ZKTB

DERLEME

Pediatrik Öncü B-ALL'ye Moleküler Yaklaşım

Molecular Approach to Pediatric Precursor B-ALL

Dilara Fatma AKIN BALI [1]

1. Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye

ÖZET

Lösemi, çocukluk çağında en sık görülen malign hastalıktır. Bu hastalık yaklaşık 150 yıl önce tanımlanmıştır, ancak son 30 yıllık süreçte tedavide %90'lara varan bir başarı oranına ulaşılabilmiştir. Bu başarılı sonuçlara ulaşılmasında çoklu ilaç uygulamaları, santral sinir sistemi profilaksisi, idame ve destek tedavi uygulamaları etkili olmuştur. Tedavide bu kadar başarılı sonuçların alınmasına rağmen nüks lösemi için bir risk olmaya devam etmekte ve ALL hastalarının %20'sinde görülmektedir. Tedaviden alınan farklı sonuçlar diğer bütün kanser tiplerinde olduğu gibi lösemi'nin de heterojen bir yapıya sahip olduğunu işaret etmektedir. Bu nedenle erken, doğru bir teşhis ile daha etkin bir tedavinin ancak kişiye özgü (hastalık alt gruplarına) tedavi, yöntem ve müdahale stratejilerinin geliştirilmesi ile mümkün olabileceği öngörülmektedir. Bu kapsamda diğer bütün kanser tiplerinde olduğu gibi "lösemi genomunda" yapısal ve/veya işlevsel bozukluk gösteren genler, lösemi tanısı, tedavisi ve nüksünün önlenebilmesi için yeni prognostik araçlar olabilme potansiyeli taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: *lösemi, prognostik biyobelirteç, aday gen*

ABSTRACT

Leukemia is the most common malignant disease in childhood. This disease was identified almost 150 years ago, but in the last 30 years, treatment processes have achieved a success rate of up to 90%. These successful outcomes were supported by multi-drug treatments, central nervous system prophylaxis, maintainability and therapeutic applications. Although successful treatment outcome relapse continues to be a risk for leukemia and is seen in 20% of patients with leukemia. In this case, all other types of cancers as well as leukemia have a structure that is heterogeneous. Therefore, individualized treatment methods are more effective than early accurate diagnosis, hence the development of individualised treatment methods and intervention strategies have become necessary. In this context, as in all other types of cancer the leukemia genome contain structural abnormalities several genes leading to their functional dysfunction. These genes have the potential to become novel biomarkers for diagnosis, prognosis, treatment and prevention of relapse.

Keywords: *leukemia, prognostic biomarkers, candidate gene*

İletişim
Sorumlu Yazar: Dilara Fatma AKIN BALI
Adres: Ömer Halisdemir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Niğde, Türkiye
Tel: +90 (536) 302 68 16
E-Posta: dilarafatmaakin@gmail.com
Makale Geliş: 22.05.2018
Makale Kabul: 09.02.2019
DOI: http://dx.doi.org/10.16948/zktipb.425982

GİRİŞ

Hematolojik maligniteler içerisinde lösemiler, sitogenetik ve moleküler anormalliklerin sıklıkla görüldüğü bir grubu oluşturmaktadır. Sitogenetik ve moleküler anomalilerin tespiti için çeşitli çalışmaların yapılması; löseminin tanısında, prognozun belirlenmesinde, tedavi seçeneğinin kararında ve hastalığın takibinde önem taşımaktadır. Akut lösemiler, tümör materyaline ulaşımdaki kolaylık ve sitogenetik-moleküler anomalilerin tanımlanmasında başarı nedeni ile iyi karakterize edilmiş hastalıklar arasındadır (1). Lösemilerin moleküler temeli halen tam olarak anlaşılabilmiş olmaması ile birlikte bütün diğer kanser tipleri gibi multifaktöriyel olduğu bilinmektedir.

Gelişimdeki neden her ne olursa olsun, diğer kanser tiplerinde olduğu gibi programlanmış hücre ölümünde azalma ya da duraklama, farklılaşma aşamalarında duraklama, hücrenin büyüme uyarılarına karşı cevaplarındaki değişimler sonucunda kendi kendine çoğalan bir hücre popülasyonu ortaya çıkmaktadır. Bu değişimlerin en önemli nedenlerinden bir tanesi de gerek çevresel etmenlerle ortaya çıkan gerekse de doğumdan itibaren var olan genetik mutasyonlardır. Genetik mutasyonlar, malignite gelişimine neden olan onkogenlerin oluşumuna neden olabildikleri gibi, tümör baskılayıcı genlerde ortaya çıkarak da tümör oluşumunu engelleyen fonksiyonların ortadan kalkmasına yol açarak malignite gelişimine yol açabilirler. Bir mutasyon tek başına malign hücre gelişimine katkıda bulunamazken tekrarlayan mutasyonların varlığı bu malign dönüşümün hızlanmasına katkıda bulunmaktadır.

Yapılan güncel çalışmalardan elde edilen verilere göre lösemi patogenezi ile ilgili temel bir görüşe varılmıştır: Kazanılmış genetik değişimlerde hedef, lenfosit seri gelişiminden sorumlu hücresel yolaklar, hücre döngüsü kontrolü, tümör baskılanması, apoptozis ve ilaç direnci ile ilgili olan yolaklarda olmaktadır.

Bu genetik anomaliler lösemi oluşumuna katkıda bulunurken aynı zamanda, hastalığın bireysel prognozunu belirlemekte, hastalığın seyri sırasında ortaya çıkmaları ya da kaybolmaları ile tedaviye verilen cevabın etkilenmesine neden olmakta, anomalilerin özellikleri ve sıklığı lösemilerin alt tipleri ile oldukça yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (2).

Tablo 1: B-ALL alt tiplerine ait klinik, immünolojik ve genetik özellikler (3-5).

Alt Tiplere Ait Klinik, İmmünolojik ve Genetik Özellikler				
Alt Tip	İmmünolojik belirteçler	Pediatrik Dönem (%) sıklık	İlişkili özellikle	Sitogenetik/ Moleküler genetik anomali
Erken Öncü (Pro) B-ALL	CD10+. CD19+, Tdt+	%5	Hem çocuk hem de erişkinlerde prognozu kötü	t(4;11), t(9;22), 6q-, del(12)
Öncü (Pre) B-ALL	CD10+, CD19+, Tdt+, cIg	%6 –20	Yüksek lökosit sayısı, psödoploidi, siyah ırk	t(1;19), t(9;22), t(8;14), t(2;8), t(12;21)
B-ALL	CD19+, CD22+, CD79a+, sIg+yIgu+, sIgK+, sIgλ+	%3	Erken predominansı, tanıda, MSS lösemisi, abdominal kitle, renal tutulum	t(8;22)

PEDİATRİK ÖNCÜ B-ALL MOLEKÜLER TEMELİ

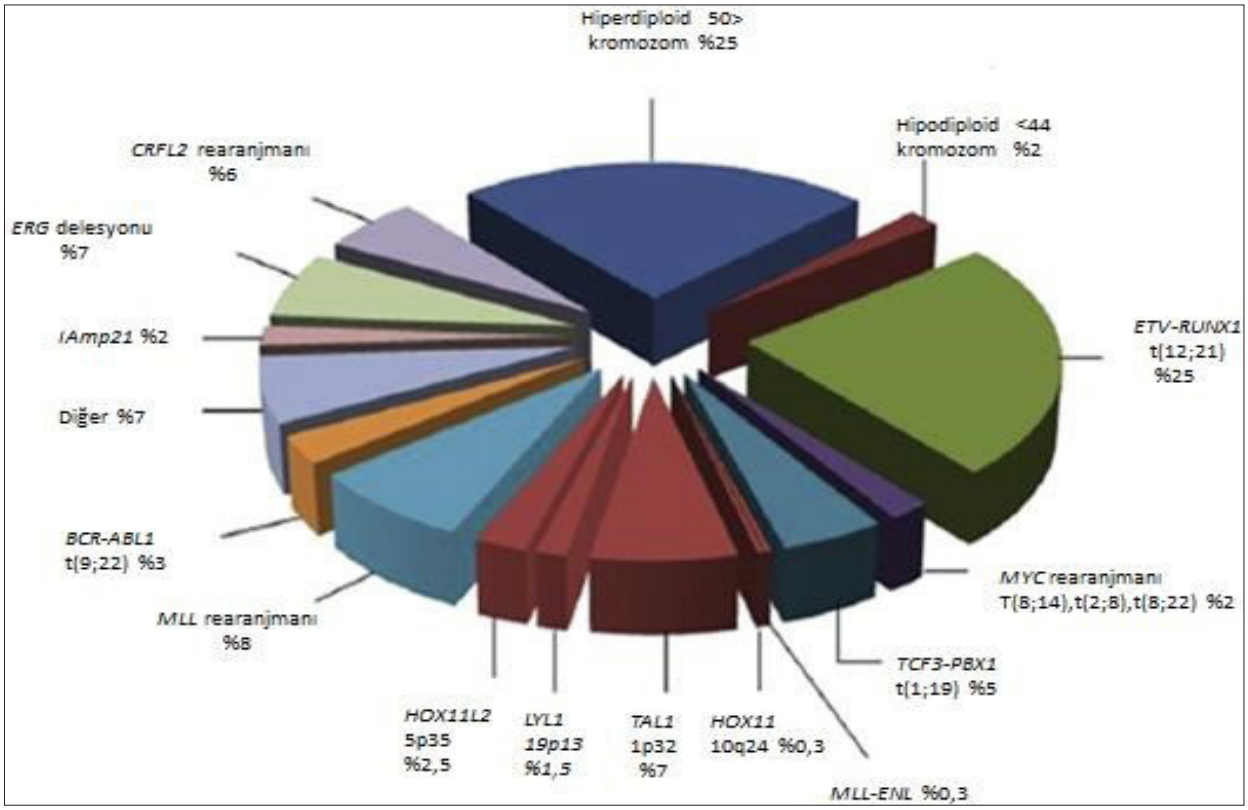
B-ALL, B-hücre serisinin farklılaşmasının durdurulması ve blastik hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile karakterize olan akut löseminin sıklığı yüksek alt grubudur. B-ALL kemik iliği kökenli bir hastalık olmasına rağmen yeni doğan ve pediatrik hastalarda biyolojik ve klinik olarak farklılıklar göstermektedir (2)

Hematopoetik kök hücreden, B-hücre serisinin gelişimi, birden çok transkripsiyon faktörü, gen ve genlerin ilişkili olduğu hücresel yolaklar tarafından düzenlenmektedir.

Öncü B-ALL, heterojen bir lösemi alt grubudur. Bu nedenle öncü B-ALL'nin multigenetik, heterojen ve birden çok tanımlanmış alt grubunun olmasının yanı sıra henüz sınıflandırılması mümkün olmayan, prognostik faktörler ışığında sınıflandırılması yapılması muhtemel olan birden çok öncü B-ALL alt tipi mevcut olduğu da düşünülmektedir. Hematopoetik hücrelerin gelişimi ve hücrelerin farklılaşması transkripsiyon faktörlerinin ve çeşitli sinyal ileti yollarının kontrolü altındadır. Hematopoetik kök hücrelerden farklılaşan genel lenfoid hücre serisinden, B hücre öncülleri oluşmaktadır. Bu hücreler kemik iliğinde karmaşık bir matürasyon sürecinden geçerler (pro-B hücre, pre-B hücre, immatür B hücre ve matür B hücre). Bu süreçte yüzey antijen reseptörleri eksprese ederler, fonksiyonel/ fenotipik matürasyon ve santral tolerans kazanırlar (2-6).

Erken B lenfosit gelişimi ve B lenfositlerine farklılaşması sırasında hücrelerin büyümesi, farklılaşması, çoğalması ve apoptozis için sinyal iletim mekanizmaları kullanılmaktadır. Bu gelişim evresi tirozin kinazlar (JAK2, IL-7R, FLT3), büyüme faktörler ve (PU.1, E2A, EBF, IKZF1 ve PAX5) gibi transkripsiyon faktörlerinin kontrolü sonucu gerçekleşir (7, 8).

B-ALL'nin alt tipleri arasında, bireysel lezyonların sıklığı ve yapısının önemli derece farklılık gösterdiği gözlemlenmiştir. B-ALL, normal lenfoid olgunlaşma sürecinin 3'te 2'sinde genetik değişimler nedeniyle bozulduğu bilinmektedir. Fakat bu genetik anomaliler löseminin biyolojik temelini ve tedaviye verilen cevaptaki farklılıkların ya da herhangi bir genetik anomali taşımayan bireylerin neden lösemi olduğunun açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yapılan gen ekspresyon profillemesi yaygın olarak transkriptom düzeyinde lösemik hücrenin anomalisini karakterize ederek,



Şekil 1: Pediatrik B-ALL'de görülmekte olan gen yeniden düzenlenmeleri, translokasyonlar ve mutasyona uğrayan genler (8).

tanı ve teşhiste bunların bir araç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde, löseminin patogenezinin anlaşılmasını sağlayabilecek olan; tümör baskılayıcılarda, onkogenlerde, lenfosit seri gelişiminde ya da apoptozis kontrolünden sorumlu olan genlerde tanımlanmamış genetik değişimler ve önemli olan hücresel yolaklar belirlenmeye çalışılmaktadır (3-7).

Aynı zamanda kişiye özel ilaç tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve en önemlisi de hastalığın prognoz seyrinin iyileştirilmesi sağlanabilecek prognostik biyobelirteçler belirlenmeye çalışılmıştır (9, 10).

PEDİATRİK ÖNCÜ B-ALL DE ADAY BİYOBELİRTEÇ GENLER

ERG: Erythroblast Transformation-Specific (ETS)-related gene (ERG) erken hematopoez ve hematopoetik kök hücrelerin devamlılığında önemli rol oynamakta olan bir onkogendir. Özellikle solid tümörlerde (prostat kanseri, Ewing Sarkoma) ve AML de füzyon protein oluşturmaktadır (11).

ERG'inde üyesi olduğu ETS ailesi transkripsiyon faktörleri, temel hematopoetik gelişimi düzenlemektedirler. Bu genlerin ifade eksiliği çeşitli hematolojik malignitelerin ve solid tümörlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Miyeloid ve lenfoid hücre serili lösemi gelişimine neden olması, hfematopoezde görevli olan hücrelerin çoğalma kapasitelerini artırmasını düzenlemesi ile olmaktadır (12).

ERG 21. kromozomun uzun kolu üzerine konumlanmıştır ve 12 ekzondan oluşmaktadır (13). ERG ve aynı ailenin benzer üyeleri mitojenik sinyal çevirici yolakların düzenleyici olarak görev yapmaktadırlar. Embriyonik gelişim, hücre çoğalması, farklılaşma, anjiyojenez, inflamasyon ve apoptozis gibi yolakların düzenlemesinde önemli görev almaktadırlar. Transkripsiyon düzenleyici nüklear protein olan ERG, DNA ya pürince zengin bölgelerden bağlanır, platelet adezyonu ve hematopoezinin düzenlenmesinde görev alır. Erken miyelosit hücrelerinde, olgun lenfositlere göre daha fazla ifade edilmektedir. Bu nedenle ERG'nin erken hematopoetik hücrelerin farklılaşmasında düzenleyici rolü olduğu düşünülmektedir (14).

Akut lösemide, artmış ERG ifadelenme seviyesi, bağımsız prognostik risk faktörü olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda, ERG ifadelenmesinin, sitogenetik anomalisi bulunmayan yetişkin AML ve T-ALL vakalarında kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir. ERG'in normal hematopoez için gerekli olduğu ancak ERG ifadelenmesinin bozulması sonucunda lösemi gelişimi ve ayrıca erken lösemik hücrelerde ERG'in kontrol etmiş olduğu kinaz sinyal yolaklarının bozulması sonucunda kinaz inhibitörlerine karşı direnç gelişimine sebep olduğu bilinmektedir (12, 14-16).

Pigazzi (2012) yapmış oldukları çalışmada, MLL pozitif, pediatrik AML hastalarında, artmış ERG ifadelenmesinin bağımsız, kötü prognoz ile ilişkili prognostik risk faktörü olarak tanımlamışlardır (17). Artmış ERG ifadelenmesine sahip fare modelleri üzerinde yapılan çalışmada ERG'in onkogen olarak işlev gördüğü, fetal dönem hematopoez öncüllerinden lösemi gelişimine neden olduğu gösterilmiştir. Benzer olarak artmış ERG ifadesi olan kemik iliği transplantasyonu yapılan yetişkin farelerde, NOTC1 mutasyonu ve T hücre sayısında artış gözlenmiştir. Transplantasyon yapılan farelerin %30'u T-ALL, geri kalan farelerde 5 ay içerisinde AML gelişimi gözlemlenmiştir (18). Güncel kemoterapi rejimleri ERG ifadelenmesi artmış olan, yüksek risk ALL hastalarında yetersiz kalmaktadır. Artmış ERG ifadelenmesi olan AML hastalarının% 81 inde, düşük ERG ifadelenmesi olanların ise %33'ünde 5 yıl içerisinde nüks gözlenmiştir (19).

ZAP70: Zeta-Chain (tcr)-Associated Protein Kinase 70 (ZAP70), T hücre aktivasyonunun erken aşamalarında önem taşıyan sitoplazmik, 70 kDa ağırlığında bir protein tirozin kinazdır (PTK). ZAP70 2.kromozomun uzun kolunda q11.2 de lokalize olmuştur ve 14 ekzondan oluşmaktadır.

Fosforilasyonun olması ile proteinin aktif hale gelmesini sağlayan Kinaz SH2 domainleri mevcuttur (13, 20). ZAP70'in çoğunlukla, T-lenfositler ve doğal öldürücüler (Naturel Killer) hücrelerde ifadelendiği bilinmektedir. T-hücre sinyalizasyonunun başlatılmasında kritik bir role sahiptir. T lenfositler, T hücre reseptörü (THR)'leri antijen sunan hücrelerin (makrofaj, dendritik hücre ve B-hücre vb.) sunmuş oldukları antijen parçalarının uzantıları ile etkileşime girince aktive olmaktadır. Aktivasyonun ardından, tirozin kinaz hücre içinde bulunan CD3 kompleksini fosforile ederek aktifleştirir. CD3- zeta ZAP70 ile bağlanan, CD3 ailesinin önemli bir parçasıdır. ZAP70'in SH2 bölgesi ZAP70'in transmembran proteinini fosforile eder, bu sayede CD3-zetanın immünoreseptörtirozin-temel aktivasyon motifleri (ITAMs) çift fosforilenmiş olur. Fosforile olmuş T hücre aktivasyon bağlayıcısının sinyal proteinleri bağlanması bu sayede değişir ve T hücre farklılaşması, çoğalması ile ilgili hedef genlerin transkripsiyonu gerçekleşir (20-21).

Sağlıklı B hücrelerde ZAP70 olmamasına rağmen, B lenfositlerde ifadelenen Syk protein tirozin kinazı ZAP70 ile %73 homoloji göstermektedir, bu proteinler T ve B hücre serisinin antijen tanıma yolağında homolog görevler yapmaktadırlar. Bazı çalışmalarda Syk eksikliği olan B hücrelerde bu görevi ZAP70'in üstlendiğini bildirmişlerdir (22). ZAP70 ifadelenmesi kemik iliğinde B hücre serisinin, pro-B den pre-B hücre geçiş aşamasında oldukça önemlidir. Genetik olarak inaktive edilmiş ZAP70 taşıyan pre-B-hücre reseptörünün kontrol ettiği hücre çoğalması, farklılaşması gibi işlevlerin bozulmasına neden olmaktadır (23).

ZAP70, kronik lenfosittik lenfomanın farklı formlarında prognostik faktör olarak kullanılmaktadır.

ZAP70 ifadelenmesi sadece kronik lenfoblastik lenfomada görülmemekte aynı zamanda, öncü-B ALL ve Diffüz büyük B-hücreli lenfoma gibi diğer hematolojik hastalıklarda da görülmekte olduğu rapor edilmiştir ve ZAP70 ifadelenmesinin kötü prognostik risk faktörü olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (22, 23).

ZAP70, B hücreli kronik lenfoblastik lösemili grupta yüksek miktarda ifadelenmektedir. Bu ifadelenmenin, ağır zincir immünologlobin genindeki somatik mutasyonların eksikliği ile bağlantılı olduğu ve yine ZAP70 ifadelenmesinin hastalığın prognozu ve sağ kalım ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. ZAP70 ifadelenmesi ve agresif seyreden hastalığın arasındaki ilişki henüz aydınlatılmamıştır. Fakat yapılan araştırmalarda lösemik hücrelerde ZAP70 'in, B- Hücre Reseptörü (BHR) sinyalinin arttırdığı gösterilmiştir (24). Ebeid (2008) yeni tanı BALL tanısı almış 50 çocuk hastada, ZAP70 ifadelenmesinin prognostik risk faktörleri üzerindeki etkisini incelemeyi amaçlamışlar ve ZAP70 ifadelenmesi ile hastalıksız sağ kalım ve artmış nüks oranı arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir (25). Wandroo (2008) 12 pediatrik öncü B-ALL hastasının örnekleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada ZAP70 ifadelenmesinin artmış olduğu, bu nedenle tanı ve tedavi aşamasında prognostik risk faktörü olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir (26). Literatürde T-ALL de ekzon 3,12 ve 13 te ZAP70 protein fonksiyonlarını bozan nokta mutasyonları tanımlanmıştır. İmmün yetersizlik ile ilişkilendirilmiş 5-UTR bölgesinde olan mutasyonların B-ALL örneklerinde olmadığı fakat ZAP70 ifadelenmesinin artmış olduğu gözlenmiş farklı mutasyonların olabileceği öngörülmüştür (27).

CRLF2 ve TSLP : Sitokinler ve reseptörleri, hematopoezde hücre canlılığı, çoğalması ve farklılaşması gibi önemli görevlerde rol oynarlar. Cytokine Receptor-Like Factor 2 (CRLF2), X kromozomunun kısa kolunda p22.3 te lokalizedir ve 8 ekzondan oluşmaktadır (13, 28). Thymic stromal lymphopoietin receptor (TSLPR) proteini, B-ALL de proto-onkogen olarak da bilinmektedir. CRLF2, IL7 alt ünitesi olan IL7R ile kompleks oluşturan ligandı Thymic stromal lymphopoietin (TSLP) ‘e bağlanır. TSLP, inflasmasyon bölgesinde epitel hücreler tarafından üretilir, üretilen TSLP miyeloid dendritik hücreler ile Th2 cevabını aktive eder. Ayrıca TSLP, erken dönem B-hücre gelişimini desteklediği ve in-vitro çalışmalarda B-ALL gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. 5. kromozomun uzun kolunda q22.1 de lokalize olan TSLP, 5 ekzondan oluşmaktadır. TSLP, interleukin-2 sitokin aile üyesi tip 1 sitokindir (13, 29, 30). TSLP sinyalizasyonu, IL7α ve TSLP reseptör alt ünitesi γ zincirinden oluşan heterodimerik reseptör kompleksi aracılığı ile olmaktadır. TSLP kas hücrelerinde, akciğer fibroblastlarında ifadelenmektedir, organ seviyesinde ise kalp, akciğer, karaciğer, dalak ve prostatda bulunmaktadır. Farelerde, TSLP’nin CD4+ ve CD8+ T hücrelerini aktive etmekte, insanda ise B-hücre serisi çoğalması ve farklılaşmasını sağlamakta olduğu bildirilmiştir (31). Reseptör kompleksine bağlanması ile TSLP birçok sinyal yolağını aktive edebilir özellik kazanmaktadır, JAK2 STAT, AKT1, ERK1/2, JAK2, Ribozomal protein S6 ve 4EBP1 gibi proteinleri içeren sinyal yolakları TSLP uyarılması ile aktifleşmektedir. TSLP sinyalizasyonu için IL7R ve CRLF2 nin heterodimerik reseptör kompleksi oluşturması gereklidir ve kompleks oluşması ile JAK2’ların fosforilazyonu ve aktive olması sağlanır. Sadece JAK’ların değil aynı zamanda AKT1, ERK1/2, JNKs, ribosomal protein S6 kinase ve 4E-BP1 gibi diğer proteinlerinde aktive olması TSLP sinyalizasyonu içerisinde bulunmaktadır (31-33).

Scheeren (2010) yaptıkları çalışmada TSLP’nin fetal insan öncül B-hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını tetiklediğini, TSLP‘nin insan fetal karaciğer kök hücresinde, pro-B ve pre-B hücrelerinde ifade edildiği rapor etmişlerdir (33).

Yoda (2010) TEL, MLL, TCF3 ve BCR-ABL translokasyonları yokluğunda, CRLF2 ifadelenmesinin önemli ölçüde artması kötü prognoz ile karakterize olduğunu pediatrik ve yetişkin B-ALL de rapor etmişlerdir. CRLF2 ifadesinin artmış olması, hastalığın yüksek risk olarak sınıflandırılmasına neden olduğu ve bu ifade artışının çocuklarda ve yetişkinlerde benzer etkileri klinik olarak gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda FLT3 mutasyonun varlığının klinik için karar verme noktasında olduğu gibi, B-ALL de artmış CRLF2 ifadesi allojenik kök hücre naklinin yapılıp yapılmamasına ya da kemoterapinin devam edilip edilmeyeceğine karar verilmesinde anahtar rol oynayabileceği bildirilmiştir (34). Pediatrik ve yetişkin öncü B-ALL’de CRLF2 mutasyon sıklığı %6 olarak bildirilmiştir (35). BCR-ABL pozitif hastaların %50 si CRLF2 geninde kromozomal translokasyonlar taşımaktadır. Bu translokasyonların büyük çoğunluğu CRFL2-P2Y8 ile CRLF2-IGH lokusu arasında olmaktadır (36).

Çoğu protoonkogenin aktif hale gelmesinde tek bir genetik anomali söz konusu olurken, CRLF2’nin aktifleşmesinde 2 genetik anomali mevcut olduğu düşünülmektedir. Birincisi gende olan delesyonlar, ikincisi ise CRLF2, JAK2,STAT yolağında olan somatik mutasyonların birlikteliği olarak sıralanabilir (37). Artmış ifadelenme seviyesi CRLF2 ve JAK2 mutasyonlarının birlikteliği, hematopoetik hücrelerin transformasyonuna ve B-ALL oluşumuna neden olabileceği çalışmalarda rapor edilmiştir (38). Tanımlanmış olan CRFL2-F232C mutasyonu, hematolojik ve nonhematolojik tümörlerde sitokin reseptör dimerizasyonunu bozmaktadır. Bu mutasyonun varlığı JAK2 enzimatik inhibitörlüğüne ve JAK2’nin fosforilasyonunun engellenmesine neden olur. F232C aktif mutasyonun lösemi ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur. CRLF2 ifadelenmesinde artış ve JAK2 mutasyonlarının birlikteliği JAK-STAT yolağının kontrolsüz aktivasyonuna neden olmaktadır (39).

JAK2: JAK2 (Janus Kinase) 9 kromozomun kısa kolunda 9p24 te lokalizedir, 25 ekzondan oluşmaktadır ve 4 farklı üyesi (Tyk2, JAK1, JAK2 ve JAK3) bulunan JAK ailesinin üyesidir (13). JAK aile üyeleri, JH1 ve JH2 olarak isimlendirilen ve birbirlerine yapısal olarak oldukça benzemekte olan 2 farklı bölgeden oluşmaktadırlar. JH1 Domain, fonksiyonel kinaz aktivitesine sahip, JH2 Domain ise diğer bölgelerin görevlerini düzenleyici rol oynamaktadır. Bu bölgelerin dışında bir SRC homoloji 2 Domain (SH2) ve tip 1 sitokin reseptörlerinin bağlandığı bir amino terminal FERM (Family of 4.1-Ezrin-Radixin-Moesin) homoloji Domain içermektedirler (40 ,41).

Signal Transducer and Activator of Transcription Protein (STAT)'ler hücre büyümesi, farklılaşması, programlanmış hücre ölümü, fetal gelişim, transformasyon, inflasmasyon ve immün cevap gibi değişik önemli biyolojik olaylara aracılık etmektedirler. STAT' lar 7 (STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, STAT6) farklı transkripsiyon faktöründen oluşmaktadırlar ve tüm STAT proteinleri aynı yapıya sahiptir. STAT'lar transaktivasyon bölgelerinde sakladıkları tirozin rezidüllerinin, JAK aracılığı ile fosforilasyonu sonucu, aktive olurlar ve hedef gen transkripsiyonunu arttırmak için hücre içinde dimerleşir ve translokasyona uğrarlar (42 ,43).

JAK-STAT sinyal ileti yolu, hematopoez için özellikle önemlidir. Reseptör, liganı olan sitokin ile bağlandığında, her iki JAK domaini birbirlerini fosforile edebilecek şekilde yakınlaştıran konformasyonel değişime uğramaktadır. JAK2 proteininin tirozin rezidüleri fosforile olur ve reseptörde SH2 bölgesi bulunduran proteinler ile etkileşime girebilecek bölgeler ortaya çıkmaktadır. Bu tirozin rezidülerine bağlanabilen, SH2 bölgesi taşıyan STAT'lar reseptörde birikir ve bunlarda JAK2 tarafından tirozin fosforilasyonuna uğrayarak aktive olurlar. Aktive olan STAT proteinleri homodimer ya da heterodimer oluşturmak üzere reseptörden ayrılır ve hücre çekirdeğinde birikerek DNA üzerinde özgül cevap elemanı dizileri ile etkileşerek, hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. Anormal STAT aktivasyonunun apoptozis, dirençli, büyüme faktörlerinden bağımsız hareket eden, düzensiz hücre çoğalması sonucu, lösemi gelişimindeki olaylar zincirine katkısı olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (41, 44, 45). Sitokin reseptör ve JAK ailesi üyeleri, B-ALL çalışmalarında büyük önem kazanmaya başlamışlardır. JAK mutasyonları, öncü B-ALL'de %10 olarak rastlanmaktadır. Özellikle BCR-ABL benzer B-ALL de, JAK mutasyonlarının IKZF1 ve CDKN2A/B değişimleri birlikteliği, lenfoid gelişimi, tümör baskılanmasını, tirozin kinaz aktivasyonlarını dâhil olmak üzere birçok hücresel yolakta görev alan genlerde olan genetik lezyonlar ile bağlantılıdır. JAK2 mutasyonlarının, Down-sendromlu ALL'de CRLF2 rearanjmanları ile birlikteliği %60 civarındadır (46).

IKZF1: 7. kromozomun kısa kolu 7p12.2 de lokalize olan IKZF1 (Ikaros Family Zinc Finger-1) 8 ekzondan oluşmakta olan bir transkripsiyon faktörüdür. IKAROS ailesi, N- ve C-Terminal uçlarında yüksek korunmuşluğa sahip olan Çinko parmak bölgeleri taşıyan Krupple tip Çinko parmak proteinlerindendir (13 ,47).

4 adet korunmuş Zn parmaktan oluşan N-Terminal uçtaki Zn parmak bölgesi ekzon 3 ve 5 tarafından kodlanarak diziye özel DNA bağlanma bölgesinin oluşumu sağlanır. N-Terminal bölgede 2. ve 3. çinko parmaklar tarafından sağlanan A/GGGAA DNA dizisi özel bağlanma motifi lenfosit farklılaşması aşamasında gereklidir. 2 adet korunmuş Zn parmaktan oluşan C-Terminal uçtaki Zn parmak bölgesi ise ekzon 8 tarafından kodlanır, kendisinin ve diğer aile üyelerinin oligomerizasyonu için gereklidir. Oligomerizasyonun, IKZF1 DNA bağlanma aktivitesini artırdığı in-vitro ve in-vivo çalışmalar ile gösterilmiştir (47-49).

IKZF1, normal lenfoid gelişiminde önemli olan IKAROS transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır, aynı zamanda bu faktör eritroid ve miyeloid serinin farklılaşmasında da görev alır. Normal lenfoid seri gelişiminde, IKZF1 hücre döngüsünde görev alan transkripsiyon düzenleyici genler olan CKN1Ave CDKN1B aracılığı ile hücre döngüsünde G1-S geçişini durdurur. CK2 (Casein Kinaz II) ile fosforile olan IKAROS'un DNA bağlanma kapasitesi azaltılır ve hücrenin S fazında ilerlemesi sağlanır (50). Winandy (1995) IKZF1 heterozigot mutant fareler üzerinde yapılan çalışma sonucunda, embriyonik dönemde lenfosit gelişiminin normal olduğu gözlenirken, doğumdan hemen sonra hücre çoğalmasının arttığı ve farklılaşmanın olmadığı ve doğumdan sonraki 3 ay içinde lösemi-lenfoma geliştiği gözlemlenmiştir (51). IKZF1 delesyonları, pediatrik öncü B-ALL risk sınıflandırılması amacı ile kullanılması düşünülen prognostik biyobelirteçler arasındadır (52). Gende olan delesyon veya mutasyonlar BCR-ABL negatif, pediatrik öncü B-ALL de kötü prognoz ile karakterizedir (53).

IKZF1 delesyonları, BCR-ABL pozitif B-ALL de %70, BCR-ABL1 negatif grupta ise %40 ilişkilidir ve her iki gruptada artmış nüks riski ve azalmış yaşam ömrü ile karakterizedir. Lenfosit farklılaşmasında temel düzenleyici olduğu bilinen IKZF1'in bu gelişimsel sisteme 2 önemli katkısı olduğu bilinmektedir. Bunlardan birincisi erken hematopoetik öncülerin lenfosit seriye farklılaşma potansiyelini sağlamasıdır, diğer önemli katkısı ise T ve B öncü hücre serilerinin çoğalma ve farklılaşma aşamasında, bu hücrelerin antijen repertuvarlarının seçimi ve kombinasyonlarının oluşumuna aracılık etmesidir. IKZF1 aktivitesinin kaybı sonucunda, B ve T öncü hücre lenfosit serisinin farklılaşma hataları nedeni ile lösemi oluşumu gerçekleşmektedir (52, 53). Dai (2014) yapmış oldukları 165 çalışmanın dâhil edildiği meta analiz çalışması sonucunda, Avrupa popülasyonu için, IKZF1 üzerinde bulunan rs4132601 ve rs11978267 numaralı değişimlerin pediatrik öncü B-ALL oluşumuna neden olabileceğini rapor etmişlerdir (54). IKZF1'in lenfoid seri farklılaşmasında olan görevi iyi bilinmesine rağmen, miyeloid serideki görevi henüz tamamıyla aydınlatılmamıştır, fakat miyeloid farklılaşmada görev aldığını belirten çeşitli işaretler söz konudur. Erken miyeloid seri öncüllerinde, IKZF1 fonksiyon kaybı öncül hücrelerin yaşam sürelerini uzatmaktadır. Eritropoez sırasında, IKZF1 eritroid seri hücrelerinin canlılığını ve farklılaşmasını desteklemektedir (55).

PAX5: Transkripsiyon faktörü olan Paired Box Domain Gene 5 (PAX5), B hücre serisinin gelişiminde rol oynayan önemli bir gendir. Transaktivatör ve baskılayıcı bölgesi olması nedeniyle, hedef genleri hem aktive etme hem de baskılama özelliği mevcuttur. Bu nedenle, B-hücre gelişiminde rol oynayan önemli genleri aktive ederken, diğer hücre serilerinin gelişiminde önemli genlerin baskılanmasını sağlamaktadır. B hücre lenfopoiezinin başlangıç aşamasında, EBF tarafından PAX5 ifadelenmesinin baskılanması gerçekleşir, bu başlangıç aşamasının

sonucunda B-lenfoid serisi gelişimi ve olgunlaşması için PAX5 ifadelenmesinin baskılanması ortadan kalkar ve erken Bhücrelerinden plazma hücresi oluşum aşamasına kadar görev ifadelenmesi devam eder. Bu nedenle PAX5'in B hücre gen ifadelenmesinde anahtar gen olduğu düşünülmektedir (56). PAX5, 9. kromozomun kısa kolu 9.p13 te lokalize olmuştur, 10 ekzondan oluşmaktadır (13, 57).

PAX5, N terminal ucunda bulunan Paired Box Domain (PBD), Oktapeptid Domain (O), Homeo Domain (HD) ile hedef genlerinin aktive olmasını sağlayan "prolin, serin ve threonin açısından zengin Domain (PST), Transaktivasyon Domain (TD) ve hedef genlerinin baskılanmasını sağlayan Inhibitory Domainden (I)" oluşmaktadır. PBD, B hücre gelişimi, B hücre serinin farklılaşması ve diğer hematopoetik serilerinin baskılanmasında önemli görev almaktadır. PAX5 inaktivasyonunda, olgun B hücrelerinin pro-B aşamasına geri döndüğü, bu aşamadan sonran sitokinler ile uyarılmaları sonucu farklı hücre serilerine farklılaşabildikleri (transdifferansiyon) bildirilmiştir (58).

PAX5, öncü B-serisi spesifik genlerinin transkripsiyon aktivasyonu kontrol ederek, diğer lenfoid serilerinin baskılanmasını ve olgun B-serisinin oluşumunun gerçekleşmesini sağlamaktadır. Hematopoetik kök hücreler ve öncül lenfoid seri hücrelerdeki kontrolsüz PAX5 ifadelenmesi T hücrelerinin azlığına, B hücrelerinin aşırı çoğalmasına neden olmaktadır. PAX5, öncül lenfoid hücrelerin hematopoetik hücre serilerine farklılaşmasını engelleyip bu öncül hücrelerin B hücrelerine yönlendirilmesini sağlayan özgün bir yazılım faktörü olması açısından B lenfositleri için çok önemlidir (59).

PAX5, B–ALL oluşumundaki somatik mutasyonların ana hedefidir. Öncü B-ALL'nin %30'unda PAX5 monoallelik kayıp veya nokta mutasyonları içermektedir. BCR-ABL negatif yüksek risk öncü B-ALL'nin %31,7 sinde genomik delesyonlar tespit edilirken, bu rakam BCR-ABL1 pozitif grup için yaklaşık %33 olarak belirlenmiştir. Yeniden düzenlenmeler ise %2–3 sıklık ile görülmektedir (60). PAX5 delesyonları, PAX5 inaktivasyonun asıl nedeni olarak gösterilmişlerdir. Bu delesyonlar PAX5 haploinsuffiency 'ne ve/veya DNA bağlanma bölgesi bozulan PAX5 ifadelenmesine neden olmaktadır. PAX5 haploinsuffiency STAT5 veya BCR-ABL1 aktivasyonuna sebep olarak ALL başlamasına neden olabilmektedir (61, 62).

Mullighan (2009) yaptıkları çalışmada 242 pediatrik B-ALL hastasının %32'sinde PAX5 mutasyonu tespit edilmiştir (53). Familiades (2009) 119 yetişkin Pro B-ALL hastasında yaptığı çalışmada, hastaların %30'un da PAX5 mutasyonu tespit edilmiştir (63). Shang (2013) pediatrik ve yetişkin B-ALL hastalarında, PAX-5 gen değişimleri taşıyan bireylerde, ZNRF1 ifadelenmesinin önemli ölçüde azaldığını rapor etmişlerdir ve PAX5 değişimleri taşıyan hastalarda ZNRF1'in lösemi gelişimine neden olabileceği görüşünü bildirmişlerdir (64). Shah (2013) öncü B-ALL örneklerinde 2 farklı aileyi oluşturan bireylerde, eksom sekanslama tekniği ile PAX5 geninde tekrarlayan germline bir mutasyon (p.Gly183Ser) tanımlamışlardır, bu mutasyon genin octapeptid bölgesinde olup, bu mutasyonun öncü B-ALL patogenezinde önemli olduğu rapor etmişlerdir. Mutasyon tanımlanması ardından yapılan fonksiyon ve gen ifadelenmesi belirleme çalışma sonucunda mutasyonun transkripsiyonel aktivasyon özelliğini azaltıcı etkisi olduğu sonucuna varılmıştır (65). Fazio (2015) pediatrik ve yetişkin öncü B-ALL hasta örneklerinde, PAX5 geni ile 5 yeni füzyon transkript (PAX5-CHFR/PAX5-SOX5/PAX5-POM121C/PAX5-MLLT3/PAX5-AUTS2) tanımlamışlardır (66).

Füzyon transkriptler PAX5 geninin transaktivayon bölgesi ve baskılayıcı bölgesinin inaktivasyonuna neden olacak şekilde oluşmakta olduğu ve anormal transkripsyon faktör olarak çalışmaya başladığını rapor etmişlerdir. Her biri hastalığın prognozu açısından oldukça önem taşımaktadır, PAX5-AUTS2 füzyon transkriptinin kötü prognoz ile ilişkili olduğu Denk (2012) yaptığı çalışmada bildirilmiştir. Yüksek heterojenlik gösteren PAX5 füzyon transkriptlerinin, her birinin lösemi gelişimi üzerinde olan katkısını anlamak oldukça zordur, fakat her bir füzyon transkript lösemi gelişiminin oluşma nedenini aydınlatıcı bir işaret olabileceği düşünülmektedir (66 ,67).

EBF: İnsan EBF transkripsiyon faktör ailesinin 4 üyesinden biri olan Early B cell factor 1 (EBF1), B hücre serinin farklılaşmasında anahtar olarak görev yapmaktadır. EBF1 CD79a promotörüne, DNA bağlanma bölgesi aracılığı ile bağlanarak, CD79a transkripsiyonel aktivasyonunu gerçekleştirmektedir. EBF1, 5.kromozomun uzun kolu q.34 üzerinde lokalize ve 17 ekzondan oluşmaktadır (13).

N-terminal bölgesinde oldukça yüksek korunmuşluğa sahip DNA Bağlanma Domain (DBD) bulundurmaktadır, DBD'i takip eden Ig-like/Plexins/Transcription Factors (IPT) Domain ile arasında bulunan RRARR motifi nükleer lokalizasyon sinyalini sağlamaktadır. EBF1'nin homo ve heterodimerizasyonu Helix-Loop-helix (HLH) Domain ile sağlanmaktadır, son olarak C-terminal bölgesinde transaktivasyon bölgesini bulunmaktadır (68).

EBF ailesi proteinlerinin, diğer DNA bağlanma transkrisyon faktörleri gibi yapısı ve fonksiyonu iyi tanımlanmıştır. DNA bağlanma bölgesi diğer türler arasında %75 ten fazla korunmuşluk göstermekte olan diziden oluşmaktadır (69). Daha az korunmuş olan C-terminal bölgesi transkripsiyonel aktivasyonda büyük rol oynamaktadır. Bu bölgede olan delesyonlar, transkripsiyonel aktivasyonunu bozmaktadır (70 ,71).

DBD, IPT ve TIG bölgelerinde olan missense mutasyonları genin fonksiyonunu bozmaktadır. EBF1, B-hücre serisi gelişimde görev alan, PAX5 transkripsiyon faktörü gibi genlerin ifadelenmesine katılmaktadır. EBF1, PAX5 promotörüne bağlanarak PAX5 ifadesini artırmaktadır,

B-hücre farklılaşma aşamasında ve diğer hücre serilerinde ifadelenen genlerin baskılanmasını PAX5, E2A ve EBF1 birlikte sağlamaktadır (72). PAX5 mutant pro B-hücrelerinde kontrolsüz EBF1 ifadelenmesi transkripsiyonel faktörler olarak bilinen birçok (C/EBPα, PU.1, ve ID2) genin down regülasyonuna neden olmaktadır (73).

Yapılan çalışmalarda, pro-B hücrelerinde aktive edilmiş ya da baskılanmış birçok genin olduğu, EBF1'nin bu epigenetik değişiklikleri başlatıcı konumda olduğu ortaya çıkarılmıştır. EBF1'i diğer transkripsiyon faktörlerinden ayıran en önemli fark, B hücre serinin gelişiminde kromatinin epigenetik yeniden düzenlenmesini aktive edebilmesidir. EBF1, direkt olarak kromatin yeniden düzenlenme kompleksleri olan SW1/SNF ve ko-aktivatörleri ile ilişki içerisindedir. Erken Bhücresi spesifik CD79a promotörüne, EBF1'nin bağlanması ile DNA metilasyonun azalması ve kromatin açılmasının artması gerçekleşmektedir (71). Prasad (2015) EBF1 geninin DNA tamir mekanizmasından sorumlu birçok (RAD51, SMC2, RAD51AP1) genin transkripsiyonel düzenlemesinde görev aldığını bildirmişlerdir.

Bu genlerden biri olan RAD51'in downregülasyonu DNA tamir mekanizmasında işlev kaybına ve çift zincirde kırıklar oluşmasına neden olduğu rapor edilmiştir. Öncül B-hücrelerde EBF1 heterozigotluğu lösemiden kaynaklanan hayatta kalma süresi %87 iken, PAX5 birlikteliği ile bu süre 40 için %25'e düşmektedir (74). Györy (2012) yapmış oldukları, genom tabanlı ilişkilendirme çalışmasında EBF1 B-hücrelerinin erken ve geç gelişim evrelerinde birçok genin (IRF4, IRF8, TCF3 (E2A), PAX5, AİOLOS (IKZF3), IKAROS (IKZF1), MYB ve MYBL2) transkripsiyonel aşamada kontrolünü sağladığını rapor etmişlerdir (75).Sonuç olarak çalışmalardan elde edilen verilere göre, EBF1'in B-hücre gelişiminin tüm aşamalarında en önemli gen olduğu bildirilmiştir.

CREBBP: CREB Binding Protein (CREBBP) hücre çoğalmasında, farklılaşmasından ve sağ kalımından sorumlu genlerin etkinliğini düzenleyen, birçok nüklear proteinin ifadelenmesinden sorumlu transkripsiyon faktörüdür. Bu görevinin yanı sıra CREBBP'nin, histonasetiltransferaz fonksiyonu da olduğu bilinmektedir ve bir dizi histonik olmayan proteinin asetillenmesinde görev almaktadır (76).

CREBBP ve paraloğu olan EP300; embriyonik gelişim, hematopoez, homoestazın düzenlenmesi, büyüme kontrolü biyolojik fonksiyonlarında kilit noktasındadır (77). 16. kromozomun kısa kolu 13.3 te lokalize olan CREBBP, 31 ekzondan oluşmaktadır (13).CREBBP, bir kinaz uyarılabilir bölge (KID), 2 adet glutamin zengin bölge ve bir bazik lösin fermuar bölgesi içeren bir proteindir. KID ve glutamin zengin bölgeler CREBBP in transaktivasyon ve fosforilasyonu için önemlidirler. Genom tabanlı yapılan çalışmalarda CREBBP'in yaklaşık 4000 promotör bölgesi ile ilişkili olduğu ve en önemlilerinin hücre döngüsünde görev alan RAS, siklin, ısı şok proteinleri olarak rapor edilmiştir (78). Hücre çoğalması, hayatta kalması ve farklılaşması gibi önemli hücresel fonksiyonları düzenleyen transkripsiyon faktörü olan CREBBP literatürde çoğu çalışmaya konu olmuştur. ALL ya da AML hastalarına ait kemik iliği örneklerinde CREBBP ifadelenmesinin artmış olduğu çalışmalarda gösterilmiş ve özellikle AML hastaları için bu ifade artışının kötü prognoz olarak tedavide seyrettiği bilinmektedir (78).

Nüks etmiş ALL'nin biyolojik mekanizması tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Son yıllarda genom ebadına yapılan çalışmalarda, tanıdan nükse kadar olan evrede birden çok genetik anomalinin olduğu ortaya konulmaktadır. Mullighan (2011) ALL'li hasta örneklerinde yapmış oldukları çalışmada, transkripsiyonel faktör olan CREBBP'in tanı ve nüks örneklerinde somatik mutasyonlar taşıdığını, bu mutasyonların CREBBP'in histon asetilasyon, transkripsiyonel düzenleme ve glukokortikoid tedaviye olan cevapta olan görevlerini bozduğunu rapor etmişlerdir (79).

Malinowska (2015) hiperdiploidi taşıyan 151 pediatrik ALL hastasında, CREBBP ve KRAS mutasyonlarının birlikteliğinin lösemik klon geliştirmek için yüksek risk getirebileceğini rapor etmişlerdir. Bu birlikteliğin hastalığın yüksek risk sınıflandırmasında girdiğini ve MRD için risk getirebileceğini rapor etmişlerdir. CREBBP mutasyonları taşıyan pediatrik ALL hastalarda nüks geliştirme riski %18-30 aralığında değişmekte olduğu rapor edilmiştir (80).

CREBBP ALL tanı örneklerinde artmış ifadenleme seviyesi gösterirken, remisyonda ya da lösemik olmayan hücrelerde ifadelenme seviyesinin artmadığı rapor edilmiştir. Bu nedenle artmış CREBBP seviyesi, hedef genlerin uyarılmasına, sonuç olarak hücre çoğalmasına neden olmaktadır. Yapılan in vitro çalışmalarda CREBBP mutasyonlarının büyük çoğunluğunun genin HAT Domain üzerinde olduğu ve bu mutasyonların genin fonksiyonunu bozduğu, glukokortikoid direncini etkilediği ve nüks ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (81).

Ma (2015) 20 pediatrik B-ALL hastasının tanı ve nüks örnekleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada NT5C2, CREBBP, WHSC1, TP53, USH2A, NRAS ve IKZF1 genlerinde olan mutasyonların nüks geliştirme riskini artırdığını rapor etmişlerdir (82). Huether (2014) 1000 (21 farklı kanser türü) pediatrik kanser hastasının örnekleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada, epigenetik düzenleyici proteinleri kodlayan 633 geni dizilemişler ve en sık mutasyon gördükleri H3F3A, PHF6, ATRX, KDM6A, SMARCA4, ASXL2, CREBBP, EZH2, MLL2, USP7, ASXL1, NSD2, SETD2, SMC1A ve ZMYM3 belirlemişlerdir (83).

Yapılan son çalışmalar göstermektedir ki, epigenetik mekanizmaların lösemi gelişiminde ve tedaviye verilen cevapta önemli olduğu bildirilmiştir. Epigenomun kontrolünü etkileyen birçok gende mutasyonlar tanımlanmış ve bu genlerin kodladığı proteinler DNA ya da kromatin paketlenmesinde önemli görevlere sahiptirler.

NR3C1: Nuclear receptor subfamıly 3, group c1 (NR3C1), streoid ailesi üyesi, 98kDa' luk sitoplazmik bir proteindir. 5.kromozomun uzun kolu q31.3 te lokalizedir ve 9 ekzondan oluşmaktadır (13). NR3C1'nin N-terminal ucunda, değişken transaktivasyon bölgesi, iki adet "zinc finger" taşıyan DNA bağlanma Domain (DBD), C-terminal ucunda ise ligand bağlama özelliği olan (LBD) bulunmaktadır (84). N-terminal transaktivasyon bölgesi, hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonundan sorumlu AF1 bölgesini içermektedir. İlk zinc finger bölgesi

de reseptörünün transkiripsiyonel inaktivasyondan sorumlu AF1 ve nüklear faktör KB bağlanma bölgelerini taşımaktadır. İkinci zinc finger bölgesi reseptör dimerizasyonu ve glukokortikoid cevap elementinin aktivitesini sağlamaktadır (85).

İnsan glukokortikoid reseptörünün (hGR): hGR-α (fonksiyonel) ve hGR-β (hormon bağlamayan) olmak üzere 2 izoformu mevcuttur. Her iki izoformu aynı genden alternatif kesim yöntemi ile üretilmektedir. Bu iki izoform 727 a.a'e kadar identik'tir. 728–777 arasındaki a.a'ler GRα oluştururken, 728-742 arası a.a'ler GRβ oluştururlar. Ancak sadece hGR-α hormon bağlama özelliğine sahip iken, hGR-β fonksiyonu üzerinde çalışılmaktadır. Transkripsiyonel olarak inaktif olmasına rağmen, gen ifadelenmesini düzenleyici fonksiyonu olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. GR-β inaktif GR-α'ya bağlanarak sinyal iletim mekanizmasını baskılama özelliği mevcuttur, fakat bu fonksiyonları henüz doğrulanabilmiş değildir (86). hGR-β'nin hGR-α üzerinde negatif dominant etkisi olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Hücre içerisinde inaktif olan reseptör, hücre sitoplazmasında bazı proteinlere (hsp90, hsp70, FKBP2) bağlı halde bulunmaktadır. Bu proteinler, reseptörün inaktif haldeyken nükleusa geçmesini engellemektedir. Herhangi bir glukokortikoidin bağlanması ile bu proteinlerin reseptörden ayrılması ve böylece reseptörün aktive olması gerçekleşir. Son tanımlanan izoform ise hGR-γ dir, fonksiyonu henüz tam olarak belirlenememiştir (87, 88).

Glukokortikoidler etkilerini reseptörleri aktive ederek göstermektedirler. Aktif reseptörlerin "transaktivasyon" ve "transrepresyon" adı verilen 2 temel etki mekanizmaları bulunmaktadır. Transaktivasyonda aktif reseptör sitoplazmadan nükleusa geçmektedir. Burada DNA'nın Glukokortikoid Reseptör element bölümüne bağlanarak bazı genlerin ekspresyonunu arttırır ve azaltmaktadır. Transrepresyonda aktif reseptör sitoplazmadan nükleusa geçer. Burada NF-κB ve AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek özellikle immün sistemle ilgili bazı genlerin ekspresyonunu baskılar anti-enflamatuar etkiyi gerçekleştirmektedir (89, 90).

Glukokortikoid tedavi anti-inflamatuar ve immünsupressif etkinliği nedeniyle pediatrik dönemde oldukça sık kullanılmaktadır. Glukokortikoid tedavi ile hücre döngüsünün durdurulması sonucu hücre çoğalmasının engellenmesi sağlanmaktadır. Glukokortikoidler lösemi tedavisinde çok büyük önem taşırlar, lösemi hastaların önemli bir çoğunluğunda glukokortikoid direnci gelişmesi sonucunda, tedavi kür oranları etkilenmektedir. Glukokortikoidlerin hücresel litik etkileri glukokortikoid reseptörü aracılığı ile olmaktadır (91). Pediatrik ALL hastalarının %10'u tedavi sırasında, glukokortikoid direnci ya da duyarlılığı geliştirmektedir. BFM (Berlin-FrankfurtMunster) gubunun belirlemesine göre glukokortikoid uygulamasına alınan ilk yanıt önemli bir prognostik faktör olmaktadır. Glukokortikoid uygulamasına direnç gelişmesi kötü prognoz ile ilişkilendirilmektedir (92).

Yapılan çalışmalarda pediatrik ALL' de hGR-α ifadelenmesi ile klinik cevap arasında ilişki olduğu belirlenmiştir, fakat reseptör ifadelenme seviyelerinin, klinik kullanımda halen sınırlar mevcuttur. Glukokortikoid reseptöründe tanımlanan mutasyonlar genin iki farklı bölgesinde yoğunlaşma göstermiştir. Mutasyonlar genellikle, mikrodelesyon, nokta mutasyonu çerçeve kayması (frame shift) mutasyonu şeklindedir. Lösemili hastalarda gelişen glukokortikoid direncinin artmış GRβ ekspresyonu ve azalmış GRα / GRβ oranını ile ilişkili olduğu bildiren çalışmalar mevcuttur (93, 94).

Longui (2000) T-ALL'li hasta grubunda yapmış oldukları çalışmada, klinik glukokortikoid direnci pozitifliği ile GRα/β oranı düşüklüğü arasında paralellik mevcut olduğu rapor edilmiştir (95). Haarman (2002) pediatrik lösemili hasta grubunda yapmış oldukları çalışmada, GR izoformları olan, GR-α, GR-β ve GR-γ Glukokortikoid direnci ile olan ilişkisini araştırmışlardır. GR-α, protein ve m-RNA düzeyinde ifadelenme seviyesi tüm lösemi alt gruplarında yüksek iken, T-ALL ve başlangıç aşamasındaki AML de düşük olduğun sonucuna varmışlar ve literatürde yapılan çalışmalar ile sonuçlarını karşılaştırarak doğrulamışlardır (94).

Labuda (2010) 310 pediatrik ALL hastada yapmış oldukları çalışmada NR3C1 geninde bulunan 4 polimorfizmi taramışlar ve bu polimorfizmlerin sağ kalım üzerinde etkisi olduğunu rapor etmişlerdir (p=0.03) (96). Tissing (2006) pediatrik ALL hastalarında glukokortikoid reseptör promotor transkriptlerinin (1A1,1A2,1A3,1B ve 1C) glukokortikoid direnci ile ilişkisini incelemişlerdir ve sonuç olarak promotorda olan ifade farklılıklarının glukokortikoid direnci gelişmesi ile ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir (97).

SONUÇ

Pediatrik dönemin en sık görülen malign hastalığı olan lösemi, etiyolojisi kesin olarak bilinmeyen ve birbirinden heterojen alt grupları olduğu bilinen geniş bir hastalık grubudur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda çoğalma, farklılaşma ve apoptozisde görev alan genlerde oluşan anomalilerin etiyolojide rol aldığı öne sürülmektedir.

Lösemilerde saptanan bu genetik anomaliler, hücrenin biyolojisini, dolayısıyla da hastalığın klinik seyir ve prognozunu etkilemektedir. Bu anomalilerin bilinmesi bu basamaklara etki eden tedavi seçeneklerinin bulunması ve bu sayede kemoterapiye dirençli ve nüks gösteren lösemilerin tedavi edilmesine, kişiselleştirilmiş ve önleyici tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir. Pediatrik öncü B-ALL çok heterojen bir lösemi alt grubudur, hematopoetik kök hücreden, B-hücre serisinin gelişimi, birden çok transkripsiyon faktör, gen ve genlerin ilişkili olduğu yolaklar ile düzenlenmektedir. Bu nedenle öncü B-ALL multigenetik, heterojen ve birden çok tanımlanmış alt grubunun olmasının yanı sıra henüz sınıflandırılması mümkün olmayan, prognostik faktörler ışığında ayrımı yapılması muhtemel olan birden çok öncü B-ALL alt tipi mevcut olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Roberts KG, Mullighan CG. Genomics in acute lymphoblastic leukaemia: insights and treatment implications. Nature reviews Clinical oncology, 2015;12(6):344-57.

2. Mullighan CG, Downing JR. Genome-wide profiling of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia: recent insights and future directions. Leukemia, 2009 J;23(7):1209-18.

3. Berg SL, Steuber P, Poplack DG. Clinical manifestations of acute lymphoblastic leukemia. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al., editors. Hematology Basic principles and practice. Philadelphia; 2005. p. 1155-62.

4. Smith M, Arthur D, Camitta B, et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology, 1996;14(1):18-24.

5. Gokbuget N, Hoelzer D. Recent approaches in acute lymphoblastic leukemia in adults. Reviews in clinical and experimental hematology, 2002;6(2):114-41; discussion 200-2.

6. Durmaz ÖE. B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi B cell activation and antibody. Türkderm, 2013;47(1):24-7.

7. Schwab CJ, Chilton L, Morrison H, et al. Genes commonly deleted in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: association with cytogenetics and clinical features. Haematologica, 2013 ;98(7):1081-8.

8. Harrison CJ. Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program. 2013;:118-25.

9. Parikh NI, Vasan RS. Assessing the clinical utility of biomarkers in medicine. Biomarkers in medicine, 2007;1(3):419-36.

10. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? Current opinion in HIV and AIDS, 2010;5(6):463-6.

11. Oikawa T. ETS transcription factors: possible targets for cancer therapy. Cancer science. 2004;95(8):626-33.

12. Rashed RA, Kadry DY, El Taweel M, Abd El Wahab N, Abd El Hameed T. Relation of BAALC and ERG Gene Expression with Overall Survival in Acute Myeloid Leukemia Cases. Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP. 2015;16(17):7875-82.

13. http://www.ensembl.org/index.html. [cited; Available from:

14. Siddique HR, Rao VN, Lee L, Reddy ES. Characterization of the DNA binding and transcriptional activation domains of the erg protein. Oncogene. 1993 Jul;8(7):1751-5.

15. Bock J, Mochmann LH, Schlee C, et al. ERG transcriptional networks in primary acute leukemia cells implicate a role for ERG in deregulated kinase signaling. PloS one. 2013;8(1):e52872.

16. Eid MA, Attia M, Abdou S, et al. BAALC and ERG expression in acute myeloid leukemia with normal karyotype: impact on prognosis. International journal of laboratory hematology. 2010 Apr;32(2):197-205.

17. Pigazzi M, Masetti R, Martinolli F, et al. Presence of high-ERG expression is an independent unfavorable prognostic marker in MLL-rearranged childhood myeloid leukemia. Blood. 2012 Jan 26;119(4):1086-7; author reply 7-8.

18. Salek-Ardakani S, Smooha G, de Boer J, et al. ERG is a megakaryocytic oncogene. Cancer research. 2009 Jun 1;69(11):4665-73.

19. Marcucci G, Baldus CD, Ruppert AS, et al. Overexpression of the ETS-related gene, ERG, predicts a worse outcome in acute myeloid leukemia with normal karyotype: a Cancer and Leukemia Group B study. Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology. 2005 Dec 20;23(36):9234-42.

20. Huber RG, Fan H, Bond PJ. The Structural Basis for Activation and Inhibition of ZAP-70 Kinase Domain. PLoS computational biology. 2015 Oct;11(10):e1004560.

21. Saito T, Matsuda Y, Ito H, Fusaki N, Hori T, Yamamoto T. Localization of Zap70, the gene for a T cell-specific protein tyrosine kinase, to mouse and rat chromosomes by fluorescence in situ hybridization and molecular genetic linkage analyses. Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society. 1997 Jan;8(1):45-6.

22. Chen L, Widhopf G, Huynh L, et al. Expression of ZAP-70 is associated with increased Bcell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 Dec 15;100(13):4609-14.

23. Chakupurakal G, Bell A, Griffiths M, Wandroo F, Moss P. Analysis of ZAP70 expression in adult acute lymphoblastic leukaemia by real time quantitative PCR. Molecular cytogenetics. 2012;5(1):22.

24. Kong GH, Bu JY, Kurosaki T, Shaw AS, Chan AC. Reconstitution of Syk function by the ZAP-70 protein tyrosine kinase. Immunity. 1995 May;2(5):485-92.

25. Ebeid E, Kamel M, Moussa H, Galal U. ZAP-70 as a possible prognostic factor in childhood acute lymphoblastic leukemia. Journal of the Egyptian National Cancer Institute. 2008 Jun;20(2):121-6.

26. Wandroo F, Bell A, Darbyshire P, et al. ZAP-70 is highly expressed in most cases of childhood pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. International journal of laboratory hematology. 2008 Apr;30(2):149-57.

27. Crespo M, Villamor N, Gine E, et al. ZAP-70 expression in normal pro/pre B cells, mature B cells, and in B-cell acute lymphoblastic leukemia. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2006 Feb 1;12(3 Pt 1):726-34.

28. Tasian SK, Loh ML. Understanding the biology of CRLF2-overexpressing acute lymphoblastic leukemia. Critical reviews in oncogenesis. 2011;16(1-2):13-24.

29. Quentmeier H, Drexler HG, Fleckenstein D, et al. Cloning of human thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and signaling mechanisms leading to proliferation. Leukemia. 2001 Aug;15(8):1286-92.

30. Ziegler SF. The role of thymic stromal lymphopoietin (TSLP) in allergic disorders. Current opinion in immunology. 2010 Dec;22(6):795-9.

31. Zhong J, Sharma J, Raju R, et al. TSLP signaling pathway map: a platform for analysis of TSLP-mediated signaling. Database : the journal of biological databases and curation. 2014;2014:bau007.

32. Rochman Y, Leonard WJ. The role of thymic stromal lymphopoietin in CD8+ T cell homeostasis. Journal of immunology. 2008 Dec 1;181(11):7699-705.

33. Scheeren FA, van Lent AU, Nagasawa M, et al. Thymic stromal lymphopoietin induces early human B-cell proliferation and differentiation. European journal of immunology. 2010 Apr;40(4):955-65.

34. Yoda A, Yoda Y, Chiaretti S, et al. Functional screening identifies CRLF2 in precursor Bcell acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2010 Jan 5;107(1):252-7.

35. Harvey RC, Mullighan CG, Chen IM, et al. Rearrangement of CRLF2 is associated with mutation of JAK kinases, alteration of IKZF1, Hispanic/Latino ethnicity, and a poor outcome in pediatric B-progenitor acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2010 Jul 1;115(26):5312-21.

36. Harrison CJ. Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program. 2013;2013:118-25.

37. Mullighan CG, Collins-Underwood JR, Phillips LA, et al. Rearrangement of CRLF2 in Bprogenitor- and Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia. Nature genetics. 2009 Nov;41(11):1243-6.

38. Roll JD, Reuther GW. CRLF2 and JAK2 in B-progenitor acute lymphoblastic leukemia: a novel association in oncogenesis. Cancer research. 2010 Oct 1;70(19):7347-52.

39. Ensor HM, Schwab C, Russell LJ, et al. Demographic, clinical, and outcome features of children with acute lymphoblastic leukemia and CRLF2 deregulation: results from the MRC ALL97 clinical trial. Blood. 2011 Feb 17;117(7):2129-36.

40. Schindler CW. Series introduction. JAK-STAT signaling in human disease. The Journal of clinical investigation. 2002 May;109(9):1133-7.

41. Tefferi A. Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1. Leukemia. 2010 Jun;24(6):1128-38.

42. Er TK, Lin SF, Chang JG, et al. Detection of the JAK2 V617F missense mutation by high resolution melting analysis and its validation. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry. 2009 Oct;408(1-2):39-44.

43. Veneri D, Capuzzo E, de Matteis G, et al. Comparison of JAK2V617F mutation assessment employing different molecular diagnostic techniques. Blood transfusion = Trasfusione del sangue. 2009 Jul;7(3):204-9.

44. McLornan D, Percy M, McMullin MF. JAK2 V617F: a single mutation in the myeloproliferative group of disorders. The Ulster medical journal. 2006 May;75(2):112-9.

45. Vladareanu AM, Muller-Tidow C, Bumbea H, Radesi S. Molecular markers guide diagnosis and treatment in Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative disorders (Review). Oncology reports. 2010 Mar;23(3):595-604.

46. Mullighan CG, Zhang J, Harvey RC, et al. JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2009 Jun 9;106(23):9414-8.

47. Georgopoulos K, Moore DD, Derfler B. Ikaros, an early lymphoid-specific transcription factor and a putative mediator for T cell commitment. Science. 1992 Oct 30;258(5083):80812.

48. Joshi I, Yoshida T, Jena N, et al. Loss of Ikaros DNA-binding function confers integrindependent survival on pre-B cells and progression to acute lymphoblastic leukemia. Nature immunology. 2014 Mar;15(3):294-304.

49. Yoshida T, Georgopoulos K. Ikaros fingers on lymphocyte differentiation. International journal of hematology. 2014 Sep;100(3):220-9.

50. van der Sligte NE, Scherpen FJ, Ter Elst A, Guryev V, van Leeuwen FN, de Bont ES. Effect of IKZF1 deletions on signal transduction pathways in Philadelphia chromosome negative pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL). Experimental hematology & oncology. 2015;4:23.

51. Winandy S, Wu P, Georgopoulos K. A dominant mutation in the Ikaros gene leads to rapid development of leukemia and lymphoma. Cell. 1995 Oct 20;83(2):289-99.

52. Waanders E, van der Velden VH, van der Schoot CE, et al. Integrated use of minimal residual disease classification and IKZF1 alteration status accurately predicts 79% of relapses in pediatric acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2011 Feb;25(2):254-8.

53. Mullighan CG, Su X, Zhang J, et al. Deletion of IKZF1 and prognosis in acute lymphoblastic leukemia. The New England journal of medicine. 2009 Jan 29;360(5):470-80.

54. Dai YE, Tang L, Healy J, Sinnett D. Contribution of polymorphisms in IKZF1 gene to childhood acute leukemia: a meta-analysis of 33 case-control studies. PloS one. 2014;9(11):e113748.

55. de Rooij JD, Beuling E, van den Heuvel-Eibrink MM, et al. Recurrent deletions of IKZF1 in pediatric acute myeloid leukemia. Haematologica. 2015 Sep;100(9):1151-9.

56. Shang Z, Zhao Y, Zhou K, Xu Y, Huang W. PAX5 alteration-associated gene-expression signatures in B-cell acute lymphoblastic leukemia. International journal of hematology. 2013 May;97(5):599-603.

57. Holmes ML, Pridans C, Nutt SL. The regulation of the B-cell gene expression programme by Pax5. Immunology and cell biology. 2008 Jan;86(1):47-53.

58. Nutt SL, Busslinger M. Monoallelic expression of Pax5: a paradigm for the haploinsufficiency of mammalian Pax genes? Biological chemistry. 1999 Jun;380(6):601-11.

59. Cobaleda C, Schebesta A, Delogu A, Busslinger M. Pax5: the guardian of B cell identity and function. Nature immunology. 2007 May;8(5):463-70.

60. Iacobucci I, Lonetti A, Paoloni F, et al. The PAX5 gene is frequently rearranged in BCRABL1-positive acute lymphoblastic leukemia but is not associated with outcome. A report on behalf of the GIMEMA Acute Leukemia Working Party. Haematologica. 2010 Oct;95(10):1683-90.

61. Heltemes-Harris LM, Willette MJ, Ramsey LB, et al. Ebf1 or Pax5 haploinsufficiency synergizes with STAT5 activation to initiate acute lymphoblastic leukemia. The Journal of experimental medicine. 2011 Jun 6;208(6):1135-49.

62. Miller CB, Mullighan CG, Su X, et al. Pax5 Haploinsufficiency cooperates with BCR-ABL1 to induce acute lymphoblastic leukemia. ASH Annu Meeting; 2008. p. 112-293.

63. Familiades J, Bousquet M, Lafage-Pochitaloff M, et al. PAX5 mutations occur frequently in adult B-cell progenitor acute lymphoblastic leukemia and PAX5 haploinsufficiency is associated with BCR-ABL1 and TCF3-PBX1 fusion genes: a GRAALL study. Leukemia. 2009 Nov;23(11):1989-98.

64. Shang Z, Zhao Y, Zhou K, Xu Y, Huang W. PAX5 alteration-associated gene-expression signatures in B-cell acute lymphoblastic leukemia. International journal of hematology. 2013 May;97(5):599-603.

65. Shah S, Schrader KA, Waanders E, et al. A recurrent germline PAX5 mutation confers susceptibility to pre-B cell acute lymphoblastic leukemia. Nature genetics. 2013 Oct;45(10):1226-31.

66. Fazio G, Daniele G, Cazzaniga V, et al. Three novel fusion transcripts of the paired box 5 gene in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. Haematologica. 2015 Jan;100(1):e14-7.

67. Denk D, Nebral K, Bradtke J, et al. PAX5-AUTS2: a recurrent fusion gene in childhood Bcell precursor acute lymphoblastic leukemia. Leukemia research. 2012 Aug;36(8):e178-81.

68. Boller S, Grosschedl R. The regulatory network of B-cell differentiation: a focused view of early B-cell factor 1 function. Immunological reviews. 2014 Sep;261(1):102-15.

69. Liao D. Emerging roles of the EBF family of transcription factors in tumor suppression. Molecular cancer research : MCR. 2009 Dec;7(12):1893-901.

70. Hagman J, Gutch MJ, Lin H, Grosschedl R. EBF contains a novel zinc coordination motif and multiple dimerization and transcriptional activation domains. The EMBO journal. 1995 Jun 15;14(12):2907-16.

71. Hagman J, Ramirez J, Lukin K. B lymphocyte lineage specification, commitment and epigenetic control of transcription by early B cell factor 1. Current topics in microbiology and immunology. 2012;356:17-38.

72. Heltemes-Harris LM, Willette MJ, Ramsey LB, et al. Ebf1 or Pax5 haploinsufficiency synergizes with STAT5 activation to initiate acute lymphoblastic leukemia. The Journal of experimental medicine. 2011 Jun 6;208(6):1135-49.

73. Liao D. Emerging roles of the EBF family of transcription factors in tumor suppression. Molecular cancer research : MCR. 2009 Dec;7(12):1893-901.

74. Prasad MA, Ungerback J, Ahsberg J, et al. Ebf1 heterozygosity results in increased DNA damage in pro-B cells and their synergistic transformation by Pax5 haploinsufficiency. Blood. 2015 Jun 25;125(26):4052-9.

75. Gyory I, Boller S, Nechanitzky R, et al. Transcription factor Ebf1 regulates differentiation stage-specific signaling, proliferation, and survival of B cells. Genes & development. 2012 Apr 1;26(7):668-82.

76. Iyer NG, Ozdag H, Caldas C. p300/CBP and cancer. Oncogene. 2004 May 24;23(24):4225-31.

77. Blobel GA. CREB-binding protein and p300: molecular integrators of hematopoietic transcription. Blood. 2000 Feb 1;95(3):745-55.

78. Cho EC, Mitton B, Sakamoto KM. CREB and leukemogenesis. Critical reviews in oncogenesis. 2011;16(1-2):37-46.

79. Mullighan CG, Zhang J, Kasper LH, et al. CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia. Nature. 2011 Mar 10;471(7337):235-9.

80. Malinowska-Ozdowy K, Frech C, Schonegger A, et al. KRAS and CREBBP mutations: a relapse-linked malicious liaison in childhood high hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2015 Aug;29(8):1656-67.

81. Inthal A, Zeitlhofer P, Zeginigg M, et al. CREBBP HAT domain mutations prevail in relapse cases of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia. 2012 Aug;26(8):1797-803.

82. Ma X, Edmonson M, Yergeau D, et al. Rise and fall of subclones from diagnosis to relapse in pediatric B-acute lymphoblastic leukaemia. Nature communications. 2015;6:6604.

83. Huether R, Dong L, Chen X, et al. The landscape of somatic mutations in epigenetic regulators across 1,000 paediatric cancer genomes. Nature communications. 2014;5:3630.

84. Zhang Z, Burch PE, Cooney AJ, et al. Genomic analysis of the nuclear receptor family: new insights into structure, regulation, and evolution from the rat genome. Genome research. 2004 Apr;14(4):580-90.

85. Tao Y, Williams-Skipp C, Scheinman RI. Mapping of glucocorticoid receptor DNA binding domain surfaces contributing to transrepression of NF-kappa B and induction of apoptosis. The Journal of biological chemistry. 2001 Jan 26;276(4):2329-32.

86. Hecht K, Carlstedt-Duke J, Stierna P, Gustafsson J, Bronnegard M, Wikstrom AC. Evidence that the beta-isoform of the human glucocorticoid receptor does not act as a physiologically significant repressor. The Journal of biological chemistry. 1997 Oct 17;272(42):26659-64.

87. Hayashi R, Wada H, Ito K, Adcock IM. Effects of glucocorticoids on gene transcription. European journal of pharmacology. 2004 Oct 1;500(1-3):51-62.

88. Prima V, Depoix C, Masselot B, Formstecher P, Lefebvre P. Alteration of the glucocorticoid receptor subcellular localization by non steroidal compounds. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2000 Jan-Feb;72(1-2):1-12.

89. Longui CA, Vottero A, Adamson PC, et al. Low glucocorticoid receptor alpha/beta ratio in T-cell lymphoblastic leukemia. Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme. 2000 Oct;32(10):401-6.

90. Ray A, Prefontaine KE. Physical association and functional antagonism between the p65 subunit of transcription factor NF-kappa B and the glucocorticoid receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1994 Jan 18;91(2):752-6.

91. Haarman EG, Kaspers GJ, Pieters R, Rottier MM, Veerman AJ. Glucocorticoid receptor alpha, beta and gamma expression vs in vitro glucocorticod resistance in childhood leukemia. Leukemia. 2004 Mar;18(3):530-7.

92. Bhadri VA, Trahair TN, Lock RB. Glucocorticoid resistance in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. Journal of paediatrics and child health. 2012 Aug;48(8):634-40.

93. Ho GA, Odenwald E, Reiter A, Sauter S, Riehm H. Lack of correlation between glucocorticoid receptor levels, response to prednisone monotherapy and relapse-free survival in childhood leukemia. Proc Am Soc Clin Oncol. 1991;18(3):530-7.

94. Haarman EG, Kaspers GJ, Pieters R, et al. In vitro glucocorticoid resistance in childhood leukemia correlates with receptor affinity determined at 37 degrees C, but not with affinity determined at room temperature. Leukemia. 2002 Sep;16(9):1882-4.

95. Longui CA, Vottero A, Adamson PC, et al. Low glucocorticoid receptor alpha/beta ratio in T-cell lymphoblastic leukemia. Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme. 2000 Oct;32(10):401-6.

96. Labuda M, Gahier A, Gagne V, Moghrabi A, Sinnett D, Krajinovic M. Polymorphisms in glucocorticoid receptor gene and the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). Leukemia research. 2010 Apr;34(4):492-7.

97. Tissing WJ, Meijerink JP, Brinkhof B, et al. Glucocorticoid-induced glucocorticoidreceptor expression and promoter usage is not linked to glucocorticoid resistance in childhood ALL. Blood. 2006 Aug 1;108(3):1045-9.