www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 65, No.5, P: 1942-1949
Nov –Jan 2023

مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۵، شماره ۵
آذر-دی ۱۴۰۱، صفحه ۱۹۴۹-۱۹۴۲

مقاله اصلی

اثر آمیگدالین بر بقای سلولی و سطح مالون دی آلدئید سلول‌های سرطان پستان SK-BR-3 در مطالعه آزمایشگاهی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۲- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۸

بهمن مرادی پوده[۱]
فاطمه احمدپور[۲*]

[۱] *گروه علوم آزمایشگاهی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان ، ایران*

[۲] *مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران*

Email:
ahmadpourfatimaa@gmail.com

خلاصه

مقدمه

آمیگدالین یک ترکیب سیانوژیک هست که به‌طور طبیعی در دانه‌های زردآلو، هلو، بادام تلخ، آلو و سیب وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر آمیگدالین بر روی بقای سلولی و سطح مالون دی آلدهید (MDA) در رده سلولی سرطانی پستان SK-BR-3 و مقایسه این اثرات بر روی رده سلولی سالم MRC-5 بود.

روش کار

در این مطالعه از رده سلولی سرطانی پستان SK-BR-3 و رده سلولی سالم MRC-5 استفاده شد. به‌منظور بررسی اثر آمیگدالین بر روی بقای این دو رده از سلول‌ها و همچنین بر روی سطح MDA از غلظت‌های ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آمیگدالین استفاده شد. بقای سلولی توسط آزمون MTT و میزان MDA توسط روش تیوباربیتوریک اسید و اسپکتروفتومتری ارزیابی شد. مقایسه آماری میانگین بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی Tukey انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، آمیگدالین از طریق وابسته به دوز باعث کاهش معنی‌دار بقای سلول‌های سرطانی رده SK-BR-3 و همچنین افزایش معنی‌دار سطح MDA بر روی این رده سلولی شد ($P<$ ۰/۰۵). ولی اثر آماری معنی‌داری بر روی بقای سلول‌های طبیعی MRC-5 و سطح MDA نداشت($P >$ ۰/۰۵).

نتیجه گیری

آمیگدالین از طریق افزایش دادن سطح MDA در سلول‌های سرطان پستان SK-BR-3 باعث از بین بردن سلول‌های سرطانی این رده می‌گردد.

کلمات کلیدی

بقای سلولی، سرطان پستان، آمیگدالین، مالون دی آلدهید، SK-BR-3

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

مقدمه

سرطان پستان علیرغم پیشرفت دانش پزشکی هنوز در سراسر جهان یکی از شایع‌ترین نوع بدخیمی‌در خانم‌ها است به‌طوری‌که ۲۶٪ کل سرطان‌ها را شامل می‌شود (۱, ۲). در ایران نیز یکی از بدخیمی‌های رایج در خانم‌ها سرطان پستان است (۳, ۴). روش‌های درمان سرطان پستان شامل جراحی، پرتودرمانی، شیمی‌درمانی و هدف درمانی می‌باشد. علیرغم اثربخشی روش‌های درمانی موجود ولی وجود برخی عوارض و محدودیت اثر این داروها گزارش شده است (۵). مطالعات اپیدمیولوژیک و تجربی زیادی نشان داده‌اند که بسیاری از محصولات طبیعی گیاهان دارای اثر ضد سرطانی هستند. امروزه درمان انواع بدخیمی‌ها با استفاده از ترکیبات طبیعی با قدرت اثر شیمی‌درمانی، توجهات جهانی را به خود جلب کرده است (۶, ۷). آمیگدالین یک ترکیب گلیکوزیدی سیانوژنیک است که عمدتاً در دانه‌های زردآلو، هلو، بادام تلخ، آلو و سیب وجود دارد. لاتریل شکل نیمه سنتزی ساده‌تری است که توسط اصلاح شیمیایی آمیگدالین تولید می‌شود (۸). به نظر می‌رسد آمیگدالین با اثر آنزیم‌های β-گلوکوزیداز به پروناسین و مندلونیتریل هیدرولیز می‌شود که در نهایت این ترکیبات به بنزآلدئید و اسید هیدروسیانیک (HCN) تجزیه می‌شود. آمیگدالین به خودی خود سمی نیست اما مواد تولید شده از این ترکیب مانند HCN سمی‌است (۹). تولید اسید هیدروسیانیک از آمیگدالین توسط آنزیم β-گلوکوزیداز صورت می‌گیرد. دیده شده که فعالیت این آنزیم در سلول‌های توموری ۱۰۰۰ تا ۳۰۰۰ برابر بیشتر از سلول‌های طبیعی است. این تفاوت در فعالیت آنزیمی‌به سلول‌های تومور اجازه می‌دهد تا مقادیر بیش از حد اسید هیدروسیانیک آزاد شده با فعالیت ضد توموری را جمع نمایند. سم‌زدایی بیشتر هیدروسیانیک اسید به تیوسیانات به آنزیم دیگری به نام رودانز نیاز دارد که در سلول‌های طبیعی فعالیت به مراتب بیشتری از سلول‌های سرطانی دارند. با توجه به فعالیت بالای آنزیم β-گلوکوزیداز و همچنین فعالیت ناچیز آنزیم ردانز در سلول‌های توموری، آمیگدالین می‌تواند باعث انباشت زیاد سیانید که دارای خاصیت کشندگی سلول است، در سلول‌های توموری نسبت به سلول‌های طبیعی گردد و بنابراین می‌تواند یک مزیت انتخابی برای کشتن سلول‌های سرطانی بدون داشتن اثرات مضر قابل‌توجهی بر روی سلول‌های طبیعی ایجاد کند (۱۰). تلاش‌های زیادی برای استفاده از آمیگدالین به‌عنوان یک عامل ضد سرطان در برابر تومورهای انسانی صورت گرفته است. اولین آزمایش انسانی به سال ۱۸۴۵ در روسیه برمی‌گردد، زمانی که نتایج مثبتی در مورد اولین درمان بیمار سرطانی با آمیگدالین گزارش شد. در سال ۱۹۲۰، تلاش مشابهی برای درمان بیماران سرطانی با آمیگدالین در ایالات متحده انجام شد. اما این دارو بیش از حد سمی در نظر گرفته شد و استفاده از آن برای درمان سرطان انسان کنار گذاشته شد. بعدها در سال ۱۹۵۰ یک فرم محلول‌تر و کمتر سمی‌از آمیگدالین ساخته شد که به‌طور تجاری به‌عنوان لاتریل شناخته می‌شد. بااین‌حال، در دوزهای بالا، حتی خود لاتریل می‌تواند اثرات نامطلوبی مثل آسیب کبدی، تب و کما داشته باشد (۱۳-۱۱). به نظر می‌رسد این عوارض جانبی به مسیر تجویز لاتریل بستگی دارد. جذب خوراکی سمیت بسیار بالاتری نسبت به تزریق داخل وریدی، داخل صفاقی یا عضلانی نشان می‌دهد. موسسه ملی سرطان (NCI) مطالعه‌ای (۱۴) را شروع کرد. به‌طور خلاصه در فاز ۲ به‌صورت کار آزمایی بالینی نه تنها هیچ مزیتی از آمیگدالین برای درمان بیماران مشاهده نشد بلکه همچنین برخی از بیماران دارای علائمی‌مشابه با مسمومیت با هیدروسیانید نشان دادند (۱۵). البته چون در این مطالعه از گروه کنترل استفاده نشده بود و فقط از بیماران ناهمگون استفاده شده بود در مورد کیفیت این مطالعه ابهام وجود داشت. تمام قضاوت‌های رسمی‌در مورد آمیگدالین بر اساس همین مطالعه انجام گرفته است زیرا که هیچ آزمایش بالینی دیگری موجود نیست. علیرغم این تضادها در مورد اثربخشی و سمیت آمیگدالین هنوز خیلی از بیماران مبتلا به سرطان از این ماده استفاده می‌کنند. باوجود این معایب کار بر روی اثرات ضد توموری در شرایط

آزمایشگاهی آمیگدالین همچنان مورد توجه قرارگرفته است تا درک بهتری در مورد مکانیسم‌های عمل آن به دست آید. در مطالعات آزمایشگاهی، آمیگدالین به عنوان یک مهارکننده قدرتمند رشد رده‌های سلولی تومور انسانی مانند سلول‌های سرطان پستان، سلول‌های سرطان پروستات، سلول‌های سرطان روده بزرگ، سلول‌های سرطان خون و سلول‌های سرطان مثانه را کاهش می‌دهد(۱۸-۱۶). تاکنون تلاش‌های اندکی بر روی سلول‌های سرطانی برای بررسی ارتباط احتمالی بین مکانیسم ضد توموری آمیگدالین و تولید استرس اکسیداتیو انجام شده است. لازم به ذکر است که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تأثیر متناقضی بر فرآیند سرطان‌زایی دارد. در سطوح متوسط، این رادیکال‌ها ممکن است شروع و پیشرفت فرآیند سرطان را افزایش دهند اما در غلظت‌های بالاتر برای سلول‌های تومور سیتوتوکسیک می‌شوند و باعث توقف رشد، آپوپتوز یا نکروز می‌شوند (۱۹). گونه‌های فعال اکسیژن باعث تولید مالون دی آلدهید (MDA) به واسطه شکسته شدن هیدروپراکسیدهای ناپایدار در طی فرآیند پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع به دنبال یک واکنش آنزیمی می‌شود. MDA مهم‌ترین شاخص زیستی در تعیین پراکسیداسیون لیپیدها است (۲۰). تاکنون تلاش‌هایی برای کشف پتانسیل ضد توموری محصول طبیعی آمیگدالین در برابر سلول‌های سرطان پستان انجام شده است (۱۰, ۱۷) ولی اثرات آمیگدالین بر روی سلول سالم غیر سرطانی کمتر مورد توجه قرار گرفته است. برای روشن شدن بیشتر پتانسیل استفاده از آمیگدالین به‌عنوان یک عامل ضد تومور در برابر سلول‌های سرطان پستان، در کار آزمایشگاهی حاضر به بررسی اثر آمیگدالین بر القای مرگ سلولی و همچنین بر میزان مالون دی آلدهید در رده سلولی سرطانی SK-BR-3 در مقایسه با رده سلولی غیر توموری MRC-5 پرداختیم.

روش کار

شرایط کشت سلولی: رده سلولی سرطان پستان SK-BR-3 و رده‌های سلولی غیر توموری MRC-5 از انستیتو پاستور ایران (تهران، ایران) تهیه شد. این سلول‌ها در محیط کشت DMEM با گلوکز بالا و FBS ۱۰ درصد و ۰/۵٪ پنی سیلین-استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۹۵ درصد و CO_2 ۵٪ کشت داده شدند.

کشت سلولی و سنجش سمیت سلولی: تقریباً 5×10^3 از سلول‌های SK-BR-3 و MCR-5 در پلیت‌های ۹۶ چاهکی کشت داده شدند و به‌منظور اتصال سلول‌ها به ته چاهک در طول شب انکوبه شدند. به‌منظور تعیین اثر سمیت سلولی، آمیگدالین (A6005) که به صورت پودر خشک از شرکت سیگما آلدریچ (St. Louis, MO, USA) خریداری شده بود در محیط کشت حل شد و سلول‌ها با غلظت‌های مختلف ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند. گروه کنترل بدون تیمار باقی ماندند. پس از ۴۸ ساعت، محیط کشت رویی خارج شد و ۲۰ میکرولیتر محلول MTT با غلظت نهایی ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به آن اضافه و به مدت ۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد. بعد از تشکیل کریستال‌های بنفش‌رنگ در چاهک‌ها، محلول زردرنگ رویی برداشته شد و برای حل کردن کریستال‌ها از ۱۰۰ میکرولیتر حلال دی متیل سولفوکسید (DMSO) برای هر چاهک استفاده شد. درنهایت بعد از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در انکوباتور شیکردار به‌منظور حل شدن کریستال‌ها، جذب نوری سلول‌ها در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر BioTek ELX800 (Winooski، ایالات‌متحده) قرائت شد.

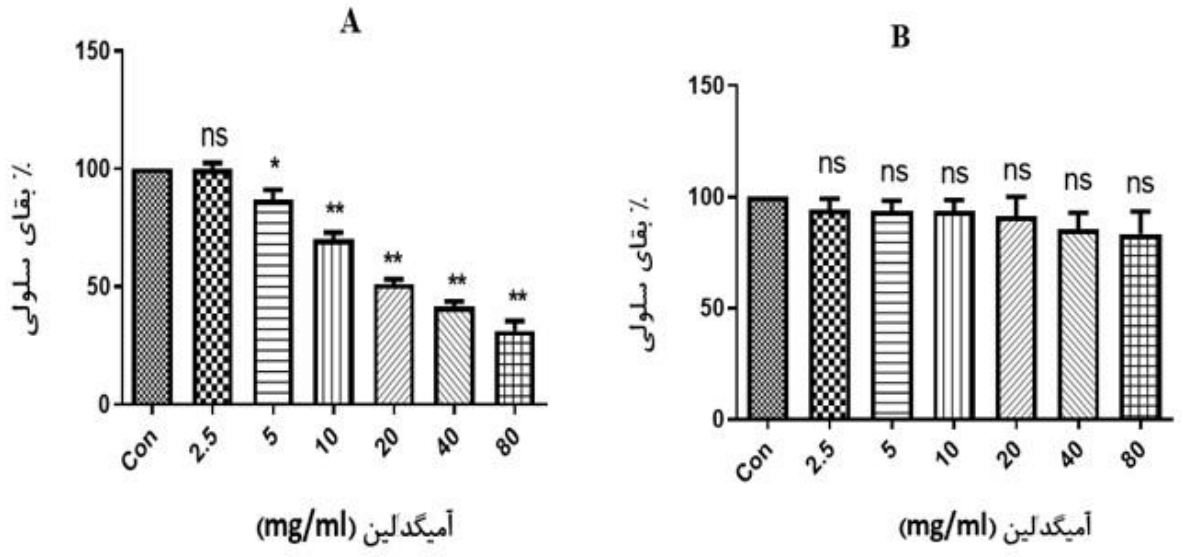
اندازه‌گیری میزان مالون دی الدئید به روش تیوباربیتوریک اسید (TBA): اساس این روش واکنش بین تیوباربیتوریک اسید با لیپیدهای پراکسید شده است. تیوباربیتوریک اسید مولکول‌های لیپیدی را در MDA می‌شکند و سپس MDA با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و ترکیبی رنگی ایجاد می‌شود که شدت رنگ آن با روش اسپکتروفتومتری قابل اندازه‌گیری است. برای اندازه‌گیری مالون دی آلدهید بعد از گذشتن زمان تیمار سلول‌ها، محیط کشت رویی سلول‌ها جمع‌آوری شد و به ۴۵۰ میکرولیتر از محیط کشت، ۹۰ میکرولیتر معرف تری کلرواستیک اسید (TCA) و ۳۶۰ میکرولیتر آب مقطر را در میکروتیوب ۱/۵ ریخته و در

سانتریفیوژ یخچال دار (۴ درجه) به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۵۰۰۰rpm سانتریفیوژ گردید. بعد از اتمام سانتریوفوژ از هر نمونه ۸۵۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته شد و به ۱۷۰ میکرولیتر از معرف تیوباربیتوریک اسید افزوده شد. در ادامه سر لوله‌ها محکم با چسب و پارافیلم بسته شد و پس از شیک کردن، به مدت ۱۵ دقیقه در بن ماری ۱۰۰ درجه قرار داده شد و بعد از این عمل نمونه‌ها در آب سرد یا کولد روم فورا سرد شد و جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد.

تحلیل آماری: تمام آزمایش‌ها به‌صورت سه بار تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ (Chicago, IL, USA) استفاده شد. مقایسه آماری میانگین بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی Tukey انجام شد. همه مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (S.E.M) بیان شدند و در تمامی‌مقایسه‌ها p<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

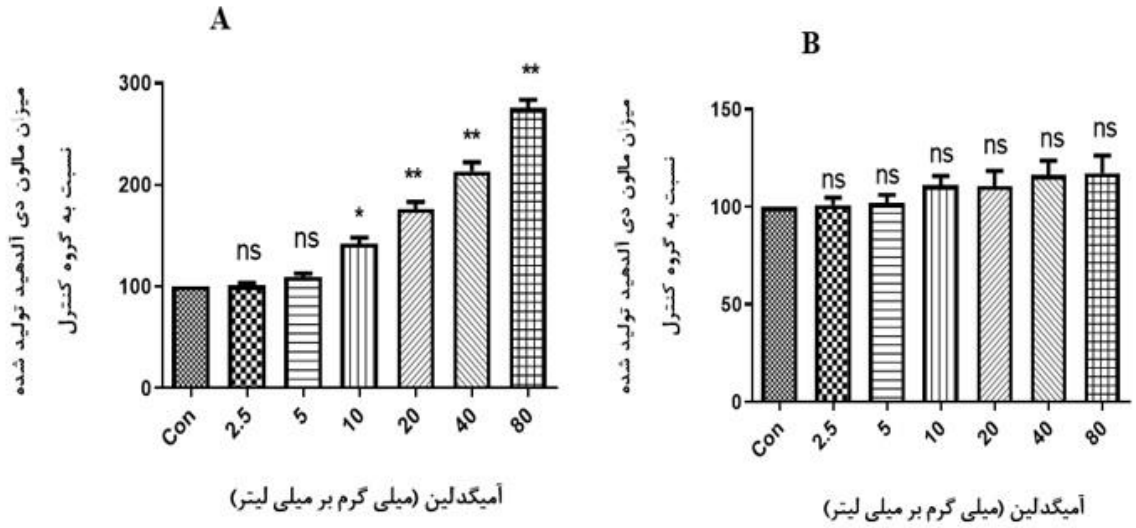
نتایج

آمیگدالین می‌تواند زنده ماندن سلول‌های SK-BR-3 را مهار کند. در مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر سیتوتوکسیک آمیگدالین بر روی سلول‌های سرطان پستان SK-BR-3 و سلول‌های سالم MRC-5، سلول‌ها به مدت ۴۸ ساعت با غلظت‌های مختلف آمیگدالین تیمار شدند و پس از آن سنجش MTT انجام شد. سلول‌های کشته شده در محیط‌های بدون آمیگدالین به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. پس از تیمار با غلظت‌های مختلف آمیگدالین در ۴۸ ساعت، اثر مهاری قابل‌توجهی بر بقای سلول‌های SK-BR-3 در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد اما این اثر مهاری در سلول-های رده MRC-5 مشاهده نشد. بنابراین با توجه به یافته‌های ما مشخص شد که آمیگدالین یک اثر سیتوتوکسیک بر زنده‌ماندن سلول‌های SK-BR-3 به‌صورت وابسته به دوز دارد در حالی که چنین اثری بر روی سلول‌های رده MRC-5 مشاهده نشد.



شکل ۱. اثر سیتوتوکسیک در شرایط آزمایشگاهی آمیگدالین بر روی بقای سلولی سلول‌های SK-BR-3 (A) و MRC-5 (B). سلول‌ها با غلظت‌های مشخص‌شده از آمیگدالین به مدت ۴۸ ساعت تحت تیمار قرار گرفتند. بقای سلولی با روش MTT تعیین شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد و مقادیر به‌صورت میانگین ± SEM ارائه شد. *p<0.01 و **p <0.001 در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

MDA تولیدشده پس از تیمار با غلظت‌های مختلف آمیگدالین:
نتایج حاصل از تیمار سلول‌های SK-BR-3 و MRC-5 با غلظت‌های مختلف آمیگدالین، روند افزایشی مقدار MDA را در تمامی‌غلظت‌ها در رده سلولی SK-BR-3 را نشان می‌دهد، اما این افزایش مقدار در غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از آمیگدالین در مقایسه با گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار بود که می‌تواند ناشی از به هم خوردن تعادل سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در این رده از سلول باشد. اما در رده سلولی سالم MRC-5 در هیچ‌کدام از غلظت‌های آمیگدالین افزایش معنی‌دار میزان MDA نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد.



شکل ۲. سلول‌های SK-BR-3 (A) و MRC-5 (B) با غلظت‌های متفاوت نشان داده‌شده از آمیگدالین به مدت ۴۸ ساعت تیمار شدند و سپس سطح MDA در محیط کشت این سلول‌ها اندازه‌گیری شد. آمیگدالین سطح MDA را در سلول‌های SK-BR-3 در غلظت‌های بیشتر از ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ولی در سلول‌های رده MRC-5 در هیچ غلظتی این افزایش معنی‌دار مشاهده نشد. *$p<0.01$ و **$p<0.001$ در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

بحث

باوجود تحقیقات زیادی که در مورد اثرات ضد توموری آمیگدالین انجام شده است (۱۰, ۱۷, ۱۸, ۲۱, ۲۲) اما اطلاعات بسیار کمی‌در مورد نحوه عملکرد این محصول طبیعی بر روی سلول‌های سرطان پستان انسان و همچنین اثر آمیگدالین بر روی سلول‌های غیر سرطانی وجود دارد. در مطالعه حاضر، ما قدرت آمیگدالین را برای سرکوب تکثیر سلولی رده سلولی سرطان پستان انسان (SK-BR-3) و همچنین رده سلولی طبیعی (MRC-5) را بررسی و مقایسه کردیم. آمیگدالین بقا و تکثیر رده سلولی SK-BR-3 را از طریق وابسته به دوز مهار می‌کند که این اثر مهاری بسیار نزدیک به قدرت مهاری گزارش شده آن در برابر سلول‌های سرطانی مثانه و سلول سرطانی پستان MCF-7 بود (۱۰, ۱۸, ۲۳). این در حالی است که آمیگدالین اثر معنی‌داری بر روی بقای سلول‌های سالم (MRC-5) نداشت. تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثر آمیگدالین بر روی سلول‌های طبیعی غیر سرطانی انجام نشده است. نکته قابل توجه در مطالعه حاضر، افزایش سطح MDA به‌عنوان معیاری از پراکسیداسیون لیپیدی در نتیجه افزایش ایجاد ROS در سلول‌های تومور پستان تحت تیمار با آمیگدالین بود که این افزایش سطح MDA با افزایش غلظت آمیگدالین ارتباط مستقیم داشت و با افزایش غلظت آمیگدالین میزان MDA تولیدشده در سلول‌های سرطانی

افزایش نشان داد، در حالی که در رده سلولی سالم غیر سرطانی آمیگدالین اثر معنی‌داری بر روی میزان MDA نداشت. یافته‌های مطالعه ما این فرضیه را تأیید می‌کند که آمیگدالین از طریق القای استرس اکسیداتیو باعث افزایش سطح MDA در رده سلولی سرطانی SK-BR-3 می‌گردد. در مطالعه‌ای که در تأیید نتایج مطالعه ما است نشان داده شده که تیمار سلول‌های MCF-7 و T47D با آمیگدالین باعث افزایش سطح مالون دی آلدهید از طریق القای استرس اکسیداتیو می‌شود(۱۰). با توجه به نتایج مطالعه ما که آمیگدالین بر روی بقای سلول‌های سرطانی و همچنین سطح MDA در این رده از سلول‌ها اثر معنی‌داری دارد در حالی که چنین اثری بر روی سلول‌های طبیعی غیر سرطانی ندارد، ظاهراً به نظر می‌رسد که این اثرات به دلیل زیادتر بودن فعالیت آنزیم بتا گلوکوزیداز که باعث ایجاد سیانید از آمیگدالین می‌شود و همچنین کمتر بودن فعالیت آنزیم ردانز که سیانید سمی‌را به تیوسیانات غیر سمی‌تبدیل می‌کند و در نتیجه انباشت سیانید سمی‌در سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی غیر سرطانی است. انباشت سیانید در سلول‌های سرطانی با توجه به موارد گفته شده باعث مهار فعالیت سیتوکروم C اکسیداز زنجیره تنفس سلولی میتوکندریایی می‌شود که مهار این سیتوکروم باعث تحریک تشکیل ROS در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری می‌شود. ROS تشکیل‌شده از این طریق می‌تواند از طریق پراکسید کردن لیپیدها باعث افزایش سطح MDA گردد (۱۰, ۲۴, ۲۵). با در نظر گرفتن این یافته‌ها، یک مکانیسم ضد توموری در شرایط آزمایشگاهی برای سلول‌های سرطان پستان را فرض می‌کنیم که در آن آمیگدالین ممکن است به‌عنوان یک عامل پراکسیدانی برای تحریک حساسیت این سلول‌های سرطانی به استرس اکسیداتیو عمل کند.

References

1.Eroles P, Bosch A, Pérez-Fidalgo JA, Lluch A. Molecular biology in breast cancer: intrinsic subtypes and signaling pathways. Cancer treatment reviews. 2012;38(6):698-707.
2.Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. CA: a cancer journal for clinicians. 2019;69(1):7-34.
3.Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran: an epidemiological review. The breast journal. 2007;13(4):383-91.
4.KOLAH DS, Sajadi A, Radmard AR, KHADEMI H. Five common cancers in Iran. 2010.
5.Waks AG, Winer EP. Breast cancer treatment: a review. Jama. 2019;321(3):288-300.
6.Shareef M, Ashraf MA, Sarfraz M. Natural cures for breast cancer treatment. Elsevier; 2016. p. 233-40.
7.Grattan BJ. Plant sterols as anticancer nutrients: evidence for their role in breast cancer. Nutrients. 2013;5(2):359-87.
8.Saleem M, Asif J, Asif M, Saleem U. Amygdalin from apricot kernels induces apoptosis and causes cell cycle arrest in cancer cells: an updated review. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2018;18(12):1650-5.
9.Liczbiński P, Bukowska B. Molecular mechanism of amygdalin action in vitro: review of the latest research. Immunopharmacology and immunotoxicology. 2018;40(3):212-8.
10.Abboud MM, Al Awaida W, Alkhateeb HH, Abu-Ayyad AN. Antitumor action of amygdalin on human breast cancer cells by selective sensitization to oxidative stress. Nutrition and cancer. 2019;71(3):483-90.
11.Milazzo S, Lejeune S, Ernst E. Laetrile for cancer: a systematic review of the clinical evidence. Supportive care in cancer. 2007;15(6):583-95.
12.Jukes TH. Laetrile for cancer. JAMA. 1976;236(11):1284-6.
13.Ames MM, Moyer TP, Kovach JS, Moertel CG, Rubin J. Pharmacology of amygdalin (laetrile) in cancer patients. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 1981;6(1):51-7.
14.Newell GR, Ellison NM. Ethics and designs: laetrile trials as an example. Cancer treatment reports. 1980;64(2-3):363-5.
15.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. New England Journal of Medicine. 1982;306(4):201-6.
16.Shi J, Chen Q, Xu M, Xia Q, Zheng T, Teng J, et al. Recent updates and future perspectives about amygdalin as a potential anticancer agent: a review. Cancer medicine. 2019;8(6):3004-11.

17.Moradipoodeh B, Jamalan M, Zeinali M, Fereidoonnezhad M, Mohammadzadeh G. In vitro and in silico anticancer activity of amygdalin on the SK-BR-3 human breast cancer cell line. Molecular Biology Reports. 2019;46(6):6361-70.
18.Moradipoodeh B, Jamalan M, Zeinali M, Fereidoonnezhad M, Mohammadzadeh G. Specific targeting of HER2-positive human breast carcinoma SK-BR-3 cells by amygdaline-ZHER2 affibody conjugate. Molecular Biology Reports. 2020;47(9):7139-51.
19.Perillo B, Di Donato M, Pezone A, Di Zazzo E, Giovannelli P, Galasso G, et al. ROS in cancer therapy: The bright side of the moon. Experimental & Molecular Medicine. 2020;52(2):192-203.
20.Jelic MD ,Mandic AD, Maricic SM, Srdjenovic BU. Oxidative stress and its role in cancer. Journal of cancer research and therapeutics. 2021;17(1):22.
21.Park H-J, Yoon S-H, Han L-S, Zheng L-T, Jung K-H, Uhm Y-K, et al. Amygdalin inhibits genes related to cell cycle in SNU-C4 human colon cancer cells. World journal of gastroenterology: WJG. 2005;11(33):5156.
22.Makarević J, Rutz J, Juengel E, Kaulfuss S, Tsaur I, Nelson K, et al. Amygdalin influences bladder cancer cell adhesion and invasion in vitro. PLoS One. 201:(۱۰)۹;۴e110244.
23.Syrigos KN, Rowlinson-Busza G, Epenetos AA. In vitro cytotoxicity following specific activation of amygdalin by β-glucosidase conjugated to a bladder cancer-associated monoclonal antibody. International journal of cancer. 1998;78(6):7.۱۲-۹
24.Daya S, Walker RB, Anoopkumar-Dukie S. Cyanide-induced free radical production and lipid peroxidation in rat brain homogenate is reduced by aspirin. Metabolic Brain Disease. 2000;15(3):203-10.
25.Ardelt B, Borowitz J, Maduh E, Swain S, Isom G .Cyanide-induced lipid peroxidation in different organs: subcellular distribution and hydroperoxide generation in neuronal cells. Toxicology. 1994;89(2):127-37.

Original Article

The effect of amygdalin on cell survival and malondialdehyde level of SK-BR-3 breast cancer cells in the in vitro study

Received: 23/11/2021 - Accepted: 30/08/2022

Bahman Moradipoodeh[1]
Fatemeh Ahmadpour[2*]

[1] *Department of Laboratory Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.*
[2] *Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.*

Email:
ahmadpourfatimaa@gmail.com

Abstract

Introduction

Amygdalin is a cyanogenic compound naturally present in apricot, peach, bitter almond, plum and apple seeds. The aim of this study was to evaluate the effect of amygdalin on cell survival and Malondialdehyde (MDA**)** level in the SK-BR-3 breast cancer cell line and to compare these effects on the healthy MRC-5 cell line.

Material and Method

Breast cancer cell line SK-BR-3 and healthy cell line MRC-5 were used in this study. To study the effect of amygdalin on the survival of these two cell lines and on the surface of MDA, concentrations of 2.5, 5, 10, 20, 40 and 80 mg/ml of amygdalin were used. Cell survival was assessed by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromid**e** (MTT) assay and MDA level was assessed by thiobarbituric acid and spectrophotometric method. Statistical comparison of the mean between the groups was performed using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by a post hoc Tukey's test .

Results

Based on the results of the present study, amygdalin in a dose-dependent manner significantly reduced SK-BR-3 tumor cell survival and also significantly increased MDA levels in this cell line ($P < 0.05$), but it there were no statistically significant effect on the normal survival of MRC-5 cells and MDA levels ($P > 0.05$).

Conclusion

Amygdalin kills SK-BR-3 breast cancer cells by increasing the level of MDA in these cells**.**

Key words

Breast cancer, Amygdalin, Malondialdehyde, SK-BR-3

Acknowledgement: There is no conflict of interest