ORIGINAL ARTICLE

Effect of Acroptilon Repens L. Aquatic Extract on HL-60 Promyelocytic Leukemia Cell Line

Zahra Sokouti[1],
Seyyed Mohammad Hoseini[2],
Abdolhossein Shiravi[3],
Reza Changizi[2],
Amirhossein Moshrefi[4]

[1] MSc in Developmental Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
[2] Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran
[3] Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran
[4] DVM Student, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Babol Branch, Babol, Iran

(Received June 19, 2016; Accepted October 1, 2016)

Abstract

Background and purpose: Cancer is one of the leading causes of mortality worldwide. Acute promyelocytic leukemia, which is the most common type of blood cancer in adults, is the most prevalent type of acute leukemia. This type of cancer is characterized by uncontrolled proliferation, inhibited differentiation of immature myloied progenitors (promyelocytes), and accumulation of abnormal promyelocytes in the bone marrow. The aim of this study was to investigate the effects of *Acroptilon repens L.* extract on the growth rate of the acute promyelocytic leukemia cell line (HL-60).

Materials and methods: This is an experimental study. The HL-60 cells are round with large nuclei. These cells were maintained at 37°C in 5% CO_2 in RPMI-60 medium, supplemented with 10% fetal bovine serum, and 1% penicillin and streptomycin. The cytotoxic effects of *Acroptilon repens* extract on HL-60 cell line was investigated using microculture tetrazolium test (MTT). To identify the cytotoxic doses, different dilutions of the *Acroptilon repens* extract were added to 96-well culture plate, each containing 20 × 4 cells. The treated cells were incubated for 24, 48, and 72 h, and then the viability of the cells was assessed using MTT.

Results: According to the results, *Acroptilon repens L.* extract has cytotoxic effects in concentrations of 1, 2, 4, 6, and 8 mg/ml.

Conclusion: As the findings indicated, *Acroptilon repens L.* extract could be effective in growth rate of acute promyelocytic leukemia cell line (HL-60).

Keywords: *Acroptilon repens L.*, Cell line, Extract, HL-60, Leukemia

J Mazandaran Univ Med Sci 2017; 27(147): 41-47 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هفتم شماره ۱۴۷ فروردین سال ۱۳۹۶ (۴۱-۴۷)

بررسی تأثیر عصاره اندام هوایی علف هرز تلخه (*Acroptilon repens L*) بر روی سلول‌های لوسمی حاد پرومیلوسیتی رده سلولی HL-60

زهرا سکوتی[۱]
سید محمد حسینی[۲]
عبدالحسین شیروی[۳]
رضا چنگیزی[۲]
امیرحسین مشرفی[۴]

چکیده

سابقه و هدف: سرطان از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان است. لوسمی حاد پرومیلوسیتی (Acute Promyelocytic Leukemia: APL)، شایع‌ترین لوسی حاد و سرطان خون غالب در میان بزرگ‌سالان است که با تکثیر غیرقابل‌کنترل و عدم تمایز پیش‌سازهای نابالغ میلوئید (پرومیلوسیت) و تجمع این سلول‌ها در مغز استخوان مشخص می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر عصاره علف هرز تلخه (*Acroptilon repens L.*) در روند رشد رده سلول‌های لوسمی حاد پرومیلوسیت (HL-60) است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع تجربی است. HL-60، کروی و دارای یک هسته درشت و مشخص و به‌صورت سوسپانسیون است. سلول‌ها در محیط RPMI1640 با مکمل ۱۰ درصد آلبومین گاوی (Fetal Bovine Serum: FBS) و ۱ درصد آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و پنی‌سیلین، در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و CO_2 ۵ درصد نگهداری شدند. اثر سایتوتوکسیک عصاره آبی تلخه بر روی رده سلولیHL-60 با روش رنگ‌سنجی با استفاده از روش MTT یا Micro Culture Tetrazolium Test بررسی گردید. برای تعیین دوزهای کشنده، رقت‌های گوناگونی از عصاره آبی گیاه تلخه در پلیت ۹۶ خانه که در هر خانه تعداد ۴×۲۰ سلول وجود داشت، قرار داده شد. سپس در داخل انکوباتور تحت شرایط رشد سلولی انکوبه شدند و پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با روش MTT درصد حیات سلول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بررسی‌ها نشان داد که این عصاره در غلظت‌های ۱، ۲، ۴، ۶ و ۸ mg/ml، اثر کشندگی دارد.

استنتاج: با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، عصاره علف هرز تلخه می‌تواند در روند مهار رشد رده سلول‌های لوسمی حاد پرومیلوسیت (HL-60) مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: رده سلولی، عصاره، گیاه تلخه، لوسمی، HL-60

مقدمه

سرطان دومین بیماری مهم منجر به مرگ و میر، در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه می‌باشد (۱). سرطان خون یا لوسمی، بیماری پیش‌رونده و بدخیم اعضای خون‌ساز بدن است. این بیماری در اثر تکثیر و

مولف مسئول: سید محمد حسینی– بابل: دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی Email: dr_hosseini2323@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد رشته علوم جانوری سلولی تکوینی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
۳. دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
۴. دانشجوی دوره دکتری دامپزشکی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۵/۴/۲۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۷/۱۰

تکامل ناقص گویچه‌های سفید خون و پیش‌سازهای آن در خون و مغز استخوان ایجاد می‌شود (۲).

لوسمی حاد پرومیلوسیتی (Acute Promyelocytic Leukemia: APL) یا زیرگونه M_3، شایع‌ترین و بدخیم‌ترین نوع سرطان خون با خون‌ریزی شدید در میان بزرگ‌سالان است. این بیماری با تکثیر غیرقابل‌کنترل و عدم تمایز پیش‌سازهای نابالغ میلوئید (پرومیلوسیت) و تجمع این سلول‌ها در مغز استخوان مشخص می‌شود (۳). امروزه به‌دلیل عوارض جانبی شدید داروهای شیمی-درمانی، به نوع دیگری از درمان توجه شده است. در سال‌های اخیر، تحقیقات فراوانی درباره اثر عوامل تمایزدهنده و کشنده آپوپتوتیک در درمان لوسمی حاد میلوییدی، به‌ویژه لوسمی پرومیلوسیتی انجام شده است. برای نمونه، درمان خاص بیماران مبتلا به لوسمی حاد پرومیلوسیتی به‌صورت ایجاد آپوپتوز و تمایز می‌باشد (۴).

تلخه (*Acroptilon repens L.*) حاوی چند ترکیب شیمیایی است که حداقل یکی از این ترکیبات آللوپاتیک، می‌تواند بر رشد گیاهان رقیب اثر منفی داشته باشد (۵). آزمایش‌های تغذیه‌ای انجام‌شده بر روی تلخه، نشان داد که تلخه برای اسب سمی است و سبب به هم خوردگی سیستم عصبی آن می‌شود و درنهایت حیوان را از بین می‌برد. تماس طولانی‌مدت با تلخه ممکن است سبب حساسیت پوستی در انسان شود (۶). همچنین، در بررسی اثر ضدالتهابی و ضددردی ناشی از عصاره گیاه تلخه به اثبات رسیده است که این تأثیرات ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه می‌باشد؛ زیرا این گیاه حاوی آلکالوئید– تانن و غنی از فلاونوئید است (۷). با توجه به ویژگی‌های علف هرز تلخه از جمله خصوصیت بازدارندگی رشد و خاصیت آللوپاتیکی این گیاه و همچنین، به‌عنوان راهکار درمانی مناسبی برای لوسمی پرومیلوسیت حاد، در شرایط آزمایشگاهی و در محیط کشت سلولی، تأثیر این عصاره بر روی رده سلولی HL-60 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، برای تهیه عصاره آبی تلخه، پس از تعیین گونه گیاهی و تأیید هرباریوم مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، اندام‌های هوایی این گیاه از مزارع گندم در اوایل گل‌دهی جمع‌آوری گردیدند و سپس با آب فراوان شستشو داده شدند. پس از شستشو و در سایه، به مدت ۴۸ ساعت به دور از نور خورشید خشک گردیدند. پس از آن، به‌وسیله آسیاب پودر شدند و مقدار معینی از حلال به نسبت ۱:۱۰، ۴۰ g گیاه و ۴۰۰ ml حلال مورد نظر (آب) بر روی آن اضافه گردید. همچنین، با کمک شیکر به مدت ۴۸ ساعت با دور ۱۲۰ rpm و در دمای اتاق عصاره‌گیری شد. سپس عصاره با کاغذ واتمن صاف گردید و به غلظت‌های مورد نظر رسانده شد.

رده سلولی سرطانی حاد پرومیلوسیتی HL-60 خریداری‌شده از انستیتو پاستور ایران، در محیط کشت RPMI1640 به همراه مکمل ۱۰ درصد آلبومین گاوی (Fetal Bovine Serum: FBS) و ۱ درصد پنی‌سیلین و استرپتومایسین، در دمای ۳۷°c در انکوباتور با CO_2 ۵ درصد با RH=۹۵ کشت داده شد. برای اطمینان از درصد سلول‌های زنده، سلول‌ها با آزمایش تریپان بلو (Tripan blue) شمارش گردید. درنهایت، پلیت سلولی حاصل همراه با ۵ cc محیط کشت به فلاسک کوچک برای رشد و تکثیر منتقل می‌شود.

بررسی سمیت سلول‌ها به روش MTTassay

از رده سلولی HL-60، سوسپانسیون سلولی تهیه شد. سپس آزمایش تریپان بلو و شمارش تعداد سلول‌ها صورت گرفت. در مرحله بعد، تیمارهایی از عصاره با غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و

۸۰۰۰ µg/ml (۱۰ µl به هر چاهک) افزوده شد.

ردیف آخر به‌عنوان کنترل در نظر گرفته شد و در هر ردیف باقی‌مانده تیمارها اضافه گردید. انکوباسیون پلیت‌ها به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در انکوباتور CO_2 ۵ درصد صورت گرفت. پس از ۲۴ ساعت برای پلیت اول (و متعاقباً برای پلیت دوم و سوم)، به محیط کشت رویی به هر ویال، ۱۰ µl (۵ mg/ml) رنگ MTT (Micro Culture Tetrazolium Test) اضافه و پلیت به مدت ۴ ساعت در انکوباتور قرار داده شد. سپس به محتویات آن ۱۰۰ µl محلول ایزوپروپانول اسیدی اضافه و خوب مخلوط گردید. پس از ۱۰ دقیقه، جذب نوری هر پلیت به‌وسیله Eliza reader در طول‌موج ۵۷۰ nm ثبت شد. همه این مراحل، برای پلیت دوم و سوم پس از گذشت ۴۸ و ۷۲ ساعت صورت گرفت. نتایج به‌دست آمده، برای مقایسه سمیت رشد سلول‌ها ثبت گردید.

آنالیز آماری

آنالیز آماری برای شمارش سلولی با کمک ANOVA یک‌طرفه و آزمون تعقیبی Duncan انجام شد. در همه محاسبات، اختلاف P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

یافته‌ها

پس از انجام شمارش سلولی و تعیین درصد زنده‌ماندن سلول‌ها در روزهای گوناگون، دوزهای کشنده غلظت‌های مختلفی از عصاره علف هرز تلخه بر روی سلول‌های HL-60 به‌دست آمد. برای بررسی فعالیت متابولیک سلولی از آزمایش MTT در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت استفاده شد و درصد زنده‌مانی سلول‌ها در مقایسه با کنترل محاسبه گردید. متعاقب اثردادن عصاره در دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰µg/ml در طی ۲۴ ساعت، نتایج زیر به‌دست آمد (جدول شماره ۱).

تکثیر سلولی در طی ۲۴ ساعت در سلول‌های عصاره کنترل افزایش داشت. تکثیر سلولی در سلول‌های عصاره در غلظت ۱۲۵ µg/ml، مشابه با عصاره کنترل بود؛ اما در غلظت ۸۰۰۰ µg/ml عصاره گیاهی، کاهش در میزان تکثیر سلولی مشاهده شد که نسبت به دیگر گروه‌های شاهد و تیمارها تا تیمار ۱۰۰۰ µg/ml، تفاوتی معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). همچنین، شمارش سلولی انجام‌شده در ۲۴ ساعت، نشان داد که متعاقب افزایش غلظت عصاره، جمعیت سلولی کاهش می‌یابد؛ به‌طوری‌که درصد زنده‌مانی سلول‌ها به‌صورت وابسته به دوز و زمان، کاهش یافته است. تکثیر سلولی در طی ۴۸ ساعت در سلول‌های کنترل، افزایش داشت. در سلول‌های عصاره در غلظت حدود ۱۰۰۰ µg/ml، تا ۵۰ درصد سلول‌ها زنده ماندند؛ اما در غلظت‌های ۲۰۰۰ µg/ml به بالای عصاره، کاهش ۸۰ درصدی میزان تکثیر سلولی مشاهده شد که نسبت به دیگر گروه‌های شاهد و تیمارها تا تیمار ۱۰۰۰ µg/ml، تفاوتی معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵). همچنین، شمارش سلولی انجام‌شده در ۴۸ ساعت، نشان داد که جمعیت سلولی متعاقب افزایش غلظت عصاره، در مدت‌زمان ۴۸ ساعت به‌طور فراوانی کاهش می‌یابد.

جدول شماره ۱: مقایسه اثر غلظت‌های مختلف عصاره آبی علف هرز تلخه در زمان‌های مختلف بر رده سلولی HL-60

تیمار	تعداد	Duncan, Subset for alpha = 0.05: ۲۴ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
تیمار ۸۰۰۰	۶	۷۱/۰۸۳۳[a]	۱۸/۲۷۰۰[a]	۱۳/۸۸۶۷[a]
تیمار ۴۰۰۰	۶	۷۷/۵۶۶۷[a,b]	۲۰/۱۷۰۰[a]	۱۸/۷۱۰۰[a]
تیمار ۲۰۰۰	۶	۸۲/۱۷۳۳[a,b,c]	۲۱/۶۲۰۰[a]	۳۴/۶۴۳۳[b]
تیمار ۱۰۰۰	۶	۸۹/۰۳۰۰[b,c,d]	۵۲/۳۶۳۳[b]	۵۰/۹۴۳۳[c]
تیمار۵۰۰	۶	۹۳/۱۰۰۰[b,c,d]	۶۵/۸۵۶۷[c]	۷۳/۰۱۳۳[d]
تیمار ۲۵۰	۶	۹۳/۵۵۳۳[b,c,d]	۷۱/۶۱۶۷[d]	۷۷/۷۶۶۷[d,e]
تیمار ۱۲۵	۶	۹۶/۹۹۶۷[c,d]	۸۸/۴۷۳۳[e]	۷۷/۷۶۶۷[e]
شاهد	۶	۱۰۰/۰۰۰۰[d]	۱۰۰/۰۰۰۰[f]	۷۹/۷۰۳۳[f]

تعداد نمونه‌ها در هر تیمار ۶ عدد بود و تفاوت معنی‌دار بین تیمارها از طریق آزمایش تعقیبی دانکن با کمک حروف نشان داده شده است.

پس از گذشت مدت‌زمان ۷۲ ساعت، درصد زنده‌مانی سلول‌ها به‌صورت وابسته به دوز و زمان کاهش یافت؛ به‌طوری‌که در غلظت‌های µg/ml ۴۰۰۰ به بالای عصاره، کاهش ۸۰ درصدی میزان تکثیر سلولی مشاهده شد که نسبت به دیگر گروه‌های شاهد و تیمارها، تا تیمار µg/ml ۲۰۰۰ تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P<0/05$) (جدول شماره ۱). پس از ارزیابی غلظت‌های گوناگون از عصاره علف هرز تلخه بر روی سلول‌های HL-60 پس از انجام در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و در پی آن شمارش سلولی و تعیین درصد زنده‌ماندن سلول‌ها در روزهای مختلف، مشخص گردید طی ۴۸ و ۷۲ ساعت در تیمار µg/ml ۱۰۰۰، تقریباً ۵۰ درصد سلول‌ها زنده ماندند. با افزایش غلظت‌های عصاره علف هرز تلخه، جمعیت سلولی کاهش یافت که می‌تواند به‌علت ترکیبات عصاره این گیاه، از جمله فلاونوئیدهای موجود در آن و نیز خاصیت هیپوگلیسمیک ناشی از آن و ایجاد نکروز و آپوپتوز باشد. اثر ضدتوموری این ترکیب ممکن است به‌علت اثرات سمی سلولی آن‌ها علیه سلول‌های سرطانی باشد. روشن است برای مشخص کردن قطعی آن، باید از آزمایش‌های تکمیلی استفاده نمود.

بحث

مطالعه حاضر و نتایج به‌دست‌آمده از آن، اثر بازدارندگی رشد عصاره علف هرز تلخه را بر روی سلول‌های لوسمی حاد پرومیلوسیتی رده سلولی HL-60 نشان می‌دهد. این تأثیر بازدارندگی با افزایش غلظت عصاره افزایش می‌یابد. کاملاً واضح است که این پژوهش، نقطه آغازی در سطح تحقیقات اولیه و سطحی درباره کاربرد بالقوه عصاره علف هرز تلخه در مورد سلامتی انسان و نیز در ارتباط با سرطان می‌باشد. امروزه تعداد داروهایی که توانایی و قدرت بالایی در مهار سرطان داشته باشند، بسیار کم است. یکی از فاکتورهای مؤثر علیه سرطان، عصاره علف هرز تلخه می‌باشد که تأثیرات مهارکنندگی را در کشت بافت و سلول‌های توموری در محیط *In vivo* نشان داده است. Oke و همکاران در سال ۲۰۰۹ در بررسی اثر غلظت‌های گوناگون داروی AZD1152 بر روی رده‌های سلولی گوناگونی از قبیل HL-60 که از رده APL، ولی فاقد فیوژن PML-RARA است، نشان دادند که این دارو سبب القای تأثیرات سیتوتوکسیک و مهار تکثیر به‌صورت وابسته به دوز می‌شود (۸). در پژوهشی Li و همکاران (۲۰۰۲) مشاهده نمودند که آرسنیک، موجب القای آپوپتوز در سلول‌های NB_4 می‌شود (۹). Zhang و همکاران (۲۰۰۳) نیز، با مطالعه روی رده سلولی HL-60 (رده سلولی لوسمی پرومیلوسیتی) به این نتیجه رسیدند که آرسنیک در دوز کم، اثر بسیاری در القای آپوپتوز روی این سلول‌ها ندارد (۱۰). براساس مطالعه صورت‌گرفته، ماده آرسنیک تری اکسید (AS_2O_3) سبب توقف رشد و القای تمایز در سلول‌های NB_4 و HL-60 می‌شود و در بیماران APL استفاده دارویی دارد (۱۱).

نتایج به‌دست‌آمده از یک پژوهش نشان داد که زهر زنبورعسل و آلفا توکوفرول سوکسینات در الگویی وابسته به دوز و زمان در غلظت‌های بالا، سبب القای مرگ سلولی و در دوزهای پائین سبب مهار تکثیر رده سلول‌های HL-60 می‌شود. آلکالوئیدهای گیاهی یکی از مهم‌ترین ترکیبات گیاهی هستند که تأثیرات ضدسرطان دارند. اثر عصاره‌ی آلکالوئیدی اسپند بر کاهش تکثیر سلولی رده‌های سلولی سرطانی از قبیل هپاتوسلولار کارسینوما، فیبروسارکوما و میلوما در غلظت‌های کاهنده مشاهده شده است (۱۲). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که می‌توان برای از بین بردن سلول‌های سرطانی پرومیلوسیتی، از این عصاره گیاهی در غلظت‌های به‌دست آمده استفاده کرد. همچنین، شاید بتوان آن را به‌منظور افزایش اثر دیگر داروهای سیتوتوکسیک و داروهای تمایزدهنده، طی مطالعات تکمیلی به‌کار برد؛ زیرا

این عصاره، تکثیر سلولی را کاهش می‌دهد و خاصیت ضدتوموری دارد. بدین ترتیب، داروهای سیتوتوکسیک دیگر یا داروهای تمایزدهنده به میزان بیشتری تأثیرات خود را برجا می‌گذارند.

سپاسگزاری

مطالعه فوق، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا سکوتی در رشته علوم جانوری سلولی-تکوینی است. بدین‌وسیله، از پژوهشکده شمال کشور انستیتو پاستور ایران، دکتر علی‌اصغر احمدی، سعید کاووسیان، دکتر صادق فتاحی و رمضان بهزادی که امکانات پژوهش را فراهم کردند، صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Santos RC, Salvador JA, Marín S, Cascante M. Novel semisynthetic derivatives of betulin and betulinic acid with cytotoxic activity. Bioorganic & medicinal chemistry. 2009 Sep 1;17(17):6241-50.
2. Rane SG, Reddy EP. JAKs, STATs and Src kinases in hematopoiesis. Oncogene. 2002 May 13;21(21):3334-58..
3. F. Zaker, Anti tumoral and differentiation effects of alkaloids of harmine and harmaline on leukaemic cells treated with atra and g-csf. J Razi Univ Med Sci 2003; 38: 869-877 (Persian).
4. Rowan S, Fisher DE. Mechanism of apoptotic cell death. Leukemia 1997; 11: 457-65.
5. Aghbali A, Vosough Hosseini S, moradiabbasabadi F, Mohammadnejad L, Shanehbandi D, Baradaran B. Evaluation of Cytotoxic Activities of Iranian Orthodox Black Tea Extract (BTE) on Oral Squamous Cell Carcinoma (KB cell line) . J Res Dent Sci. 2013; 10 (2) :65-72
6. Ghanizadeh Vesali S, Zaker F, Zekri A, Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Ghaffari S H. Cytotoxic Effects Of Selective Inhibitor 'Aurora Kinase B' On Viability And Metabolic Features Of Human Promyelocytic Leukemia Cell Line. payavard. 2013; 7 (3) :197-206
7. Hong Y H, Chao W W, Chen M L, Lin B F. Ethyl acetate extracts of alfalfa (Medicago sativa L) sprouts inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. J Biomed Sci 2009; 16: 64.
8. Oke A, Pearce D, Wilkinson RW, Crafter C, Odedra R, Cavenagh J, et al. AZD1152 rapidly and negatively affects the growth and survival of human acute myeloid leukemia cells in vitro and in vivo. Cancer research 2009 May; 69(10): 4150-8.
9. Li J, Chen P, Sinogeeva N, Gorospe M, Wersto RP, Chrest FJ, et al. Arsenic trioxide promotes histone H3 phosphoacetylation at the chromatin of CASPASE-10 in acute promyelocytic leukemia cells. J Biol Chem 2002; 227(51): 49504-10
10. Zhang TC, Schmitt MT, Mumford JL. Effects of arsenic on telomerase and telomeres in relation to cell proliferation and apoptosis in human keratinocytes and leukemia cells in vitro. Carcinogenesis 2003; 24(11): 1811-17.
11. Niu C., Yan H., Yu T., Sun HP., Liu JX., Li XS., et al. Studies on treatment of acute

M, Lyoussi B, Zaid A. Anti tumour principle from Peganum Harmala seeds. Therapie 1999; 54:753-6.

promyelocytic leukaemia with arsenic trioxide, Blood, 1999, 94(0): 3315-3324

12. Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Semzami