر (پیکان کم رنگ) همراه با سلول‌های نکروتیک (پیکان نقطه چین) با هسته متراکم و سیتوپلاسم اسیدوفیل مشاهده می‌شوند. افزایش تعداد سلول‌های کوپفر و سلول‌های کبیدی دو هسته‌ای نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود. (بزرگنمایی $\times 40$).



شکل ۱- نمای میکروسکوپ نوری از کبد گروه کنترل که در آن سلول‌های کبیدی در اطراف ورید مرکزی دیده می‌شوند. سلول‌های کبیدی دو هسته‌ای (پیکان پررنگ) و سلول‌های کوپفر (پیکان کم رنگ) در اطراف سینوزوئیدها مشاهده می‌شوند (بزرگنمایی $\times 40$).

است و بنابراین تأثیر سمی بر کبد نداشته است؛ از طرف دیگر گزارش شده است که فعالیت فلور میکروبی روده در حیوانات مختلف و حتی نژادهای مختلف، متفاوت است (۱۹)؛ بنابراین تفاوت در نوع حیوانات در مطالعه حاضر (موش سفید آزمایشگاهی) با مطالعه قبلی (موش‌های صحرایی)، شاید توجیه‌کننده تفاوت در پاسخ‌های حیوانات در برابر تجویز آمیگدالین باشد. در ضمن در مطالعه حاضر، غلظت‌های آمیگدالین تزریقی کمتر از مطالعات قبلی بوده است (50 mg/kg در برابر 500 mg/kg) و به نظر می‌رسد که این محدوده غلظتی از آمیگدالین، قادر به ایجاد تغییرات بافتی به صورت افزایش تعداد سلول‌های نکروزه در کبد حیوان نبوده است؛ همچنین در مطالعه‌ای، تأثیر غلظت‌های مختلف آمیگدالین بر سه پارامتر مهم مایع سیمین گاو نر؛ یعنی تحرک اسپرم (*Motility*)، مورفولوژی و فعالیت هیالورونیداز بررسی شد و نتایج نشان داد که هر سه پارامتر اسپرم، کاهش چشم‌گیری داشتند و آمیگدالین به عنوان ماده‌ای که تأثیرات مخرب بر روی باروری اسپرم‌ها دارد، شناخته شد (۲۰). در مطالعه دیگر که توسط *Guo* و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شد، نشان داده شد که آمیگدالین با غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بر تکثیر سلول‌های فیبروبلاست که به صورت کشت اولیه از پاییلای کلیوی تهیه و رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی شده بودند، اثر مهاری داشته و دوز 100 mg/L بیشترین میزان اثر مهاری را بر تکثیر سلولی داشته است (۲۱). به نظر می‌رسد تفاوت نتایج مطالعه فوق با نتایج مطالعات قبلی اولاً به دلیل تفاوت در غلظت‌های تزریقی آمیگدالین باشد؛ به طوری که در مطالعه حاضر، غلظت‌های آمیگدالین تزریقی کمتر از مطالعات قبلی بوده است (50 mg/kg در برابر $500\text{--}1000\text{ mg/kg}$) و این محدوده غلظتی از آمیگدالین قادر به ایجاد تغییرات ساختاری در حیوان نبوده است. در ضمن علت اختلاف می‌تواند به دلیل تفاوت در روش مطالعه نیز باشد به طوری که در مطالعه حاضر اثرات آمیگدالین با دوزهای مختلف به صورت درون تنی (*In vivo*)

به طوری که در غلظت حداکثر آمیگدالین (50 mg/kg)، بیشترین افزایش سلول‌ها دیده می‌شود. از آنجایی که سلول‌های کوپفر در تجزیه گلبول‌های قرمز و تبدیل آنها به بیلی‌روبین نقش دارند، بنابراین افزایش در تعداد سلول‌های کوپفر به دنبال تزریق آمیگدالین در مطالعه حاضر، با افزایش تولید بیلی‌روبین می‌تواند همراه باشد که تعیین میزان بیلی‌روبین سرم می‌توانست در تأیید مطالعه حاضر مؤثر باشد که این از محدودیت‌های مطالعه فوق می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق آمیگدالین در دوزهای ۱۰ تا 50 mg/kg تغییر معنی‌داری در تعداد سلول‌های نکروزه کبد نسبت به گروه کنترل نداشته است و بنابراین نمی‌تواند اثرات سمی بر روی کبد موش آزمایشگاهی داشته باشد. *Strugala* و همکاران نیز به طور مشابهی نشان داده‌اند که تزریق داخل صفاقی این ماده به حیوان به شیوه‌ای که آمیگدالین در معرض فلور طبیعی روده قرار نگیرد، تأثیر سمی بر کبد ندارد (۱۴). *Carter* و همکاران نیز نشان دادند که تجویز خوراکی آمیگدالین با غلظت 600 mg/kg به موش‌های صحرایی، منجر به بروز علائم متفاوتی از لتارژی، تشنج و حتی مرگ در فاصله ۲-۵ ساعت می‌شود. بررسی‌های بیشتر نشان داد که موش‌های صحرایی که علائم مسمومیت را از خود نشان دادند، همگی دارای غلظت خونی $0/5$ تا $2/6\text{ }\mu\text{g/ml}$ از سیانید بودند؛ در حالی که تجویز خوراکی آمیگدالین با غلظت مشابه به موش‌های صحرایی نژاد *Germfree*، هیچ‌گونه علائم مسمومیتی را در حیوانات بروز نداد و بررسی‌های بیشتر مشخص نمود که حتی سطح سیانید خون آن‌ها کم‌تر از $0/4\text{ }\mu\text{g/ml}$ است (۱۸). تفاوت پاسخ در برابر آمیگدالین، این نظریه را قویاً تأیید می‌کند که سمیت آمیگدالین می‌تواند ناشی از آزاد شدن سیانید از مولکول آمیگدالین به دنبال فعالیت فلور میکروبی روده باشد و لذا عدم افزایش تعداد سلول‌های نکروتیک در مطالعه حاضر می‌تواند به این دلیل باشد که تجویز آمیگدالین به شیوه تزریق داخل صفاقی بوده و آمیگدالین در معرض فلور طبیعی روده حیوان قرار نگرفته

بررسی گردید، در حالیکه مطالعه قبلی به صورت مطالعه برون‌تنی (*In vitro*) بوده و نتایج مطالعات برون‌تنی و درون‌تنی به دلیل وجود فاکتورهای ناشناخته در محیط‌های کشت می‌تواند با هم متفاوت باشد (۲۲).

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین برای تامین هزینه انجام این مطالعه، خانم دکتر یگانگی به جهت همکاری در تزریق آمیگدالین و خانم حاجی آقایی به جهت همکاری در تهیه مقاطع میکروسکوپی تقدیر و تشکر می‌شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که تزریق آمیگدالین به صورت داخل صفاقی در غلظت‌های ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند به افزایش تعداد سلول‌های چندهسته‌ای کبدی و

منابع:

- 1- Yildirim AN, San B, Koyuncu F, Yildirim F. Variability of phenolics, α -tocopherol and amygdalin contents of selected almond (*Prunus amygdalus* Batsch.) genotypes. *JFAE*. 2010; 8(1): 76-9.
- 2- Milazzo S, Lejeune S, Ernst E. Laetrile for cancer: a systematic review of the clinical evidence. *Support Care Cancer*. 2007; 15(6): 583-95.
- 3- Chang HK, Yang HY, Lee TH, Shin MC, Lee MH, Shin MS, et al. Amygdalin Induces Apoptosis through Regulation of Bax and Bcl-2 Expressions in Human DU145 and LNCaP Prostate Cancer Cells. *Biol Pharm Bull*. 2006; 29(8): 1597-602.
- 4- Park HJ, Yoon SH, Han LS, Zheng LT, Jung KH, Uhm YK, et al. Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(33):5156-61.
- 5- Milbury PE, Chen CY, Dolnikowski GG and Blumberg JB. Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *J Agric Food Chem*. 2006; 54(14): 5027-33.
- 6- Hwang HJ, Lee HJ, Kim CJ, Shim I, Hahm DH. Inhibitory effect of amygdalin on lipopolysaccharide-inducible TNF-alpha and IL-1beta mRNA expression and carrageenan-induced rat arthritis. *J Microbiol Biotechnol*. 2008; 18(10):1641-7.
- 7- Haisman DR, Knight DJ. The enzymic hydrolysis of amygdalin. *Biochem J*. 1967; 103(2): 528-34.
- 8- Rosen GM, Shorr RI. Laetrile: end play around the FDA. A review of legal developments. *Ann Intern Med*. 1979; 90(3):418-23.
- 9- Leor R, Michaeli J, Brezis M, Stessman J. Laetrile intoxication and hepatic necrosis: a possible association. *South Med J*. 1986; 79(2): 259-60.
- 10- Greenberg DM. The case against laetrile: the fraudulent cancer remedy. *Cance*. 1980; 45(4):799-807.
- 11- Moertel CG, Fleming TR, Rubin J, Kvols LK, Sarna G, Koch R, et al. A clinical trial of amygdalin (Laetrile) in the treatment of human cancer. *N Engl J Med*. 1982; 306(4):201-6.
- 12- Adewusi SR, Oke OL. On the metabolism of Amygdalin: The LD50 and biochemical changes in rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 1985; 63(9):1080-3.
- 13- Hays SW, Wheeler ED, Eghtesad B, Glew HR, Johnston AE. Expression of Cytosolic Beta-Glucosidase in Guinea Pig Liver Cell. *Hepatology*. 1998; 28:156-63.
- 14- Strugala GJ, Rauws AG, Elbers R. Intestinal first pass metabolism of amygdalin in the rat in vitro. *Biochem Pharmacol*. 1986; 35(13):2123-8.

- 15- Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology*. 1st ed. New York : Mosby; 2002, pp: 90-1.
- 16- Wisse E, Braet F, Luo D, De Zanger R, Jans D, Crabbé E, et al. *Structure and function of sinusoidal lining cells in the liver*. *Toxicol Pathol*. 1996; 24(1):100-11.
- 17- Kumar V, Scotran R, Robbins SL. *Robbins basic pathology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2007. pp: 630-4.
- 18- Zhu H, Chang L, Li W, Liu H. *Effect of amygdalin on the proliferation of hyperoxia-exposed type II alveolar epithelial cells isolated from premature rat*. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2004; 24(3):223-5.
- 19- Carter JH, McLafferty MA, Goldman P. *Role of the gastrointestinal microflora in amygdalin (laetrile)-induced cyanide toxicity*. *Biochem Pharmacol*. 1980; 29(3):301-4.
- 20- Sadettin T, Tanzer B. *In Vitro effects of Linamarin, Amygdalin and Gossypol Acetic Acid on Hyaluronidase Activity, Sperm Motility and Morphological Abnormality in Bull Sperm*. *Turk J Vet Anim Sci*. 2004; 28: 819-24.
- 21- Guo JQ, Sheng MX , Wang LJ ,Tan JM , Wu WZ , Yang SL. *Inhibitory effect of amygdalin on human renal fibroblast proliferation*. *CRTER*. 2008;12(18): 3575-8.
- 22- Brison DR, Schultz RM. *Apoptosis during mouse blastocyst formation: evidence for a role for survival factors including transforming growth factor alpha*. *Biol Reprod*. 1997; 56(5): 1088-96.

Histologic effects of Amygdalin on the mouse liver

F. Rajaei¹, F. Mashayekhi², A. Mohammadian³

Background and Aim: *There are many controversial reports about the toxic effects of Amygdalin as an anticancer drug. The aim of the present study was to investigate the histological effects of Amygdalin on the mouse liver.*

Materials and Methods: *Thirty two adult male mice were selected and divided into 4 equal groups control, 10 mg/kg Amygdalin group, 25 mg/kg Amygdalin group, and 50 mg/kg Amygdalin group; all Amygdalin groups injected intraperitoneally. The experimental groups were injected with the specified doses of Amygdalin for 30 days, while the control ones were injected with normal saline. Three days after the last injection, all animals were anaesthetized and their livers weighed. Then, microscopic slides from their livers were prepared. Their Kupffer, necrotic, and multinucleated hepatic cells were counted. The collected data was analyzed statistically using Kruskal-Wallis test and SPSS software (version 16).*

Results: *There was no significant changes in the number of necrotic cells and mean weight of the liver in the study groups while the number of kupffer cells in Amygdalin 25 and 50 mg/kg groups significantly increased compared to Amygdalin 10 and the control (P=0.001). Moreover, mean number of multinucleated cells in Amygdalin 50 showed a statistically significant difference compared to the control (P=0.04).*

Conclusion: *The present study showed that Amygdalin injection can dose-dependently cause an increase in the number of kupffer and multinucleated hepatic cells in the mouse.*

Key Words: *Amygdalin, Histology, Mouse, Liver*

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2012; 18 (4): 242- 249

Received: January 27, 2011 Accepted: November 08, 2011

¹ Corresponding Author; Associate Professor Cellular & Molecular Research Centre, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
farzadraj@yahoo.co.uk

² Associate Professor, department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

³ General practitioner, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran