

EFEK ANTIPROLIFERATIF PENTAGAMAVUNON-0 TERHADAP SEL MYELOMA

Antiproliferative Effect of Pentagamavunon-0 on Myeloma Cells

Muhammad Da'i¹, Edy Meiyanto², Supardjan AM²

*Program Studi Farmasi
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada*

ABSTRACT

Pentagamavunon-0 or PGV-0 [2,5-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxybenzylidene)-cyclopentanone] is an analogue of curcumin (1,7-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1,6-heptadiena-3,5-dion). The aim of this research is to observe the cytotoxicity and antiproliferative effect of curcumin and PGV-0 against cancer cell lines, namely myeloma cells.

Antiproliferative properties of both compounds were tested by doubling time analysis against myeloma cells.

The result showed that both compounds possessed antiproliferative properties as indicated by the prolongation of the doubling time and probably induce apoptosis to the cells. However, the prolongation effect of PGV-0 to the growth rate of the cells were higher than curcumin did. These results indicate that the cytotoxic and antiproliferative properties of PGV-0 are better than curcumin. The results also showed that PGV-0 possessed cytotoxic effect against myeloma cells with IC_{50} values of 8.72 μ M. Curcumin showed IC_{50} values of 19.55 μ M.

Keywords: *pentagamavunon-0 – myeloma cells*

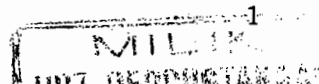
PENGANTAR

Penyakit kanker terdiri dari paling sedikit 100 jenis. Di Amerika pasien yang meninggal disebabkan oleh kanker diperkirakan 22%, sedangkan di Indonesia sekitar 4,3% dan menduduki peringkat ke 6 penyebab kematian^{1,2}. Di negara-negara maju umumnya penyakit ini menduduki peringkat yang tinggi sebagai penyebab kematian setelah penyakit kardiovaskuler³.

Tingginya insidensi penyakit kanker, dan kecenderungan meningkatnya penyakit tersebut memacu upaya untuk penemuan obat kanker yang efektif dan selektif. Pada umumnya obat kanker bekerja tidak selektif karena memiliki mekanisme kerja merusak DNA baik pada sel normal maupun sel kanker.

1) Fakultas Farmasi universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta

2) Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta



Salah satu pembeda antara sel kanker dan sel normal adalah sifat proliferaatifnya. Sel kanker umumnya memiliki kecepatan proliferasi lebih tinggi dibanding sel normal. Di samping itu, sel kanker umumnya telah kehilangan kontrol proliferasi karena mengalami perubahan gen yang mengatur *cell cycle*.⁴ Sel myeloma termasuk sel yang mengalami perubahan tersebut. Strategi untuk mengembangkan obat kanker adalah menemukan agen yang dapat menghambat terjadinya proliferasi sel kanker.

Aktivitas antiproliferaatif kurkumin terhadap sel Myeloma telah dibuktikan. Sel myeloma memiliki reseptor estrogen, sedangkan kurkumin merupakan senyawa yang bersifat antiestrogen melalui penghambatan aktivasi estrogen reseptor, yang berakibat pada penghambatan faktor transkripsi.^{5,6} Hal ini berakibat pada penghambatan RNA polimerase, sehingga pertumbuhan sel menjadi terhambat.⁷ Penghambatan proliferasi sel kanker oleh senyawa antiestrogen melalui mekanisme apoptosis kemungkinan pula melalui jalur Fas yang mengaktifasi Caspase 8 dan memacu apoptosis atau melalui G1 *arrest* dengan jalan penekanan cyclin D₁ yang merupakan regulator *cell cycle*.^{4,8}

Mekanisme antiproliferasi kurkumin dikaitkan dengan kemampuan kurkumin menghambat *nuclear factor-κB* (NF-κB) dan IκBα kinase pada sel myeloma.⁹ NF-κB ditemukan aktif di dalam sel myeloma, penekanan NF-κB dapat memacu terjadinya apoptosis ataupun sebaliknya.¹⁰ Efek kurkumin pada penekanan NF-κB dapat memacu terjadinya proses apoptosis dan menekan terjadinya proliferasi. Kurkumin dapat menekan ekspresi NF-κB, yang merupakan faktor transkripsi gen-gen seperti Bcl-2 dan Bcl-Xl yang bersifat antiapoptosis dan cyclin D1 yang bersifat antiproliferaatif. Kurkumin dapat memacu aktivasi caspase 7 dan caspase 9 yang dapat memacu proses apoptosis pada sel myeloma.⁹

Didasarkan pada pembagian gugus farmakofor kurkumin oleh Robinson, Pentagamavunon-0 (PGV-0) merupakan analog kurkumin.¹¹ PGV-0 memiliki spektrum aktivitas yang mirip dengan kurkumin. PGV-0 telah diteliti aktivitasnya sebagai penghambat siklooksigenase (COX) dengan pengukuran yang tidak spesifik dan sitotoksitasnya terhadap sel myeloma.^{12,13} Aktivitas antioksidasi PGV-0 telah dibuktikan pula oleh Rianto dan Da'i.^{14,15} Dari penelitian-penelitian tersebut dilaporkan bahwa PGV-0 memiliki aktivitas yang mirip dan bahkan lebih baik dibanding kurkumin sebagai senyawa penuntun pada beberapa uji. Mendasarkan pada informasi-informasi di atas maka aktivitas PGV-0

sebagai antikanker perlu dibuktikan pada berbagai sel kanker secara *in vitro* sebagai upaya untuk menemukan obat baru untuk kanker baik yang bersifat kemopreventif maupun kemoterapi.

CARA PENELITIAN

Bahan penelitian terdiri atas kurkumin (Sintesis Supardjan, A.M), Pentagamavunon-0 (hasil sintesis), sel myeloma, medium RPMI 1640 (GIBCO BRL), medium penumbuh mengandung *growth factor* 10% dan 20% FBS (*Fetal Bovine Serum*)(Sigma Chem. CO. St. Louis. USA), etidium bromida, RNA-se, DMSO, natrium karbonat (E.Merck), kertas saring 0,2 mm, aquades, fungison dan antibiotik penisilin dan streptomisin (Sigma Chem. CO. St. Louis. USA), hepes dan tripsin (Sigma Chem. CO. St. Louis. USA).

Alat yang digunakan adalah tangki nitrogen cair, mikroskop fluoresensi, mikroskop fase kontras (Olympus, Jepang) penangas air, sentrifuge Sigma 3K12 (B.Braun Biotech Internasional), inkubator CO₂ Jaceted Incubator (NuairTM IR autoflow), ELISA reader, hemocytometer (New Bauer), tabung conical steril (nunclone), scraper, tissue culture flask (nunclone), ampul, plate, laminar airflow (Nuair), pH meter (Toa Electrics Ltd), mikroplate 96 sumuran (nunclone), mikropipet (Soccorex), vorteks (Genie), timbangan elektronik (sartorius).

Uji sitotoksistas. Sampel 100 µl dalam media kultur RPMI 1640 dimasukkan ke dalam plate 96 sumuran berbeda. Kemudian ditambahkan 100 µl suspensi sel pada tiap sumuran yang berbeda (kepadatan 3×10^4 sel/ sumuran) sehingga diperoleh kadar akhir dari sampel dengan variasi kadar tertentu dalam plate 96 sumuran berbeda. Selanjutnya plate diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu setiap sumuran diresuspensi dan diambil ditambahkan dengan media sampai 500 ml dan dihitung jumlah selnya dengan pengamatan terhadap sel yang hidup secara visual.

Uji doubling time. Sel distarvasi (dipuaskan) selama 24 jam dalam media kultur yang mengandung FBS 0,5%. Selanjutnya sel ditumbuhkan di dalam plate (*multiple dishes*) dengan medium ditambah sampel dengan konsentrasi tidak mematikan, sampling dilakukan pada jam 24, 48 dan 72 dan masing-masing sumuran dihitung dengan hemocytometer dan dibuat kurva jumlah sel versus waktu inkubasi. Perbedaan waktu penggandaan sel (*doubling time*) dihitung dari slope pada kurva dari persamaan grafik log jumlah sel vs waktu pengamatan.

Pengamatan apoptosis. Dilakukan dengan pengecatan menggunakan etidium bromida, sel difiksasi dengan metanol selama dengan volume 1:1, dibiarkan sampai kering. Ditambahkan PBS yang mengandung RNA-ase dengan kadar mg/ml diinkubasi suhu kamar dan ditambahkan dengan etidium bromida 10 μ l.

HASIL DAN PEMBAHASAN

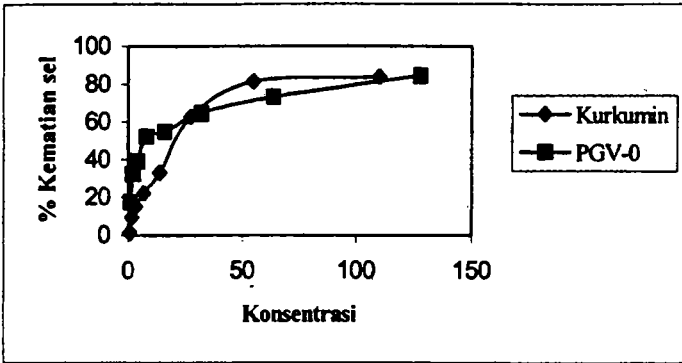
Potensi ketoksikan senyawa kurkumin terhadap sel myeloma ditunjukkan dengan data Tabel 1. Pada konsentrasi kurkumin tertinggi yaitu 110,02 μ M diperoleh nilai rata-rata prosentase kematian sebesar 83,87%, dengan nilai LC_{50} kurkumin terhadap sel myeloma adalah 19,55 μ M. Pada pemberian PGV-0 konsentrasi tertinggi yaitu 127,84 μ M diperoleh nilai rata-rata prosentase kematian sebesar 84,30%, dengan nilai LC_{50} PGV-0 terhadap sel myeloma adalah 8,72 μ M.

Terdapat hubungan langsung antara perubahan konsentrasi PGV-0 dan kurkumin dengan tingkat kematian sel (Gambar 1 A). Penentuan nilai LC_{50} menggunakan analisis probit didasarkan pada grafik fungsi linier log konsentrasi *vs* nilai probit dari persentase kematian sel myeloma akibat pemberian PGV-0 dan kurkumin (Gambar 1 B). Didasarkan pada perhitungan statistik dengan ANOVA maka terlihat bahwa prosentase kematian pada masing-masing konsentrasi kurkumin dan PGV-0 menunjukkan jumlah kematian yang berbeda ($p=0,05$).

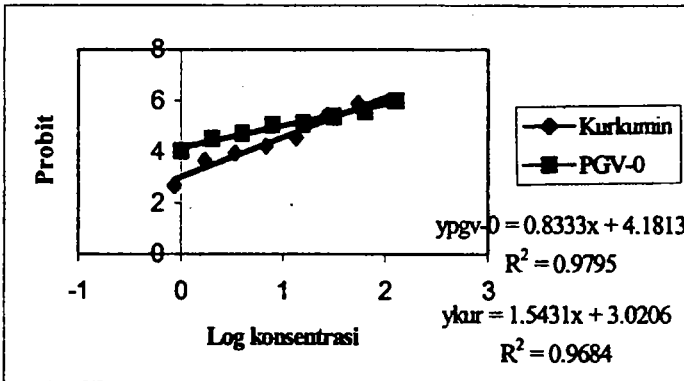
Tabel 1. Persentase kematian dan nilai probit sel myeloma pada perlakuan berbagai konsentrasi kurkumin dan PGV-0

Perlakuan dengan Kurkumin				Perlakuan dengan PGV-0			
C	Log C	% KS	Probit	C	Log C	% KS	Probit
110,02	2,04	83,87	5,99	127,84	2,11	84,30	5,99
55,01	1,74	81,4	5,88	63,92	1,81	72,96	5,61
27,50	1,43	62,72	5,41	31,96	1,50	64,70	5,39
13,75	1,14	32,85	4,56	15,98	1,20	54,65	5,13
6,88	0,84	22,17	4,23	7,99	0,90	52,03	5,05
3,44	0,54	14,97	3,96	4,00	0,60	39,18	4,72
1,72	0,24	9,30	3,66	2,00	0,30	32,19	4,53
0,86	-0,066	1,45	2,67	1,00	0	17,44	4,05

Keterangan: C (Konsentrasi), KS (Kematian sel), LC_{50} PGV-0: 8,72 μ M dan Kurkumin: 19,55 μ M



A

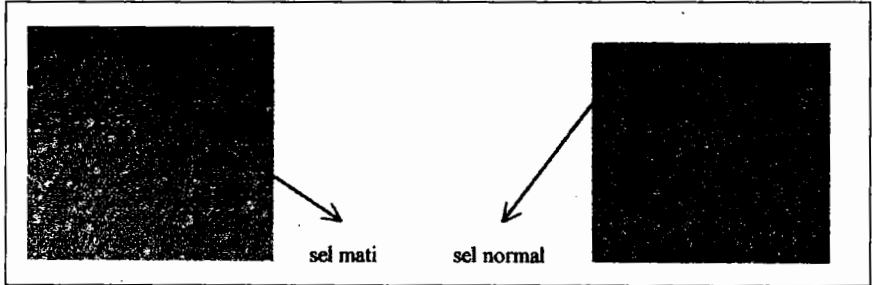


B

Gambar 1. (A) Hubungan konsentrasi dengan % kematian sel myeloma pengaruh perlakuan kurkumin dan PGV-0 (B) Hubungan Log konsentrasi dengan nilai probit akibat pemberian kurkumin dan PGV-0

Pada sel myeloma menunjukkan fenomena yang sama. Kurkumin (110,20 mM) maupun PGV-0 (127,84 mM) menyebabkan kematian sel myeloma, ditunjukkan dengan warna hitam pada foto. Hal ini menunjukkan sel telah kehilangan cairan sitoplasma dan integritas membrannya. Pada pelarut DMSO 1,25 %, sel tidak menunjukkan tanda-tanda kematian (Gambar 2).

Pada sel myeloma telah dibuktikan oleh Nurrochmad bahwa pelarut DMSO tidak bersifat sitotoksik sampai penambahan volume 4,8 ml, Takase dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa DMSO pada konsentrasi 1,5% tidak berefek secara signifikan terhadap regulasi *cell cycle* pada sel myeloma^{12,16}.

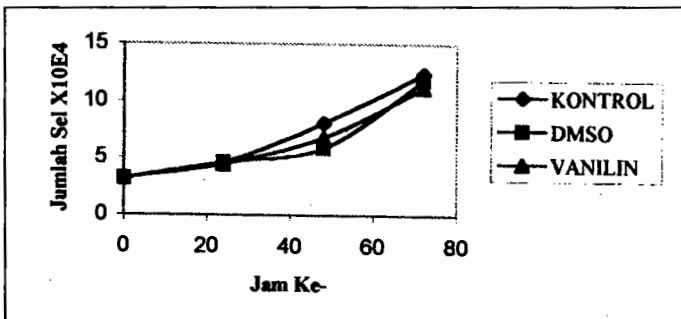


Gambar 2. (a). Kurkumin (110,20 mM) dan PGV-0 (127,84 mM) menyebabkan kematian sel myeloma (b) DMSO hingga konsentrasi 1,25% tidak mempengaruhi proliferasi sel myeloma

Data analisis *doubling time* untuk sel myeloma tanpa perlakuan dan blangko DMSO-vanilin dapat dilihat pada data Tabel 2 dan Gambar 3. Perlakuan kurkumin dapat dilihat pada data tabel 2 dan gambar 4 dan perlakuan PGV-0 dapat dilihat pada data Tabel 2 dan Gambar 5.

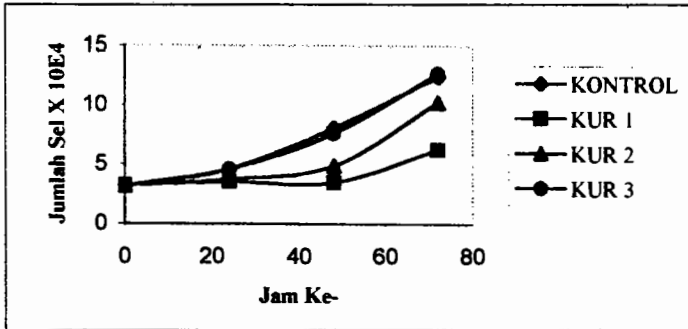
Tabel 2. Jumlah sel myeloma pada pengamatan jam ke 24, 48 dan 72 dengan perlakuan blangko DMSO dan vanilin, kurkumin dan PGV-0

Jam	Kontrol	DMSO	Vanilin	PGV-0 (μM)			Kurkumin (μM)		
		0,10%	0,15%	7,1	3,55	1,775	9,27	4,635	2,3175
RATA-RATA JUMLAH SEL X 10^4									
0	3,17	3,17	3,17	3,17	3,17	3,17	3,17	3,17	3,17
24	4,62	4,62	4,42	2,40	2,62	3,08	3,54	3,71	4,62
48	8,08	5,83	6,79	1,25	2,40	3,58	3,50	4,88	7,62
72	12,42	11,83	11,17	0,42	1,75	6,25	6,25	10,25	12,67



Gambar 3. Kurva profil pertumbuhan sel myeloma (3×10^4) tanpa perlakuan (kontrol), dengan media mengandung DMSO dan Vanilin pada pengamatan jam ke 24, 48 dan 72

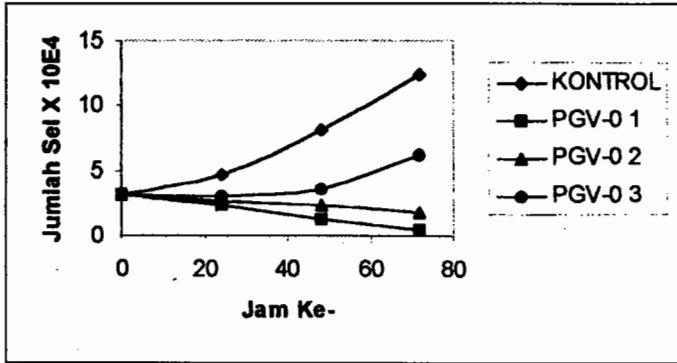
Sel tanpa perlakuan dan dengan perlakuan blangko, secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,05$) pada pengamatan jam ke-0, 24, 48 dan 72, kecuali pada blangko DMSO jam ke-48 (Tabel 2, Gambar 3). Keduanya memperlihatkan *slope* yang hampir sama pada kurva jumlah sel *vs* waktu. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO tidak mempengaruhi tingkat proliferasi sel myeloma.



Gambar 4. Kurva profil pertumbuhan sel myeloma (3×10^4) tanpa perlakuan (kontrol), dengan perlakuan kurkumin 9,27 (KUR 1), 4,64 (KUR 2) dan 2,32 (KUR 3) pengamatan jam ke 24, 48 dan 72

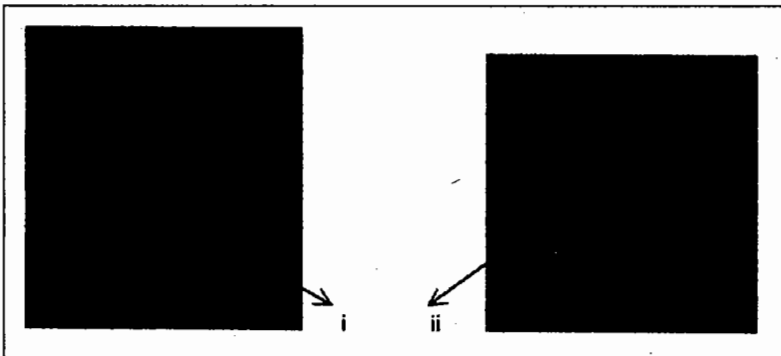
Pada pemberian kurkumin konsentrasi 9,27 dan 4,64 μM diperoleh nilai *slope* lebih kecil pada grafik hubungan waktu *vs* jumlah sel (Gambar 4), sedangkan pada konsentrasi kurkumin 2,32 μM nilai *slope* hampir sama dengan sel kontrol. Pada uji t ($p=0,05$) untuk konsentrasi kurkumin 9,27 dan 4,63 μM sampai dengan jam ke 24 tidak menunjukkan jumlah perbedaan sel yang bermakna, hal ini mungkin sel mengalami fase adaptasi dengan media setelah dipuaskan dan pemberian perlakuan kurkumin. Pada ke-48 mulai terdapat perbedaan jumlah sel yang signifikan dengan sel kontrol (uji t, $p=0,05$). Perlakuan kurkumin konsentrasi 2,32 μM pada semua waktu pengamatan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada jumlah sel setelah diberi perlakuan dengan kurkumin dengan sel kontrol ($p=0,05$). Hal ini menunjukkan pada kadar tersebut kurkumin sudah tidak mempengaruhi proliferasi sel myeloma.

Penelitian ini menunjukkan kurkumin (kecuali pada kadar 2,32 μM) mampu menunda proliferasi sel myeloma (Tabel 2, Gambar 4). Hal tersebut mengindikasikan bahwa kurkumin mampu mempengaruhi sinyal transduksi dan *cell cycle progression* sel Myeloma pada level molekuler. Pada perlakuan blangko vanilin dan DMSO, relatif tidak menunjukkan perbedaan pada nilai *slope*.



Gambar 5. Kurva profil pertumbuhan sel myeloma (3×10^4) tanpa perlakuan (kontrol), dengan perlakuan PGV-0 kadar $7,1 \mu\text{M}$ (PGV-0 1), $3,55 \mu\text{M}$ (PGV-0 2) dan $1,78 \mu\text{M}$ (PGV-0 3) pengamatan jam ke 24, 48 dan 72

Perlakuan PGV-0 dengan konsentrasi $7,10$ dan $3,55 \mu\text{M}$ (Gambar 5) menghasilkan nilai *slope* negatif pada kurva jumlah sel *vs* waktu maupun log jumlah sel *vs* waktu. Hal ini menunjukkan kemampuan PGV-0 untuk menghambat proliferasi sel myeloma. Penghambatan proliferasi PGV-0 mungkin melalui penghambatan sinyal transduksi, *cell cycle progression* atau bahkan mampu memacu apoptosis secara signifikan (Gambar 6). Pada konsentrasi $1,78 \mu\text{M}$ senyawa PGV-0 mampu menunda waktu proliferasi sel myeloma lebih lama dibandingkan dengan waktu penggandaan sel pengaruh pemberian kurkumin pada konsentrasi lebih tinggi (Gambar 5). Hal ini membuktikan bahwa kemampuan penghambatan PGV-0 lebih baik dibanding kurkumin.



Gambar 6. Fotomikroskopis sel myeloma pada pengecatan Etidium Bromide (1) Pengaruh pemberian PGV-0 $7,99 \text{ mM}$ (2) Sel Kontrol, (i) sel yang kemungkinan mengalami apoptosis (ii) sel yang normal

Didasarkan pada persamaan kurva log jumlah sel vs waktu pengamatan, maka diperoleh waktu penggandaan sel myeloma pengaruh perlakuan kurkumin dan PGV-0 pada berbagai konsentrasi dibanding kontrol sesuai dengan data Tabel 3.

Tabel 3. Persamaan kurva log jumlah sel vs waktu pada sel Myeloma pada berbagai perlakuan

Perlakuan	Persamaan garis Log Jumlah sel Vs Waktu	Nilai Slope	Nilai Doubling time (jam)
Kontrol	$Y = 0,0084X + 4,4885$	0,0084	37,32
DMSO	$Y = 0,0076X + 4,4786$	0,0076	42,55
Vanilin	$Y = 0,0076X + 4,4825$	0,0076	42,04
Kurkumin			
9,27 μM	$Y = 0,0037X + 4,4656$	0,0037	90,92
4,64 μM	$Y = 0,0069X + 4,4452$	0,0069	51,71
2,32 μM	$Y = 0,0084X + 4,4842$	0,0084	37,80
PGV-0			
7,10 μM	$Y = -0,0122X + 4,5879$	-0,0122	-
3,55 μM	$Y = -0,0034X + 4,5075$	-0,0034	-
1,78 μM	$Y = 0,004X + 4,4424$	0,004	89,90
Kontrol	$Y = 0,0084X + 4,4885$	0,0084	37,32

Sifat antiproliferatif PGV-0 kemungkinan mirip dengan mekanisme antiproliferatif kurkumin terhadap sel myeloma, yaitu sebagai anti-estrogen yang menghambat faktor transkripsi. memacu apoptosis atau melalui G1 *arrest* dengan jalan penekanan cyclin D₁ yang merupakan regulator *cell cycle*. Mekanisme antiproliferasi PGV-0 dikaitkan pula dengan kemampuan menghambat *nuclear factor- κ B* (NF- κ B) dan I κ B α kinase pada sel myeloma.⁹

PGV-0 dan kurkumin juga diduga memacu apoptosis melalui inhibisi *cytokine* seperti IL-6. Pada sel myeloma mekanisme antiapoptosis terjadi melalui jalur ekspresi berlebih *Bcl-2* dan *Bcl-xL* yang salah satunya diinduksi dari IL-6 melalui aktivasi Jaks.⁴ Proses antiapoptosis sel myeloma tidak tergantung pada ekspresi *Bcl-2* endogen tetapi cenderung dikaitkan dengan upregulasi protein *Bcl-xL* yang bersifat antiapoptosis oleh IL-6.¹⁷

Dari hasil-hasil tersebut menunjukkan potensi PGV-0 sebagai antikanker, sehingga diperlukan upaya lebih lanjut untuk eksplorasi aktivitas antikanker. Penelitian ini dapat menjadi pijakan awal pada

penelitian aktivitas antikanker PGV-0 baik *secara in vitro* maupun *in vivo*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa PGV-0 bersifat antiproliferatif terhadap sel myeloma melalui mekanisme penghambatan waktu penggandaan sel (*doubling time*) dan kemungkinan memacu terjadinya apoptosis.

Saran

Perlu dilakukan analisis lanjut terhadap mekanisme molekuler aktivitas antikanker senyawa kurkumin terhadap sel Myeloma.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, 1998, *Profil Kesehatan Indonesia*, DepKes RI, Jakarta.
2. King, R.J.B., 2000, *Cancer Biology*, 2nd ed., Pearson Education Limited, London.
3. Nafrialdi dan Gan, S., 1995, Antikanker dan Immunosupresan Dalam *Farmakologi dan Terapi* ed. IV, editor Gariswara, S.G. *et al.*, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta.
4. Hanhanan, D., and Wienberg, R.A., 2000, The Hallmarks of Cancer, *Cell*, **100**, 57-70.
5. Otsuki, T., Osamu, Y., Kurebayashi, J., Moriya, T., Sakaguchi, H., Kunisue, H., Yata, K., Uno, M., Yawata, Y., and Ueki, A., 2000, Estrogen receptors in human Myeloma cells, *Cancer Res.*, **60**, 1434-1441.
6. Verma, S.P., Goldin, B.R., and Lin, P.S., 1998, The Inhibition of the Estrogenic Effects of Pesticides and Enviromental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids, *Envir. Health Presp*, **106**(12), 807-812.
7. Jordan, V.C., 1998, Designer Estrogen, *Sci.Am.*, **279**, 60-67.
8. Shapiro, G.I. and Harper, J.W., 1999, Anticancer drug targets: cell cycle and chekpoint control, *J. Clin. Invest.*, **104**, 1645-1653.
9. Bharti, A.C., Donato, N., Singh, S., and Aggarawal, B.B., 2003, Curcumin (diferloymethane) down-regulates the constitutive action of nyclear factor-kB and IkBa kinase in human multiple myeloma cells, leading to suppression of proliferation and induction of apoptosis, *Blood*, **101**(3), 1053-1062.
10. Meiyanto, E., 1999, Kurkumin Sebagai Obat Anti Kanker: Menelusuri Mekanisme Aksinya, *Majalah Farmasi Indonesia*, **10**(4), 224-236.

11. Robinson, T.P., Ehler, T., Hubbard, R.B., IV, Bai, X., Arbiser J.L., Goldsmith D.J., and Bowen J.P., 2003, Design, synthesis and biological evaluation of angiogenesis inhibitors: Aromatic enone and dienone analogues of curcumin, *Bioor. & Med. Chem. Lett.*, **13**, 115-117.
12. Nurrochmad, A., 2001, Sintesis Kurkumin, Bisdemetoksikurkumin, Bisdemetoksi- dehidroksikurkumin dan Pentagamavunon-0 serta Uji Kesitotoksikannya Terhadap Sel Mieloma dan Sel Mononuklear Normal Secara *In Vitro*, *Tesis*, Program Pascasarjana UGM, Yogyakarta.
13. Tim Molnas Fak. Farmasi UGM, 2001, *Buku III, Laporan Penelitian Bidang Farmakologi Proyek Molnas*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
14. Da'i, M., 1998, Pengaruh gugus *b* Diketon terhadap Daya Reduksi Kurkumin dan Turunannya Pada Ion Ferri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
15. Rianto, R.K., 1998, Daya Tangkap Radikal Superoksid dari Senyawa Siklovalon dan Derivat Lingkar Lima dan Rantai Lurus dengan Variasi Gugus Metoksi pada Cincin Aromatis, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM.
16. Takase, K., Sawai, M., Yamamoto, K., Yata, J., Takasak, Y., Tetoka, H., and Tsukada, K., 1992, Reversible G1 arets induced by dimethyl sulfoxide in human lymphoid cell lines: kinetics of the arrest and expression of the cell cycle marker proliferating cell nuclear antigen in myeloma celss, *Cell Growth & Differentiation*, **3**(8), 512-521
17. Schwarze, M.M., and Haley, R.G., 1995, Prevention of Myeloma cell apoptosis by etopic bcl-2 expression or interleukin 6-mediated up-regulation of bcl-xL, *Cancer Res.*, **55**, 2262-2265.