

# Mutacije GATA transkripcijskog faktora u hematološkim poremećajima

---

Turkalj, Ema

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:740309>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-26**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**Sveučilište u zagrebu**  
**Medicinski fakultet**

**Ema Turkalj**

**Mutacije GATA transkripcijskog faktora u hematološkim  
poremećajima**

**DIPLOMSKI RAD**



**U Zagrebu, 2023.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za hematologiju Kliničke bolnice Merkur pod vodstvom prim. dr. sc. Inge Mandac Smoljanović i predan na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## Abecedni popis i objašnjenje kratica i pokrata

ALL – akutna limfoblastična leukemija

AML – akutna mijeloična leukemija

ASD – atrijski septalni defekt

$\beta$ -TM –  $\beta$  talasemija major

BaP – bazofilne prekursorske stanice

Bcl-XL – protein B-staničnog ekstra velikog limfoma, engl. *B-cell lymphoma-extra large protein*

BCP-ALL – prekursori B-stanični ALL, engl. *B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia*

BFU-E – jedinice koje naglo stvaraju eritroide, engl. *burst-forming unit-erythroid*

BMMC – mastociti iz koštane srži, engl. *bone marrow mast cells*

BMP4 – koštani morfogenetski protein 4, engl. *bone morphogenetic protein 4*

BRD3 – protein vezanja bromodomene 3, engl. *bromodomain-containing protein 3*

CBF-AML – akuta mijeloična leukemija s faktorom vezanja na jezgru, engl. *core binding factor acute myeloid leukemia*

CBP – CREB vežući protein, engl. *CREB-binding protein*

CDC6 – ciklus stanične diobe 6, engl. *cell division cycle 6*

CDKI – inhibitor kinaze ovisan o ciklinu, engl. *cyclin-dependent kinase inhibitor*

Cdkn1a – inhibitor kinaze 1a ovisan o ciklinu, engl. *cyclin dependent kinase inhibitor 1A*

CEP – kongenitalna eritropoetska porfirija, engl. *congenital erythropoietic porphyria*

CFU-E – jedinice koje stvaraju eritroide, engl. *colony-forming unit-erythroid*

CFU-Mk – megakariocitna jedinica koja stvara kolonije, engl. *colony forming unit-megakaryocytes*

CHD – kongenitalne srčane bolesti, engl. *congenital heart disease*

CHL – klasični Hodgkinov limfom, engl. *classical Hodgkin lymphoma*

c-kit – receptor tirozin kinaze

CML – kronična mijeloična leukemija

CMP – učestali mijeloični progenitor, engl. *common myeloid progenitor*

CMV - citomegalovirus

c-Myc – onkogen stanične mijelocitomatoze, engl. *cellular myelocytomatosis oncogene*

CNS – središnji živčani sustav, engl. *central nervous system*

CRISPR – grupirana pravilno razmaknuta kratka palindromska ponavljanja, engl. *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*

CTCF – CCCTC vežući faktor, engl. *CCCTC-binding factor*

C-ZnF – C-terminalna domena cinkovog prsta, engl. *C-terminal zinc finger domain*

DBA – Diamond-Blackfanova anemija

DCML – B i NK limfoidna deficijencija

DNA – deoksiribonukleinska kiselina, engl. *deoxyribonucleic acid*

DNAzyme - deoksiribozim

DS – Downov sindrom

EBV – Epstein-Barr virus

EDAG – gen povezan s eritroidnom diferencijacijom, engl. *erythroid differentiation-associated gene*

EpoR – receptor eritropoetina

ERK – kinaza regulirana izvanstaničnim signalom, engl. *extracellular signal-regulated kinase*

ESC – embrionalne matične stanice, engl. *embryonic stem cells*

ET – esencijalna trombocitemija

ETP-ALL – rani T-stanični prekurorski ALL, engl. *early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia*

ETS2 – onkogen eritroblastoze 2

ETV2 – Ets varijanta transkripcijskog faktora 2

FLI1 – transkripcijski faktor integracije prijatelja leukemija 1, engl. *friend leukemia integration 1*

Flvcr1 – protein povezan s receptorom 1 podskupine C virusa mačje leukemije, engl. *feline leukemia virus subgroup C receptor-related protein 1*

FOG1 – prijatelj GATA1, engl. *friend of GATA1*

GATA-FL – GATA protein pune duljine, engl. *GATA1 full-length*

GATA1s – kraća izoforma GATA1, engl. *short isoform of GATA1*

GCN5 – nedepresibilna histonska acetilaza opće kontrole 5, engl. *general control non-depressible 5*

GF11B – transkripcijski represor 1B neovisan o faktoru rasta, engl. *growth factor independent 1B transcriptional repressor*

GIT – gastrointestinalni sustav, engl. *gastrointestinal tract*

GMP – granulocitni/makrofagni progenitorni

GPX4 – glutation peroksidaza 4

H3K27 – histon 3 lizin 27

HAT – histonska acetiltransferaza

HDAC1 – histonska deacetilaza 1

HLH – hemofagocitna limfohistiocitoza

HS – hipersenzitivna mjesta, engl. *hypersensitive sites*

HSC – hematopoetske matične stanice, engl. *hematopoietic stem cells*

HSCT – transplantacija HSC

HSF1 – faktor toplinskog šoka 1, engl. *heat shock factor 1*

HSP70 – protein toplinskog šoka 70, engl. *heat shock protein 70*

HSPC – hematopoetske matične / progenitorske stanice, engl. *hematopoietic stem/progenitor cells*

HSV – herpes simplex virus

HVLPD – limfoproliferativni poremećaj nalik vakciniformnoj hidroi, engl. *hydroa vacciniforme-like lymphoproliferative disorder*

IgE – imunoglobulin E

IL-4 – interleukin 4

ILC – urođene limfoidne stanice, engl. *innate lymphoid cells*

JMML – juvenilna mijelomonocitna leukemija

KLF1 – Krüppel faktor 1

KMT2A – histon-lizin metiltransferaza 2A

LDB1 – protein koji se veže na LIM domenu 1, engl. *LIM domain-binding protein 1*

LMO2 – protein samo na LIM domeni 2, engl. *LIM domain only 2*

LT-HSC – dugotrajne hematopoetske matične stanice, engl. *long-term hematopoietic stem cells*

MDS – mijelodisplastični sindrom

MeCP1 – metil-CpG vezujući protein 1, engl. *methyl-CpG binding protein 1*

MEL – mišje eritroleukemijske stanice

MEP – megakaiocitni/eritroidni progenitori

miRNA – mikroRNA

ML-DS – mijeloična leukemija u djece s Downovim sindromom, engl. *myeloid leukemia in Down syndrome*

MMA – monometilarsonska kiselina, engl. *monomethylarsonic acid*

MonoMAC – sindrom monocitopenije i mikobakterijske infekcije

MPC – multipotentne progenitorske stanice, engl. *multipotent progenitor cells*

MPN – mijeloproliferativne neoplazme

mRNA – glasnička RNA, engl. *messenger RNA*

MYB – onkogen mijeloblastoze, engl. *myeloblastosis oncogene*

NAN – nanokapsule nukleinske kiseline, engl. *nucleic acid nanocapsule*

NK – prirodno ubilačke stanice, engl. *natural killer cells*

NLPHL – nodularna limfoidna predominacija Hodgkinovog limfoma, engl. *nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma*

N-TAD – N-terminalna transaktivacijska domena

NuRD – kompleks remodeliranja i deacetilacije nukleosoma, engl. *nucleosome remodeling deacetylase complex*

N-ZnF – N-terminalna domena cinkovog prsta, engl. *N-terminal zinc finger domain*

OXPPOS – oksidativna fosforilacija, engl. *oxidative phosphorylation*

PAP – plućna alveolarna proteinoza

PEBP1 – fosfatidiletanolamin vežujući protein 1, engl. *phosphatidylethanolamine binding protein 1*

Ph – Philadelphia kromosom

PI3K – fosfatidilinozitol kinaza 3, engl. *phosphatidylinositol 3-kinase*

PMF – primarna mijelofibroza

prePMF – prefibrotična primarna mijelofibroza

PTM – posttranslacijske modifikacije

PU.1 – navodni onkogen 1, engl. *putative 1*

PV – policitemija vera

Rb – retinoblastomski protein

RNA – ribonuklinska kiselina, engl. *ribonucleic acid*

RNH1 – inhibitor ribonuklaze 1, engl. *ribonuclease inhibitor 1*

RP – ribosomski proteini

Samd14 – domena proteina sterilnog  $\alpha$  motiva 14, engl. *sterile  $\alpha$ -motif domain-containing protein 14*

SCF – faktor matičnih stanica, engl. *stem cell factor*

SDHC – podjedinica C kompleksa sukcinat dehidrogenaze, engl. *succinate dehydrogenase complex subunit C*

SGR – somatsko genetsko spašavanje, engl. *somatic genetic rescue*

shRNA – kratka ukosna RNA, engl. *short hairpin RNA*

Sirt6 – sirtuin 6

SP1 – stimulacijski protein 1

STAG2 – SA-2 podjedinica kohezina, engl. *cohesin subunit SA-2*

STAT6 – transduktor signala i aktivator transkripcije 6, engl. *signal transducer and activator of transcription 6*

T21 – trisomija 21

TAL1 – protein T stanične akutne leukemije 1, engl. *T-cell acute leukemia protein 1*

T-ALL – T stanična akutna limfoblastična leukemija, engl. *T-cell acute lymphoblastic leukemia*

TAM – prolazna abnormalna mijelopoeza, engl. *transient abnormal myelopoiesis*

TBX21 – transkripcijski faktor T-BET

Tfh13 – T folikularne pomoćničke stanice 13, engl. *T-follicular helper cells 13*

Th2 – T pomoćničke stanice tipa 2, engl. *T helper 2 cells*

TIF1 $\gamma$  – transkripcijski intermedijarni faktor 1 $\gamma$

TMD – prolazni mijeloproliferativni poremećaj, engl. *transient myeloproliferative disorder*

TPO – trombopoetin

TSA – trihostatin A

UROS – uroporfirinogen



USP7 – ubikvitin-specifična proteaza 7

UTR – neprevedena regija, engl. *untranslated region*

VSD – ventrikularni septalni defekt

VZV – varicella zoster virus

WILD – sindrom bradavica, imunodeficijencije, limfedema i anogenitalne displazije, engl. *warts, immunodeficiency, lymphedema, anogenital dysplasia*

XLT – X-vezana makrotrombocitopenija s ili bez teške anemije

XLTD – X-vezana trombocitopenija s diseritropoetskom anemijom

XPO1 – eksportin 1

# Sadržaj

Sažetak

Summary

Uvod .....	1
GATA obitelj .....	2
GATA1 .....	8
Hematološki poremećaji povezani s GATA1 .....	17
GATA2 .....	27
Hematološki poremećaji povezani s GATA2 .....	30
GATA 3 .....	34
Hematološki poremećaji povezani s GATA3 .....	36
Zaključak .....	38
Zahvale .....	39
Literatura .....	40
Životopis .....	51

## Sažetak

**Ema Turkalj**

### **Mutacije GATA transkripcijskog faktora u hematološkim poremećajima**

Obitelj GATA transkripcijskih faktora uključena je u brojne fiziološke, ali i patološke procese. Prisutnost GATA transkripcijskih faktora u drugim vrstama naglašava njihovu bitnost u ključnim staničnim procesima. Obitelj GATA transkripcijskih faktora dobili su ime po DNA sekvenci na koju se vežu (A/T)GATA(A/G).

Na temelju tkiva koja ih eksprimiraju, GATA transkripcijske faktore možemo podijeliti na GATA1, GATA2 i GATA3, koji čine jednu skupinu, te GATA4, GATA5 i GATA6, koji čine drugu skupinu. Prva skupina transkripcijskih faktora nužna je za hematopoezu. Dosljedno tome, GATA1 eksprimira se u eritroidnim i mijeloidnim stanicama, no može se naći i kod eozinofila, bazofila, mastocita, dendritičnih stanica i Sertolijevih stanica, u kojima također ima bitnu ulogu. Funkcije GATA2 važne su rano u hematopoezi, a potrebne su za održavanje i proliferaciju hematopoetskih matičnih stanica. Za razliku od njih, GATA3 neophodan je za razvoj T stanica.

Obitelj GATA transkripcijskih faktora ima važnu ulogu u ranim fazama diferencijacije stanica i razvoja organa u različitim tkivima. Prva skupina GATA transkripcijskih faktora potrebna je za tkiva porijeklom iz ektoderma i mezoderma, uključujući hematopoetski sustav i središnji živčani sustav. Druga je skupina uključena u razvoj i diferencijaciju tkiva porijeklom iz endoderma i mezoderma, poput srca, pluća, jetre, gušterače, crijeva, organa urogenitalnog sustava i brojnih drugih.

Pošto su GATA1, GATA2 i GATA3 neophodni za normalnu hematopoezu, njihove su mutacije odgovorne za brojne hematološke poremećaje. Stoga, GATA1 mutacije, među ostalim, pridonose razvoju kongenitalne anemije,  $\beta$  – talasemije, Diamond-Blackfanove anemije, akutne megakarioblastične leukemije, prolaznom limfoproliferativnome poremećaju. Za razliku od GATA1, GATA2 može dovesti do GATA2 deficijencije, mijelodisplastičnog sindroma, kronične mijeloične leukemije, i brojnih drugih poremećaja. GATA3 primarno se povezuje s nastankom T – stanične akutne limfoblastične leukemije.

Ključne riječi: GATA; transkripcijski faktori; mutacije; hematologija

## Summary

**Ema Turkalj**

### **GATA transcription factor mutations in hematological disorders**

The family of GATA transcription factors is involved in numerous physiological and pathological processes. The presence of GATA transcription factors in other species highlights their essentiality in key cellular processes. The family of GATA transcription factors is named after the DNA-binding sequence (A/T)GATA(A/G).

Based on the tissues that express them, GATA transcription factors can be divided into GATA1, GATA2, and GATA3, which form one group, and GATA4, GATA5, and GATA6, which form another group. The first group of transcription factors is necessary for hematopoiesis. Consequently, GATA1 is expressed in erythroid and myeloid cells, but it can also be found in eosinophils, basophils, mast cells, dendritic cells, and Sertoli cells, in which it also plays an essential role. GATA2 functions are important early in hematopoiesis and are required for the maintenance and proliferation of hematopoietic stem cells. In contrast, GATA3 is essential for T-cell development.

The family of GATA transcription factors plays an important role in the early stages of cell differentiation and organ development in various tissues. The first group of GATA transcription factors is required for tissue derived from the ectoderm and mesoderm, including the hematopoietic system and the central nervous system. The second group is involved in the development and differentiation of tissues originating from the endoderm and mesoderm, such as the heart, lungs, liver, pancreas, intestines, organs of the urogenital system, and many other.

Since GATA1, GATA2, and GATA3 are essential for normal hematopoiesis, their mutations are responsible for numerous hematological disorders. Therefore, GATA1 mutations, among others, contribute to the development of congenital anemia,  $\beta$ -thalassemia, Diamond-Blackfan anemia, acute megakaryoblastic leukemia, and transient lymphoproliferative disorder. Unlike GATA1, GATA2 can lead to GATA2 deficiency, myelodysplastic syndrome, chronic myeloid leukemia, and many other disorders. GATA3 is primarily associated with the development of T-cell acute lymphoblastic leukemia.

Key words: GATA; transcription factors; mutations; hematology

## Uvod

GATA1 prvi je otkriveni transkripcijski faktor od obitelji GATA transkripcijskih faktora koji je prvi put kloniran 1989. godine u eritroidnim stanicama miša. U kralježnjaka je identificirano šest transkripcijskih faktora koji pripadaju obitelji GATA transkripcijskog faktora. Ti se transkripcijski faktori mogu podijeliti u dvije grupe. Prvu grupu čine GATA1, GATA2 i GATA3, koji imaju bitne uloge u hematopoetskom sustavu. Dok u drugu skupinu pripadaju GATA4, GATA5 i GATA6, koji su uključeni u razvoj i diferencijaciju brojnih tkiva. No, danas je poznato da je i prva navedena skupina bitna u diferencijaciji određenih vrsta tkiva.

GATA transkripcijski faktori sadrže dvije domene cinkovog prsta, N i C terminalnu domenu, i jednu N terminalnu transaktivacijsku domenu. N terminalna transaktivacijska domena neophodna je za stimulaciju transkripcijske aktivnosti. C terminalna domena cinkovog prsta veže se za DNA sekvencu (A/T)GATA(A/G), a N terminalna domena cinkovog prsta povećava stabilnost tog vezanja. Navedeni slijed DNA nije prisutan samo kod kralježnjaka, već i u drugim vrstama. Evolucijska očuvanost naglašava važnost GATA transkripcijskih faktora u regulaciji bitnih procesa u stanicama.

Stoga, mutacije tih transkripcijskih faktora mogu dovesti do poremećaja u hematološkom sustavu, ali i do nepravilne građe određenih organskih sustava, pa čak i smrti.

U ovome će radu biti prikazana prva tri transkripcijska faktora (GATA1, GATA2, GATA3), njihove funkcije u hematopoetskom sustavu, regulaciju, ali i poremećaji do kojih mogu dovesti mutacije navedenih transkripcijskih faktora.

## GATA obitelj

GATA faktori nazvani su po konsenzusnom vezanju sekvence deoksiribonukleinske kiseline (DNA) (A/T)GATA(A/G), koje su zajedničke svim članovima GATA obitelji. (1) GATA obitelj transkripcijskih faktora sastoji se od šest članova (GATA1 – GATA6) koji imaju važnu ulogu u regulaciji nekoliko bioloških procesa, kao što su embrionalni razvoj, rast stanica, diferencijacija stanica i morfogeneza tkiva. Svi članovi GATA obitelji transkripcijskih čimbenika prepoznaju i vežu se na specifični DNA motiv (A/T)GATA(A/G), kroz dvije visoko očuvane regije Cys4 tipa cinkovog prsta. Ovaj konsenzusni slijed DNA evolucijski je očuvan u gljivama, biljkama, beskralježnjacima i kralježnjacima čime dodatno podupire činjenicu da GATA faktori imaju važnu ulogu u regulaciji ključnih staničnih procesa. (1–3)

Izvorno, GATA transkripcijski faktori bili su podijeljeni u dvije skupine. Prva koju čine hematopoetski faktori (GATA1/2/3) i druga koju čine srčani faktori (GATA4/5/6). Međutim, njihova funkcija je mnogo veća nego što se prije mislilo. GATA1, GATA2 i GATA3 imaju važne uloge prvenstveno, ali ne isključivo unutar hematopoetskog sustava. GATA4, GATA5 i GATA6 pokreću diferencijaciju tkiva proizišlih iz mezoderma i endoderma, regulirajući različite razvojne procese unutar srčanog, gastrointestinalnog (GIT), endokrinog i spolnog sustava. Vezanje GATA faktora na DNA sekvencu uvelike ovisi o C – terminalnoj domeni cinkovog prsta (C-ZnF), dok se N – terminalna domena cinkovog prsta (N-ZnF) može vezati na mjesta koja sadrže dodatne kanonske, nekanonske (GATC) ili palindromske GATA motive, ili mogu ojačati vezanje kroz interakciju s drugim okolnim DNA motivima, uglavnom s drugim transkripcijskim kofaktorima. (2,3)

GATA1 utemeljitelj je GATA obitelji transkripcijskih faktora. U početku se pokazao nužnim za eritroidne i megakariocitne loze, a zatim i za eozinofile, bazofile, mastocite, dendritične stanice i Sertolijeve stanice testisa. (2,3)

GATA1 eksplicira se u ranim megakariocitnim – eritroidnim progenitorima i terminalno diferenciranim megakariocitnim i eritroidnim prekursorima, gdje pokreće transkripciju povezanu s usmjeravanjem i diferencijacijom hematopoetskih matičnih / progenitorskih stanica (HSPC) prema tim lozama. GATA1 pokreće važne transkripcijske promjene tijekom eritroidne diferencijacije. (4)

Mutacije GATA1 transkripcijskog čimbenika mogu se podijeliti u tri kategorije. Nasljedne mutacije GATA1 dovode do spektra kongenitalnih poremećaja crvenih krvnih stanica i megakariocita ili Diamond – Blackfanove anemije (DBA). Stečene GATA1 mutacije nalaze se u gotovo svim slučajevima prolazne abnormalne mijelopoeze (TAM, TMD) i akutne mijeloične leukemije u djece s Downovim sindromom (ML-DS). Smanjena regulacija GATA1 doprinosi razvoju fibroze u pacijenata s mijeloproliferativnim neoplazmama. (5)

Ekspresija GATA1 ključna je za predanost eozinofilnoj lozi. (6) Eozinofilima je GATA1 potreban za razvoj, budući da miševi s mutacijom u *Gata1* promotoru nemaju eozinofile. Diferencijacija eozinofila korelirala je s opadajućim razinama GATA1 kofaktora, prijatelja GATA1 (FOG1), dok je prisilna ekspresija FOG1 blokirala diferencijaciju eozinofila posredovanu GATA1. (7)

GATA1 ima važnu ulogu u funkciji bazofila. Poremećena degranulacija i proizvodnja interleukina 4 (IL-4) nakon aktivacije posredovane alergenom nalazi se u GATA1 nokdaun bazofilima. Štoviše, miševi s delecijom dvostrukog GATA mjesta visokog afiniteta u *Gata1* promotorskoj regiji, prezentiraju se bazofilopenijom i nenormalnom funkcijom bazofila. Također, pokazuju dodatne nedostatke u stvaranju bazofilnih prekursorskih stanica (BaP) i zrelih bazofila. (8,9)

In vivo i in vitro modeli dokazali su da je GATA1 kritičan za diferencijaciju mastocita i za kasnije faze razvoja mastocita. Miševi s deficitom GATA1-om imali su održane specifične gene mastocita, poput KIT i FcεR1a, u mastocitima iz koštane srži (BMMC), no razine su proteaza mastocita smanjene, posebice triptaza mastocita (*Tpsb2*, *Tpsg1*). Stoga, sugeriraju da bi GATA1 mogao imati ulogu u specifičnijim funkcijama mastocita reguliranjem gena za triptaze. (8,10)

GATA1 obilno je eksprimiran u Sertolijevim stanicama testisa tijekom pretpubertetskog razvoja testisa miša, a nakon toga se ekspresija smanjuje i u testisima odraslog miša nalazi se samo u Sertolijevim stanicama tijekom različitih faza spermatogeneze. No, za Sertolijeve stanice specifični GATA1 nokaut miševi ne pokazuju promjene u razvoju testisa, spermatogenezi ni muškoj plodnosti. (11)

GATA1 i GATA2 ekspresija djelomično se preklapaju, u primitivnim eritroblastima žumanjčane vreće, megakariocitima i eozinofilima. Međutim, u drugom kontekstu njihova je ekspresija međusobno isključiva ili nije u korelaciji. (12)

GATA2 izražava se u multipotentnim HSPC-ovima, eritroidnim i megakariocitnim progenitorima i prekursorima, eozinofilima i mastocitima. Bitan je i za održavanje HSPC-a, ali nije potreban za eritroidnu i mijeloidnu terminalnu diferencijaciju. No, potreban je za terminalnu diferencijaciju eozinofila i mastocita. (4,13)

Mutacije GATA2 povezane su s imunodeficijencijama, mijeloproliferativnim poremećajima i mijeloidnom leukemijom. Mutacije germinativne linije u GATA2 povezane su s GATA2 sindromom deficijencije, dok stečene se mutacije vide u mijelodisplastičnom sindromu (MDS), akutnoj mijeloidnoj leukemiji (AML) i u blastnoj krizi kronične mijeloidne leukemije (CML). (4,5)

GATA2 bitan je za diferencijaciju prebazofilnih i mastocitnih progenitora (pre-BMP) u bazofile i mastocite. Osim toga, GATA2 ključan je za održavanje karakteristika mastocita. Nedostatak GATA2 DNA domene može dediferencirati mastocite u mijeloidne stanice (makrofage i nalik neutrofilima) nakon odgovarajućeg dodatka citokina. Rezultati studija pokazuju da nokdaun GATA2 potiskuje širi niz proteaza mastocita od GATA1. (8) GATA2 ima važniju ulogu od GATA1 u regulaciji ekspresije

gena mastocita, no GATA2 ne može nadoknaditi jedinstvenu ulogu u regulaciji gena triptaze mastocita koju GATA1 ima. (10)

GATA2 također se izražava u različitim nehematopoetskim tkivima (mezenhimalnim matičnim stanicama, endotelu, središnjem živčanom sustavu, urogenitalnom sustavu, plućima, prostati, endometriju) i karcinomima pluća i prostate. (4)

GATA3 opsežno je proučavan u kontekstu urođenog i adaptivnog limfnog razvoja, gdje regulira diferencijaciju i određivanje sudbine stanice na različitim razinama. Konkretno, utvrđeno je da je bitan za razvoj, održavanje, preživljavanje i proliferaciju ranih T-staničnih progenitora, dok potiskuje B limfoidni program. Unutar T-stanične linije, GATA3 glavni je regulator T pomoćničkih stanica tipa 2 (Th2). (8,14)

GATA3 eksprimira se u limfoidnim stanicama, mliječnoj žlijezdi, središnjem živčanom sustavu (CNS), koži, unutarnjem uhu, bubrezima, nadbubrežnim žlijezdama i paratireoidnim žlijezdama. Ekspresija GATA3 nužna je za razvoj ovih organa, a njegova disregulacija uključena je u bolesti kao što su T stanična akutna limfoblastična leukemija (T-ALL), rak dojke, neuroblastom, hipoparatiroidizam, sensorineuralna gluhoća i sindrom bubrežne bolesti. (4)

GATA3 bitan je za određivanje loze matičnih stanica u koži. Izražava se na početku specifikacije stanica unutarnje ovojnice korijena u folikulima dlake. Delecija GATA3 dovela je do neispravne strukture kose. Osim toga, GATA3 izražen je u interfolikularnom epidermisu te njegova delecija pokazuje nedostatke u diferencijaciji kože, abnormalnu organizaciju folikula dlake i odgođen rast i održavanje dlake. Pokazalo se da GATA3 inhibira diferencijaciju adipocita te dovodi do neispravne biosinteze lipida. GATA3 jedini je GATA faktor koji je izražen u urogenitalnom sustavu prije E12.5. Neophodan je za razvoj normalnog nefričkog kanala. Također, haploinsuficijencija GATA3 rezultira bubrežnom displazijom. GATA3 izražen je u nekoliko tipova stanica tijekom razvoja uha, uključujući unutarnje stanice s dlačicama, vanjske stanice s dlačicama i potporne stanice. Kao posljedica toga, cijela pužnica unutarnjeg uha pokazuje značajnu degeneraciju kod miševa heterozigota za GATA3, što dovodi do gubitka sluha. GATA3 ključan je za razvoj mliječne žlijezde, ponajviše u epitelu dojke. Kada je GATA3 deletiran iz epitela dojke na početku puberteta, mliječne žlijezde nisu uspjele razviti terminalne pupoljke, što je rezultiralo abnormalnim duktalnim strukturama. GATA3 bitan je i za razvoj središnjeg živčanog sustava (CNS), za proizvodnju kateholamina, ima važnu ulogu u preživljavanju simpatičkih neurona. Zapravo, to je razlog zbog čega delecija GATA3 dovodi do embrionalne smrti oko E11.4. Ova smrtnost pripisana je nedostatku noradrenalina u CNS-u. (14)

GATA4 ekspresija prisutna je u raznim organima tijekom razvoja koji su porijeklom iz mezoderma i endoderma, među kojima su pluća, srce, jetra, gušterača, crijeva, želudac, CNS i urogenitalni organi. (11)

U mezodermu, GATA4 veže se za promotore mezodermalnih gena i super pojačivače, a u endodermu se vezna mjesta nalaze u regijama pojačivača



endodermalnih gena. GATA4 vezanje povezano je s ciljanim gubitkom DNA metilacije kada se embrionalne matične stanice diferenciraju u endoderm i mezoderm. Istodobno se događa povećanje DNA metilacije na GATA4 veznim mjestima u alternativnoj liniji, sprječavajući kasnije GATA4 vezanje koje bi moglo aktivirati neprikladne gene nizvodno. (4)

GATA4 može povećati ili smanjiti transkripciju ovisno o staničnom kontekstu. U jetri odraslog miša, GATA4 ima ulogu aktivatora transkripcije gena uključenih u funkciju jetre, no potiskuje podskup ciljnih gena koji se moraju eksprimirati u nezrelim hepatocitima, ali moraju biti isključeni u zrelih hepatocitima. Također, GATA4 može reprogramirati fibroblaste prema hepatocitnoj liniji. GATA4 važan je ne samo kao glavni regulator hepatocita, već i za specifikaciju mikrovaskularnog endotela jetre. (1,4)

GATA4 i GATA6 bitni su regulatori održavanja multipotentnih progenitorskih stanica gušterače (MPC) tijekom ranog razvoja gušterače u miševa. Mutacije u oba transkripcijska čimbenika povezana su s kongenitalnim anomalijama gušterače kod ljudi, a mutacije u GATA4 povezane su s dijabetesom melitusom kod novorođenčadi s ili bez endokrine insuficijencije. (15)

GATA4 ekspresija bitna je za razvoj organa gastrointestinalnog trakta. Uloga GATA4 nužna je za rane stadije razvoja želudca. (16,17) GATA4 eksprimira se u proksimalnom dijelu duodenuma i jejunumu. Gubitak GATA4 u epitelu jejunuma dovodi do ozbiljnih defekata u apsorpciji masti i kolesterola kao rezultat promjene profila ekspresije gena jejunuma. GATA4 uspostavlja identitet enterocita jejunuma i potiskuje identitet enterocita u crijevu vjerojatno kroz izravnu aktivaciju i potiskivanje ekspresije ključnih gena za regionalnu specifikaciju. (1,18) S obzirom na važnost djelovanja GATA4 tijekom razvoja, mutacija ili prekomjerna ekspresija ovog faktora povezana je s raznim poremećajima. Rak želudca povezan je s povišenim razinama GATA4 i GATA6. (4)

Ekspresija GATA4 počinje već od E7-7.5 u prekardijalnom mezodermu miša i može se detektirati u endokardu, miokardu, septama i zaliscima. Dokazano je da njegova inaktivacija dovodi do embrionalne smrtnosti između E8.5 i E10.5 u miševa, zbog nedostatka perikardne šupljine i srčane cijevi. GATA4 ima važnu ulogu u razvoju proepikarda, petlje srčane cijevi, formiranju komora, septuma i endokardijalnih jastučića. Mutacije u GATA4 povezuju se sa srčanim defektima, točnije miokarda, endokarda i provodnog sustava, koji uključuju fibrilaciju atriya (AF), valvularne i septalne defekte, tetralogiju Fallot i brojne druge. (1,19–21)

GATA4 rani je i bitan pokretač formiranja spolnih žlijezda i kod muških i ženskih embrija. GATA4 ima dvostruku ulogu kao transkripcijski faktor potiskuje transkriptaze za razvoj jajnika u embrionalnim testisima, a u razvoju jajnika pojačava ekspresiju gena koji promiču razvoj jajnika. (22)

Izražaj GATA5 prisutan je u srcu, jetri, gušterači, jajniku, plućima, gastrointestinalnom traktu i genitourinarnom sustavu. Ovaj faktor ima ulogu u razvoju kardiovaskularnog, epitela gastrointestinalnog i ženskog genitourinarnog trakta. (4)

GATA5 još je jedan član 'srčane' skupine, a izražava se u miokardu, endokardu i endokardijalnim jastučićima. Pokazalo se ima ključnu ulogu u diferencijaciji endokardijalnih stanica, ali sudjeluje i formiranju septuma i zalistaka. Uvjetna inaktivacija *Gata5* dovodi do hipoplastičnog srca i bikuspidalnog aortnog zaliska. GATA5 mutacije povezane su sa srčanim poremećajima, poput kongenitalne srčane bolesti (CHD) i obiteljske fibrilacije atrijske. Također, mogu se prezentirati defektima septuma, atrijskim septalnim defektom (ASD) i ventrikularnim septalnim defektom (VSD), ali i pulmonalnom stenozom i kardiomiopatijom. (1,4,19)

Utvrđeno je da GATA5 suzbija napredovanje mnogih vrsta maligniteta kod ljudi. Povećana ekspresija GATA5 u kolangiokarcinomu suzbija rast, migraciju i invaziju stanica kolangiokarcinoma. Osim toga, GATA5 inhibira progresiju hepatocelularnog karcinoma. Metilacija promotora *Gata5* gena pridonijela je gubitku ekspresije GATA5 tijekom progresije raka gušterače, karcinoma pluća nemalih stanica, jednjaka, bubrega, a zauzvrat je promijenilo tipične obrasce ekspresije brojnih nizvodnih gena s antineoplastičnim svojstvima. (23,24)

Zbog svoje visoke ekspresije u embrionalno endodermu i mezodermu, GATA6 ima ključnu ulogu u normalnom razvoju srca, pluća, probavnog sustava, nadbubrežnih žlijezda, dojki, jajnika, mrežnice, kože i živčanog sustava. (25) U plućima, GATA6 bitan je za morfogenezu grananja i kasnu diferencijaciju epitelnih stanica. (26) Pokazalo se da GATA6 ima proangiogenu ulogu i ulogu u preživljavanju u kultiviranim kardijalnim i nekardijalnim endotelnim staničnim populacijama. (19)

Embriji s deficijentnim *Gata6* umiru u ranoj fazi zbog defekata u ekstraembrionalnoj diferencijaciji endoderma. Specifična inaktivacija *Gata6* u glatkomišićnim stanicama vaskularnog sustava porijeklom iz neuralnog grebena, dovodi do perinatalnog letaliteta i kardiovaskularnih defekata. Kardiovaskularni defekti uključuju prekinuti luk aorte i perzistentni *truncus arteriosus*. S druge strane, GATA6 u srčanim je progenitorima potreban za morfogenezu ventrikularnog septuma. Gubitak GATA6 u primarnim kardiomiocitima smanjuje ekspresiju mnogih gena uključenih u kompenzatornu hipertrofiju, dok je prekomjerna ekspresija GATA6 dovoljna da inducira nakupljanje proteina, reorganizaciju sarkomera i povećanu staničnu površinu. (1,19) Mutacije u GATA6 povezane su s agenezom gušterače, a specifična delecija *Gata6* u adrenokortikalnim progenitorima oštećuje razvoj nadbubrežne žlijezde. (1,4)

Pretjerana ekspresija GATA6 ima ulogu u velikom broju maligniteta, uključujući karcinom pluća, jednjaka, želudca, jetre, kolangiokarcinoma, gušterače, kolorektuma, jajnika, dojke i brojnih drugih. Specifična uloga GATA6 u karcinomima različita je u različitim fazama progresije maligniteta, uključujući promicanje i inhibiciju. (25) Na

primjer, pokazalo se da pacijenti s karcinomom gušterače, u kojima je povećana GATA6 ekspresija, imaju bolju prognozu. (27)

## GATA1

Ekspresija GATA1 prisutna je u eritroidnim stanicama, megakariocitima, mastocitima, eozinofilima, bazofilima, dendritičkim stanicama i Sertolijevim stanicama testisa.

(12,28) GATA1 protein ima tri glavne funkcionalne domene: N terminalnu transaktivacijsku domenu (N-TAD), amino-terminalnu domenu cinkovog prsta (N-ZnF) i karboksi-terminalnu domenu cinkovog prsta (C-ZnF). (29) C-ZF veže se na DNA, a N-ZF veže se na glavni kofaktor GATA1 prijatelj GATA1 (FOG1), povećava stabilnost vezanja na DNA te modulira afinitet GATA1 za vezanje na kompleksna i palindromska mjesta in vitro. (2,5,30) N-ZnF domena doprinosi snazi vezanja na neka mjesta, kao što je GATA pal element. Dva cinkova prsta mogu formirati veznu domenu poboljšavajući specifičnost vezanja na DNA iz jednog C-ZnF, a njihova je kovalentna veza potrebna za međusobno djelovanje.

GATA1 ima ključnu ulogu u hematopoezi, odnosno eritropoezi i megakariopoezi. (28) Pokazalo se da cinkovi prsti GATA1 djelomično spašavaju eritroidnu i megakariocitnu diferencijaciju što ukazuje da mogu imati i druge funkcije uz posredovanje vezanja DNA. (29)

GATA1 proizvodi dvije izoforme: protein pune duljine (GATA-FL, 47 kDa) i kraću varijantu (GATA1s, 40 kDa) prevedenu iz kodona 84 unutar trećeg egzona, od kojih potonji proizlazi iz alternativnog spajanja i alternativne translacije. GATA1s nedostaje N-TAD i rezultira proteinom koji funkcionalno nije sposoban adekvatno podržati eritropoezu kao rezultat slabije učinkovitog vezanja GATA1s na selektivna mjesta unutar eritroidnih gena. (30–32) Izoforme GATA1 imaju suprotne uloge u procesima diferencijacije i proliferacije, pri čemu GATA1-FL potiče terminalnu diferencijaciju, a GATA1s uglavnom je uključen u održavanje proliferativne moći hematopoetskih prekursora. (33) Iako je DNA vezna domena GATA1s netaknuta, GATA1s vezanje oslabljeno je na specifičnim eritroidnim regulatornim regijama i MYC promotoru, dok je vezanje na megakariocitne i mijeloične ciljane gene normalno. Normalno GATA1 potiskuje ekspresiju ciljnih gena E2F izravnom interakcijom s transkripcijskim faktorima E2F i putem potiskivanja MYC, što rezultira smanjenjem stanične proliferacije. (34) Nokaut *Gata1* gena u miševa dovodi do smrti embrija oko E 10.5-E11.5 zbog teške anemije, pri čemu *Gata1*-nulte stanice prolaze kroz apoptozu u proeritroblastičnom stadiju. Uvjetni eritroidni nokaut kod odraslih miševa uzrokuje aplastičnu anemiju, pokazujući njegovu bitnu ulogu u eritropoezi u stanju ravnoteže i u stresnoj eritropoezi. (2,30) Za razliku od eritropoeze, u megakariopoezi abnormalno proliferiraju megakarioblasti kojima nedostaje GATA1, no oni ne prolaze kroz stadij terminalne diferencijacije. (5,30)

Tijekom ljudske hematopoeze, GATA1 eksprimira se u hematopoetskim matičnim stanicama (HSPC) i progresivno se povećava u ekspresiji u CD34+/CD38- primitivnim stanicama i CD34+/CD38+ progenitorima. Rana ekspresija GATA1 proteina u HSPC-ovima u skladu je s ranije opisanim modelom hematopoeze u

kojem se predanost lozi javlja u primitivnim populacijama. (35,36) U eritroidnoj lozi, u početku je povećana ekspresija tijekom usmjeravanja, ali je smanjena u kasnim fazama. Slično tome, zamijećen je smanjen izražaj u kasnoj fazi sazrijevanja megakariocita. (29)

GATA vezna mjesta prisutna su u regulacijskim regijama gotovo svih gena specifičnih za eritroide, što sugerira da je GATA1 glavni regulator specifičan za eritroid. GATA1 sudjeluje u regulaciji brojnih puteva, kao što su ekspresija globina, biosinteza hema, regulacija gena membrane crvenih stanica, stanična signalizacija, stanični ciklus, sudjeluje u transkripcijski reguliranim procesima važnim za eritroidno sazrijevanje kao što su autofagija i supresija egzosoma. (2,28) GATA1 aktivira gene uključene u autofagiju koja je bitan proces za eliminaciju organela preko lizosomskog klirensa tijekom sazrijevanja eritroidnih stanica. Također, GATA1 potiskuje egzosomski kompleks, koji razgrađuje i obrađuje RNA i potiče ranu proliferaciju eritroblasta te tako omogućuje nastavak sazrijevanja eritroidnih stanica. GATA1 nužan je u pozitivnoj regulaciji gena uključenih u regulaciju staničnog ciklusa, kao što su transkripcijski represor 1B neovisan o faktoru rasta (GF11B), ciklus stanične diobe 6 (CDC6) i inhibitor kinaze 1a ovisan o ciklinu (p21, Cdkn1a). (37–39) Osim toga, GATA1 dovodi do pojačane transkripcije Bcl-XL vežući se za njegov promotor te tako posreduje u procesu antiapoptoze. (40) Opisano je da GATA1 djeluje kao regulator restriktivne specifikacije loze putem potiskivanja mijeloidnih gena u eritroidnu lozu, a to uključuje GATA2, onkogene mijeloblastoze (Myb), Myc i navodni onkogen 1 (PU.1). (2,41,42)

Interakcija GATA1 i hema bitna je za indukciju normalne eritroidne diferencijacije. GATA1 pokreće sintezu hema i globina tijekom normalnog sazrijevanja eritroida, a hem potiskuje ekspresiju GATA1. U Flvcr1 nokaut miševa, hem je povećao RP transkripte u ranim eritroidnim stanicama kako bi se stvorio učinkovit ribosomski mehanizam i obnovila ravnoteža globina/hema. Međutim, u zrelijim eritroidnim stanicama višak hema smanjio je ekspresiju GATA1 i njegovih meta smanjenjem RP transkripata. (43)

Osim što sudjeluje u regulaciji ekspresije gena, GATA1 regulira transkripciju brojnih mikroRNA (miRNA) koje djeluju kao posttranskripcijski inhibitori ekspresije gena. Gotovo sve faze usmjeravanja hematopoetske loze kontroliraju miRNA, od održavanja hematopoetskih matičnih stanica do stvaranja progenitora vezanih za lozu i specifičnih zrelih stanica. (44) MiR-144/451 genski lokus kodira miR-144 i miR-451, koje se nalaze na istoj primarnoj molekuli RNA te gotovo se isključivo nalaze u crvenih krvnim stanicama, čiju transkripciju kontrolira više nuklearnih proteina među kojima je i GATA1. Delecija DNA sekvenci miR-144 i miR-451 kod miševa dovodi do blage mikrocitne anemije, ali i do razvojnog stresa, akutnog gubitka krvi, te kasnije i do spontanog razvoja malignih tumora poput difuznog B-staničnog limfoma i akutne mijeloične leukemije (AML). (45–47) GATA1 transkripcijski aktivira miR-146b i tako pospješuje diferencijaciju eritroida. MiR-23a važan je modulator diferencijacije eritroida, a to potvrđuje i pokusi na ribama zebrecama u kojem je knock down miR-23

blokirao eritropoezu, a njegova prekomjerna ekspresija u miševa povećala je populaciju zrelih eritroida. Povećana ekspresija GATA1 promovira akumulaciju miR-23a u diferenciranim eritroidnim stanicama te potiče terminalnu eritropoezu. (48,49) Dodatno, miR-23a/miR-27a također pozitivno reguliraju ekspresiju  $\beta$ -sličnog globinskog gena izravnim vezanjem na Krüpple faktor 3 (KLF3) i stimulacijski protein 1 (SP1) dovodeći do inhibicije njihovog vezanja na lokus  $\beta$ -sličnog globinskog gena tijekom eritropoeze. Određeni miRNA djeluju ako supresori eritroidne diferencijacije. Unutar mijeloidne loze, stalna represija miR-150 osigurava normalan terminalni eritroidni razvoj. Prekomjerna ekspresija miR-150 dovodi do supresije eritroidne proliferacije putem blokiranja staničnog ciklusa i induciranja apoptoze, ali i potiče stvaranje megakariocitne jedinice koja stvara kolonije (CFU-Mk).(44,49) Provedeno je istraživanje na ribama *Chionodraco hamatus* te je uočeno da prekomjerna ekspresija miR-152 smanjuje hematopoezu tako što smanjuje ekspresiju GATA1. (50)

Istraživanje na K562 stanicama pokazalo je da je GATA1 pojačano ekspimiran u stanju hipoksije. MiR-210-3p identificiran je kao pozitivni regulator diferencijacije eritroida, koji je bio pojačano izražen na način ovisan o GATA1 tijekom diferencijacije eritroida i u stanju hipoksije. (51)

Transkripcijska aktivnost GATA1 regulirana je kroz interakcije s brojnim drugim transkripcijskim čimbenicima, kofaktorima, remodeliranjem kromatina i modifikacijom proteina i kompleksa. FOG1 stupa u interakciju s GATA1 putem N-ZnF u eritroidnim i megakariocitnim linijama pri čemu je njihova interakcija bitna za diferencijaciju. GATA1/FOG1 posredovana represija uključuje interakcije s korepresorskim metil-CpG vezujućim proteinom 1 (MeCP1) i kompleksom remodeliranja i deacetilacije nukleosoma (NuRD) s kojima FOG1 izravno ulazi u interakciju. Ovi kompleksi imaju važnu ulogu u GATA1 posredovanoj represiji ciljnih gena kao što su GATA2, onkogen stanične mijelocitomatoze (c-Myc), receptor tirozin kinaze (c-kit), potrebni su za proliferaciju hematopoetskih progenitora, ali i posreduju u aktivaciji gena za  $\beta$ -globin. GATA1/FOG1 interakcije imaju dvostruku funkciju u aktivaciji za eritroid specifičnog programa i u potiskivanju alternativnih programa transkripcije hematopoeze koji su često podržani u oba slučaja NuRD-om. NuRD može funkcionirati kao koaktivator ili represor, a acetilirana histonska deacetilaza 1 (HDAC1) pretvara NuRD kompleks iz represora u aktivator tijekom GATA1 posredovane diferencijacije eritroida. (28,52)

HDAC1 ima važnu ulogu u regulaciji bitnih faktora transkripcije za eritropoezu. Tijekom eritropoeze, aktivnost je HDAC1 smanjena te se smanjenjem aktivnosti potiče diferencijacija eritroida, aktiviraju se aktivatori transkripcije kao što su GATA1, T stanični akutna leukemija 1 (TAL1), Krüpple faktor 1 (KLF1) te se potiskuju transkripcijski represori kao što je PU.1. (53)

U eritropoezi, GATA1 tvori transkripcijski kompleks s kofaktorima SCL/TAL1/E2A/LDB1/LMO2 koji je povezan s aktivacijom transkripcije. SCL prepoznaje mjesta vezanja DNA koja sadrže E-box motiv CANNTG kao heterodimer s E2A. E-box sekvenca obogaćena je 7-12 bp uzvodno od GATA motiva u genima

specifičnim za eritroid. Afiniteti vezanja DNA GATA1 i SCL na kombinirani motiv E-box-GATA povećani su međusobnom kolokalizacijom, čime se mijenja transkripcijska aktivnost GATA1. Kombinacija GATA-vezujućih i E-box motiva pridonosi specifičnoj regulaciji transkripcije mijenjanjem karakteristika vezanja DNA i strukture kompleksa koji sadrži GATA1 i SCL. Pentamerni kompleks veže GATA-E-box motive koji se sastoje od GATA sekvence smještene proksimalno na E-box CANNTG motivu povezanim s SCL/TAL-om. Ovi se motivi pojavljuju primarno u genima specifičnim za eritroid koji se aktiviraju pentamernim kompleksom. LMO2 služi kao most između SCL/TAL1 i GATA1, dok se LDB1 povezuje s LMO2 i sposoban je za dimerizaciju kroz svoju N-terminalnu domenu. Dimerizacija omogućuje LDB1-posredovano dalekometno uvijanje DNA za aktivaciju transkripcije, kao što se događa u  $\beta$ -globinskom lokusu. (2,54,55)

Za GATA1 i mijeloični transkripcijski faktor PU.1 zabilježeno je da djeluju međusobnim antagoniziranjem tako što istiskuju proteinske kofaktore drugoga i/ili sprječavaju vezanje na DNA i tako djeluju na usmjeravanje stanične loze i aktivaciju povezanih transkripcijskih programa. Uzajamni antagonizam PU.1 i GATA1, u sklopci sve ili ništa mreže gena, može dovesti do pretpostavke o mehanizmu ireverzibilnosti u predanosti eritro-mijeloičnoj lozi. (2,41) Međutim, postoje brojna istraživanja o PU.1 kao represora gena povezanih s nemijeloidnim putevima. Utvrđeno je da visoke razine PU.1 blokira vezanje GATA1 na DNA, a niže razine antagoniziraju GATA1 transaktivaciju stvarajući komplekse koji regrutiraju retinoblastomski protein (Rb) putem PU.1 kisele transaktivacijske domene. Uočeno je da se PU.1 veže izravno na regulatornu DNA svojih represorskih meta, no rezultati upućuju da je prisutna i neka vrsta neizravnog učinka. Dok je obligatorni represor smanjio ekspresiju gena koji su pozitivne regulatorne mete divljeg tipa PU.1, on je zapravo povećao ekspresiju brojnih gena koji divlji tip PU.1 potiskuje, što je potpuno neusklađeno s izravnim mehanizmom potiskivanja. (41)

GATA1 nalazi se na X kromosomu (Xp11.23) i sastoji se od šest egzona raspoređenih preko 8 kb. (56) Egzon I je nekodirajući, egzon II sadrži početni kodon za GATA1-FL, a egzoni IV i V kodiraju za dvije ZnF domene. Gen *Gata1* sastoji se od dva promotora, distalni pokreće ekspresiju *Gata1* gena u Sertolijevim stanicama u testisu a proksimalni je smješten 8 kb nizvodno od distalnog i usmjerava ekspresiju *Gata1* u hematopoetskim stanicama. (2,29)

Regulatorne regije *Gata1* gena sadrže tri hipersenzitivna mjesta (HS). HS1 nalazi se uzvodno od egzona I te usmjerava transkripciju *Gata1* u megakariocite. HS2 odgovara regiji GATA1 egzon I promotora i sadrži dvostruko palindromsko GATA mjesto i CACCC-box. HS2 aktivan je i u eritroidnim stanicama i megakariocitima. HS3 smješten je u intronu I. U megakariocitnoj lozi, *Gata1* ekspresija zahtijeva proširenu HS1 regiju, dok je za eritroidnu ekspresiju potrebno samo prvih 62 bp HS1. U eozinofila, *Gata1* ekspresija neovisna je o HS1 regiji, no zahtijeva dvostruki GATA motiv koji je prisutan u HS2 regiji. Korištenje izoliranih HS mjesta u ekspresijskim konstruktima gena daje normalnu *Gata1* ekspresiju u usmjerenim hematopoetskim

stanicama, fiziološka represija *Gata1* u HSC odjeljku zahtijeva međuprostorne sekvence između HS mjesta. (2,57)

Eritropoeza proces je s više koraka koji dovodi do proizvodnje crvenih krvnih stanica iz hematopoetskih matičnih stanica. (58) Kontrola ekspresije GATA1 kritična je za predanost eritroidnoj lozi i eritropoezu i diferencijaciju megakariocita. GATA1 mRNA ekspimiran je na vrlo niskim razinama u HSPC, a zatim raste kako stanice prelaze u učestali mijeloični progenitor (CMP). Kako se stanice divergiraju u granulocitne/makrofagne progenitore (GMP) ili megakariocitne/eritroidne progenitore (MEP), GATA1 smanjeno je ili povećano izražen. Ekspresija GATA1 umjereno se povećava u ranim progenitorima i jedinicama koje naglo stvaraju eritroide (BFU-E). Visoke razine ekspresije GATA1 prikazane su u jedinicama koje stvaraju eritroid (CFU-E). U toj fazi GATA1 aktivira ekspresiju za receptor eritropoetina (EpoR), a EpoR-om posredovani signali pojačavaju GATA1 transkripcijski program u eritroidnim progenitoskim stanicama. Nakon toga, razine ekspresije *Gata1* postupno se smanjuju od stadija proeritroblasta i nastavlja se kroz stadije bazofilnog, polikromatskog i ortokromatskog eritroblasta. Razine ekspresije GATA1 dosežu maksimum u usmjerenim eritroidnim progenitorima u kasnom stadiju proeritroblasta i pokreću sazrijevanje eritrocita. Zatim, razine ekspresije postupno padaju prema terminalnom sazrijevanju eritroidnih stanica. Razine proteina GATA1 slijede ovaj obrazac i smanjuju se prema terminalnom sazrijevanju (2,59–62)

Tijekom eritropoeze, *Gata2* lokus se gasi, a razine se GATA1 povećavaju. GATA prekidač definira se kao izmjena GATA2 i GATA1 na regulatornim elementima gena koji kontroliraju eritropoezu. Prijelaz s GATA2 na GATA1 bitan je za ekspanziju, preživljavanje i terminalnu eritroidnu diferencijaciju zbog toga što omogućuje GATA1 da potisne određeni broj ciljnih gena, kao što je *Gata2*. (4,31,44) Budući da GATA1 i GATA2 mogu vršiti suprotne aktivnosti kroz isto mjesto na kromatinu, GATA prekidači mogu promijeniti ekspresiju gena i potaknuti sazrijevanje eritroida. U određenom kontekstu, GATA2 može pripremiti mjesto na kromatinu za sljedeću GATA1 funkciju. (12) GATA prekidač aktivan je u GATA1s mutiranim eritroblastima jer se GATA1s veže za *Gata2* prekidačka mjesta u sličnoj mjeri kao i GATA-FL. No, GATA1s ne može potisnuti GATA2. Ova postojana ekspresija GATA2 povezana je sa smanjenim stupnjem trimetilacije H3K27 i povećanom dostupnošću kromatina u mutiranim GATA1 stanicama. (31) Za razliku od eritroidne diferencijacije, ekspresija GATA2 nije brzo smanjena tijekom sazrijevanja megakariocita. Zabilježeni su prijelazi GATA2 u GATA1 u megakariocitima u kojoj su povezani s transkripcijskom aktivacijom ili represijom, a GATA2 i GATA1 djelovali su suprotno na ciljne gene. (4)

Translacija GATA1 mRNA visoko je regulirana u eritroidnim stanicama i poremećaji u tim regulatornim mehanizmima dovode do smanjenih razina GATA1 proteina, defektne eritropoeze i bolesti. Translacija GATA1 mRNA u eritroidnim stanicama dovodi do proizvodnje dviju izoformi proteina kao rezultat korištenja dva početna kodona ATG: jednog u egzonu II koji proizvodi GATA-FL koji kodira protein od 413 aminokiseline i drugog u egzonu III koji proizvodi GATA1s kojem nedostaju 83



aminokiseline N-TAD.(2,31) GATA1 mRNA kratka je te ima 5'UTR strukturu koja je povezana s povećanom translacijskom učinkovitošću i posebno je osjetljiva na promjene u razinama ribosoma.(36) Studija na miševima pokazala je da GATA1 mRNA zahtijeva inhibitor ribonukleaze 1 (RNH1) koji se veže za ribosome i olakšava stvaranje polisoma na GATA1 mRNA kako bi se omogućila translacija.(63)

GATA1 prolazi kroz nekoliko posttranslacijskih modifikacija (PTM). PTM reguliraju vezanje GATA1 na DNA i transkripcijsku aktivnost, a uključuje fosforilaciju, acetilaciju, sumoilaciju i ubikvitinaciju. (64) Fosforilacijom i aktivacijom GATA1 pokreće regulaciju širokog spektra eritroidnih gena. Istraživanja porevedena u in vitro i in vivo uvjetima pokazala su da AKT fosforilira Ser310 u GATA1. Ta je pozicija specijalizirana meta za AKT i pojačava aktivnost GATA1 u eritroidnim stanicama. Primijećeno je i da nefosforilirani GATA1 sprječava diferencijaciju fetalne jetre. PI3K/AKT jedan je od važnih signalnih puteva izazvanih EPO i EPOR koji posreduju u različitim staničnim procesima. Višestruke su funkcije ovog puta poput poticanja diobe stanica, a preživljavanje i diferencijacija posljedica su aktivacije mreže ciljanih proteina među kojima je i GATA1. (65)

Histon modificirajući kofaktori epigenetski su enzimi koji dodaju ili uklanjaju kemijske ostatke iz histona koje modificiraju. Histonske acetiltransferaze (HAT) prenose acetilne skupine s acetil-CoA na lizinske ostatke histonskih proteina, što otvara kromatin i omogućuje transkripciju gena. Histonske acetilaze (HDAC) imaju represivan učinak na ekspresiju gena deacetiliranjem lizinskih ostataka na histonskim repovima. (66) Tijekom eritropoeze, aktivnost je HDAC dramatično smanjena. Dosljedno tome, inhibicija aktivnosti HDAC potiče diferencijaciju eritroida. Smanjenje aktivnosti HDAC rezultira aktivacijom aktivatora transkripcije, kao što je GATA1, i potiskuje transkripcijske represore (PU.1). (28)

Acetilacija GATA1 potrebna je za transkripcijsku aktivnost. Istraživanja su pokazala da su i vezanje na DNA i acetilacija GATA1 povećani sirtuin 6 (Sirt6) i p300, a još više povećani zajedničkom prisutnošću. Sukladno tome, aktivnost transkripcije GATA1 povećana je pomoću Sirt6 i/ili p300. (67) CREB vežući protein (CBP) i p300 acetiltransferaze su koje djeluju zajedno i rade acetilaciju histonskih i nehistonskih proteina. CBP/p300 može acetilirati GATA1 te tako utječe na transkripciju ciljanih gena GATA1, posebno gena za globin, i vezanje na DNA i dovode do diferencijacije eritroida. (65) Gen povezan s eritroidnom diferencijacijom (EDAG) tvori kompleks s GATA1 i p300 i povećava GATA1 acetilaciju i transkripcijsku aktivnost olakšavajući interakciju između GATA1 i p300. (68) GATA1 acetiliran je na dva očuvana motiva bogata lizinom smještena bliže njegovom C-ZnF-u te potiče njegovu transkripcijsku aktivnost. (64) Acetilacija GATA1 potiče interakciju s proteinom vezanja bromodomene 3 (BRD3), koji stabilizira vezanje GATA1 na kromatin. (12) BRD3 ima ulogu u diferencijaciji eritroidnih stanica kroz interakcije s GATA1, a poremećaj vezanja BRD3-GATA1 u eritroidnim progenitorskim stanicama dovodi do poremećenog sazrijevanja stanica posredovanog GATA1. (69)

Acetilacija signalizira GATA1 na razgradnju ovisnu o ubikvitinu. (28)

Ekspresija deubikvitilaze ubikvitin-specifične proteaze 7 (USP7) značajno je povećana tijekom terminalne eritroidne diferencijacije. USP7 stupa u izravnu interakciju s GATA1 i katalizira uklanjanje K48-povezanih poliubikvitilacijskih lanaca konjugiranih na GATA1, čime stabilizira GATA1 protein. USP7 deubikvitilaza je koja pripada obitelji ubikvitin-specifičnih proteaza. Deficijencija USP7 oštećuje terminalnu eritroidnu diferencijaciju zbog smanjenje razine GATA1 proteina. (70)

Sumoilacija GATA1 potrebna je za vezanje na FOG1 i transkripcijsku aktivnost gena ovisnih o FOG1. Gubitak GATA1 sumoilacije uzrokovao bi značajan poremećaj u diferencijaciji. (71)

Izlaganje eritroidnih progenitora zrelim eritroblastima ili ligandima receptora smrti rezultira razgradnjom GATA1 posredovanom kaspazom, što je povezano s oštećenim razvojem eritroblasta. Cijepanje GATA1 posredovano kaspazom važan je mehanizam negativne kontrole eritropoeze. HSP70 član je obitelji proteina toplinskog šoka i premješta se između citoplazme i jezgre kao molekularni šaperon. U uvjetima stresa, HSP70 nakuplja se u jezgri/jezgrici, a to je povezano s prevencijom oštećenja DNA i regulacijom HSF1. HSP70 konstitutivno je i visoko izražen u citoplazmi i jezgri normalnih ljudskih eritroblasta. (68)

Protein HSP70 štiti GATA1 od cijepanja posredovanog kaspazom 3 tijekom normalne eritoidne diferencijacije. Nakon stimulacije eritropoetinom, diferencijacija eritroblasta zahtijeva aktivaciju kaspaze 3, a HSP70 migrira iz citoplazme u jezgru kako bi zaštitio GATA1 od cijepanja posredovanog kaspazom 3 koje bi inhibiralo terminalnu eritroidnu diferencijaciju i induciralo apoptozu eritroblasta. (72) Stoga, nuklearna lokalizacija HSP70 tijekom eritroidne diferencijacije određuje sudbinu eritroblasta: do sazrijevanja i preživljavanja dolazi ako se HSP70 nalazi u jezgri, dok se zaustavljanje sazrijevanja i apoptoza javljaju ako ostane lokaliziran u citoplazmi eritroblasta. (68)

EDAG transkripcijski je regulator koji povećava proliferativni potencijal CD34+ stanica krvi iz pupkovine, povećava preživljenje, sprječava apoptozu stanica i potiče njihov repopulacijski kapacitet. (73) EDAG povećava proliferativni potencijal CD34+ stanica krvi iz pupkovine, povećava preživljenje, sprječava apoptozu stanica i potiče njihov repopulacijski kapacitet. Primarno je izražen u HSC i progenitorskim staničnim populacijama, a smanjeno je izražen u zrelih krvnim stanicama. EDAG izravna je meta GATA1 i visoko je izražen u proeritroblastima, bazofilnim i polikromatiskim eritroblastima. U istraživanju identificirali su EDAG kao novog veznog partnera HSP70 i formira alternativni kompleks s HSP70 i GATA1 uz kompleks EDAG/p300/GATA1 tijekom eritroidne diferencijacije. EDAG potiče nuklearnu kolokalizaciju HSP70 s GATA1 i regulira diferencijaciju eritroida u ljudskim CD34+ stanicama i kod pacijenata s mijelodisplastičnim sindromom (MDS). (68) Hemgn transkripcijski je faktor kralježaka, a kod ljudi naziva se EDAG. Istraživanje rađeno na ribama zebricama pokazalo je da djelomična deplecija Hemogena (Hemgn) u embrijima, putem knock downa morfolinom, smanjuje broj eritrocita u cirkulaciji. CRISPR/Cas9 generirane ribe zebrice koje sadrže ili mutaciju pomaka okvira ili

deleciju unutar okvira u pretpostavljenom C-terminalnom TAD-u prikazuju anemiju i defekte embrionalnog tipa. (74)

P19INK4d član je obitelji inhibitora o ciklinu ovisnih kinaza (CDKI), a dokazana je ekspresija u eritroblastima. Knock down p19INK4d odgađa diferencijaciju eritroida, inhibira rast stanica, povećava apoptozu i stvaranje abnormalno nukleirane kasne stadije eritroblasta. Na posttranskripcijskoj razini, GATA1 uglavnom reguliraju članovi obitelji proteina toplinskog šoka (HSP), HSP27 i HSP70, i ribosomski proteini. HSP27 potiče GATA1 ubikvitinaciju i proteasomalnu degradaciju, HSP70 sprječava cijepanje GATA1 posredovano kaspazom 3 u jezgri, a ribosomski proteini reguliraju normalnu translaciju GATA1. Razine GATA1 proteina značajno su smanjene nakon nokdauna p19INK4d, no smanjenje razine GATA1 proteina nije bilo popraćeno smanjenjem razine mRNA, što pokazuje da p19INK4d posttranskripcijski modulira ekspresiju GATA1. Rezultati istraživanja pokazali su da su da knock down p19INK4d stanica dovodi do povećane ekspresije fosfatidiletanolamin vežućeg proteina 1 (PEBP1) što dovodi do smanjenje fosforilacije kinaze regulirane izvastaničnim signalom (ERK). Smanjena fosforilacija ERK-a dovodi do smanjene razine HSP70 u jezgri što rezultira smanjenim razinama GATA1 proteina. Smanjena ekspresija GATA1 odgađa terminalnu diferencijaciju i dovodi do stvaranja eritroblasta s abnormalnom jezgrom. (75)

U istraživanju mehanizma gubitka GATA1 proteina pokušali su istražiti je li proteasomski sustav potreban za degradaciju GATA1 proteina. Pokazali su da HDAC1 širokog djelovanja (panHDAC1) može biti okidač za brzu razgradnju GATA1 proteina preko puta ovisnog o proteasomu. (76) Inhibicija proteasoma u mišjim eritroidnim progenitorima ili gubitak proteina proteasoma rezultira smanjenim razinama GATA1 što dovodi do rane apoptoze in vitro, odnosno do anemije in vivo. Proteasomalna razgradnja acetiliranog GATA1 u eritroidnim stanicama posredovana ubikvitinom uključuje šaperon protein HSP70 koji je sam podvrgnut regulaciji putem PTM. Ova složena mreža služi kao sredstvo za kontrolu aktivnosti GATA1 na razini proteina kao odgovor na specifične signale u eritropoezi. (2)

Inflamasomi dio su urođenog imunološkog sustava i kao unutarstanični receptori i senzori reguliraju aktivaciju upalih kaspaza, kaspazu 1 i kaspazu 11, koje izazivaju upalu kao odgovor na zarazne mikrobe i endogene signale opasnosti. Inflamasomi nemaju glavnu ulogu samo u infekciji i upali, već i u održavanju staničnog metabolizma, proliferaciji, transkripciji gena i tumorigenezi. Također, inflamasomi imaju ključnu ulogu u regulaciji odluke o sudbini eritroidnih i mijeloidnih stanica i u terminalnoj diferencijaciji. In vivo studija na ribama zebrićama potvrđuje da, u vrijeme odluke o usmjeravanju loze u HSC-u, manipulacija količinama GATA1 proteina putem inflamasoma može promijeniti izbor loze. Slično tome, terminalna diferencijacija također zahtijeva cijepanje GATA1 pomoću kaspaze 1. Farmakološka inhibicija kaspaze 1 u K562 stanicama, oslabila je heminom induciranu eritroidnu diferencijaciju, procijenjenu kao akumulaciju hemoglobina, i inhibirala pad razine GATA1. Jednom kada se GATA1 počne izražavati HSP uvijek se diferencira u MegE

s GATA1 visokim i SPI1 niskim razinama. Stoga, smanjenje količine GATA1 nakon aktivacije inflammasoma dovode do smanjene eritropoeze, a time i povećane mijelopoeze. (77)

## Hematološki poremećaji povezani s GATA1

GATA1 mutacije povezuju se s kongenitalnom diseritropoetskom anemijom i dijele se u 2 glavne skupine. Prvu skupinu čine mutacije spajanja ili mutacije početnog kodona kopije dovode do ekspresije GATA1s, a u drugu skupinu spadaju mutacije u prvoj ZnF domeni, ometajući interakcije s kofaktorima. Naslijeđene GATA1s mutacije povezane su s Diamond-Blackfanovom anemijom (DBA), nasljednom trombocitopenijom, diseritropoetskom anemijom, dok su somatske stečene GATA1s mutacije povezane s prolaznom proliferativnom bolešću u Downovom sindromu. (78,79) Niske razine GATA1 dovode do razvoja mijelofibroze. (30)

Prolazna abnormalna mijelopoeza (TAM) mijeloidno je proliferativno stanje s leukemijskim potencijalom koje se gotovo isključivo viđa u dojenčadi s trisomijom 21 (Downovim sindromom). TAM uzrokovan je interakcijom trisomije 21 (T21) i stečenih mutacija cinkovog prsta GATA1. Tijekom fetalnog se razdoblja hematopoeza odvija u jetri, a T21 u hematopoetskim matičnim stanicama fetalne jetre smanjuje diferencijaciju limfocita i uzrokuje povećanu proliferaciju megakariocitno-eritroidnih progenitora. Progenitorske stanice naknadno mogu steći N-terminalne mutacije (obično pomake okvira ili spajanja) u GATA1. (80) Nedefiniran minimalni broj blasta može dovesti do pretjeranog dijagnosticiranja TAM-a, međutim povišen nalaz blasta u perifernoj krvi često se može naći kod novorođenčadi. Stoga, zbog nepostojanja službene preporuke o minimalnom broju blasta u TAM-u, skupina stručnjaka predlaže definiciju TAM-a kao prisutnost najmanje 5% blasta, definiranih imunofenotipizacijom ili morfoloijom, i/ili prisutnošću GATA1 mutacije u novorođenčadi s DS. (81)

ML-DS- definira se na genetskoj osnovi kao prisutnost GATA1 mutacije u novorođenčeta s DS-om ili mozaičnim DS-om, u kombinaciji s povećanim brojem blasta periferne krvi  $>10\%$  i/ili kliničkim značajkama koje upućuju na ML-DS. Postavljanjem praga blasta od  $>10\%$  identificirat će se više slučajeva ML-DS-a i analiza GATA1 mutacije posebno je važna u novorođenčadi s blasima 10-20% kako bi se spriječilo pretjerano dijagnosticiranje ML-DS-a. Izraz tihi ML-DS trebao bi se koristiti ako postoji GATA1 mutacija i postotak blasta u perifernoj krvi  $\leq 10\%$  u prvom tjednu života u novorođenčeta s Downovim sindromom ili mozaičkom T21. Čini se da ta djeca nisu u opasnosti od ML-DS-a i imaju niski rizik od transformacije u AML. Stoga probir se na GATA1 mutacije ne preporučuje rutinski. Postojanost GATA1 mutacije dulje od 3 mjeseca bolji je prediktor progresije u ML-DS, a ispitivanje novorođenčadi s TAM-om za dodatne transformirajuće mutacije nije dobar način prepoznavanja dojenčadi s rizikom od ML-DS-a. (82) Pokazalo se da u do 25% slučajeva ML-DS ima višestruko mutirane GATA1 klonove. Svaka značajna abnormalnost krvne slike, osobito trombocitopenija, trebala bi potaknuti izvođenje analizu GATA1 mutacije i rano razmatranje aspirata koštane srži. (83,84)

Djeca s Downovim sindromom imaju 150 puta veći rizik od razvoja akutne mijeloične leukemije (AML), koja se naziva mijeloična leukemija povezana s Downovim

sindromom (ML-DS), u prvih 5 godina života. Do 30% novorođenčadi s Downovim sindromom pokazuje prolaznu abnormalnu mijelopoezu (TAM), preleukemiju karakteriziranu klonalnom proliferacijom nezrelih mijeloidnih stanica (uglavnom megakarioblasta) koje nose somatske mutacije u GATA1. Većina je djece asimptomatska i postižu spontanu remisiju bez terapijske intervencije, no 20% pacijenata umire unutar 6 mjeseci, često uzrokovano infiltracijom jetre blastima i posljedičnim zatajenjem jetre. (85) Sekvenciranje jednojajčanih blizanaca sugerira da se prve genetske promjene kod dječje leukemije događaju *in utero* nakon 25 tjedana gestacije. Stečene GATA1 mutacije dovode do ekspresije GATA1s. Insercije, delecije, duplikacije ili točkaste mutacije u egzonu 2, koje dovode do uvođenja preuranjenog stop kodona ili gubitka susjednog mjesta spajanja, češći su uzrok GATA1s u TAM-u. (34,79,86) GATA1 mutacije gotovo su patognomonične za TAM i ML-DS. Pacijenti koji razviju ML-DS imaju istu GATA1 mutaciju koja je otkrivena tijekom TAM-a, naglašavajući klonsku evoluciju ove bolesti. GATA1 mutacije nisu prisutne tijekom remisije TAM-a ili ML-DS-a što sugerira da su specifične za bolest. (80) GATA1 mutacije nisu otkrivene u uzorcima u remisiji nakon liječenja ML-DS niti su prisutne u drugim DS i ne-DS leukemijama. Preleukemija nestaje spontano u većine novorođenčadi, međutim u 20% slučajeva ML-DS razvija se unutar 4 godine iz GATA1s mutiranog preleukemijskog klona stjecanjem dodatnih mutacija, pretežno u genima kompleksa kohezina ili CTCF-a. (87,88) Međutim, druga studija predlaže testiranje svih pedijatrijskih pacijenata s ne-DS-AML na prisutnost mutacija određenih gena, među kojima je i *Gata1*. (89)

Unatoč smanjenom proliferativnom kapacitetu T21 LT-HSC, preleukemija pokreće se isključivo u ovom staničnom odjeljku. Za razliku od LT-HSC podrijetla za preleukemiju, leukemijska progresija može se pojaviti u više tipova nizvodnih progenitora uz LT-HSC. Ukupni skup progenitora znatno je proširen zbog utjecaja GATA1s, pružajući veliki rezervoar za stjecanje sekundarnih mutacija u genima kao što je STAG2 i time povećava vjerojatnost napredovanja leukemije. Inicijacija preleukemije izazvane GATA1s-om ovisi o trisomiji 21, koja svoje učinke barem djelomično ostvaruje preko povećanog izražaja miRNA na kromosomu 21, posebno miR-99a, miR-125b-2 i miR-155, isključivo unutar LT-HSC odjeljka. Progresija u leukemiju neovisna je o trisomiji 21 i može biti izazvana nedostatkom STAG2 u kombinaciji s GATA1. Preleukemijske i leukemijske populacije slične su u pogledu ekspresije markera loze na blastima i obogaćivanju GATA1 veznih mjesta na njihovim promotorima. (88,90) Ekspresija GATA1 povećana je dodatnom kopijom kritične regije DS (DSCR) od 4 megabaze koja sadrži RUNX1, ETS2 i ERG, što dodatno potiče proliferaciju megakarioblasta. GATA1s nije u stanju komunicirati s transkripcijskim faktorima E2F i inhibitornim proteinom RB1 i stoga ne može regulirati ekspresiju ciljnih gena E2F rezultirajući preaktivnim IGF signaliziranjem, prekomjernom aktivacijom E2F i nekontroliranom ekspanzijom megakariocitnih preteča. (3,34,79,84,91) Nedovoljna represija transkripcijske mreže E2F i MYC razlozi su povećane proliferacije prekursora eozinofila nakon ektopične ekspresije GATA1 u fetalnom HSPC-u. (79) RUNX1 surađuje s GATA1 u promotorskoj aktivaciji

megakariocitnih gena kroz izravnu protein – protein interakciju. Ektopična ekspresija ERG-a u *Gata1* mutiranim stanicama dodatno je pojačala megakariocitnu diferencijaciju dok je terminalna eritroidna diferencijacija bila blokirana. ERG/*Gata1s* miševi pokazali su fibrozu jetre i postnatalnu prolaznu ekspanziju megakariocitnih progenitorskih stanica, pokazujući da je interakcija između povećane ekspresije ERG-a i *Gata1s* dovoljna da izazove bolest sa značajkama TAM-a u mišjem modelu. (79)

Uravnoteženi omjer dvije izoforme, GATA1-FL i GATA1s, doprinosi normalnoj hematopoezi, dok nenormalna ekspresija GATA1s mijenja potencijal diferencijacije/proliferacije hematopoetskih prekursora. Neuravnotežena ekspresija GATA1-FL/GATA1s s prevladavajućom ekspresijom GATA1s povezana je s nekoliko hematopoetskih poremećaja uključujući različite podtipove akutne i kronične mijeloične leukemije gdje se povišene razine GATA1s smatraju lošim prognostičkim faktorom. Prekomjerna ekspresija GATA1s korelira s visokim razinama podjedinice kompleksa sukcinat dehidrogenaze C (SDHC). Prekomjerna ekspresija SDHC varijanti popraćena smanjenom aktivnošću SDH kompleksa II i učinkovitošću oksidativne fosforilacije (OXPHOS) povezana je samo s GATA1s izoformom. S obzirom na tumor supresorsku ulogu SDH i učinke OXPHOS ograničenja u leukemogenezi, identifikacija veze između GATA1s i oslabljenje aktivnosti kompleksa II otkriva nove proleukemijske mehanizme koje GATA1s pokreće. (33)

Feroptoza nedavno je prepoznati oblik regulirane stanične smrti koji uključuje peroksidaciju lipida. Glutation peroksidaza 4 (GPX4) ima središnju ulogu u regulaciji feroptoze putem supresije stvaranja lipidne peroksidacije. U istraživanju su uočili da prekomjerna ekspresija GATA1s može povezati sa smanjenom osjetljivošću na feroptozu i tako sprječava stanice mijeloične leukemije K562 od feroptoze izazvane peroksidacijom lipida. GATA1s potiče preživljavanje stanica i povećava otpornost na apoptozu u mijeloidnim stanicama moduliranjem oksidativnog metabolizma i staničnih redoks stanja. Stanice koje prekomjerno izražavaju GATA1s pokazuju veliki antioksidativni kapacitet kao mehanizam za održavanje preživljavanja stanica. Molekularni mehanizmi pomoću kojih bi GATA1s mogao doprinijeti nastanku i razvoju leukemije pokazujući da je njegova neregulirana ekspresija povezana s promijenjenim metabolizmom lipida, pojačanim antioksidativnim aktivnostima i smanjenom osjetljivošću na feroptozu za održavanje programa proliferacije i puteva preživljavanja u normalnoj i malignoj hematopoezi. (92)

Akutna eritroleukemija može nastati kao rezultat nenormalne aktivnosti GATA1, bilo putem izravnih genetskih promjena, bilo kao rezultat epigenetskog pomaka. Nenormalna aktivnost GATA1 može rezultirati s najmanje dvije stanične posljedice. Prvo, inhibicija aktivnosti GATA1 može proizaći iz različitih mehanizama koji uključuju nenormalno održavanje GATA1 transkripcijskog represora, poput transkripcijskih kompleksa povezanih s ETS-om ili ETO2), destabilizaciju GATA1 na razini proteina kroz izmjene GATA1 PTM ili nenormalnu interakciju protein – protein, ili promjenama koje utječu na vezanje GATA1 kromatina. Ti bi mehanizmi pridonijeli sprječavanju

progresije diferencijacije eritroidnih progenitora prema potpuno zrelim eritroidnim stanicama. Drugo, aktivnost GATA1 može biti nenormalno aktivirana ili održavana, uključujući kroz konstitutivnu aktivaciju signalnih čimbenika (JAK2V617F ili visoku ekspresiju EPOR), što dovodi do abnormalne usmjerenosti ranih nezrelih progenitora prema eritroidnih lozi. (93) Neki miševi s 95% smanjenom ekspresijom *Gata1* mRNA zbog nokdaun mutacije, razvili su B-staničnu limfoproliferativnu bolest s kasnim početkom ili raniju bolest nalik eritroleukemiji. (94)

U mišjim eritroleukemijskim stanicama (MEL) in vitro, ligandom posredovana prekomjerna aktivacija Smad2/3 puta smanjila je razine GATA1 u jezgri i njegovog transkripcijskog aktivatora, transkripcijski intermedijarni faktor 1 $\gamma$  (TIF1 $\gamma$ ), povećala razine reaktivnih vrsta kisika, smanjila vitalnost stanica i razine hemoglobina te inhibirala diferencijaciju eritroide. Pokazalo se da TIF1 $\gamma$  stimulira ekspresiju GATA1 i njegovih nizvodnih gena za eritroide i kod miševa i kod riba zebrića. Istraživanje je pokazalo da ekspresija GATA1 posreduje učinke aktivnosti Smad2/3 puta na eritroidnu diferencijaciju i da tretman luspaterceptom/RAP-536 može normalizirati nuklearne razine GATA1 u modelima oštećene eritroidne diferencijacije. (95)

Diamond-Blackfan anemija (DBA) rijedak je kongenitalni sindrom zatajenja koštane srži koji pokazuje fenotip specifičan za eritroid. U 70% slučajeva, DBA povezan je s haploinsuficijentnom mutacijom zametne loze u genu ribosomskog proteina (RP), a dodatni su slučajevi povezani s mutacijama u GATA1. Neki pacijenti s DBA koji ne nose mutaciju u jednom od identificiranih RP gena imaju mutaciju u GATA1 genu izazivajući konstitutivni gubitak transaktivacijske domene GATA1. (36,72)

U ribosomopatijama, Diamond-Blackfanovoj anemiji (DBA) ili 5q-sindromu, geni ribosomskog proteina (RP) zahvaćeni su mutacijom ili delecijom što rezultira eritroidnom hipoplazijom koštane srži. Neuravnotežena proizvodnja ribosomskih podjedinica koja dovodi do ograničene količine ribosoma u stanicama regulira translaciju GATA1. GATA1 selektivno je ciljano oštećenjem translacije u DBA ili posttranslacijskim cijepanjem kaspazom u 5q-sindromu. DBA i 5q-mijelodisplastični sindromi (MDS) imaju nedovoljnu proizvodnju globina što dovodi do viška slobodnog hema, nakupljanja reaktivnih kisikovih vrsta i stanične smrti. (96,97)

Uključenost GATA1/HSP70 i neravnoteža globina/hema, s viškom slobodnog toksičnog hema koji dovodi do proizvodnje reaktivnih vrsta kisika, uzrok su defektne eritropoeze u DBA. Neki pacijenti pokazuju eritroblastopeniju koja je posljedica ne-RP mutiranih gena kao što je GATA1. GATA1 mutacija povezana s fenotipom nalik DBA nalazi se ili u kodonu inicijacije translacije, ATG, ili u neposrednoj blizini ili na mjestu spajanja egzona 2, što dovodi do preskakanja egzona 2 i gubitka transaktivacijske domene. Alelna varijacija prethodno je opisana u vezi s kongenitalnom dizeritropoezom/dismegakariopoezom, a ne klasičnim DBA fenotipom u hipocelularnoj koštanoj srži. GATA1 ima veliku ulogu u patofiziologiji DBA jer je utvrđeno da pacijenti s DBA koji nose mutaciju u genu RP pokazuju defekte u ekspresiji GATA1 kao rezultat specifičnog defekta u translaciji s dvostrukim do trostrukim smanjenjem količine GATA1 mRNA u polisomima. Haploinsuficijencija u



nekim RP genima (RPL11, RPL6, RPS24) i mutacija mjesta spajanja u GATA1 genu odgovorni su za nestanak GATA1s ili zbog specifičnog translacijskog defekta u GATA1 transkriptu ili zbog izravnog učinka mutacije GATA1 na translaciju GATA1 mRNA i preskakanje egzona. Deplecija RP-a prepoznata je kao glavni uzrok eritroidne hipoplazije kod stečenog del(5q) MDS-a ili DBA. (59,96,98) Svaki faktor koji utječe na ekspresiju GATA1 ili HSP70 bio bi štetan u DBA. Neki su geni translacijski smanjeni kao rezultat haplone-dovoljnosti RP-a. Prekomjerna ekspresija divljeg tipa HSP70 obnavljanjem GATA1, smanjila je aktivaciju p53 u eritroidnim stanicama osiromašenim RPL5 i RPL11. Smanjena ekspresija GATA1 mogla bi biti razlog za aktivaciju p53 u DBA. Slobodni hem zaustavlja sintezu GATA1, a njegova supresija aktivnosti inhibitora reguliranog hemom (HRI) i kasnije fosforilacija eIF2a neučinkovita je za spašavanje globinske translacije. (96) Višak slobodnog hema i neravnoteža globina/hema koja je posljedica GATA1 defekta mogu biti ključni čimbenici u patofiziologiji DBA zbog smanjene translacije ili nakon cijepanja kaspazom 3 zbog degradacije HSP70. GATA1/HSP70 kompleks, a barem djelomično i pod utjecajem stabilizacije p53 i viška slobodnog hema, glavni je čimbenik uključen u patofiziologiju DBA i eritroidni tropizam bolesti. (98,99)

Uz bolesti nalik na DBA, varijante GATA1 opisane su u bolesnika s X-vezanom trombocitopenijom s diseritropoetskom anemijom (XLTD), trombocitopenijom, X-vezanom makrotrombocitopenijom s ili bez teške anemije (XLT), X-vezana trombocitopenija s  $\beta$ -talasemijom, makrocitna anemija i neutropenija, i kongenitalna eritropoetska porfirija (CEP). (32,56,100,101) Bolesnici imaju različite stupnjeve trombocitopenije i različite vrste abnormalnosti eritrocita. Na jednom kraju kliničkog spektra, mogu se prezentirati teški krvarenjem i zahtijevati doživotne transfuzije, pa čak i transplantaciju koštane srži. Na drugome kraju spektra, komplikacije krvarenja smanjuju se s dobi i stupnjem anemije, a trombocitopenija se popravlja. Bolesnici pokazuju sklonost nastanku hematoma, petehija, epistakse i produljenim krvarenjem nakon ozljede ili manje operacije. (56)

Karakteristike koštane srži kod bolesnika s bolestima nalik na DBA razlikuju se od tipičnih nalaza koštane srži kod DBA s varijantama gena RP, koje karakterizira kvantitativni intrinzični eritroidni defekt ili eritroblastopenija (odsutnost ili manje od 5% eritroblasta u inače normocelularnoj koštanoj srži bez znakova displazije). (32)

XLTD uzrokovana je određenim mutacijama u GATA1, a simptomi uključuju sklonost za krvarenje, blagu do tešku anemiju i makrotrombocitopeniju s hipogranuliranim trombocitima. Karakteristične promjene u koštanoj srži pacijenata s XLTD uključuju smanjen broj megakariocita koji sadrže citoplazmatske vaukole, ali nemaju demarkaciju trobocitne membrane, i diseritropoezu koja je prisutna kod bolesnika s GATA1 mutacijama. (102)

Jedan oblik XLT-a, s makrotrombocitopenijom, rezultat je mutacije u *Gata1* genu. Mutacije u GATA1 mogu uzrokovati makrotrombocitopeniju s ili bez pridružene mikrocitne anemije nalik talasemiji. U ranom se djetinjstvu pacijenti prezentiraju

hemoragijskom dijatezom koja je posljedica trombocitopenije i popratne disfunkcije trombocita. (103)

$\beta$ -talasemija major ( $\beta$ -TM) nasljedna je hemoglobinopatija uzrokovana kvantitativnim defektom u sintezi lanaca  $\beta$ -globina hemoglobina što dovodi do nakupljanja slobodnih lanaca  $\alpha$ -globina koji se nakupljaju i uzrokuju neučinkovitu eritropoezu. Kod normalnih eritroidnih progenitora lokalizacija HSP70 regulirana je eksportinom 1 (XPO1) i djelovanje na  $\beta$  talasemičke eritroblaste inhibitorom XPO1 povećalo je količinu nuklearnog HSP70, spasilo je ekspresiju GATA1 i poboljšalo terminalnu diferencijaciju. Nuklearna akumulacija HSP70 nije se dogodila u ljudskim  $\beta$ -TM eritroblastima, što je rezultiralo cijepanjem GATA1 i time zaustavljanjem sazrijevanja eritroblasta i apoptozom. (58)

Nasljedna makrocitna anemija i neutropenija uzrokovana je mutacijom GATA1s, no bez T21. Prezntira se eritroidnom hipoplazijom s blagom neutropenijom i blagim defektima u megakariopoezi. (5)

Kongenitalna eritropoetska porfirija rijedak je autosomno recesivni poremećaj karakteriziran fotosenzitivnošću i hematološkim abnormalnostima u zahvaćenih osoba. Uzrokovan je mutacijama u genu uroporfirinogena (UROS), no prijavljeni su slučajevi sa specifičnom X-vezanom GATA1 mutacijom. (101)

Arsen, široko rasprostranjeni okolišni toksin, inhibira eritropoezu. Arsen stupa u interakciju s N i C terminalnim motivima cinkovog prsta GATA1 i tako dovodi do gubitka cinka i inhibicije aktivnosti vezanja DNA i proteina, što rezultira diseritropoezom i neravnotežom hematopoetske diferencijacije. (104) Dokazano je i da monometilarsonska kiselina (MMA), metabolit arsena, potiskuje aktivnost GATA1 i čak je toksičniji od arsena za rane oblike razvojnih eritroidnih stanica. (105)

BCR/ABL1-negativne neoplazme (MPN) uključuju policitemiju veru (PV), esencijalnu trombocitemiju (ET), prefibrotičnu primarnu mijelofibrozu (prePMF) i očitu primarnu mijelofibrozu (PMF). Prekursorske stanice megakariocitne loze (MK) kojima nedostaje GATA1 mogu zaustaviti sazrijevanje i podvrgnuti se nesputanoj proliferaciji. Neispravna ekspresija GATA1 u MK može biti povezana s mijelofibrozom. Zabilježen je razvoj mijelofibroze kod miševa sa smanjenom ekspresijom GATA1 gena, također miševi su bili anemični i trombocitopenični pri rođenju. (106) Druga studija pokazuje da miševi koji nose hipomorfnu mutaciju (*Gata1<sup>low</sup>*) koja briše HS1, koji pokreće transkripciju *Gata1* u megakariocitima, razvijaju PMF. *Gata1<sup>low</sup>* miševi razvijaju kroničnu anemiju koja se kompenzira ekstramedularnom hematopoezom u slezeni. Hipomorfna mutacija *Gata1<sup>low</sup>* briše distalna mjesta HS1 i smanjuje dva do tri puta razine mRNA *Gata1* u bipotencijalnim megakariocitnim/eritroidnim progenitorskim stanicama, eritroidnim stanicama, megakariocitima i dendritičnim stanicama. Miševi se rađaju anemični, ali oni koji mogu učinkovito aktivirati ekstramedularnu hematopoezu u slezeni ostaju trombocitopenični, oporavljaju se od anemije ubrzo nakon rođenja i imaju normalan

životni vijek. Uz HS1, gen *Gata1* sadrži pojačivač HS2 koji je aktivan u eritroidima i megakariocitima iz slezene, ali ne i u onima iz koštane srži, što ukazuje da aktivacija translacije mRNA s ovog alternativnog mjesta može spasiti deficijenciju *Gata1* u slezeni. (2,57,60)

Mijelofibrozu karakterizira hiperaktivacija signalizacije trombopoetina (TPO) koja inducira nedostatak RPS14 koji deregulira GATA1 u megakariocitima ometajući translaciju mRNA. GATA1 djeluje kao modifikator fenotipa u megakariocitima u MF-u. Model *Gata1*low vjerodostojan je model PMF-a ukazujući da ovi miševi izražavaju aktiviranu os TPO/MPL i abnormalni ribosomski potpis, što može doprinijeti smanjenoj ekspresiji GATA1 u megakariocitima smanjenjem učinkovitosti njegove translacije mRNA. (57)

Ekspresija GATA1 značajno je smanjena u PMF-u i progresivno se smanjuje s progresijom fibroze i vjerojatno s leukemijskom transformacijom, a nije utvrđena razlika između ET i prePMF-a. Ekspresija GATA1 također je niska u bolesnika s PV-om koji su tijekom praćenja razvili mijelofibrozu nakon PV-a. (106–108) Druga studija predlaže upotrebu GATA1 kao dijagnostičkog markera u ET, ali i kao marker koji bi razlikovao ET od mijelofibroze. Naime, megakariociti kod pacijenata s ET pokazuju povećane razine GATA1 proteina, za razliku od mijelofibroze u kojoj su prisutne smanjene razine GATA1 proteina. (109)

Mijelodisplastični sindromi (MDS) klinički su različiti maligni poremećaji starijih osoba, a glavni simptom korelira s displastičnom eritropoezom u koštanoj srži. U bolesnika s MDS-om s diseritropoezom, EDAG je dramatično smanjen, a prisilna ekspresija EDAG-a obnavlja lokalizaciju HSP70 u jezgri i podiže razinu GATA1 proteina. Osim toga, EDAG je spasio diseritropoezu pacijenata s MDS-om povećanjem diferencijacije eritroida i smanjenjem apoptoze stanica. (68)

Mutacija u kojoj se arginin zamijenio u cistein ili histidin na položaju 307 (R307C/H) oštećuju aktivnost transkripcije GATA1 u ljudskoj i mišjoj eritropoezi, dok zadržavaju neke funkcije koje jamče proizvodnju crvenih krvnih stanica iako neispravnih. Mutacije R307C/H mogu ometati signal lokalizacije jezgre. R307 važan je funkcionalni ostatak za GATA1 kromatinsku okupaciju ciljnih gena povezanih s kasnim sazrijevanjem crvenih krvnih stanica što objašnjava hemolitičku anemiju povezanu s mutacijama R307. (78) Hemolitička anemija s povišenim razinama adenozin deaminaze eritrocita povezana je s missense mutacijama (R307C/H) u GATA1, a te mutacije remete GATA1 transkripcijsku aktivnost djelomičnim narušavanjem nuklearne lokalizacije i selektivnim mijenjanjem popunjenosti kromatina GATA1-om. (97,110)

Tablica 1. Zapažanja GATA1 genotipa – fenotipa

Prema: Takasakiju (2023.) (111)

DNA nukleotidna promjena	Pretpostavljena promjena proteina	Fenotip trombocita	Fenotip crvenih krvnih stanica	Druge značajke
<b>Patogene varijante koje rezultiraju GATA1s-om</b>				
c.94delG	p.Val32PhefsTer105	↓ do ↓↓; Displastični megakariociti	Normocitni do makrocitni, blaga do umjerna anemija	TMD s ili bez DS; hipercelularna fibrozna koštana srž; samo kod heterozigotnih žena
c.220G>C	p.Val74Leu	Normalni ili ↓; displastični megakariociti	Makrocitna anemija varijabilne težine	Neutropenija
c.-19-2A>G (-21A>G)	--	Normalni ili ↑; displastični megakariociti	Diseritropoeza; makrocitna anemija; ↑ fetalni hemoglobin (HbF)	Povremena neutropenija; ne-DS AML, MDS
c.2T>C	p.Met1	Normalni ili ↑; displastični megakariociti	Diseritropoeza; teška makrocitna anemija; kliničke značajke DBA	Progresija u MDS; megaloblastična promjena; DS-AML s ili bez DS
c.3G>A	p.Met1	↓ (fluktuiraju)	Blaga do teška normocitna anemija; kliničke značajke DBA	Hipertelorizam i udubljen nosni most; hepatomegalija
c.220+2T>C	--	↑; blaga displazija megakariocita	Diseritropoeza; umjerena makrocitna anemija; kliničke značajke DBA	--
c.220+1delG	--	Normalni	Anemija; kliničke značajke DBA	--
<b>Patogene varijante koje zahvaćaju N ili C -TAD, FOG1 vezanje ili DNA vezanje</b>				
c.871-24C>T	--	↓↓; veliki displastični megakariociti;	Diseritropoeza; hidrops fetalis; teška infantilna	Kriptorhizam; hipospadija; povremene

		smanjena agregacija	anemija koja se popravljala godinama; ↑ HbF	displastične mijeloidne stanice; progresija do aplastične anemije
c.613G>A	p.Val20Met	↓; veliki	↓; diseritropoeza; hidrops fetalis	Kriptorhizam
c.622G>A	p.Gly208Arg	↓↓; veliki	↓; diseritropoeza	Kriptorhizam; ne odgovara na splenektomiju i/ili steroide; ↓ epizoda krvarenja s dobi unatoč trombocitopeniji
c.622_623delGGinsTC	c.Gly208Ser	↓; veliki, ↓ agregacija, hipogranulirani	Normalni	Ne odgovara na splenektomiju i/ili steroide; ↓ epizoda krvarenja s dobi unatoč trombocitopeniji
c.647G>A	p.Atf216Gln	↓; veliki, normalna agregacija; produljeno vrijeme krvarenja	Blaga anemija	Splenomegalija
c.646C>T	p.Arg216Trp	↓	Blaga anemija	Kongenitalna eritropoetska porfirija; splenomegalija
c.653A>G	p.Asp218Gly	↓; veliki; ↓ agregacija	Diseritropoeza s ili bez anemije	--
c.652G>T	p.Asp218Tyr	↓↓; veliki	Teška anemija	Trombociti u hezerozigotnih žena eksprimira samo divlji tip alela
c.652G>A	p.Asp218Asn	↓↓; veliki; ↓ agregacija; produljeno vrijeme krvarenja	Diseritropoeza s ili bez anemije	Splenomegalija

c.788C>T	p.Thr263Met	↓; displastični megakariociti	Blaga diseritropoeza; blaga anemija	↑ neutrofili; hipercelularna fibrozna koštana srž; samo kod heterozigotnih žena
c.865C>T	p.His289Tyr	Normalni ili ↓; anizociti trombociti; ↓ agregacija; ↓ αIIbβ3 inetrinska aktivacija i sekrecija α granula; produljeno vrijeme krvarenja	Diseritropoeza; normalna do blaga anemija	--
c.886A>C	p.Thr296Pro	↓; veliki; α-δ – nedostatak skladišnog bazena	Blaga diseritropoeza s blagom anemijom; ↑ HbF	Snižena ekspresija u heterozigota Lutheran stanice: Lu(a-b-) crvene stanice
c.919C>T	p.Arg307Cys	↓	Blaga diseritropoeza; hemolitička anemija	Prekomjerna proizvodnja adenzin deaminaze
c.920G>A	p.Arg307His	↓; veliki	Varijabilna diseritropoeza; postnatalna hiperkromna makrocitoza s ili bez anemije; hemolitička anemija; ↑ HbF; hidrops fetalis	Prekomjerna proizvodnja adenzin deaminaze; snižena porođajna masa ; hipospadija; splenomegalija; Lu(a-b-) crvene stanice
c.1240T>C	p.Ter414Atg	↓; veliki	Normalni	Lu(a-b-) crvene stanice

## GATA2

GATA2 smješten je na kromosomu 3q21.2 i svojim vezanjem na DNA sekvencu regulira ekspresiju više ciljnih gena, među kojima su RUNX, TAL1, PU.1, FLI1, LMO2. GATA2 uključen je u aktivnost i samoobnavljanje HSPC-ova, diferencijaciju mijeloidnih i mijeloeritoridnih progenitorskih stanica i održavanje eritroidnih prekursorskih stanica. (112,113)

GATA2 gen sadrži sedam egzona, od koji se pet prevodi. Uz dvije domene cinkovog prsta, protein sadrži dvije transkripcijske aktivacijske domene, negativnu regulatornu domenu i nuklearni lokalizacijski signal. (114) Transkripcija GATA2 započinje iz prva dva egzona. Proksimalni IG egzon iskorištava se u svim tkivima koja izražavaju GATA2, dok je distalni IS egzon specifičan za hematopoetske i neuralne stanice. (115) GATA2 protein prolazi brojne posttranslacijske modifikacije, uključujući fosforilaciju, ubikvitinaciju, sumoilaciju i acetilaciju. (114)

GATA2 ima ključnu ulogu u nastanku HSC-a iz hemogenog endotela u procesu tranzicije endotela u hematopoezu. GATA2 visoko je izražen u nezrelim hematopoetskim stanicama, a njegove razine padaju sa sazrijevanjem krvnih stanica. GATA2 ključan je za proliferaciju i održavanje HSC-ova. Visoka ekspresija GATA2 opažena je u hematopoetskim progenitorskim stanicama, ranim eritroidnim stanicama, mastocitima i megakariocitima. Ekspresiju *Gata2* gena kontroliraju različiti cis-regulacijski elementi (-110 kb, -3,9 kb, -2,8 kb, -1,8 kb i +9,5 kb koje sadrži E-box regulatorno mjesto). Ta mjesta mogu biti zauzeta višestrukim faktorima koji utječu na transkripciju gena. GATA2 može se vezati uzvodno od genskog lokusa što dovodi do pozitivne autoregulacije. On zauzima vezno mjesto od -2,8 kb u transkripcijski aktivnom stanju u HSC i progenitorskim stanicama, dok njegovo premještanje GATA1-om u eritroidnim progenitorima rezultira potiskivanjem GATA2 transkripcije. Mjesto -1,8 kb potrebno je za obuzdavanje ekspresije GATA2 u kasnom stadiju eritroblasta in vivo. (115) Stanice s niskom razinom GATA2 osjetljive su na genetske i/ili okolišne nokse koje pokreću HSPC na patogeni put. (116)

U HSCP-ovima, GATA2 inducira psihozin receptor (GPR65). Smanjena regulacija GPR65 povećava pojavu HSC kao rezultat petlje negativne povratne sprege koja uspostavlja represivni kromatin, ograničava popunjenost Scl/TAL1 na +9,5 pojačivaču i smanjuje GATA2 transkripciju. GATA2 inducira RUNX1 i druge transkripcijske regulatore hematopoeze, uključujući Scl/TAL1 i proteine cinkovog prsta GF11 i GF11b. (117)

GATA2 i RUNX1 međusobno se nadopunjuju u pogledu svojih uloga tijekom hematopoeze. Mogu djelovati sinergistički, ali i neovisno o drugome. RUNX1 i GATA2 imaju redundantne uloge za proizvodnju HSC-ova, djelujući kao zaštita jedan drugome. Kao transkripcijski faktori, RUNX1 i GATA2 mogu međusobno izravno komunicirati i formirati komplekse za vezanje DNA. Vezna mjesta RUNX1 i GATA2

nalaze se na nizu hematopoetskih gena. Surađuju s drugim transkripcijskim faktorima kako bi regulirali gene koji se smatraju ključnima za ravnotežu između faze mirovanja i proliferacije HSC-a. Ekspresija GATA2 bila je povećano izražena u hematopoetskim stanicama u miševa kod kojih RUNX1 nije eksprimiran, što sugerira da je kompenzacijski mehanizam očuvan. Drugim riječima, GATA2 može zaobići RUNX1 kako bi uspostavio funkcionalnu hematopoezu. No, RUNX1 može održati hematopoezu u odsutnosti GATA2. Tek kada se izgubi RUNX1 i najmanje 75% GATA2 hematopoeza je zaustavljena, što ukazuje na izuzetnu redundanciju između GATA2 i RUNX1 kako bi se osiguralo pokretanje i održavanje HSC-ova, ali i održala hematopoeza. (118)

GATA2 nestabilan je protein ( $t_{1/2} < 1$  sat) koji se razgrađuje sustavom ubikvitin – proteasom. Tijekom embriogeneze, koštani morfogenetski protein 4 (BMP4) inducira ekspresiju GATA2. Krvni i vaskularno regenerativni transkripcijski faktor Ets varijanta transkripcijskog faktora 2 (ETV2) zauzima *Gata2* lokus. (117)

U progenitorskim stanicama, GATA2 aktivira ekspresiju niza mehanički povezanih i različitih gena, uključujući one koji kodiraju c-Kit, domenu proteina sterilnog alfa motiva 14 (*Samd14*), GATA1 i histidin dekarboksilazu koja posreduje u biosintezi hema. Smanjena regulacija *Samd14* posredovana kratkom ukosnom RNA (shRNA) u HSPC smanjuje signalizaciju izazvanu faktorom matičnih stanica (SCF) i razine mijelo – eritroidnih progenitora. GATA2 izravno aktivira Kit i *Samd14* transkripciju, a *Samd14* potiče SCF – induciranu signalizaciju c-Kit receptora tirozin kinaze, koji je važna determinanta u eritropoezi. Tijekom embriogeneze u miševa, GATA2 potiskuje ekspresiju urođenih imunoloških gena i daje progenitorima potencijal za višelinijnsku diferencijaciju. (119–121)

MAPK p38 $\alpha$  i kinaza regulirana izvanstaničnim signalom (ERK) mogu fosforilirati GATA2 na više serinskih mjesta (S73, S119, S192, S290, S340). ERK/p38 $\alpha$  pristaje na DEF motiv GATA2-e, fosforiliraju S192, a ostali serinski ostaci naknadno su fosforilirani. Fosforilacija GATA2 na više mjesta pojačava njegovu aktivnost za regulaciju odabranih ciljnih gena. Ti geni uključuju *IL1 $\beta$*  i *CXCL2*, koji generiraju regulaciju pozitivne povratne sprege osi RAS/MAPK-GATA2-IL1 $\beta$ /CXCL2. DEF motiv također je uključen u stvaranje megakariocita posredovano GATA2-om. KITAJIMA CDK1 fosforilira GATA2 i potiče razgradnju GATA2 proteinom 7 koji sadrži F-box/WD ponavljanje (Fbw7). Studije in vitro pokazale su da p300 i histonska acetiltransferaza opće kontrole koja je nedepresibilna (GCN5) acetiliraju GATA2 i tako sudjeluju u regulaciji primitivne eritropoeze. (119)

GATA2 povećava ekspresiju GATA1, koji pojačava izražaj vlastitog koregulatora FOG1, a GATA1 antagonizira PU.1, čime blokira mijelopoezu. Također, GATA2 inhibira transkripciju glavnog regulatora razvoja mijeloida PU.1 putem histonske deacetilacije njegovog promotora. Trihostatin A (TSA), HDACI inhibitor, ukida GATA2-om induciran smanjen izražaj PU.1 i posljedično smanjuje diferencijaciju megakariocita. Prekomjerna ekspresija PU.1 potiskuje GATA2 – induciranu diferencijaciju megakariocita. Epigenetski smanjena regulacija Pu.1 temeljni je



mehanizam indukcije megakariocita putem GATA2. Megakariociti inducirani iz embrionalnih matičnih stanica (ESC) pomoću GATA2 proizvode funkcionalne trombocite. (122)

## Hematološki poremećaji povezani s GATA2

Haploinsuficijencija GATA2 uzrokovana je velikim brojem heterozigotnih mutacija gubitka funkcije, u podlozi je jednog od najčešćih uzroka nasljednog zatajenja koštane srži, osobito među djecom i mladim odraslim osobama, poznatog kao deficiencija GATA2. GATA2 deficiencija u početku je identificiran kao različiti entiteti, poput sindroma monocitopenije i mikobakterijske infekcije (MonoMAC), dendritičke stanice, monociti, B i NK limfoidna deficiencija (DCML) i Embergerov sindrom. (123) Njegov fenotip karakterizira široki spektar kliničkih manifestacija, koje uključuju hematološke maligne bolesti, imunodeficijenciju koja dovodi do invazivnih virusnih, mikobakterijskih i gljivičnih infekcija, rekurentne bradavice, limfedem, plućnu alveolarnu proteinozu, gluhoću i pobačaj. (112)

Kompletna deficiencija GATA2 u nokaut modelu miša rezultira embrionalnim letalnim fenotipom zbog nedostatka konačne hematopoeze. Nasuprot tome, miševi s heterozigotnom deficijencijom GATA2 imaju smanjen broj HSPC-ova. (112,114)

Sindrom bradavica, imunodeficijencije, limfedema i anogenitalne displazije (WILD) GATA2 je haploinsuficijencija. Pacijente koji se prezentiraju značajkama WILD sindroma treba testirati na GATA2 haploinsuficijenciju. No, GATA2 deficiencija može imati brojne kliničke manifestacije od kojih se neke mogu preklapati s WILD sindromom. (124)

Imunodeficijencija bila je vodeći problem u početnim kohortama opisanim s GATA2 mutacijama: autosomno dominantna i sporadična MonoMAC, DCML s predispozicijom za MDS/AML. Generalizirane bradavice povezane s HPV infekcijom bile su česta virusna komplikacija, uz teške HSV, VZV, EBV i CMV infekcije. Diseminirane infekcije netuberkuloznim mikobakterijama primijećene su u otprilike polovice slučajeva s MonoMAC sindromom. Teške bakterijske ili gljivične infekcije i plućna alveolarna proteinoza (PAP) također su prevladavale u MonoMAC sindromu. Naime, nakon HSCT-a, stope infekcija i PAP-a mogu se značajno smanjiti. (125)

GATA2 deficiencija dovodi do osjetljivosti na virusne infekcije, pri čemu je VZV infekcija nađena u 11 % bolesnika. Hemofagocitna limfocitocitoza (HLH) po život je opasno hiperinflamatorno stanje. HLH povezan s haploinsuficijencijom GATA2 opisan je samo u nekoliko slučajeva. Mogu postojati višestruke okultne infekcije uključene u nekontroliranu i ponavljajuću imunološku aktivaciju, što dovodi do epizode HLH-a. Panikulitis i nodozni eritem mogu se vidjeti u jednoj trećini GATA2 haploinsuficijencije, što ukazuje na infekcije ili simptome slične autoimunim poremećajima. Stoga bi GATA2 mutacije mogle djelovati kao temeljni uzrok među odraslim pacijentima s rekurentnim HLH-om i panikulitisom. (25) Također, prikazan je slučaj u kojem je pacijent s teškim HVLPD-om s HLH-om i GATA2 deficijencijom koja

je nastala zbog intronske varijante koja utječe na vezanje GATA2 pojačivača koji rezultira smanjenom transkripcijom. (126)

Embergerov sindrom čine primarni limfedem i predispozicije za MDS/AML s ili bez kongenitalne gluhoće naslijeđene autosomno dominantno. Protein GATA2 eksprimira se u visokim razinama u endotelnim stanicama i zaliscima limfnih žila. (125)

Deficijencija GATA2 nasljeđuje se autosomno dominantno s vrlo visokom penetracijom, no većina slučajeva (do 80%) nastaju *de novo*. (113,127) Smatra se da je u osnovi smanjene penetracije kod asimptomatskih pacijenata došlo do epigenetičkih promjena, do određenih obrazaca metilacije GATA2 promotora. (128) Opisan je prvi slučaj somatskog genetskog spašavanja (SGR) kod asimptomatske osobe koja nosi patogenu mutaciju zametne linije. Povratna mutacija ograničena krvnom linijom obnovila je normalnu hematopoezu. U patogenom GATA2 C.216C > A (p.Y72) varijanta, A ostatak ponovno je mutiran u T, vraćajući tako sekvencu aminokiselina (c.216C > T; p.Y72Y). (129)

Mutacije zametne linije u genu *Gata2* osnova su GATA2 deficijencije. Među njima mogu se razlikovati četiri glavne kategorije. 60% čine nulte mutacije (pomak okvira, besmislene, mjesta spajanja i delecije cijelog gena) koje su smještene prije ili unutar ZnF. Drugu skupinu missense zamjene grupirane unutar ZnF-a te čine jednu trećinu mutacija. Iduću skupinu čine nekodirajuće supstitucije u +9,5 kb elementu pojačivača (regulacijska regija EBOX-GATA-ETS u intronu 4), koje se otkriju u 4 – 10% slučajeva. U posljednju skupinu pripadaju sinonimne mutacije koje uzrokuju uvođenje novog donorskog mjesta spajanja, što rezultira preuranjenim zaustavljanjem translacije, te čine 8% slučajeva. Nositelji missense mutacije imaju značajno veći rizik od razvoja leukemije. (130–132)

Pojava simptoma kreće se od ranog djetinjstva do kasne odrasle dobi. U većine pacijenata, klinička se slika razvija kasnije s multilinearom citopenijom, zatajenjem koštane srži i mijeloidnom neoplazmom. Klasične karakteristike periferne krvi uključuju monocitopeniju, nedostatak dendritičnih stanica, nedostatak NK stanica, nedostatak B stanica i, nešto rjeđe, neutropeniju. Vrlo su rijetko anemija i trombocitopenija prisutne na početku, osim u slučajevima koji se javljaju s MDS-om ili AM-om. Koštana je srž tipično hipocelularna, što je tipično za MDS u djetinjstvu. Također, mogu se pronaći atipični megakariociti, koji mogu biti abnormalno veliki, ili mikromegakariociti, s odvojenim nuklearnim režnjevima ili mononuklearni. Protočna citometrija može pokazati tipične karakteristike GATA2 deficijencije, koje uključuju odsutnost B prekursora (hematogona) s B limfopenijom, monocitopenijom, obrnutim omjer CD4 : CD8, smanjenim NK stanicama. Monocitopenija česta je čak i bez drugih znakova hematološke bolesti. (112,130)

Jedina je kurativna terapija alogena transplantacija HSC (HSCT), koja može obnoviti funkciju hematopoetskog i imunološkog sustava i spriječiti propadanje pluća. Studija je pokazala da što se ranije izvede HSCT, ishod bude bolji. No, trenutno nema

službenih smjernica o liječenju bolesnika s GATA2 deficijencijom, kao ni kada je optimalno vrijeme za alogenu transplantaciju HSC. (112,130)

Somatske GATA2 mutacije, identificirane u mijeloidnim neoplazmama u odraslih, opisuju se kao mutacije u kojima je došlo do povećanja funkcije. (119)

GATA2 mutacija najčešći je genetski uzrok MDS-a, koji se nalazi u podlozi 15 % uznapredovalih oblika i 7 % svih primarnih MDS-a u dječjoj dobi. Pacijenti s GATA2 deficijencijom koja se prezentira MDS-om, imaju veće vrijednosti hemoglobina i trombocita od pacijenata koji imaju MDS s GATA2 mutacijom. Monocitoza češća je kod GATA2 deficijentnog nego kod GATA2 bez deficijencije MDS-a. Značajno, nema razlike u ukupnom preživljenju između pacijenata s deficijentnim GATA2 MDS-om, u odnosu na pacijente s GATA2 MDS-om bez GATA2 deficijencije. Stoga, GATA2 ne predstavlja negativan prognostički čimbenik. (112)

Najčešći su abnormalni kariotipovi povezani s GATA2 MDS-om monosomija 7 i trisomija 8. 72 % adolescenata s MDS-om i monosomijom 7 ima mutacije germinativne linije GATA2. Stoga, preporučuje se učiniti probir na GATA2 u djece i mladih odraslih osoba s monosomijom 7, trisomijom 8 ili neovisno o kariotipu ako se pokazuju značajke koje upućuju na GATA2 deficijenciju. Nasuprot tome, mutacije su odsutne kod sekundarnog MDS-a koji je bio povezan s terapijom ili se pojavio nakon aplastične anemije. U kohortama s pedijatrijskim MDS-om, B-stanična limfopenija identificirana je kao najdosljednija imunološka značajka, što bi moglo biti zbog činjenice da prava funkcionalna monocitopenija može maskirana širenjem maligne mijelomonocitne loze u okruženju MDS-a s monosomijom 7. (125) Prethodno je predložena monocitopenija kao dijagnostička značajka GATA2 deficijencije. Međutim, neki bolesnici s MDS-om povezanim s GATA2 mogu imati monocitozu. (133) Poremećaj koštane srži povezan s GATA2 deficijencijom može se manifestirati značajkama koje se preklapaju s aplastičnom anemijom. Također, identificirana je GATA2 mutacija zametne linije kod pacijenata s blagom kroničnom neutropenijom povezanom s imunodeficijencijom i kasnijom evolucijom MDS-a. (125,127)

Pretpostavlja se da citopenijama i infekcijama izazvan stres dovodi do stresa koštane srži. U takvom okruženju, somatske mutacije mogu se akumulirati, rezultirajući razvojem klona s proliferativnom predanošću, što dovodi do progresije u MDS i AML. (112)

Rizik od razvoja hematoloških malignih bolesti raste proporcionalno s dobi, s rizikom od 6 % u 10. godini, 39 % u 20. i 81 % u 40. godini. (130) Prosječna dob početka bolesti varira između 12 i 35 godina, s medijanom od 19 godina. Najčešća je neoplazma MDS, s učestalošću 70 – 84 %. MDS može prijeći u AML (14 – 19 %), ali se inicijalno može prezentirati AML-om. Ostale su opisane hematološke neoplazme ALL, juvenilna mijelomonocitna leukemija (JMML), aplastična anemija i mijelofibroza. (112)

RUNX1 i GATA2 mogu sinergistički djelovati na razvoj leukemije. Delecija GATA2 često je prisutna u ljudskim CBF leukemijama, onima koje su povezane s RUNX1 i CFB fuzijskim genima. U mišjem modelu dokazano je da GATA2 doprinosi leukemogenezi povezanoj s CFB-MYH11. RUNX1 potreban je za leukemogenezu povezanu s CFB-MYH11 povećavajući mogućnost da GATA2 i RUNX1 djeluju sinergistički tijekom leukemogeneze. (118)

## GATA3

Ekspresija GATA3 povezana je sa specifikacijom staničnog tipa i ima važnu ulogu u razvoju i funkcijama više tipova imunoloških stanica, uključujući T stanice i B stanice. Funkcija GATA3 prvo je opisana u T stanicama, i neophodna je za predanost Th1 – Th2 s većom ekspresijom u Th2 stanicama. Regulira diferencijaciju Th2 stanica kontrolirajući gene koji kodiraju Th2 citokine, IL4, IL5 i IL13. Interleukin 4 (IL-4) može pospješiti ekspresiju GATA3 putem STAT6 signala. (134) Također, GATA3 uključen je u više puteva, uključujući Notch i Wnt puteve, koji su bitni za razvoj T stanica. Poremećaj Notch puta oslabljuje ekspresiju GATA3 i proizvodnju citokina, te u konačnici utječe na diferencijaciju Th2 stanica. (14,135,136) Odluka između Th1 i Th2 loze odvija se putem mehanizma unakrsnog antagoniziranja između GATA3 i transkripcijskog faktora T-BET (TBX21). Potiskivanjem alternativne stanične sudbine, GATA3 djeluje kao glavni regulator Th2 diferencijacije, dok T-BET promiče Th1 liniju. (137) Ovaj događaj specifikacije loze uključuje GATA3/CHD4/p300 aktivacijski kompleks na Th2 – specifičnim genskim lokusima i GATA3/CHD4/NURD represijski kompleks na T-bet i Th1 – specifičnim genskim lokusima. (1) Razina ekspresije GATA3 varira ovisno o razvojnom stadiju. Više razine GATA3 otkrivene su u dvostruko negativnim timocitima i Th2 stanicama, dok su niže razine bile prisutne u dvostruko pozitivnim timocitima i Th1 stanicama. (4) Također, ima važnu ulogu u održavanju T stanica te je potreban za različite aspekte aktivacije i proliferacije T stanica na način specifičan za stanični tip. (136) GATA3 daje informacije o izboru između pomoćničkih i citotoksičnih linija. U nedostatku *Gata3*, specifikacija je Th loze narušena, dok prekomjerna ekspresija GATA3 inhibira diferencijaciju citotoksičnih T stanica. Prekomjerna ekspresija *Gata3* u ranim stadijima fetalnih timocita preusmjerila je njihovu diferencijaciju prema mastocitnoj staničnoj lozi. (1,14)

GATA3 može djelovati kao transkripcijski aktivator ili represor, a utvrđeno je da su njegova vezna mjesta obogaćena na otvorenim regijama kromatina. (138) Vezna mjesta GATA3 uglavnom odgovaraju distalnim regulatornim elementima s aktivnim (H3K4me1, H3K4me2) i represivnim (H3K27me3) histonskim oznakama koje su snažno korelirale s aktivacijom i represijom ciljnog gena. U nekim lokusima, popunjenost GATA3 prethodi potpunoj aktivaciji regulatornih elemenata, sugerirajući moguću ulogu kao inicijatorski faktor transkripcije. (4) Što se tiče epigenetskog mehanizma kojim GATA3 pojačava svoje ciljne gene, GATA3 regrutira dva epigenetska enzima, histonsku metiltransferazu (KMT2A) i HAT p300. Ova dva epigenetska mehanizma induciraju otvaranje kromatina i određuju aktivaciju gena. (139)

Urođene limfoidne stanice (ILC) smatraju se urođenim dvojnikom efektorskih CD4 Th stanica. Mnoštvo ILC2 nalazi se u crijevima, plućima, koži i masnom tkivu, a manje ih se nalazi u limfoidnom tkivu i krvi, no svi ILC2 izražavaju visoke razine GATA3. Poput Th2 stanica, razvoj je ILC2 ovisan o GATA3. Čak i nakon završenog sazrijevanja ILC2-a, GATA3 važan je za njihovo održavanje i njihove funkcije. U zrelih ILC-ovima,

dok ILC2 izražavaju visoke razine GATA3, svi drugi ILC-ovi izražavaju niske razine GATA3. (140) Pokazalo se da ILC2 mogu potaknuti diferencijaciju Th2 stanica putem aktiviranog Notch-GATA3 signalnog puta. (135)

GATA3 eksprimira se u populaciji T folikularnih pomoćničkih stanica (Tfh13), zaduženih za proizvodnju receptora za IgE visokog afiniteta, ali ne i za receptore niskog afiniteta za IgE. Alergeni induciraju GATA3+Tfh13 stanice koje potiču prebacivanje IgG1+B stanica, potičući proizvodnju IgE-a i anafilaksiju. (141)

Osim toga, deacetilacija GATA3 dovodi do supresije Th2 imunološkog odgovora kod astme, stoga se inhibicija GATA3 aktivnosti pokazala učinkovitom kod astmatičara. GUO Opisana je upotreba peptidne nanokapsule nukleinske kiseline (NAN) za isporuku GATA3 – specifičnog deoksiribozima (DNAzyme) mononuklearnim stanicama periferne krvi. Miševi liječeni DNAzyme-NAN-ovima tijekom astme izazvanom grinjama iz kućne prašine (HDM) razvili su manje ozbiljne upale pluća od kontrolne skupine. Ova studija sugerira da peptidno umreženi GATA3 DNAzyme-NAN-ovi mogu imati ozbiljan potencijal za smanjenje ozbiljnosti simptoma astme. (142,143)

Prirodne stanice ubojice (NK) urođeni su pandan citotoksičnih T stanica. GATA3 važna je za njihovu terminalnu diferencijaciju i njihov izlazak iz koštane srži, ali i za održavanje NK stanica koje se nalaze u jetri. (1,14)

Gata3 visoko je izražen u populaciji HSPC. Gata3 neophodan je za održavanje normalnog broja HSPC-ova i regulira njihov ulazak u stanični ciklus. Delecija Gata3 rezultira proizvodnjom manjeg broja odraslih HSPC-ova, no ne utječe na sposobnost samoobnove HSPC-ova. (14)

Štoviše, nokaut *Gata3* u miševa rezultira embrionalnim letalitetom između E11 i E12, pokazujući masivno unutarnje krvarenje i velike abnormalnosti u hematopoezi u fetalnoj jetri. Abnormalna ekspresija GATA3 ili mutacije mogu utjecati na njegove nizvodne gene, inducirajući disfunkciju, uključujući tumorigenezu. Gubitak *Gata3* kod odraslih miševa može pospješiti širenje tumora, dok spašavanje ekspresije *Gata3* smanjuje i tumorigenost i metastatski potencijal stanica. GATA3 može aktivno potisnuti razvoj B stanica, a deficijencija *Gata3* gena rezultira neuspjehom razvoja T stanica, ali ne i B stanica. (136) Antagoniziranje razvojne sudbine B stanica i mijeloida djelomično se izvodi represijom PU.1. (1)

## Hematološki poremećaji povezani s GATA3

Akutna limfoblastična leukemija (ALL) najčešća je vrsta raka u djece i postoji sve više dokaza o nasljednoj sklonosti ovoj zloćudnoj hematološkoj bolesti. Neke se varijante germinativne linije ALL-a kosegregiraju sa specifičnim stečenim genomskim abnormalnostima u leukemiji, što ukazuje na zamršene interakcije između somatskih i germinativnih mutacija tijekom leukemogeneze. (144)

Važnost GATA3 u limfoidnom razvoju i funkciji dodatno je potkrijepljena činjenicom da je GATA3 odgovoran za nastanak T – stanične akutne limfoblastične leukemije (T-ALL). Protein T – stanične akutne leukemije 1 (TAL1), RUNX1 i GATA3 tvore pozitivnu autoregulacijsku petlju koja izravno aktivira onkogen MYB, čime se pojačava i stabilizira onkogeni program koji pridonosi malignoj transformaciji. Pacijenti s ranom T – staničnom prekursorskom ALL (ETP-ALL), agresivnim podtipom T-ALL, imaju GATA3 inaktivirajuće lezije koje ometaju hematopoetski razvoj. (14) Specifična germinativna varijanta GATA3 usko je povezana sa značajno povećanom razinom GATA3 mRNA, koja je povezana s većom učestalošću prekursorskog B – staničnog ALL (BCP-ALL) u adolescenata i mladih odraslih osoba. Povećanje ekspresije GATA3 povezano je s razvojem BCP-ALL-a i ALL nalik Philadelphia kromosomu (Ph), ali ne i s T-ALL-om. Ekspresija gena EP300-ZNF384 dovodi do stjecanja potpisa genske ekspresije za HSC i pojačava ekspresiju GATA3 u BCP-ALL stanicama. (145) Prekomjerna transgenska ekspresija GATA3 u T – staničnim progenitorima dovodi do razvoja T-ALL u 50% miševa. (146,147) GATA3 osjetljiv je i specifičan marker za dijagnozu akutnih leukemija s T – staničnom diferencijacijom i mogao bi biti koristan kao dodatni marker T loze u dijagnostičkoj procjeni akutne leukemije. (148)

Genotip GATA3 identificiran je u podtipu dječje ALL, ALL-a s pozitivnim Philadelphia kromosomom, koji je povezan s ranim odgovorom na liječenje, višim rizikom od recidiva i sveukupno lošijom prognozom. (14) Ova varijanta aktivira snažan pojačivač koji pojačava GATA3 transkripciju, što zauzvrat preoblikuje globalnu dostupnost kromatina i organizaciju genoma. Osim što utječe na trodimenzionalnu strukturu kromatina, utječe i na staničnu signalizaciju i doprinosi leukemogenezi. ALL nalik Philadelphia kromosomu karakteriziran je profilom ekspresije gena leukemije koji podsjeća na Ph-pozitivni ALL s BCR-ABL1 fuzijom. Svaka kopija GATA3 alela povećava rizik od ALL-a nalik Ph-u za 3,25 puta. (144)

U anaplastičnom velikostaničnom limfomu, odsutnost GATA3 proteina uz prisutnost supresivne trimetilacije histona (H3K27) na GATA3 promotoru sugerira epigenetsku regulaciju GATA3 kao mehanizma uključenog u patogenezu bolesti. (14) Prekomjerna ekspresija GATA3 može biti važan biomarker povezan s lošom prognozom kod perifernih T – staničnih limfoma i anaplastičnih velikostaničnih limfoma. (149)



Nenormalno velika ekspresija GATA3 identificirana je i u drugim malignim tumorima B stanica, kao što je klasični Hodgkinov limfom (CHL). Konstitutivna aktivacija NFκB i Notch-1 dovodi do veće ekspresije GATA3 u Reed Sternbergovim stanicama i tako doprinosi lučenju citokina (osobito IL13) i signalizaciji tipičnoj za Hodgkinov limfom. (144,150) Nuklearna ekspresija GATA3 može se koristiti za razlučivanje klasičnog Hodgkinovog limfoma od nodularne limfoidne predominacije Hodgkinovog limfoma (NLPHL). GATA3 učinkovito isključuje NLPHL sa 100% negativnom prediktivnom vrijednošću. Međutim, kako 20 % CHL-a može biti negativno za GATA3, CHL se ne može isključiti s negativnim GATA3. (151)

## Zaključak

Od otkrića GATA1 faktora do danas, smatra se da obitelj GATA transkripcijskih faktora ima brojne uloge u raznim staničnim procesima. GATA1 transkripcijski faktor možda ima i najvažniju ulogu među njima. Sudjeluje u regulaciji brojnih puteva tijekom eritropoeze, kao što su usmjeravanje stanične loze i diferencijacija eritroida, no sudjeluje i u megakariopoezi. GATA2 također sudjeluje u hematopoezi te se njegove funkcije isprepliću s funkcijama GATA1. No, GATA2 važniji je u nastanku, održavanju i proliferaciji hematopoetskih matičnih stanica nakon čega mu izražaj opada, a izražaj se GATA1 povećava te dolazi do takozvanog GATA prekidača. Za razliku od njih, funkcije GATA3 primarno se ogledaju u imunološkom sustavu. U imunološkom sustavu, GATA3 regulira razvoj i funkcije više tipova imunoloških stanica, uključujući T i B stanice, no najviše Th2 stanice. Osim što GATA transkripcijski faktori utječu na mnoge druge transkripcijske faktore, tako i brojni drugi faktori utječu na njihovu funkciju čineći veliku regulacijsku mrežu. Zbog kompleksnosti regulacijske mreže lako može doći do razvoja raznih poremećaja na više regulacijskih razina. Stoga, mutacije GATA1 dovode do kongenitalne diseritropoetske anemije, Diamond – Blackfanove anemije, nasljedne trombocitopenije, prolazne abnormalne mijelopoeze povezane s Downovim sindromom, mijeloične leukemije povezane s Downovim sindromom,  $\beta$  -talasemije, policitemije vere, esencijalne trombocitoze, primarne mijelofibroze, a zabilježeni su i slučajevi mijelodisplastičnog sindroma. GATA2 povezan je s nastankom GATA2 deficijencije, važnog imunodeficientnog sindroma koji karakteriziraju hematološke maligne bolesti, invazivne virusne, mikobakterijske i gljivične infekcije, rekurentne bradavice, limfedem, plućna alveolarna proteinoza, gluhoća i pobačaj. Također, dovodi do nastanka mijelodisplastičnog sindroma, akutne mijeloične leukemije, ali i u blastnoj krizi kronične mijeloične leukemije. Shodno svojoj funkciji u T stanicama, GATA3 može dovesti do T – stanične akutne limfoblastične leukemije, ali i do određenih vrsta limfoma.

Zaključno, može se reći da su GATA mutacije prisutne u brojnim poremećajima, pa tako i hematološkim, te zahvaljujući svojim pleiotrofnim učincima zauzimaju važno mjesto u patofiziologiji pojedinih entiteta.

## Zahvale

Zahvaljujem mentorici prim. dr. sc. Ingi Mandac Smoljanović na ukazanom povjerenju i stručnoj pomoći prilikom izrade diplomskog rada.

## LITERATURA

1. Tremblay M, Sanchez-Ferras O, Bouchard M. GATA transcription factors in development and disease. *Development*. 2018 Oct 15;145(20):dev164384.
2. Gutiérrez L, Caballero N, Fernández-Calleja L, Karkoulia E, Strouboulis J. Regulation of GATA1 levels in erythropoiesis. *IUBMB Life*. 2020;72(1):89–105.
3. Garnett C, Cruz Hernandez D, Vyas P. GATA1 and cooperating mutations in myeloid leukaemia of Down syndrome. *IUBMB Life*. 2020;72(1):119–30.
4. Romano O, Miccio A. GATA factor transcriptional activity: Insights from genome-wide binding profiles. *IUBMB Life*. 2020;72(1):10–26.
5. Crispino JD, Horwitz MS. GATA factor mutations in hematologic disease. *Blood*. 2017 Apr 13;129(15):2103–10.
6. Fulkerson PC. Transcription Factors in Eosinophil Development and As Therapeutic Targets. *Front Med [Internet]*. 2017 [citirano 15.06.2023.];4. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2017.00115>
7. Mack EA, Pear WS. Transcription factor and cytokine regulation of eosinophil lineage commitment. *Curr Opin Hematol*. 2020 Jan;27(1):27–33.
8. Guo Y, Proaño-Pérez E, Muñoz-Cano R, Martin M. Anaphylaxis: Focus on Transcription Factor Activity. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan;22(9):4935.
9. Obata-Ninomiya K, Domeier PP, Ziegler SF. Basophils and Eosinophils in Nematode Infections. *Front Immunol [Internet]*. 2020 [citirano 15.06.2023.];11. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.583824>
10. Ohneda K, Ohmori S, Yamamoto M. Mouse Trypsin Gene Expression is Coordinately Regulated by GATA1 and GATA2 in Bone Marrow-Derived Mast Cells. *Int J Mol Sci*. 2019 Jan;20(18):4603.
11. Lentjes MH, Niessen HE, Akiyama Y, De Bruïne AP, Melotte V, Van Engeland M. The emerging role of GATA transcription factors in development and disease. *Expert Rev Mol Med*. 2016;18:e3.
12. Katsumura KR, Bresnick EH, the GATA Factor Mechanisms Group. The GATA factor revolution in hematology. *Blood*. 2017 Apr 13;129(15):2092–102.
13. Fujiwara T. GATA Transcription Factors: Basic Principles and Related Human Disorders. *Tohoku J Exp Med*. 2017;242(2):83–91.
14. Zaidan N, Ottersbach K. The multi-faceted role of Gata3 in developmental haematopoiesis. *Open Biol*. 2018 Nov 21;8(11):180152.
15. Villamayor L, Cano DA, Rojas A. GATA factors in pancreas development and disease. *IUBMB Life*. 2020 Jan;72(1):80–8.

16. DeLaForest A, Quryshi AF, Frolkis TS, Franklin OD, Battle MA. GATA4 Is Required for Budding Morphogenesis of Posterior Foregut Endoderm in a Model of Human Stomach Development. *Front Med [Internet]*. 2020 [citirano 15.6.2023.];7. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.00044>
17. DeLaForest A, Kohlnhofer BM, Franklin OD, Stavniichuk R, Thompson CA, Pulakanti K, i sur. GATA4 Controls Epithelial Morphogenesis in the Developing Stomach to Promote Establishment of Glandular Columnar Epithelium. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021 Jan 1;12(4):1391–413.
18. Thompson CA, Wojta K, Pulakanti K, Rao S, Dawson P, Battle MA. GATA4 Is Sufficient to Establish Jejunal Versus Ileal Identity in the Small Intestine. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2017 May 1;3(3):422–46.
19. Whitcomb J, Gharibeh L, Nemer M. From embryogenesis to adulthood: Critical role for GATA factors in heart development and function. *IUBMB Life*. 2020 Jan;72(1):53–67.
20. Dobrzycki T, Lalwani M, Telfer C, Monteiro R, Patient R. The roles and controls of GATA factors in blood and cardiac development. *IUBMB Life*. 2020 Jan;72(1):39–44.
21. Dittrich GM, Froese N, Wang X, Kroeger H, Wang H, Szaroszyk M, i sur. Fibroblast GATA-4 and GATA-6 promote myocardial adaptation to pressure overload by enhancing cardiac angiogenesis. *Basic Res Cardiol*. 2021 Dec;116(1):26.
22. Rudigier LJ, Dame C, Scholz H, Kirschner KM. Ex vivo cultures combined with vivo-morpholino induced gene knockdown provide a system to assess the role of WT1 and GATA4 during gonad differentiation. *PLOS ONE*. 2017 Apr 20;12(4):e0176296.
23. Liu P, Zhou TF, Qiu BA, Yang YX, Zhu YJ, An Y, i sur. Methylation-Mediated Silencing of GATA5 Gene Suppresses Cholangiocarcinoma Cell Proliferation and Metastasis. *Transl Oncol*. 2018 Jun 1;11(3):585–92.
24. Ji W, Zhang L, Zhu H. GATA binding protein 5 (GATA5) induces Rho GTPase activating protein 9 (ARHGAP9) to inhibit the malignant process of lung adenocarcinoma cells. *Bioengineered*. 2022 Feb 1;13(2):2878–88.
25. Sun Z, Yan B. Multiple roles and regulatory mechanisms of the transcription factor GATA6 in human cancers. *Clin Genet*. 2020;97(1):64–72.
26. Liao CM, Mukherjee S, Tiyafoonchai A, Maguire JA, Cardenas-Diaz FL, French DL, i sur. GATA6 suppression enhances lung specification from human pluripotent stem cells. *J Clin Invest*. 2018 Jul 2;128(7):2944–50.
27. Martinelli P, Carrillo-de Santa Pau E, Cox T, Sainz B, Dusetti N, Greenhalf W, i sur. GATA6 regulates EMT and tumour dissemination, and is a marker of response to adjuvant chemotherapy in pancreatic cancer. *Gut*. 2017 Sep;66(9):1665–76.
28. Kim MY, Yan B, Huang S, Qiu Y. Regulating the Regulators: The Role of Histone Deacetylase 1 (HDAC1) in Erythropoiesis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan;21(22):8460.
29. Ling T, Crispino JD. GATA1 Mutations in Red Cell Disorders. *IUBMB Life*. 2020 Jan;72(1):106–18.

30. Barbarani G, Fugazza C, Strouboulis J, Ronchi AE. The Pleiotropic Effects of GATA1 and KLF1 in Physiological Erythropoiesis and in Dyserythropoietic Disorders. *Front Physiol* [Internet]. 2019 [citirano 31.05.2023.];10. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00091>
31. Ling T, Birger Y, Stankiewicz MJ, Ben-Haim N, Kalisky T, Rein A, i sur. Chromatin occupancy and epigenetic analysis reveal new insights into the function of the GATA1 N terminus in erythropoiesis. *Blood*. 2019 Nov 7;134(19):1619–31.
32. van Dooijeweert B, Kia SK, Dahl N, Fenneteau O, Leguit R, Nieuwenhuis E, i sur. GATA-1 Defects in Diamond–Blackfan Anemia: Phenotypic Characterization Points to a Specific Subset of Disease. *Genes*. 2022 Mar;13(3):447.
33. Trombetti S, Sessa R, Catapano R, Rinaldi L, Lo Bianco A, Feliciello A, i sur. Exploring the Leukemogenic Potential of GATA-1S, the Shorter Isoform of GATA-1: Novel Insights into Mechanisms Hampering Respiratory Chain Complex II Activity and Limiting Oxidative Phosphorylation Efficiency. *Antioxidants*. 2021 Oct 12;10(10):1603.
34. Hasaart K a. L, Bertrums EJM, Manders F, Goemans BF, Boxtel R van. Increased risk of leukaemia in children with Down syndrome: a somatic evolutionary view. *Expert Rev Mol Med*. 2021 ed;23:e5.
35. Velten L, Haas SF, Raffel S, Blaszkiewicz S, Islam S, Hennig BP, i sur. Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nat Cell Biol*. 2017 Apr;19(4):271–81.
36. Khajuria RK, Munschauer M, Ulirsch JC, Fiorini C, Ludwig LS, McFarland SK, i sur. Ribosome Levels Selectively Regulate Translation and Lineage Commitment in Human Hematopoiesis. *Cell*. 2018 Mar 22;173(1):90-103.e19.
37. Mazzi S, Lordier L, Debili N, Raslova H, Vainchenker W. Megakaryocyte and polyploidization. *Exp Hematol*. 2018 Jan 1;57:1–13.
38. Kikuchi H, Yuan B, Hu X, Okazaki M. Chemopreventive and anticancer activity of flavonoids and its possibility for clinical use by combining with conventional chemotherapeutic agents. *Am J Cancer Res*. 2019 Aug 1;9(8):1517–35.
39. Doty R, Yan X, Lausted C, Tian Q, Abkowitz JL. RPL11 Haploinsufficient Mice Have a CFU-E/Proerythroblast Block, Elevated Erythroblast Heme, Reduced Gata1, and Increased Ribosomal Protein Gene Expression. *Blood*. 2017 Dec 8;130:873.
40. Chang Z, Zhang Y, Liu J, Guan C, Gu X, Yang Z, i sur. GATA1 Promotes Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer through Antiapoptotic Pathway. *J Oncol*. 2019 Apr 10;2019:e9474273.
41. Rothenberg EV, Hosokawa H, Ungerbäck J. Mechanisms of Action of Hematopoietic Transcription Factor PU.1 in Initiation of T-Cell Development. *Front Immunol* [Internet]. 2019 [citirano 03.06.2023.];10. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2019.00228>
42. Li M, Jiang P, Cheng K, Zhang Z, Lan S, Li X, i sur. Regulation of MYB by distal enhancer elements in human myeloid leukemia. *Cell Death Dis*. 2021 Feb 26;12(2):1–14.

43. Doty RT, Yan X, Lausted C, Munday AD, Yang Z, Yi D, i sur. Single-cell analyses demonstrate that a heme–GATA1 feedback loop regulates red cell differentiation. *Blood*. 2019 Jan 31;133(5):457–69.
44. Zolea F, Battaglia AM, Chiarella E, Malanga D, Marco CD, Bond HM, i sur. Ferritin Heavy Subunit Silencing Blocks the Erythroid Commitment of K562 Cells via miR-150 up-Regulation and GATA-1 Repression. *Int J Mol Sci*. 2017 Oct;18(10):2167.
45. Wang T, Wu F, Yu D. miR-144/451 in hematopoiesis and beyond. *ExRNA*. 2019 May 7;1(1):16.
46. Ding L, Zhang Y, Han L, Fu L, Mei X, Wang J, i sur. Activating and sustaining c-Myc by depletion of miR-144/451 gene locus contributes to B-lymphomagenesis. *Oncogene*. 2018 Mar;37(10):1293–307.
47. Xu L, Wu F, Yang L, Wang F, Zhang T, Deng X, i sur. miR-144/451 inhibits c-Myc to promote erythroid differentiation. *FASEB J*. 2020;34(10):13194–210.
48. Wang D, Si S, Wang Q, Luo G, Du Q, Liang Q, i sur. MiR-27a Promotes Hemin-Induced Erythroid Differentiation of K562 Cells by Targeting CDC25B. *Cell Physiol Biochem*. 2018 Mar 22;46(1):365–74.
49. Guo C, Li X, Liu S, Sun M. MicroRNAs as Potential Markers Involved in Erythroid Differentiation: A Systematic Literature Review. *Sci J Clin Med*. 2021 Apr 23;10(2):16.
50. Chan J, Hu X, Wang C, Xu Q. miRNA-152 targets GATA1 to regulate erythropoiesis in *Chionodraco hamatus*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018 Jun;501(3):711–7.
51. Hu C, Yan Y, Fu C, Ding J, Li T, Wang S, i sur. Effects of miR-210-3p on the erythroid differentiation of K562 cells under hypoxia. *Mol Med Rep*. 2021 Aug;24(2):563.
52. Kim MY, Kim JS, Son SH, Lim CS, Eum HY, Ha DH, i sur. Mbd2-CP2c loop drives adult-type globin gene expression and definitive erythropoiesis. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jun 1;46(10):4933–49.
53. Jian W, Yan B, Huang S, Qiu Y. Histone deacetylase 1 activates PU.1 gene transcription through regulating TAF9 deacetylation and transcription factor IID assembly. *FASEB J*. 2017 Sep;31(9):4104–16.
54. Liu G, Dean A. Enhancer long-range contacts: The multi-adaptor protein LDB1 is the tie that binds. *Biochim Biophys Acta BBA - Gene Regul Mech*. 2019 Jun;1862(6):625–33.
55. Hasegawa A, Shimizu R. GATA1 Activity Governed by Configurations of cis-Acting Elements. *Front Oncol* [Internet]. 2017 [citirano 03.06.2023.];6. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2016.00269>
56. Freson K, Wijgaerts A, Van Geet C. GATA1 gene variants associated with thrombocytopenia and anemia. *Platelets*. 2017 Oct 3;28(7):731–4.
57. Zingariello M, Sancillo L, Martelli F, Ciaffoni F, Marra M, Varricchio L, i sur. The thrombopoietin/MPL axis is activated in the Gata1<sup>low</sup> mouse model of myelofibrosis and is associated with a defective RPS14 signature. *Blood Cancer J*. 2017 Jun;7(6):e572–e572.

58. Guillem F, Dussiot M, Colin E, Suriyun T, Arlet JB, Goudin N, i sur. XPO1 regulates erythroid differentiation and is a new target for the treatment of  $\beta$ -thalassemia. *Haematologica*. 2019 Nov 21;105(9):2240–9.
59. Wilkes MC, Chae HD, Scanlon V, Cepika AM, Wentworth EP, Saxena M, i sur. SATB1ss Chromatin Loops Regulate Megakaryocyte/Erythroid Progenitor Expansion by Facilitating HSP70 and GATA1 Induction. *Stem Cells*. 2023 Mar 29;sxad025.
60. Ling T, Crispino JD, Zingariello M, Martelli F, Migliaccio AR. GATA1 insufficiencies in primary myelofibrosis and other hematopoietic disorders: consequences for therapy. *Expert Rev Hematol*. 2018 Mar 4;11(3):169–84.
61. Caulier AL, Sankaran VG. Molecular and cellular mechanisms that regulate human erythropoiesis. *Blood*. 2022 Apr 21;139(16):2450–9.
62. Palii CG, Cheng Q, Gillespie MA, Shannon P, Mazurczyk M, Napolitani G, i sur. Single-Cell Proteomics Reveal that Quantitative Changes in Co-expressed Lineage-Specific Transcription Factors Determine Cell Fate. *Cell Stem Cell*. 2019 May 2;24(5):812-820.e5.
63. Chennupati V, Veiga DFT, Maslowski KM, Andina N, Tardivel A, Yu ECW, i sur. Ribonuclease inhibitor 1 regulates erythropoiesis by controlling GATA1 translation. *J Clin Invest*. 128(4):1597–614.
64. Chen J, Zhou Q, Liu MH, Yang YS, Wang YQ, Huang Y, i sur. FAM122A Inhibits Erythroid Differentiation through GATA1. *Stem Cell Rep*. 2020 Sep;15(3):721–34.
65. Jafari M, Ghadami E, Dadkhah T, Akhavan-Niaki H. PI3k/AKT signaling pathway: Erythropoiesis and beyond. *J Cell Physiol*. 2019 Mar;234(3):2373–85.
66. Wang Z, Wang P, Li Y, Peng H, Zhu Y, Mohandas N, i sur. Interplay between cofactors and transcription factors in hematopoiesis and hematological malignancies. *Signal Transduct Target Ther*. 2021 Jan 20;6(1):1–16.
67. Bang IH, Park D, Lee Y, Cho H, Park BH, Bae EJ. Sirtuin 6 promotes eosinophil differentiation by activating GATA-1 transcription factor. *Aging Cell*. 2021;20(7):e13418.
68. Dong XM, Zhao K, Zheng WW, Xu CW, Zhang MJ, Yin RH, i sur. EDAG mediates Hsp70 nuclear localization in erythroblasts and rescues dyserythropoiesis in myelodysplastic syndrome. *FASEB J*. 2020;34(6):8416–27.
69. Kulikowski E, Rakai BD, Wong NCW. Inhibitors of bromodomain and extra-terminal proteins for treating multiple human diseases. *Med Res Rev*. 2021;41(1):223–45.
70. Liang L, Peng Y, Zhang J, Zhang Y, Roy M, Han X, i sur. Deubiquitylase USP7 regulates human terminal erythroid differentiation by stabilizing GATA1. *Haematologica*. 2019 Nov;104(11):2178–87.
71. Deyrieux AF, Wilson VG. Sumoylation in Development and Differentiation. U: Wilson VG, editor. *SUMO Regulation of Cellular Processes* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017 [citirano 05.06.2023.]. str. 197–214. (Advances in Experimental Medicine and Biology). Dostupno na: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-50044-7_12)



72. Gastou M, Rio S, Dussiot M, Karboul N, Moniz H, Leblanc T, i sur. The severe phenotype of Diamond-Blackfan anemia is modulated by heat shock protein 70. *Blood Adv.* 2017 Oct 10;1(22):1959–76.
73. Zhao K, Zheng WW, Dong XM, Yin RH, Gao R, Li X, i sur. EDAG promotes the expansion and survival of human CD34+ cells. *PLoS ONE.* 2018 Jan 11;13(1):e0190794.
74. Peters MJ, Parker SK, Grim J, Allard CAH, Levin J, Detrich HW III. Divergent Hemogen genes of teleosts and mammals share conserved roles in erythropoiesis: analysis using transgenic and mutant zebrafish. *Biol Open.* 2018 Aug 28;7(8):bio035576.
75. Han X, Zhang J, Peng Y, Peng M, Chen X, Chen H, i sur. Unexpected role for p19INK4d in posttranscriptional regulation of GATA1 and modulation of human terminal erythropoiesis. *Blood.* 2017 Jan 12;129(2):226–37.
76. Simic D, Sang N. Compounds targeting class II histone deacetylases do not cause panHDACI-associated impairment of megakaryocyte differentiation. *Exp Hematol.* 2019 Apr;72:36–46.
77. Tyrkalska SD, Pérez-Oliva AB, Rodríguez-Ruiz L, Martínez-Morcillo FJ, Alcaraz-Pérez F, Martínez-Navarro FJ, i sur. Inflammasome Regulates Hematopoiesis through Cleavage of the Master Erythroid Transcription Factor GATA1. *Immunity.* 2019 Jul 16;51(1):50-63.e5.
78. Strouboulis J, Ronchi AE. GATA1: function through disorder. *Blood.* 2022 Apr 21;139(16):2422–3.
79. Grimm J, Heckl D, Klusmann JH. Molecular Mechanisms of the Genetic Predisposition to Acute Megakaryoblastic Leukemia in Infants With Down Syndrome. *Front Oncol [Internet].* 2021 [citirano 21.05.2023.];11. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2021.636633>
80. Aziz-Bose R, Wachter F, Chiarle R, Lindeman NI, Kim AS, Degar BA, i sur. Rapid next-generation sequencing aids in diagnosis of transient abnormal myelopoiesis in a phenotypically normal newborn. *Blood Adv.* 2022 May 10;6(9):2893–6.
81. Goemans BF, Noort S, Blink M, Wang YD, Peters STCJ, van Wouwe JP, i sur. Sensitive GATA1 mutation screening reliably identifies neonates with Down syndrome at risk for myeloid leukemia. *Leukemia.* 2021 Aug;35(8):2403–6.
82. Labuhn M, Perkins K, Matzk S, Varghese L, Garnett C, Papaemmanuil E, i sur. Mechanisms of Progression of Myeloid Preleukemia to Transformed Myeloid Leukemia in Children with Down Syndrome. *Cancer Cell.* 2019 Aug 12;36(2):123-138.e10.
83. Tunstall O, Bhatnagar N, James B, Norton A, O’Marcaigh AS, Watts T, i sur. Guidelines for the investigation and management of Transient Leukaemia of Down Syndrome. *Br J Haematol.* 2018 Jul;182(2):200–11.
84. Laurent AP, Kotecha RS, Malinge S. Gain of chromosome 21 in hematological malignancies: lessons from studying leukemia in children with Down syndrome. *Leukemia.* 2020 Aug;34(8):1984–99.
85. Flasiński M, Scheibke K, Zimmermann M, Creutzig U, Reinhardt K, Verwer F, i sur. Low-dose cytarabine to prevent myeloid leukemia in children with Down syndrome: TMD Prevention 2007 study. *Blood Adv.* 2018 Jun 29;2(13):1532–40.

86. Gialesaki S, Mahnken AK, Schmid L, Labuhn M, Bhayadia R, Heckl D, i sur. GATA1s exerts developmental stage-specific effects in human hematopoiesis. *Haematologica*. 2018 Aug;103(8):e336–40.
87. Wagenblast E, Gan OI, Azkanaz M, Smith SA, Araújo J, Shakib L, i sur. Understanding Pre-Leukemia in Trisomy 21 Human HSC and Modeling Progression Towards Down Syndrome Associated Leukemia Using CRISPR/Cas9 at Single Cell Resolution. *Blood*. 2019 Nov 13;134:2531.
88. Wagenblast E, Araújo J, Gan OI, Cutting SK, Murison A, Krivdova G, i sur. Mapping the Cellular Origin and Early Evolution of Leukemia in Down Syndrome [Internet]. *bioRxiv*; 2020 [citirano 21.05.2023.]. str. 2020.11.29.402800. Dostupno na: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.11.29.402800v1>
89. de Rooij JDE, Branstetter C, Ma J, Li Y, Walsh MP, Cheng J, i sur. Pediatric Non-Down Syndrome Acute Megakaryoblastic Leukemia is Characterized by Distinct Genomic Subsets with Varying Outcomes. *Nat Genet*. 2017 Mar;49(3):451–6.
90. Arkoun B, Robert E, Boudia F, Mazzi S, Dufour V, Siret A, i sur. Stepwise GATA1 and SMC3 mutations alter megakaryocyte differentiation in a Down syndrome leukemia model. *J Clin Invest* [Internet]. 2023 Apr 26 [citirano 21.05.2023.];132(14). Dostupno na: <https://www.jci.org/articles/view/156290#B25>
91. Lukes J, Danek P, Alejo-Valle O, Potuckova E, Gahura O, Heckl D, i sur. Chromosome 21 gain is dispensable for transient myeloproliferative disorder driven by a novel GATA1 mutation. *Leukemia*. 2020 Sep;34(9):2503–8.
92. Trombetti S, Iaccarino N, Riccio P, Sessa R, Catapano R, Salvatore M, i sur. Over-Expressed GATA-1S, the Short Isoform of the Hematopoietic Transcriptional Factor GATA-1, Inhibits Ferroptosis in K562 Myeloid Leukemia Cells by Preventing Lipid Peroxidation. *Antioxidants*. 2023 Mar;12(3):537.
93. Fagnan A, Piqué-Borràs MR, Tauchmann S, Mercher T, Schwaller J. Molecular Landscapes and Models of Acute Erythroleukemia. *HemaSphere*. 2021 May;5(5):e558.
94. Leonards K, Almosailekh M, Tauchmann S, Bagger FO, Thirant C, Juge S, i sur. Nuclear interacting SET domain protein 1 inactivation impairs GATA1-regulated erythroid differentiation and causes erythroleukemia. *Nat Commun*. 2020 Jun 12;11(1):2807.
95. Martinez PA, Li R, Ramanathan HN, Bhasin M, Pearsall RS, Kumar R, i sur. Smad2/3-pathway ligand trap luspatercept enhances erythroid differentiation in murine  $\beta$ -thalassaemia by increasing GATA-1 availability. *J Cell Mol Med*. 2020;24(11):6162–77.
96. Boussaid I, Goff SL, Floquet C, Gautier EF, Raimbault A, Viailly PJ, i sur. Integrated analyses of transcriptome and proteome identify the rules of translation selectivity in RPS14-deficient cells. *Haematologica*. 2020 Apr 23;106(3):746–58.
97. Abdulhay NJ, Fiorini C, Verboon JM, Ludwig LS, Ulirsch JC, Zieger B, i sur. Impaired human hematopoiesis due to a cryptic intronic GATA1 splicing mutation. *J Exp Med*. 2019 May 6;216(5):1050–60.
98. Da Costa L, Leblanc T, Mohandas N. Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2020 Sep 10;136(11):1262–73.

99. Rio S, Gastou M, Karboul N, Derman R, Suriyun T, Manceau H, i sur. Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1. *Blood*. 2019 Mar 21;133(12):1358–70.
100. Russo R, Andolfo I, Gambale A, De Rosa G, Manna F, Arillo A, i sur. GATA1 erythroid-specific regulation of SEC23B expression and its implication in the pathogenesis of congenital dyserythropoietic anemia type II. *Haematologica*. 2017 Sep;102(9):e371–4.
101. Erwin AL, Desnick RJ. Congenital erythropoietic porphyria: Recent advances. *Mol Genet Metab*. 2019 Nov 1;128(3):288–97.
102. Kumari R, Kaźmierczak P. Modeling congenital dyserythropoietic anemia in genetically modified mice. *Acta Haematol Pol*. 2022;53(1):26–38.
103. Lambert MP. Chapter 93 - Congenital Thrombocytopenia. In: Shaz BH, Hillyer CD, Reyes Gil M, editors. *Transfusion Medicine and Hemostasis (Third Edition)* [Internet]. Elsevier; 2019 [citirano 14.06.2023.]. str. 571–80. Dostupno na: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128137260000933>
104. Zhou X, Medina S, Bolt AM, Zhang H, Wan G, Xu H, i sur. Inhibition of red blood cell development by arsenic-induced disruption of GATA-1. *Sci Rep*. 2020 Nov 4;10(1):19055.
105. Medina S, Bolt AM, Zhou X, Wan G, Xu H, Lauer FT, i sur. Arsenite and monomethylarsonous acid disrupt erythropoiesis through combined effects on differentiation and survival pathways in early erythroid progenitors. *Toxicol Lett*. 2021 Oct 10;350:111–20.
106. Yang N, Park S, Cho MS, Lee M, Hong KS, Mun YC, i sur. GATA1 Expression in BCR/ABL1-negative Myeloproliferative Neoplasms. *Ann Lab Med*. 2018 Jul;38(4):296–305.
107. Gilles L, Arslan AD, Marinaccio C, Wen QJ, Arya P, McNulty M, i sur. Downregulation of GATA1 drives impaired hematopoiesis in primary myelofibrosis. *J Clin Invest*. 127(4):1316–20.
108. Sangiorgio VFI, Nam A, Chen Z, Orazi A, Tam W. GATA1 downregulation in prefibrotic and fibrotic stages of primary myelofibrosis and in the myelofibrotic progression of other myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res*. 2021 Jan;100:106495.
109. Lally J, Boasman K, Brown L, Martinelli V, Cappuccio I, Sovani V, i sur. GATA-1: A potential novel biomarker for the differentiation of essential thrombocythemia and myelofibrosis. *J Thromb Haemost JTH*. 2019 Jun;17(6):896–900.
110. Ludwig LS, Lareau CA, Bao EL, Liu N, Utsugisawa T, Tseng AM, i sur. Congenital anemia reveals distinct targeting mechanisms for master transcription factor GATA1. *Blood*. 2022 Apr 21;139(16):2534–46.
111. Takasaki K, Kacena M, Raskind W, Weiss M, Chou S. GATA1-Related Cytopenia GeneReview Table 2 – GATA1 Genotype-Phenotype Observations. 2023 Feb; Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1364/bin/gata1-table2.pdf>
112. Fabozzi F, Strocchio L, Mastronuzzi A, Merli P. GATA2 and marrow failure. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2021 Jun;34(2):101278.

113. Sahoo SS, Kozyra EJ, Wlodarski MW. Germline predisposition in myeloid neoplasms: Unique genetic and clinical features of GATA2 deficiency and SAMD9/SAMD9L syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2020 Sep;33(3):101197.
114. Cohen JI. GATA2 Deficiency and Epstein–Barr Virus Disease. *Front Immunol.* 2017 Dec 22;8:1869.
115. Wlodarski MW, Collin M, Horwitz MS. GATA2 deficiency and related myeloid neoplasms. *Semin Hematol.* 2017 Apr;54(2):81–6.
116. Soukup AA, Zheng Y, Mehta C, Wu J, Liu P, Cao M, i sur. Single-nucleotide human disease mutation inactivates a blood-regenerative GATA2 enhancer. *J Clin Invest.* 2019 Mar 1;129(3):1180–92.
117. Churpek JE, Bresnick EH. Transcription factor mutations as a cause of familial myeloid neoplasms. *J Clin Invest.* 2019 Feb 1;129(2):476–88.
118. Bresciani E, Carrington B, Yu K, Kim EM, Zhen T, Guzman VS, i sur. Redundant mechanisms driven independently by RUNX1 and GATA2 for hematopoietic development. *Blood Adv.* 2021 Nov 30;5(23):4949–62.
119. Bresnick EH, Jung MM, Katsumura KR. Human GATA2 mutations and hematologic disease: how many paths to pathogenesis? *Blood Adv.* 2020 Sep 22;4(18):4584–92.
120. Hewitt KJ, Katsumura KR, Matson DR, Devadas P, Tanimura N, Hebert AS, i sur. GATA Factor-Regulated Samd14 Enhancer Confers Red Blood Cell Regeneration and Survival in Severe Anemia. *Dev Cell.* 2017 Aug 7;42(3):213-225.e4.
121. Mehta C, Johnson KD, Gao X, Ong IM, Katsumura KR, Mclver SC, i sur. Integrating Enhancer Mechanisms to Establish a Hierarchical Blood Development Program. *Cell Rep.* 2017 Sep 19;20(12):2966–79.
122. Kitajima K, Kanokoda M, Nakajima M, Hara T. Domain-specific biological functions of the transcription factor Gata2 on hematopoietic differentiation of mouse embryonic stem cells. *Genes Cells.* 2018;23(9):753–66.
123. Leubolt G, Redondo Monte E, Greif PA. GATA2 mutations in myeloid malignancies: Two zinc fingers in many pies. *IUBMB Life.* 2020 Jan;72(1):151–8.
124. Dorn JM, Patnaik MS, Van Hee M, Smith MJ, Lagerstedt SA, Newman CC, i sur. WILD syndrome is GATA2 deficiency: A novel deletion in the GATA2 gene. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2017 Jul;5(4):1149-1152.e1.
125. Hirabayashi S, Wlodarski MW, Kozyra E, Niemeyer CM. Heterogeneity of GATA2-related myeloid neoplasms. *Int J Hematol.* 2017 Aug 1;106(2):175–82.
126. Cohen JI, Iwatsuki K, Ko YH, Kimura H, Manoli I, Ohshima K, i sur. Epstein-Barr virus NK and T cell lymphoproliferative disease: report of a 2018 international meeting. *Leuk Lymphoma.* 2020 Mar 20;61(4):808–19.
127. Ovsyannikova G, Pavlova A, Deordieva E, Raykina E, Pshonkin A, Maschan A, i sur. Single Center Experience With Pediatric Patients With GATA2 Deficiency. *Front Pediatr.* 2022 Feb 22;10:801810.

128. Kim N, Choi S, Kim SM, Lee AC, Im K, Park HS, i sur. Monozygotic twins with shared de novo GATA2 mutation but dissimilar phenotypes due to differential promoter methylation. *Leuk Lymphoma*. 2019 Apr;60(4):1053–61.
129. Catto LFB, Borges G, Pinto AL, Clé DV, Chahud F, Santana BA, i sur. Somatic genetic rescue in hematopoietic cells in GATA2 deficiency. *Blood*. 2020 Aug 20;136(8):1002–5.
130. Donadieu J, Lamant M, Fieschi C, De Fontbrune FS, Caye A, Ouachee M, i sur. Natural history of GATA2 deficiency in a survey of 79 French and Belgian patients. *Haematologica*. 2018 Aug;103(8):1278–87.
131. Kozyra EJ, Pastor VB, Lefkopoulos S, Sahoo SS, Busch H, Voss RK, i sur. Synonymous GATA2 mutations result in selective loss of mutated RNA and are common in patients with GATA2 deficiency. *Leukemia*. 2020;34(10):2673–87.
132. Wehr C, Grotius K, Casadei S, Bleckmann D, Bode SFN, Frye BC, i sur. A novel disease-causing synonymous exonic mutation in GATA2 affecting RNA splicing. *Blood*. 2018 Sep 13;132(11):1211–5.
133. Pastor V, Hirabayashi S, Karow A, Wehrle J, Kozyra EJ, Nienhold R, i sur. Mutational landscape in children with myelodysplastic syndromes is distinct from adults: specific somatic drivers and novel germline variants. *Leukemia*. 2017 Mar;31(3):759–62.
134. Fang D, Cui K, Hu G, Gurram RK, Zhong C, Oler AJ, i sur. Bcl11b, a novel GATA3-interacting protein, suppresses Th1 while limiting Th2 cell differentiation. *J Exp Med*. 2018 Mar 7;215(5):1449–62.
135. Jiang M, Cai R, Wang J, Li Z, Xu D, Jing J, i sur. ILC2 Cells Promote Th2 Cell Differentiation in AECOPD Through Activated Notch-GATA3 Signaling Pathway. *Front Immunol [Internet]*. 2021 [citirano 15.06.2023.];12. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.685400>
136. Hou Q, Liao F, Zhang S, Zhang D, Zhang Y, Zhou X, i sur. Regulatory network of GATA3 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Oncotarget*. 2017 Mar 21;8(22):36040–53.
137. Hertweck A, Vila de Mucha M, Barber PR, Dagil R, Porter H, Ramos A, i sur. The TH1 cell lineage-determining transcription factor T-bet suppresses TH2 gene expression by redistributing GATA3 away from TH2 genes. *Nucleic Acids Res*. 2022 May 6;50(8):4557–73.
138. Maruyama T, Hasegawa D, Valenta T, Haigh J, Bouchard M, Basler K, i sur. GATA3 mediates nonclassical  $\beta$ -catenin signaling in skeletal cell fate determination and ectopic chondrogenesis. *Sci Adv*. 2022 Nov 30;8(48):eadd6172.
139. Guida N, Mascolo L, Serani A, Cuomo O, Anzilotti S, Brancaccio P, i sur. GATA3 (GATA-Binding Protein 3)/KMT2A (Lysine-Methyltransferase-2A) Complex by Increasing H3K4-3me (Trimethylated Lysine-4 of Histone-3) Upregulates NCX3 (Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> Exchanger 3) Transcription and Contributes to Ischemic Preconditioning Neuroprotection. *Stroke*. 2021 Nov;52(11):3680–91.
140. Zhu J. GATA3 Regulates the Development and Functions of Innate Lymphoid Cell Subsets at Multiple Stages. *Front Immunol [Internet]*. 2017 [citirano 16.06.2023.];8. Dostupno na: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2017.01571>

141. Gowthaman U, Chen JS, Zhang B, Flynn WF, Lu Y, Song W, i sur. Identification of a T follicular helper cell subset that drives anaphylactic IgE. *Science*. 2019 Aug 30;365(6456):eaaw6433.
142. Gavitt TD, Hartmann AK, Sawant SS, Mara AB, Szczepanek SM, Rouge JL. A GATA3 Targeting Nucleic Acid Nanocapsule for In Vivo Gene Regulation in Asthma. *ACS Nano*. 2021 Jul 27;15(7):11192–201.
143. Hartmann AK, Cairns-Gibson DF, Santiana JJ, Tolentino MQ, Barber HM, Rouge JL. Enzymatically Ligated DNA-Surfactants: Unmasking Hydrophobically Modified DNA for Intracellular Gene Regulation. *ChemBioChem*. 2018 Aug 16;19(16):1734–9.
144. Yang H, Zhang H, Luan Y, Liu T, Yang W, Roberts KG, i sur. Non-coding genetic variation in GATA3 increases acute lymphoblastic leukemia risk through local and global changes in chromatin conformation. *Nat Genet*. 2022 Feb;54(2):170–9.
145. Yaguchi A, Ishibashi T, Terada K, Ueno-Yokohata H, Saito Y, Fujimura J, i sur. EP300-ZNF384 fusion gene product up-regulates GATA3 gene expression and induces hematopoietic stem cell gene expression signature in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells. *Int J Hematol*. 2017 Aug;106(2):269–81.
146. Parriott G, Kee BL. E Protein Transcription Factors as Suppressors of T Lymphocyte Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Immunol*. 2022 Apr 20;13:885144.
147. Murga-Zamalloa C, Wilcox RA. GATA-3 in T-cell lymphoproliferative disorders. *IUBMB Life*. 2020;72(1):170–7.
148. Dorfman DM, Morgan EA, Pelton A, Unitt C. T-cell transcription factor GATA-3 is an immunophenotypic marker of acute leukemias with T-cell differentiation. *Hum Pathol*. 2017 Jul 1;65:166–74.
149. Lage LA de PC, Brito CV, Levy D, Culler HF, Couto SCF, Alves LB, i sur. GATA3 Gene - a Potential New Biomarker Associated with Adverse Outcomes in ALK1-Negative Anaplastic Large Cell Lymphoma: Preliminary Results from a Retrospective Cohort of 80 South American Cases of Nodal Peripheral T Lymphoma. *Blood*. 2020 Nov 5;136:38.
150. Mosaad YM, Elashery R, Darwish A, Sharaf Eldein OA, Barakat T, Marouf S, i sur. GATA3 rs3824662 gene polymorphism as possible risk factor in a cohort of Egyptian patients with pediatric acute lymphoblastic leukemia and its prognostic impact. *Leuk Lymphoma*. 2017 Mar 4;58(3):689–98.
151. Kezlarian B, Alhyari M, Venkataraman G, Karner K, Inamdar KV, Menon MP. GATA3 Immunohistochemical Staining in Hodgkin Lymphoma: Diagnostic Utility in Differentiating Classic Hodgkin Lymphoma From Nodular Lymphocyte Predominant Hodgkin Lymphoma and Other Mimicking Entities. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2019 Mar 1;27(3):180–4.

# ŽIVOTOPIS

## Osobni podaci

Ime i prezime: Ema Turkalj

Datum i mjesto rođenja: 18.08.1998., Zagreb

## Obrazovanje

2005.-2009. – Osnovna škola Ksavera Šandora Gjalskoga

2009.-2013. – Osnovna škola Miroslava Krleže

2013.-2017. – Gimnazija Tituša Brezovačkog

2017.-2023. – Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

## Posebna znanja i vještine

Završila sam srednju glazbenu školu u Glazbenom učilištu Elly Bašić, smjer violina. 2013. osvojila sam 1. nagradu na državnom natjecanju u kojem sam nastupala kao članica simfonijskog orkestra Elly Bašić. Od 2018. članica sam zbora Lege artis. Dobitnica sam posebne dekanove nagrade kao članica zbora Lege artis. Od 2022. pjevam u Akademskom zboru Ivan Goran Kovačić. Tijekom studiranja sudjelovala sam na studentskim kongresima u Osijeku. Također, volontirala sam u Bolnici za medvjediće studentske organizacije EMSA. Provela sam mjesec dana na Imperial Collegeu u Londonu u sklopu kliničkog medicinskog istraživanja. U svibnju 2023. izlagala sam sažetak na EAACI kongresu u Hamburgu.