مقاله پژوهشی

القاء ژن گاما در سلولهای اریتروئیدی مشتق از $CD\ 133^+$ بند ناف در محیط Invitro با استفاده از تالیدومایدو سدیم بوتیرات

محمد احمدوند[۱]،دکتر مهرداد نوروزی نیا[۱و۳*]، دکتر مسعود سلیمانی[۱]، دکتر سعید کاویانی[۱]، دکتر سعید آبرون[۱]، علی دهقانی فرد[۱]، مریم محمودی نیا میمند[۲]

۱-گروه خون شناسی و بانک خون، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات سلولی، مولکولی و سلولهای بنیادی، بیمارستان صارم، تهران، ایران
۳- گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

القاء هموگلوبین جنینی (HbF)به علت پایدار بودن اثرات بالینی در درمان علائم بیماران مبتلا به تالاسمی، امیدوار کننده ترین روش برای درمان این اختلالات ژنتیکی می‌باشد عوامل فارماکولوژیک متعددی می‌توانند بیان ژن گاما را القاء نموده و سبب افزایش میزان هموگلوبین در بیماران بتا تالاسمی شوند. در این بین سدیم بوتیرات و تالیدومایدشناخته شده می‌باشند. این مطالعه بر روی سلول‌های اریتروئیدی تمایز داده شده از سلولهای CD۱۳۳+ جدا شده از خون بند ناف نوزادان سالم صورت گرفت. برای انجام این مطالعه ۴ گروه طراحی شد که به منظور القاء ژن گاما از داروهای تالیدومایدو سدیم بوتیرات در غلظت‌هایMμ ۱۰۰ بکار برده شد. نتایج افزایش بیان ژن گاما با استفاده از تکنیک کمی Real Time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

در میان گروههای تیمار شده با تالیدومایدو سدیم بوتیرات نشان داده شد که این دو دارو اثر القا کنندگی بر روی ژن گاما و بتا داشته، و توان تالیدومایددر القاء ژنهای دسته بتا بیشتر از سدیم بوتیرات بود.

نتایج ما نشان داد که ترکیب دارویی تالیدومایدو سدیم بوتیرات به دلیل القاء ژنهای دسته بتامی توانند کمک کننده مفیدی در درمان بیماران تالاسمی و کم خونی داسی شکل باشد.

واژگان کلیدی: هموگلوبین جنینی؛ تالیدومایدو؛ سدیم بوتیرات؛ بتا تالاسمی

مقدمه:

بیماری بتا تالاسمی شایع ترین اختلال مونوژنیک در دنیا است. این بیماری با موتاسیون مولکولی در زنجیره بتای هموگلوبین بزرگسالان شناسایی شده که منجر به ایجاد اختلال از طریق کاهش زنجیره بتا گلوبین می‌شود. همچنین در این بیماری زنجیره‌های آلفای اضافی نیز سبب آسیب به دیواره عروقی گلبولهای قرمز شده و منجر به آپوپتوز اریتروبلاستهای در حال تکامل و همولیز آنها (اریتروپوئز غیر موثر) می‌شود (۱). در بیماران بالغ مبتلا به بتا تالاسمی که بطور همزمان اختلال افزایش هموگلوبین جنینی پایدار ارثی[1] را به ارث می‌برند، شدت بیماری کاهش یافته (۲) به طوریکه این بیماران دارای اختلالات خفیفی بوده گاه حتی نیاز به تزریق خون مزمن ندارند. برای اولین بار در سال ۱۹۷۶ مزایای بالینی افزایش هموگلوبین جنینی مورد بررسی قرار

* مهرداد نوروزی نیا، PhD
گروه خون شناسی و بانک خون، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
بزرگراه جلال آل احمد، دانشگاه تربیت مدرس، ساختمان ۱ پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی
تلفن: ۸۲۸۸۳۸۶۰-۰۲۱
پست الکترونیک: noruzinia@modares.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۴/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۱۲

1. Hereditary persistence fetal hemoglobin

Archive of SID
www.SID.ir

گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که افزایش هموگلوبین جنینی سبب عدم تعادل ناشی از کمبود زنجیره بتا در مقابل آلفا را کاسته و نهایتا منجر به کاهش همولیز می‌شود (۳, ۴).

داروهای زیادی به عنوان القا کننده هموگلوبین جنینی دربیماران بتا تالاسمی و کم خونی داسی شکل مورد مطالعه قرار گرفته است. امروزه هیدروکسی اوره در فرم‌های خفیف تا شدید بیماری داسی شکل و در برخی از فرم‌های حد واسط (اینتر مدیا) مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴, ۵). سایر القا کننده‌های هموگلوبین جنینی مانند سدیم بوتیرات[۲]، ۵-آزاسیتیدین[۳] و اخیرا دسیتابین[۴] برای القاء هموگلوبین جنینی در بیماران داسی شکل آزمایش شده است. باتوجه به اثرات خفیف این القاء کننده‌ها بر روی هموگلوبین جنینی در اکثر بیماران بتا تالاسمی، از آنها به طور روتین در بالین استفاده نمی شود (۶, ۷). اخیرا تالیدومایید (دارویی که دارای خصوصیات Immunomodulatory و ضد رگ‌سازی می‌باشد) به منظورالقاء بیان ژن گاما و افزایش تکثیر سلولهای اریتروئیدی مورد مطالعه قرار گرفته است، بطوریکه یک بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور با موفقیت با تالیدومایید درمان شده است (۸).

بر اساس یافته‌های بدست آمده از بالین مشخص شد که ترکیب عوامل فارماکولوژیک با نقش‌های مکملی و با مکانیسم‌های مولکولی مختلف سبب ایجاد پاسخ‌های بهترنسبت به حالت تک دارویی شده و نهایتا می‌توان با کاهش دوزهای بکار رفته، اثرات جانبی داروهای بکار رفته را نیز کاهش داد (۹, ۱۰).

در مطالعه حاضر تلاش بر این شده است از سدیم بوتیرات و تالیدومایدکه در مطالعات قبلی دارای بیشترین پاسخ‌ها بوده است استفاده شده و اثر تکی و ترکیبی آنها مورد بررسی قرار بگیرد (۱۱, ۱۲).

روش کار

فاکتورهای رشد هماتوپویتیک:

در این تحقیق از اریتروپوئتین نوترکیب (EPO; R&D systems, Minneapolis, MN, USA)، اینترلوکین ۳ (IL-3; stem cell Technology, Vancouver, BC, Canada) ، کیت سنتز cDNA (Fermentase) محلول SYBR Green (Qiagen)، تالیدومایید (Tocris Bioscience, Missouri, USA)، سدیم بوتیرات (Sigma, Saint Louis, MO, USA) استفاده شد. سدیم بوتیرات و تالیدومایید هر یک در DMSO برای تهیه محلول ۱۰۰ µM حل شدند.

جداسازی سلولهای تک هسته ای از بند ناف نوزادن سالم:

خون بند ناف بعد از زایمان و با گرفتن رضایت نامه از والدین گرفته شده و در کیسه‌های خون حاوی ضد انعقاد سیترات، فسفات، دکستروز و آدنین نگهداری شد. به منظور جداسازی سلولهای بنیادی $CD133^+$، ابتدا برای رسوب گلبولهای قرمز، خون بند ناف را با محلول هیدروکسی اتیل استارچ مجاور نموده و سپس با استفاده از محلول فایکول اقدام به جمع‌آوری سلولهای تک‌هسته‌ای شد (۱۳).

انتخاب مثبت سلولهای $CD133^+$:

جهت جداسازی و تخلیص سلولهای $CD133^+$ سلولهای تک‌هسته‌ای حاصل از مرحله قبل با استفاده از ستون Mini-MACS و کیت جداسازی $CD133^+$ (مطابق دستور شرکت سازنده)بکار برده شد. سلولهای جداسازی شده در محیطStemspan که حاوی فاکتورهای رشد است نگهداری شده و برای تعیین خلوص سلولهای $CD133^+$ جهت تعیین عمل فلوسایتومتری فرستاده شد که نهایتا $۲۰-۳۰ \times ۱۰^۳$ سلول $CD133^+$ با خلوص ۹۴,۵٪ از سلولهای تک هسته‌ای جدا شد (۱۳, ۱۴).

کشت سلولی و القاء هموگلوبین جنینی

سلولهای $CD133^+$ حاصل از مرحله قبلی در محیط IMDM حاوی ۳۰٪ سرم جنین گاوی[۵]، ۷۰ µg/ml ترانسفرین[۶] اشباع از آهن، mM2 ال-گلوتامین، بتا مرکاپتواتانول ($۱۰^{-۵}$M) و پنی سیلین/استرپتومایسین ۱۰۰U/ml کشت داده شد. سپس در مرحله بعد محیط با ۴U/ml اریتروپویتین نوترکیب انسانی و اینترلوکین ۳ جهت تمایز به سمت رده اریتروئیدی غنی گردید. به منظور بدست آوردن حد نهایی تولید ژن گاما در روز شش از مرحله تمایز به گروههای µM ۱۰۰ تالیدومایید، µM ۱۰۰سدیم بوتیرات، µM ۱۰۰تالیدومایید /µM ۱۰۰سدیم بوتیرات و ۰,۱٪ DMSO(به عنوان کنترل) تقسیم شده و با عوامل دارویی و غلظت‌های مذکور تیمار شدند (۱۵).

2. Sodium butyrate
3. 5-Azacitidin
4. Decitabin
5. Fetal Bovine Serum
6. Transferrin

www.SID.ir
Archive of SID

GTCCTCTGCCTCTGCCATC	Gamma globin-F
CGGTCACCAGCACATTTCC	Gamma globin-R
CTCACCTGGACAACCTCAAG	Beta Globin-F
AGCCACCACTTTCTGATAGG	Beta Globin-R

جدول ۱.توالی پرایمر گاما و بتا گلوبین

فلوسیتومتری:

بعد از جداسازی سلولهای $CD133^+$ به منظور ارزیابی سلولهای جدا شده و داشتن جمعیتی یکسان از سلولهای $CD133^+$ تکنیک فلوسیتومتری بکار رفت، بطوریکه بعد از جدا کردن سلولها، ۱۰۰µl بافر فسفات به 10^4 سلول اضافه شد و با سمپلر مخلوط نموده و سپس به آن آنتی بادی CD133-PE اضافه شد، بعد در دمای یخچال بمدت ۴۵ تا ۶۰ دقیقه انکوبه شد. برای فیکس کردن سلولها ۱۰۰µl محلول پارافرمالدهید ۱٪ اضافه شد. Mouse IgG ۱به عنوان نمونه کنترل منفی برای آنتی بادی CD133-PE، استفاده شد (۱۶).

تشکیل کلنی:

محیط متیل سلولز در لوله‌های ۵ml که در هر یک ۸ ng/ml اینترلوکین ۳، ۳ U/ml اریتروپویتین به علاوه سدیم بوتیرات و تالیدومایدر در گروههای مختلف که حاوی $10^4 \times 1,5$ سلول $CD133^+$ بودند تهیه شد. بعد از مخلوط نمودن، ۱.۱ ml از مخلوطهای تهیه شده را در پتری دیش‌های ۳,۵ cm در شرایط کاملا مرطوب با ۵٪ CO_2 و در دمای ۳۷ ^oC انکوبه شدند (۲).

آنالیز کمی ژن گاما با Real Time Polymerase Chain Reaction:

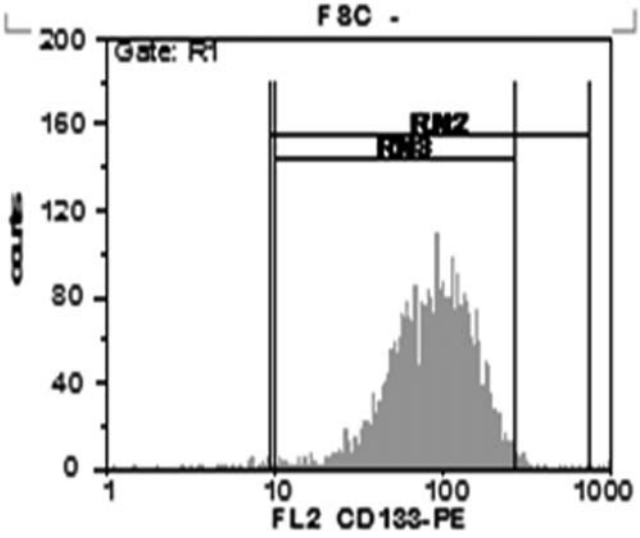
تکنیک Real Time Polymerase Chain Reaction به منظور بررسی بیان ژن گاما بکار برده شد. بعد سلولها در روز چهارده تمایز، به آرامی جمع آوری شده و در بافر فسفات شستشو و سریعا RNA آنها استخراج شد. RNAهای استخراج شده جهت تولید زنجیره cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA مورد استفاده قرار گرفتند. سپس به منظور بررسی کمی بیان ژن گاما از کیت SYBR green استفاده شد. جهت نرمال نمودن بیان ژن گاما و بتا از ژن β–actin استفاده شد. توالی پرایمرهای ژن گاما و بتای انسانی در جدول ۱ نشان داده شده است (جدول ۱).

در این مطالعه مقایسه بین دو پارامتر با استفاده از آزمون آماری Student paired t–test با سطح معنی داری کمتر از $P<0.5$، معنی دار بود.

یافته‌ها:

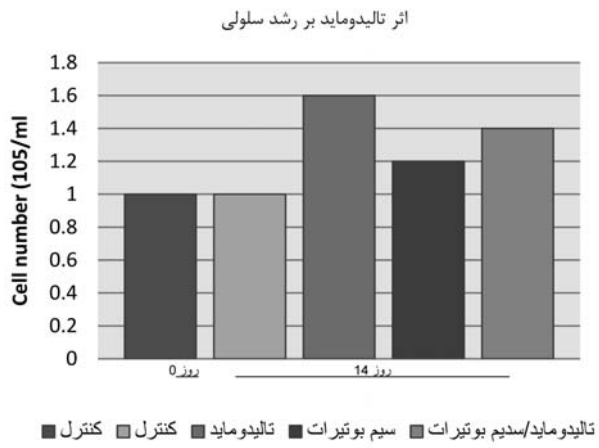
نتایج حاصل از فلوسیتومتری

بعد از جداسازی سلولهای $CD133^+$ به منظور ارزیابی سلولهای جدا شده و داشتن جمعیتی یکسان از سلولهای $CD133^+$ تکنیک فلوسیتومتری بکار رفت. نتایج فلوسیتومتری که در شکل ۱نشان داده شده است خلوص ۹۴,۵٪ از سلول‌های $CD133^+$ را نشان می‌دهد. (شکل ۱)



شکل ۱. نتایج فلوسیتومتری سلولهای $CD133^+$ با ستون mini MACS

www.SID.ir



شکل ۲.تاثیر تالیدومايد و سديم بوتيرات بر رشد سلولی

تالیدومايد سبب افزايش تکثير سلولهای اريتروئيديو تشکيل کلنی در in vitro شد

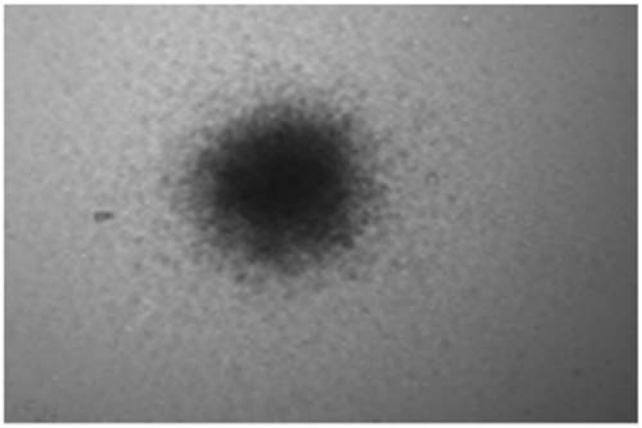
ما ابتدا تاثير تالیدومايد را بر روی پيش سازهای اريتروريئدی با تعيين درصد زنده بودن سلولها و همچنين بکار بردن تکنيک تشکيل کلنی بررسی نموديم. همچنان که در شکل۲ نشان داده شده است تالیدومايد سبب افزايش۱٫۶ برابری تعداد سلولها در غلظت ۱۰۰µl تالیدومايد نسبت به حالت نرمال شد. سديم بوتيرات نسبت به شرايط کنترل افزايشی قابل توجهی در تعداد سلولهای رده اريتروئيدی نداشت. (شکل۲)

آزمون تشکيل کلنی:

آزمون تشکيل کلنی به منظور بررسی فعاليت عملکردی سلولهای بنيادی خونساز استفاده می‌شود. نتايج بدست آمده از اين آزمون نشان می‌دهد که سلولهای بنيادی $CD۱۳۳^+$ جدا شده و تکثير يافته دارای توانايی مناسب کمی و کيفی برای تمايز به سمت رده اريتروئيدی است و از اين رو نتايج مربوط به مارکرهای سطحی مربوط به اين سلولها را نيز تاييد می‌کند. شکل ۳ يک کلنی اريتروئيدی را بعد از ۱۴ روز نشان می‌دهد. (شکل ۳)

تالیدومايدو سديم بوتيرات و ترکيب تالیدومايد/سديم بوتيرات سبب القاء بيان ژن گاما در پيش سازهای اريتروئيدی شدند

به منظور افزايش بيان ژن گاما،سلولهای$CD۱۳۳^+$ در محيطهای حاوی ۱۰۰µm تالیدومايد، سديم بوتيرات و ترکيب تالیدومايد و سديم



شکل۳.کلنی اريتروئيدی بنزدين مثبت.بزرگ نمايی ۴۰×

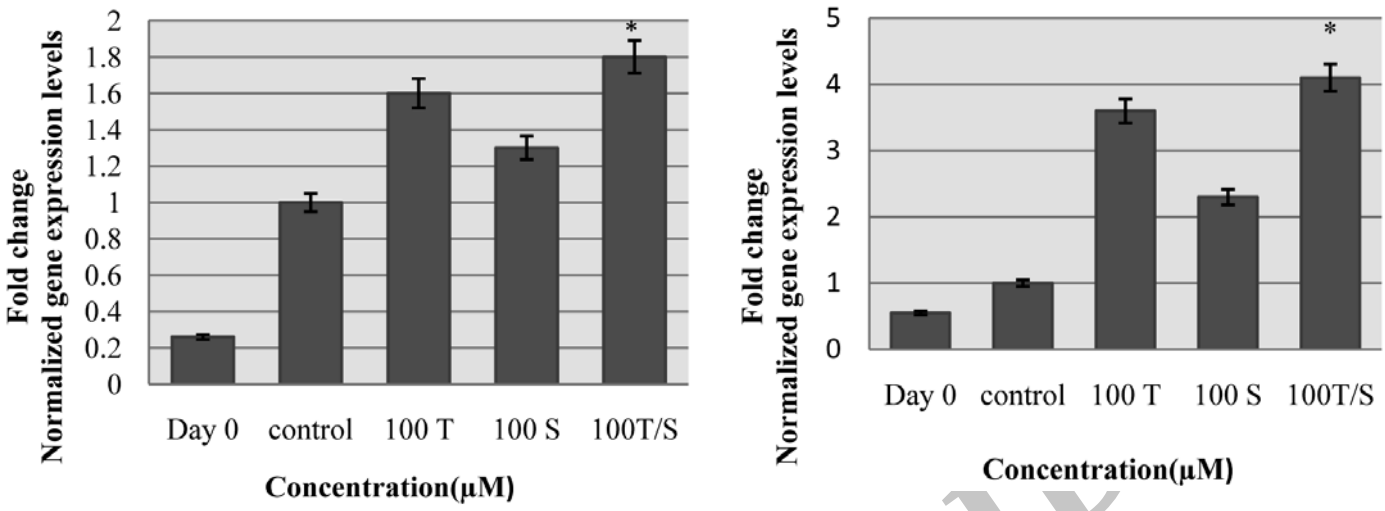
بوتيرات در غلظت ۱۰۰µmبرای دوره ۱۴ روزه کشت داده شد. سپس بيان mRNA گاما گلوبين با کمک تکنيک Real-Time RT-PCRبه صورت کمی تعيين شد. همچنانکه در شکل ۴ نشان داده شده با تيمار سلول‌های بنيادی رده اريتروئيدی با تالیدومايد، سديم بوتيرات و ترکيب اين دو که در روز ششم تمايز هستند، در نهايت در روز چهاردهم تمايز در مقايسه با گروه کنترل (با $p<۰,۰۵$) افزايش بيان ژن گاما گلوبين به ترتيب به ميزان ۳٫۶، ۲,۳ و ۴,۱ برابر (شکل ۴ الف) و افزايش بيان ژن بتا گلوبين به ترتيب به ميزان ۱٫۶، ۱,۳و ۱٫۸برابر (شکل ۴ ب) در مقايسه با گروه کنترل (با $p<۰,۰۵$) مشاهده می‌شود (شکل ۴). لازم به ذکر است که کنترل و روز صفر(قبل از تيمار دارويی) می‌توانند به عنوان سطح پايه از بيان ژنهای دسته بتا قلمداد شوند و افزايش بيانهای ايجاد شده توسط داروها می‌توانند با آنها مقايسه شوند.

بحث

سديم بوتيرات نسبت به عوامل شيمی درمانی مانند هيدروکسی اوره در مطالعات بيشتر مورد استفاده بالينی و تحقيقاتی قرار می‌گيرد به علت اينکه سديم بوتيرات فاقد عوارض سيتوتوکسيک و جهش زايی می‌باشد)۱۷(. سديم بوتيرات علی رغم اينکه سبب القای بيان ژن گاما می‌شود دارای محدوديت‌های از جمله مهار اريتروپوئز می‌شود. رويکردی که امروزه در درمان بتا تالاسمی و ساير هموگلوبينوپاتی‌ها مورد استفاده قرار می‌گيرد، بکار بردن ترکيب‌های دارويی با مکانيسم‌های عملکردی مختلف و همچنين داشتن نقش مکملی همديگر به منظور ايجاد پاسخ بهينه در اين افراد می‌باشد. يکی از مکانيسم‌های شناخته شده

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴.نتایج بررسی کمی بیان ژن‌های بتا(الف)وگاما(ب) گلوبین با استفاده از تکنیک Real-time PCR در گروه‌های مورد مطالعه.نتایج حاصل از تکرار ۳ نمونه متفاوت (SD±)می باشد.$P<0.05$* در مقابل سلول‌های کنترل (تیمار نشده).

تالیدومایدتحریک تکثیر در پیش سازهای رده اریتروئیدی و متعاقبا تحریک اریتروپوئز می‌باشد که می‌تواند دارای نقش مکملی باسدیم بوتیرات باشد (۱۸).

این مطالعه نشان می‌دهدکه تالیدومایدعلاوه بر نقش ایمونومدولاتوری شناخته شده (۲) تنظیم کننده ای قوی برای اریتروپوئز و سنتز هموگلوبین در طول فرایند تمایز در in vitroمی باشد. نتایج کلینیکی هیدروکسی اوره بر روی بیماران مبتلا به کم خونی داسی شکل نشان داده است که به طور قابل ملاحظه ای می‌تواند سبب بهبودی علائم در این بیماران شود،گرچه علی رغم این بهبود مصرف هیدروکسی اوره برای تمام بیماران موثر نبوده و می‌تواند به دلیل داشتن اثر سیتوتوکسیک بر روی سلولهای عامل سیتوپنی در افرادی که از این دارو استفاده می‌کنند شود (۱۹).

نتایج ما با نشان دادکه تالیدومایدبه تنهایی یا در اثر ترکیب با سایر القاء کننده‌ها مانند سدیم بوتیرات می‌توانند سنتز هموگلوبین جنینی را افزایش داده و همچنینی سبب افزایش نسبت زنجیره گاما (و بتا) به آلفا شده که نهایتا می‌تواند منجر به احیای اریتروپوئزموثر شوددر این بیماران شود. علاوه بر این براساس مطالعات دیگر نشان داده شده است که تالیدومایدقابلیت مهار سایتوکاین‌های مهار کننده خون سازی مانند TNF-α را داشته و می‌تواند منجر به کاهش واکنش‌های ایمنی ناشی از اریتروپوئز غیر موثر در مغز استخوان شده که می‌تواند اریتروپوئز موثر را بیش از پیش تحریک نماید)۲۰(. این تحقیق نشان داد که رژیم درمانی تالیدومایدو سدیم بوتیرات، رژیم دارویی ارزشمند برای درمان بیماران مبتلا به بتا تالاسمی ماژور و کم خونی داسی شکل بوده و این رویکرد درمانی می‌تواند در آینده نزدیک تحت کارآزمایی بالینی یا در مدل‌های حیوانی آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج بدست آمده از القاء ژن‌های دسته بتا می‌تواند نتایج متفاوتی را در بالغین، مبتلایان به بتا تالاسمی یا کم خونی داسی شکل به دلیل تفاوتهای که در ماهیت محیطهای In vivo و In vitro و همچنین اختلاف در الگوی بیانی ژنهای بالغین با سلولهای مذکور، ایجاد نماید.

نتیجه گیری

نتایج ما نشان داد که تالیدومایدالقاء کننده ی قوی برای هموگلوبین جنینی (و به میزان کمتر ژن بتا گلوبین) بوده و در تمایز رده اریتروئیدی از سلولهای $CD۱۳۳^{+}$ بسیار تاثیر گذار می‌باشد. ما مشاهده کردیم که پروژنیتورهای اریتروئیدی در طول کشت با تالیدومایدعلاوه بر بیان ژن گاما تعداد سلول‌های اریتروئیدی شکل گرفته نسبت به گروه کنترل نیز بیشتر بودند. اثر تالیدومایدبر اریتروپوئز با افزایش هموگلوبین جنینی و هموگلوبین تام در ارتباط می‌باشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود که افزایش تعداد سلولهای رده اریتروئیدی یکی ازمکانیسم‌هایی می‌باشد که در بهبود علائم بیمارانی وابسته به دریافت خون می‌باشند (مانند بیماران میلودیسپلاستیک) موثر می‌باشد.

این اطلاعات نشان می‌دهدکه تالیدومایدو سدیم بوتیرات دارای اثرات

Archive of SID

www.SID.ir

هم افزایی با یکدیگر می‌باشند. همچنین مقایسه اثر تالیدومايد و سديم بوتيرات در القاء بيان ژن گاما و بتا گلوبين نشان دهنده توان بالاتر تالیدومايد در افزايش بيان ژن گاما و بتا گلوبين می‌باشد.

سپاسگذاری

این تحقیق مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای محمد احمدوند دانشجوی رشته هماتولوژی (کد رهگیری ۲۰۲۷۴۰۰) در دانشکده علوم پزشکی تربیت مدرس می‌باشد. همچنین بدینوسیله از همکاری مسئولین مرکز تحقیقاتسلول‌های بنیادی و آزمایشگاه ژنتیک مولکولی بیمارستان تخصصی و فوق تخصصی صارم و همچنین سرکار خانم دکتر نیکوگفتار در سازمان انتقال خون ایران و جناب آقای آتشی در مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی بن یاخته تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References:

1. Bianchi N, Borgatti M, Gambari R, Lampronti I. Use of angelicin and of its structural analogues for the treatment of thalassemia. Google Patents; 2009.
2. Aerbajinai W, Zhu J, Gao Z, Chin K, Rodgers GP. Thalidomide induces -globin gene expression through increased reactive oxygen species–mediated p38 MAPK signaling and histone H4 acetylation in adult erythropoiesis. Blood2007;110(8):2864-71.
3. Cao H, Stamatoyannopoulos G, Jung M. Induction of human globin gene expression by histone deacetylase inhibitors. Blood2004;103(2):701-9.
4. Cokic VP, Smith RD, Beleslin-Cokic BB, Njoroge JM, Miller JL, Gladwin MT, et al. Hydroxyurea induces fetal hemoglobin by the nitric oxide-dependent activation of soluble guanylyl cyclase. Journal of Clinical Investigation2003;111(2):231-40.
5. Dover GJ, Brusilow S, Charache S. Induction of fetal hemoglobin production in subjects with sickle cell anemia by oral sodium phenylbutyrate. Blood1994;84(1):339-43.
6. Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. Nature2004;429(6990):457-63.
7. Gambari R, Fibach E. Medicinal Chemistry of Fetal Hemoglobin Inducers for Treatment of-Thalassemia. Current medicinal chemistry2007;14(2):199-212.
8. Masera N, Tavecchia L, Capra M, Cazzaniga G, Vimercati C, Pozzi L, et al. Optimal response to thalidomide in a patient with thalassaemia major resistant to conventional therapy. Blood Transfusion;8(1):63-5.
9. Han L, Lu J, Pan L, Wang X, Shao Y, Han S, et al. Histone acetyltransferase p300 regulates the transcription of human erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase gene. Biochemical and biophysical research communications2006;348(3):799-806.
10. Han L, Zhong Y, Huang B, Pan L, Xu X, Wang X, et al. Sodium butyrate activates erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase gene through Sp1 elements at its promoter. Blood Cells, Molecules, and Diseases2008;41(2):148-53.
11. Kramer MF, Gunaratne P, Ferreira GC. Transcriptional regulation of the murine erythroid-specific 5-aminolevulinate synthase gene. Gene2000;247(1-2):153-66.
12. Mabaera R, West RJ, Conine SJ, Macari ER, Boyd CD, Engman CA, et al. A cell stress signaling model of fetal hemoglobin induction: what doesn't kill red blood cells may make them stronger. Experimental hematology2008;36(9):1057-72.
13. Atashi A, Soleimani M, Kaviani S, Hajifathali A, Arefian E. In vitro induction of fetal hemoglobin in erythroid cells derived from CD133+ cells by transforming growth factor-and stem cell factor. Iranian Journal of Biotechnology (IJB)2008;6(3).
14. Newmark HL, Lupton JR, Young CW. Butyrate as a differentiating agent: pharmacokinetics, analogues and current status. Cancer letters1994;78(1-3):1-5.
15. PERRINE SP, CASTANEDA SA, BOOSALIS MS, WHITE GL, JONES BM, BOHACEK R. Induction of Fetal Globin in Thalassemia: Cellular Obstacles and Molecular Progress. Annals of the New York Academy of Sciences2005;1054(1):257-65.
16. Zuccato C, Bianchi N, Borgatti M, Lampronti I, Massei F, Favre C, et al. Everolimus is a potent inducer of erythroid differentiation and -globin gene expression in human erythroid cells. Acta Haematologica2006;117(3):168-76.
17. Perrine, S.P.. Fetal globin stimulant therapies in the beta-hemoglobinopathies: principles and current potential Pediatr Ann2008;(3): 339–46.
18. Perrine, S., D.V. Faller, L. Shen. HQK-1001 has additiveHbF-inducing activity in combinationwith hydroxyurea and decitabine. Blood 2009;(14): 973-7.
19. Fucharoen, S., N. Siritanaratkul, P. Winichagoon, .. Hydroxyurea increases hemoglobin F levels and improves the effectiveness of erythropoiesis in betathalassemia/ hemoglobin E disease. Blood 1996;87: 887–92.
20. Varghese J, Chattopadhaya S, Sarin A. Inhibition of p38 kinase reveals a TNF-alpha-mediated, caspase-dependent, apoptotic death pathway in a human myelomonocyte cell line. J Immunol. 2001;166:6570-6577.

Archive of SID

www.SID.ir