Paramedical Sciences and Military Health
Volume 11, Number 3, Autumn 2016

Original Article

Effect of Harmine Alkaloid on the Expression of P16 and DAPK in HL60 Leukemia Cell Line

Ali Noroozi Aghide[1], Hamed Soleimani Samarkhazan[2], Moharam Ahmadnezhad[3]*

[1] *Department of Laboratory Science, Faculty of Paramedicine. Aja University of Medical Science, Tehran, Iran*
[2] *Department of Hematology, Faculty of Paramedicine, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran*
[3] *Department of Hematology, Blood Transmission Organization, Tehran, Iran*

Abstract

Introduction: Epigenetic changes such as promoter methylation of tumor suppressor genes (TSGs) is one of the most important mechanisms involved in the development of hematologic malignancies. Harmine is one of the Harmal-derived alkaloids with anti-proliferatory effects on leukemia cell lines. Since P16 and DAPK genes are hypermethylated in some hematologic malignancies, the current study aimed to investigate the effect of Harmine on the expression of these two genes in HL60 Leukemia cell line to take steps towards clarifying the mechanism of it's anti-proliferatory effect.

Methods and Materials: HL60 cells were seeded into 96 well plates containing RPMI medium supplemented with 10% FBS, 1% penicillin or streptomycin, and then incubated at 37°C in a humid environment at 5% CO_2. Cell count and viability were determined after 24, 48, and 72 hours in the presence of Harmine and 5-azacytidine. Gene expression analysis was performed by quantitative real time PCR. Finally, statistical analysis was carried out using SPSS software.

Results: Based on the results, Harmine suppresses cell proliferation in all concentrations. Comparing the control group, Harmine at 25.6 µg/ml and 102.4 µg/ml concentrations reduces cell proliferation to 50 and 78 percent at 72 hours, respectively ($P<0.001$). The results demonstrate that Harmine at 102.4 µg/ml concentration significantly upregulates DAPK expression ($P<0.005$). However, its effect was not significant on p16 expression ($P>0.05$).

Discussin and Conclusion: The results indicate that Harmine have inhibitory effect on HL60 leukemia cell line in a dose and time-dependent manner. Furthermore, Harmine can induce DAPK upregulation that might be related to DAPK gene hypomethylation. Further comprehensive and elucidative investigations are needed for better understanding of the Harmine effect on leukemic cells.

Keywords: HL60, Harmine, P16, DAPK

*(Corresponding author) Moharam Ahmadnezhad, Department of Hematology, Blood Transmission Organization, Tehran, Iran.
E mail: moharram.ahmadnejad@yahoo.com

مجله علوم پیراپزشکی و بهداشت نظامی
سال یازدهم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۵

مقاله تحقیقاتی

بررسی بیان پروتئین‌های P16 و DAPK در رده‌ی سلولی لوسمیک HL60 در مجاورت با آلکالوئید گیاهی Harmine

علی نوروزی عقیده[۱]، حامد سلیمانی ثمرخزان[۲]، محرم احمدنژاد[۳]*

[۱] گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارتش، تهران، ایران
[۲] گروه هماتولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳] گروه هماتولوژی، سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران

چکیده

مقدمه: تغییرات اپی‌ژنتیک و از آن جمله متیلاسیون DNA در ناحیه پروموتور ژن‌های سرکوبگر تومور به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ایجاد بدخیمی‌های خونی مطرح است. امروزه استفاده از مواد طبیعی که دارای اثر هایپومتیلاسیون بر DNA می‌باشند مورد توجه فراوان قرار گرفته است. Harmine یکی از آلکالوئیدهای مشتق از گیاه اسپند است که دارای خاصیت هیپومتیله کنندگی و ضدتکثیری بر روی رده‌های سلولی لوسمیک می‌باشد. از آنجائی که ژن‌های P۱۶ و DAPK بعنوان ژن‌های سرکوبگر تومور در برخی بدخیمی‌های خونی بصورت هایپرمتیله می‌باشند، لذا در این مطالعه تأثیر آلکالوئید گیاهی Harmine بر تکثیر رده سلولی HL۶۰ و بیان این دو ژن در این رده سلولی بررسی شد تا گامی در جهت روشن شدن مکانیسم اثر این داروی گیاهی و استفاده از مواد طبیعی در درمان سرطان‌های خون برداشته شود.

مواد و روش‌ها: رده سلولی لوسمیک HL-۶۰ در فلاسک حاوی محیط کشت RPMI، سرم جنینی گوساله، پنی‌سیلین و استرپتومایسین در دمای ۳۷ درجه و دی اکسید کربن ۵ درصد به مدت ۵ روز کشت داده شد. تأثیر غلظت‌های مختلف Harmine بر تکثیر سلولی در مقایسه با 5-azacytidine به روش دستی و با استفاده از لام نئوبار و رنگ تریپان بلو در ساعات مختلف ۲۴ ساعت، ۴۸ ساعت و ۷۲ ساعت تعیین گردید. بیان ژن‌های P۱۶ و DAPK پس از ساخت cDNA و طراحی پرایمرهای اختصاصی در سایت NCBI، با روش Real-time PCR بررسی شد. آنالیز آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان داد که Harmine در تمامی غلظت‌ها موجب کاهش تکثیر سلولی می‌شود. بطوری که Harmine در غلظت‌های μg/ml ۲۵/۶ و ۱۰۲/۴ و پس از ۷۲ ساعت، تکثیر سلولی را در مقایسه با نمونه کنترل به ترتیب به میزان ۵۰ و ۷۸ درصد کاهش داد ($P<0/001$). همچنین Harmine موجب افزایش بیان DAPK می‌شود اما این افزایش به لحاظ آماری فقط در غلظت μg/ml ۱۰۲/۴ و فقط در مورد DAPK معنی دار است ($P<0/005$).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که Harmine دارای خاصیت ضدتکثیری وابسته به دوز و زمان بر روی رده سلولی لوسمیک HL۶۰ است. همچنین Harmine موجب افزایش بیان DAPK می‌شود که این مسئله با توجه به نتایج دیگر مطالعات می‌تواند ناشی از هایپومتیله شدن پروموتور این ژن باشد. مطالعات بیشتر جهت روشن‌تر شدن مکانیسم اثر Harmine بر سلول‌های سرطانی لازم است.

واژه‌های کلیدی: Harmine، HL۶۰، P۱۶، DAPK

مقدمه

نقش اپی‌ژنتیک در پاتوژنز و پیشرفت سرطان‌ها در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (۱-۲). نقش اپی‌ژنتیک در پاتوژنز لوسمی (سرطان خون) بصورت غیر فعال شدن ژن‌های

* (نویسنده مسئول) محرم احمدنژاد، سازمان انتقال خون، تهران، ایران.
آدرس الکترونیکی: moharram.ahmadnejad@yahoo.com

سرکوبگر تومور بروز پیدا می‌کند که عمدتاً ناشی از متیلاسیون این ژن‌ها است. هایپرمتیلاسیون نابجای DNA توسط آنزیم‌های متیل ترانسفراز (DNMTs) بخصوص DNMT۱ انجام می‌گیرد. بعد از کشف اولین هیپرمتیلاسیون در نواحی CpG island پروموتور Rb (ژن سرکوبگر تومور همراه با رتینوبلاستوما)، خاموشی انواع دیگر ژن‌های سرکوبگر تومور شامل p۱۶، MLH۱، BRCA۱ نیز با مکانیسم هیپرمتیلاسیون نشان داده (۳-۵). این ژن‌ها، ژن‌های درگیر در فرایندهای سلولی شامل تعمیر DNA، چرخه سلولی، اتصالات سلولی، آپوپتوز و رگ‌زائی هستند که در توسعه و پیشرفت تومور نقش دارند. علاوه بر غیر فعال‌سازی مستقیم ژن‌های سرکوبگر تومور، هیپرمتیلاسیون DNA می‌تواند بطور غیرمستقیم نیز از طریق سرکوب فاکتورهای نسخه برداری و ژن‌های تعمیر کننده DNA، موجب خاموشی یکسری از ژن‌ها شود (۶).

امروزه روش‌های درمانی خاص در بیماران لوسمیک مورد استفاده قرار می‌گیرد که از آن جمله می‌توان از تغییر ساختمان کروماتین به منظور در دسترس قرار گرفتن جایگاه‌های اثر فاکتورهای نسخه برداری نام برد. سایر روش‌های درمانی نیز به سمت شناسایی لیگاندها و رسپتورها و جایگاه‌های خاص سرکوب نسخه برداری برای غلبه بر آن‌ها، شناخت پروتئین‌های ادغامی و پیدا کردن نقاط اثری برای ایجاد تمایز و آپوپتوز انتخابی پیش می‌رود. علی‌رغم این پیشرفت‌ها در زمینه‌های مختلف درمان مولکولی لوسمی، شیمی درمانی هنوز جایگاه خود را حفظ کرده ولی با توجه به عوارض جانبی شیمی درمانی و خاصیت مهارکنندگی این داروها، در سال‌های اخیر توجهات به سمت اپی‌ژنتیک جلب شده که این توجه به خاطر ماهیت برگشت‌پذیر تغییرات اپی‌ژنتیک بوده و از اینرو از قابلیت درمانی بیشتری برخوردار هستند. ۵-azacytidine که از داروهای دسته مهارکننده‌های نوکلئوزیدی مورد تأیید FDA است، از فعالیت آنزیم DNMT۱ جلوگیری می‌کند و باعث تصحیح در پروسه هایپرمتیلاسیون و بیان دوباره ژن‌های سرکوبگر تومور در سلول‌های سرطانی در دوزهای پایین می‌شود (۸ و۷). این دارو به دلیل شباهت ساختاری با حلقه‌ی پیریمیدینی باز سیتیدین، با قرار گرفتن در ساختار DNA موجب تغییر در سنتز RNA و در نتیجه ممانعت از سنتز پروتئین می‌شود. فرم Deoxynocleotide این دارو وارد DNA شده و از سنتز DNA و همچنین متیلاسیون سیتوزین جلوگیری می‌کند و باعث دمتیلاسیون در پروموتور ژن‌های سرکوبگر تومور مثل p۱۶ و DAPK می‌شود (۹). با توجه به عوارض و محدودیت‌های استفاده از مهارکننده‌های سنتتیک DNMT، بررسی جهت کشف و توسعه مهارکننده‌های نسل جدید که مؤثر، کارآمد و غیر توکسیک باشند، ضروری به نظر می‌رسد (۵). عصاره گیاه اسپند (Peganum harmala) و مشتقات آن تاکنون در طب سنتی ایران در درمان تومورهای جلدی به کارگرفته شده است، همچنین در خصوص اثر ضد رگ‌زایی گیاه اسپند و مشتقات آن جهت درمان تومورهای سرطانی مطالعاتی صورت گرفته است. از این گیاه جهت درمان بیماری‌های متنوعی مثل سرطان‌ها و مالاریا از دو قرن پیش استفاده می‌شده است. ترکیبات استخراج شده از این گیاه موجب القای اثر مهاری بر رشد تومورهای ریوی در موش شده‌اند و فعال‌ترین ترکیبات این گیاه از لحاظ خاصیت ضد توموری شامل Harmine، Harmaline، Harmalol و Harmalone می‌باشند که تحت عنوان β-Carbolines نام برده می‌شوند (۱۰). در مطالعات invitro مشخص شده که تمامی این مشتقات بخصوص Harmine دارای اثر توکسیک چشمگیر بر روی رشد سلول‌های توموری با القای اثر آپوپتوز هستند (۱۲و ۱۱). مطالعات اخیر نشان داده است که Harmine تنظیم کننده PPARY (peroxisome proliferator-activated receptor y) است که این کار را با مهار میسر سیگنالینگ wnt انجام می‌دهد (۱۴و۱۳). در مطالعات صورت گرفته مشخص شده آلکالوییدهای گیاهی Harmine و Harmaline مشتق از گیاه اسپند موجب کاهش توقف رشد سلولی در رده سلولی لوسمیک HL۶۰ می‌شوند و با توجه به غلظت به کار رفته، دارای اثرات ضد تکثیر و سایتوتوکسیک می‌باشند (۱۵). ژن DAPK۱ بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۹ قرار گرفته و محصول آن یک پروتئین پیش آپوپتوتیک سرین/ترئونین کیناز وابسته به Ca^{2+} است که در مسیرهای آپوپتوزی آغازشده توسط IFN-γ، TNFα و Fas نقش دارد. این پروتئین کیناز ۱۶۰ کیلو دالتونی به روی میکروفیلامانهای اکتینی سلول قرار گرفته است و دارای نواحی تکرارشونده آنکرین و ناحیه مرگ سلولی در ساختمان خود می‌باشد (۱۶). حذف ژن‌های سرکوبگر تومور p۱۶INK۴a با بروز لوسمی در ارتباط می‌باشد به طوری که در ۲۵-۶۰ ٪ موارد لوسمی حاد و ۲۰-۵۰٪ موارد لنفوما دیده می‌شود. البته حذف ژن سرکوبگر تومور p۱۶INK۴a در لوسمی‌های حاد شایع نیست بلکه

در بیشتر موارد بیان mRNA در اثر هایپرمتیلاسیون یا جهش در ناحیه پروموتور ژن p۱۶INK۴a کاهش می‌یابد. این شواهد نشان‌دهنده نقش p۱۶INK۴a در تنظیم خونسازی طبیعی می‌باشد. در این مطالعه بیان دو پروتئین سرکوبگر تومور DAPK و P۱۶ تحت تأثیر Harmine در رده سلولی HL۶۰ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف) کشت سلولی: رده سلولی HL-۶۰ (رده سلولی پرومیلوسیتیک) از مرکز تحقیقات بیمارستان شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. تقریباً ۱×۱۰۵ سلول در هر چاهک پلیت کشت سلولی حاوی محیط کشت RPMI (sigma, USA) با ۱۰٪ سرم جنینی گوساله، ۱۰۰ IU پنی‌سیلین و ۱۰۰ µg/ml استرپتومایسین (sigma, USA) در دمای ۳۷°C و دی اکسید کربن ۵٪ به مدت ۵ روز کشت داده شد.

ب) ارزیابی میزان تکثیر در محیط کشت: سلول‌های رده HL-۶۰ در چاهک‌های جداگانه تحت مجاورت غلظت‌های مختلف Harmine (۱۰۲/۴, ۵۱/۲, ۲۵/۶, ۱۲/۸, ۶/۴ µg /ml) و همچنین داروی ۵-azacytidine (۲µM) به عنوان کنترل مثبت قرار گرفتند. سلول‌ها با روش دستی و لام نئوبار و با استفاده از تریپان بلو ٪ ۰/۴ (Sigma, USA) در ساعات مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد ارزیابی و شمارش قرار گرفتند.

ج) استخراج RNA: استخراج RNA از سلول‌ها بعد از ۷۲ ساعت انجام گرفت و نمونه‌ها به فریزر ۷۰°C- منتقل گردید. استخراج RNA با استفاده از روش ترایزول (Roche, Germany) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد.

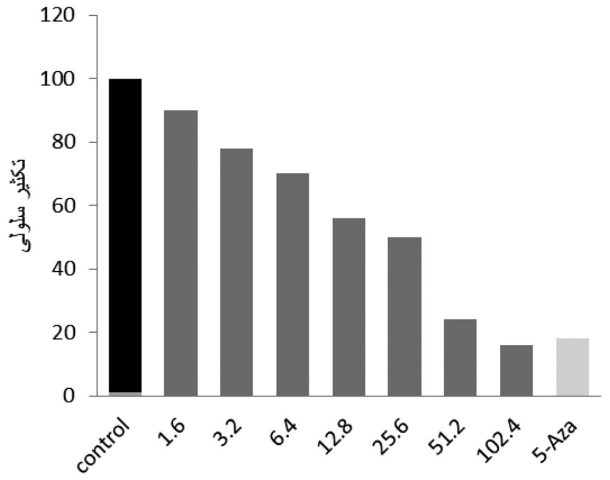
د) بررسی بیان ژن و Real time PCR: ساخت cDNA با استفاده از کیت Termo (Denmark) انجام شد. طراحی پرایمرهای مناسب و اختصاصی با استفاده از نرم افزار PrimerExpress انجام گرفت (جدول شماره ۱). واکنش Real time PCR به تعداد ۱۲ سیکل و در دمای ۲۲ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، ۴۵ درجه به مدت ۴ دقیقه، ۵۵ درجه به مدت ۳۰ ثانیه و ۱ سیکل در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. محصول واکنش بر روی آگاروز ۱/۵٪ مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت ارزیابی بیان ژن‌ها در مقایسه با GAPDH (کنترل داخلی) از فرمول $۲^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شد.

ه) آنالیز داده‌ها: آنالیز آماری داده‌های بدست آمده با نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و P<۰/۰۰۵ بعنوان سطح معنی دار تلقی گردید.

یافته‌ها

تأثیر Harmine بر رشد و تکثیر رده سلولی HL۶۰: نتایج بدست آمده نشان داد که Harmine در تمامی غلظت‌ها موجب کاهش نسبی تکثیر سلولی می‌شود. بطوری که تأثیر غلظت ۱۰۲/۴ g/ml پس از ۷۲ ساعت حتی بیشتر از داروی ۵-Azacytidine بود (P<۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۱).

تأثیر Harmine بر بیان ژن‌های p۱۶ و DAPK: نتایج Real time PCR نشان داد که Harmine در تمامی غلظت‌ها موجب افزایش بیان p۱۶

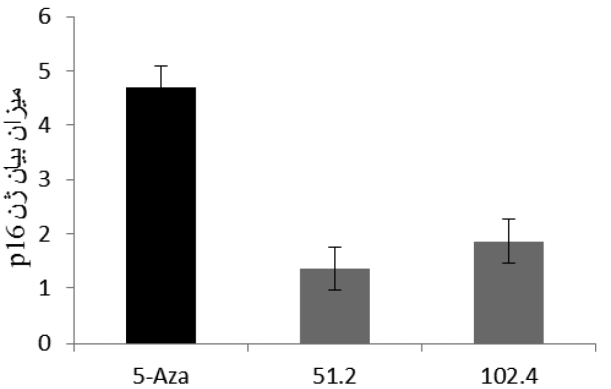


نمودار ۱- مقایسه میزان تکثیر سلولی در حضور غلظت‌های مختلف Harmine در مقایسه با داروی (۵-Azacytidine (۲µM (کنترل مثبت) و محیط کنترل

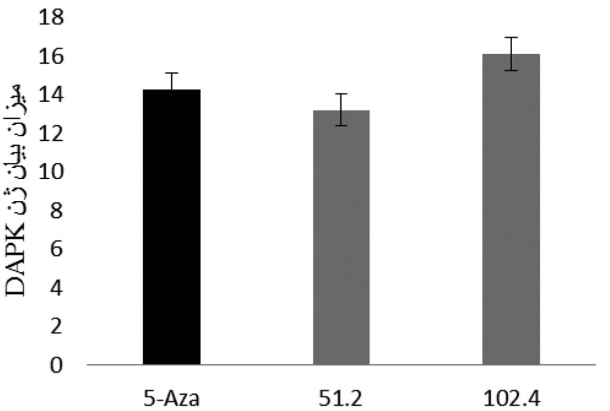
جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده در روش Real time PCR.

Primer set	Forward primer	Reverse primer
P۱۶	۵′-AAGGTCCCTCAGACATCCC-۳′	۵′-TGGACATTTACGGTAGTGGG-۳′
DAPK	۵′-GGAGGATAGTTGGATTGAGTTAATGTT-۳′	۵′-CAAATCCCTCCCAAACACCAA-۳′
GAPDH	۵′-CGGAGTCAACGGATTTGGTCGTT-۳	۵′-AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAC-۳′

و DAPK می‌شود اما این افزایش بیان به لحاظ آماری فقط در غلظت ۱۰۲/۴ g/mlμ و فقط در مورد DAPK معنی دار است (P<۰/۰۰۵) (نمودارهای شماره۲ و۳).



نمودار۲- مقایسه میزان بیان ژن p۱۶ در حضور غلظت‌های۵۱/۲, ۱۰۲/۴ Harmine در مقایسه با داروی (۲μM) 5-Azacytidine (کنترل مثبت).



نمودار۳- مقایسه میزان بیان ژن DAPK در حضور غلظت‌های ۵۱/۲, ۱۰۲/۴ Harmine در مقایسه با داروی (۲μM) 5-Azacytidine (کنترل مثبت).

بحث و نتیجه‌گیری

خاموشی ژن‌های سرکوبگر تومور در اثر متیلاسیون ناحیه پروموتور به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ایجاد بدخیمی‌های خونی مطرح است (۵-۳). این فرایندهای برگشت‌پذیر، بیان ژن را بدون تغییر در توالی DNA تحت تأثیر قرار می‌دهند. Harmine یکی از آلکالوئیدهای مشتق از گیاه اسفند است که دارای خاصیت ضد تکثیری بر روی رده‌های سلولی لوسمیک می‌باشد ولی مکانیسم عمل و چگونگی عملکرد این دارو در القای این اثر ضد تکثیری هنوز بطور کامل مشخص نشده است. در این مطالعه تأثیر Harmine بر بیان ژن‌های سرکوبگر تومور p۱۶و DAPKدر رده سلولی لوسمیک HL۶۰ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه بیانگر خاصیت ضدتکثیری Harmine به صورت وابسته به دوز و زمان بر روی سلول لوسمیک بود بطوری که تأثیر غلظت ۱۰۲/۴ g/ml پس از ۷۲ ساعت حتی بیشتر از داروی شناخته شده 5-Azacytidine بود.

Zaker و همکارانش در سال ۲۰۰۶، تأثیر دوزهای مختلف Harmine (۳/۲, ۶/۴, ۱۲/۸ μg/ml) را طی ۴۸ ساعت برروی این رده سلولی بررسی کرده و غلظت ۳/۲ μg/ml را بعنوان حداقل دوز دارای اثر ضدتکثیری گزارش کردند درحالی‌که مطالعه‌ی ما دامنه‌ی وسیع‌تری از غلظت‌های Harmine (۱/۶, ۳/۲, ۶/۴, ۱۲/۸, ۲۵, ۵۱/۲, ۱۰۲/۴μg/ml) را در مدت زمان بیشتر مورد ارزیابی قرار گرفت تا کمترین غلظتی که دارای خاصیت ضد تکثیر می‌باشد مشخص گردد. همان‌گونه که در مطالعه‌ی ما پس از گذشت ۷۲ ساعت و از غلظت ۱/۶ μg/ml به بعد، کاهش تکثیر در رده سلولی HL۶۰ به شکل وابسته به دوز و زمان مشاهده شده است (۱۷).

Yu و همکارانش در سال ۲۰۱۳، تأثیر عصاره گیاهی Curcumin و داروی ضد سرطان Decitabine بر بیان ژن DAPK و p۱۵ در رده‌ی سلولی HL۶۰ را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که Curcumin در غلظت ۱۰ μM (۳۶ μg/ml) موجب افزایش ۵ برابری بیان ژن‌های DAPK، p۱۶ و p۱۵ در رده سلولی HL۶۰ می‌شود و در حضور غلظت ۲/۵ μM Decitabine این افزایش بیان ۱۵ برابر است. آنان همچنین افزایش بیان ژن DAPK را در حضور غلظت ۱۰۲/۴ μg/ml Harmine گزارش کردند. نتایج مطالعه ما نیز در راستای نتایج آنان نشان داد که Harmine در غلظت ۱۰۲/۴ g/mlμ موجب افزایش بیان ژن DAPK می‌شود (۱۸).

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به تعداد کم مطالعات مشابه قبلی در زمینه تأثیر Harmine بر رده سلول لوسمیک HL۶۰ جهت مقایسه نتایج اشاره کرد. از این رو تحقیقات بیشتر در آینده دوزهای مناسب و مکانیسم عمل این آلکالوئید گیاهی را بر روی سلول‌های سرطانی روشن‌تر خواهد ساخت.

Harmine در تمامی غلظت‌ها موجب کاهش نسبی تکثیر سلولی می‌شود. بطوری که تأثیر غلظت ۱۰۲/۴ g/ml پس از ۷۲ ساعت حتی بیشتر از داروی 5-Azacytidine است. Harmine در تمامی غلظت‌ها موجب افزایش بیان نسبی p۱۶ و DAPK می‌شود اما این افزایش بیان به لحاظ آماری فقط در غلظت ۱۰۲/۴ g/mlμ و فقط در مورد

DAPK معنی دار است که این اثر با توجه به گزارشات قبلی می‌تواند ناشی از هیپومتیله شدن پروموتور این ژن‌ها باشد. مطالعات بیشتر در آینده دوزهای مناسب و مکانیسم عمل این داروی گیاهی را بر روی سلول‌های سرطانی روشن‌تر خواهد کرد.

References

1- Guillerm G, Gyan E, Wolowiec D, Facon T, Avet-Loiseau H, Kuliczkowski K, et al. p16 INK4a andp15 INK4b gene methylations in plasma cells from monoclonal gammopathy of undetermined significance. Blood. 2001;98(1):244-6.
2- Wolffe AP, Matzke MA. Epigenetics: regulation through repression. science. 1999;286(5439):481-6.
3- Baylin SB. DNA methylation and gene silencing in cancer. Nature clinical practice Oncology. 2005;2:S4-S11.
4- Long C, Yin B, Lu Q, Zhou X, Hu J, Yang Y, et al. Promoter hypermethylation of the RUNX3 gene in esophageal squamous cell carcinoma. Cancer investigation. 2007;25(8):685-90.
5- Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. Nature reviews genetics. 2002;3(6):415-28.
6- Di Croce L, Raker VA, Corsaro M, Fazi F, Fanelli M, Faretta M, et al. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. science. 2002;295(5557):1079-82.
7- Saeed S, Logie C, Francoijs K-J, Frigè G, Romanenghi M, Nielsen FG, et al. Chromatin accessibility, p300, and histone acetylation define PML-RARα and AML1-ETO binding sites in acute myeloid leukemia. Blood. 2012;120(15):3058-68.
8- Irizarry RA, Ladd-Acosta C, Wen B, Wu Z, Montano C, Onyango P, et al. The human colon cancer methylome shows similar hypo-and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. Nature genetics. 2009;41(2):178-86.
9- Network CGAR. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. The New England journal of medicine. 2013;368(22):2059.
10- Choi K-C, Lee Y-H, Jung MG, Kwon SH, Kim M-J, Jun WJ, et al. Gallic acid suppresses lipopolysaccharide-induced nuclear factor-κB signaling by preventing RelA acetylation in A549 lung cancer cells. Molecular Cancer Research. 2009;7(12):2011-21.
11- Li Y, Liu L, Andrews LG, Tollefsbol TO. Genistein depletes telomerase activity through cross-talk between genetic and epigenetic mechanisms. International journal of cancer. 2009;125(2):286-96.
12- Artaud-Wild SM, Connor S, Sexton G, Connor W. Differences in coronary mortality can be explained by differences in cholesterol and saturated fat intakes in 40 countries but not in France and Finland. A paradox. Circulation. 1993;88(6):2771-9.
13- Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Zemzami M, Lyoussi B, Zaid A, et al. Antitumour principles from Peganum harmala seeds. Therapie. 1998;54(6):753-8.
14- Uezono T, Maruyama W, Matsubara K, Naoi M, Shimizu K, Saito O, et al. Norharman, an indoleamine-derived β-carboline, but not Trp-P-2, a γ-carboline, induces apoptotic cell death in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Journal of neural transmission. 2001;108(8-9):943-53.
15- Fini L, Selgrad M, Fogliano V, Graziani G, Romano M, Hotchkiss E, et al. Annurca apple polyphenols have potent demethylating activity and can reactivate silenced tumor suppressor genes in colorectal cancer cells. The Journal of nutrition. 2007;137(12):2622-8.
16- Melchior C, Collins MA, Cohen G. The route and significance of endogenous synthesis of alkaloids in animals. CRC critical reviews in toxicology. 1982;9(4):313-56.
17- Zaker F, Oody A, Arjmand A. A study on the antitumoral and differentiation effects of Peganum harmala derivatives in combination with ATRA on leukaemic cells. Archives of pharmacal research. 2007;30(7):844-9.
18- Yu J, Peng Y, Wu L-C, Xie Z, Deng Y, Hughes T, et al. Curcumin down-regulates DNA methyltransferase 1 and plays an anti-leukemic role in acute myeloid leukemia. PloS one. 2013;8(2):e55934.