

Pediyatrik All'de Ras/Raf/Mek/Erk Yolağına Moleküler Bir Bakış

A Molecular View of Ras /Raf/Mek /Erk in Pediatric All

Dilara Fatma Akın BALI ¹, Burcu Biterge SÜT ²

1. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Niğde, Türkiye

ÖZET

Pediyatrik lösemilerin henüz sebebi kesin olarak bilinmeyen ancak tedavi edilebilen, multifaktöriyel bir hastalık olduğu düşünülmektedir.

Lösemilerde diğer birçok kanser türü gibi genetik değişimler söz konusudur. Onkogenlerin aktivasyonu ya da tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonunda etkili bu genetik lezyonlar; hücre ölümü, farklılaşma ya da bölünmenin düzenlenme mekanizmalarında hasara yol açarak lösemi gelişimine neden olabilirler. Henüz belirlenmemiş genetik anomalilerin bilinmesi bu basamaklara etki eden tedavi seçeneklerinin bulunması ve bu sayede kemoterapiye dirençli ve nüks gösteren lösemilerin tedavi edilmesine, kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu derlemede kanser gelişiminde önemli olduğu yapılan çalışmalar neticesinde ortaya konulan RAS/RAF/MEK/ERK yolağına pediyatrik lösemi alt türü olan Akut Lenfoblastik Lösemi'de (ALL) incelenme yaklaşımını ortaya koyabilmek amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: lösemi, pediyatri, biyobelirteç, gen, polimorfizm

ABSTRACT

Pediatric leukemia is thought to be a multifactorial disease that can be treated. In leukemia there are genetic changes like many other types of cancer.

These genetic changes are effective in the activation of oncogenes or inactivation of tumor suppressor genes; can lead to the development of leukemia by causing damage to regulatory mechanisms of cell death, differentiation or division. Unspecified genetic anomalies provide the availability of treatment options that affect these steps of cell cycle. It provided that treatment of chemotherapy-resistant and relapsing leukemia and the development of personalized treatment modalities. In this review, we aimed to reveal the approach of the RAS / RAF / MEK / ERK pathway revealed in the studies that are important in the development of cancer in Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL), a subtype of pediatric leukemia.

Keywords: leukemia, pediatric, biomarkers, gene, polymorphism

GİRİŞ

Lösemi, kemik iliğindeki progenitör hücrelerinin belli bir farklılaşma evresinde duraklaması ve klonal bir şekilde kontrolsüz çoğalması sonucu, başta kemik iliği olmak üzere tüm doku organların

infiltrasyonu ile seyreden ve tedavi edilmediği zaman mutlak ölümle sonuçlanan, etiyojisi kesin olarak bilinmeyen malign bir hastalık grubudur (1, 2). Lösemi ilk olarak 1827 tarihinde Fransız hekim Alfred Velpeau tarafından tanımlanmıştır. Virchow 1847 yılında ise hastalığı Yunanca kökenli beyaz anlamına gelen "leukos" ve kan anlamına gelen "haima" sözcüklerinden "leukemia" terimini türeterek tanımlamıştır (3, 4). Lösemi de diğer kanser türleri gibi multigenik, multifaktöriyel, kompleks ve heterojen bir hastalıktır. Sitogenetik bozuklukların ve bu sitogenetik bozukluklar sonucunda oluşan moleküler değişimlerin lösemilerin patogeneğinde ve prognozunda belirleyici olduğu bilinen bir gerçektir. Hatta bazı sitogenetik bozuklukların ve bunların meydana getirdiği moleküler değişimlerin bilinmesi bu basamaklara etki eden tedavi seçeneklerinin bulunmasına ve bu sayede kemoterapiye dirençli ve nüks gösteren lösemilerin tedavi edilmesine de olanak sağlamaktadır. Fakat bu genetik anomaliler lösemilerin biyolojik temelini ve tedaviye verilen cevaptaki farklılıkların ya da herhangi bir genetik anomalinin taşımayan bireylerin neden lösemi olduğunun açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yapılan gen ekspresyon profillemesi yaygın olarak transkriptom düzeyinde lösemik hücrenin anomalisini karakterize ederek, tanı ve teşhiste bunların bir araç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır (5). Yapılan çalışmalar neticesinde, lösemilerin patogeneğinin anlaşılmasını sağlayabilecek olan; tümör baskılayıcılarda, onkogenlerde, lenfosit seri gelişiminde ya da apoptoz kontrolünden sorumlu olan genlerde tanımlanmamış genetik değişimler ve önemli olan hücresel yollar belirlenmeye çalışılmaktadır (6, 9). Aynı zamanda kişiye özel ilaç tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve en önemlisi de hastalığın prognoz seyrinin iyileştirilmesi sağlanabilecek prognostik biyobelirteçler belirlenmeye çalışılmıştır. Pediyatrik kanserleri içinde dünyada ve ülkemizde birinci sırayı lösemiler almaktadır. Pediyatrik lösemilerde geliştirilmiş risk değerlendirmeleri, yeni kemoterapötik ilaçların özellikle de hedefe yönelik ilaçların kullanımı ve destek tedavilerinin iyileştirilmesi sayesinde yaşam yüzdelerinde belirgin bir artış kaydedilmiştir. Fakat pediyatrik lösemilerin moleküler temeli halen tam olarak anlaşılabilmiş olmaması ve henüz sınıflandırılmamış birçok lösemi alt tipinin olduğu düşünülmektedir. Hali hazırda rutinde kullanılan genetik anomaliler lösemilerin biyolojik temelini ve tedaviye verilen cevaptaki farklılıkların ya da herhangi bir genetik anomalinin taşımayan bireylerin neden lösemi olduğunun açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu ne-

İletişim

Sorumlu Yazar: Dilara Fatma Akın BALI

Adres: Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ABD, Niğde

Tel: +90 (536) 302 6816

E-Posta: dilarafatmaakin@gmail.com / dilarabali@ohu.edu.tr

Makale Geliş: 17.09.2018

Makale Kabul: 09.02.2019

DOI: http://dx.doi.org/10.16948/zktipb.460772

denle yapılan gen ekspresyon profillemesi yaygın olarak transkriptom düzeyinde lösemik hücrenin anomalisini karakterize ederek, tanı ve teşhiste bunların bir araç olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar neticesinde, lösemisinin patogenezinin anlaşılmasını sağlayabilecek olan; tümör baskılayıcılarda, onkogenlerde, lenfosit seri gelişiminde ya da apoptoz kontrolünden sorumlu olan genlerde tanımlanmamış genetik değişimler ve önemli olan hücrenel yolaklar belirlenmeye çalışılmaktadır (8, 9). Aynı zamanda kişiye özel ilaç tedavisi protokollerinin geliştirilmesi ve en önemlisi de hastalığın prognoz seyrinin iyileştirilmesi sağlanabilecek prognostik biyobelirteçler belirlenmeye çalışılmıştır.

Bir hücre malign değişime uğradığında; kendi kendine büyüebilme, büyüme karşıtı sinyallere duyarısız kalma, sınırsız çoğalabilme, hücre olumunu sağlayan sinyallerden korunabilme, dokuları invaze etme ve metastaz yapabilme ve anjiogenezisi uyandırabilme yeteneği kazanmaktadır. Kanıtlanmayan özellikleri ise; hücrenel farklılaşmayı durdurabilme ve konakçı immün sisteminden kaçabilme yetenekleridir (6, 7). Hücrenin büyümesini ve yaşamsal faaliyetlerini kontrol edebilen genler olarak bilinen proto-onkogenler, herhangi bir mutasyona uğradıklarında kanser oluşturma özelliği olan onkogenlere dönüşmektedirler. Bu malign değişim; nokta mutasyonları, gen amplifikasyonları, yeniden düzenlenmeler ve insersiyon mutasyonları nedeni ile olmaktadır. Onkogenleri genel olarak ürettiği proteinlerin fonksiyonel ve biyokimyasal özelliklerine göre sınıflandırdığımızda; transkripsiyon faktörleri, büyüme faktörleri ve reseptörleri, sinyal iletim mekanizmalarında görev alan faktörler şeklinde ana gruplar altında toplanabilir (8-10). Karsinogenezde

önemli rolü üstlenen ve onkogenlerin tersi olarak işlev sahibi olan tümör baskılayıcı genler, hücrede çoğalmayı baskılayıcı ve apoptoz uyarıcı özelliğe sahiptirler. Bu genlerin kaybı veya inaktive olması sonucu hücre çoğalmasında artış, hücrenel ölüm mekanizmasında aksamalar gözlenir. Canlı da farklı yollarda görev alan bu genler transkripsiyon faktörleri ve regülatörleri, kinaz inhibitörleri ve yapısal hücre bileşenleri olarak bilinmektedirler (7-13).

RAS/RAF/MEK/ERK YOLAĞI

Lösemi gelişiminde önemli olduğu düşünülen RAS/RAF/MEK/ERK yolağı hemen hemen tüm ökaryotik organizmada birçok genin transkripsiyonunu kontrol ederek; hücre büyümesi, bölünmesi, transformasyon, metabolizma kontrolü, hücre göçü, inflamasyon, apoptoz gibi birçok önemli hücrenel süreci etkiler. Diğer bir ifade ile büyüme, çoğalma, farklılaşma ve apoptoz gibi önemli hücrenel görevleri kontrol eden sinyalizasyon sistemi ile hücre dışı sinyalleri birbirine bağlayan, evrimsel olarak korunmuş bir sinyalizasyon yolağıdır (14, 15).

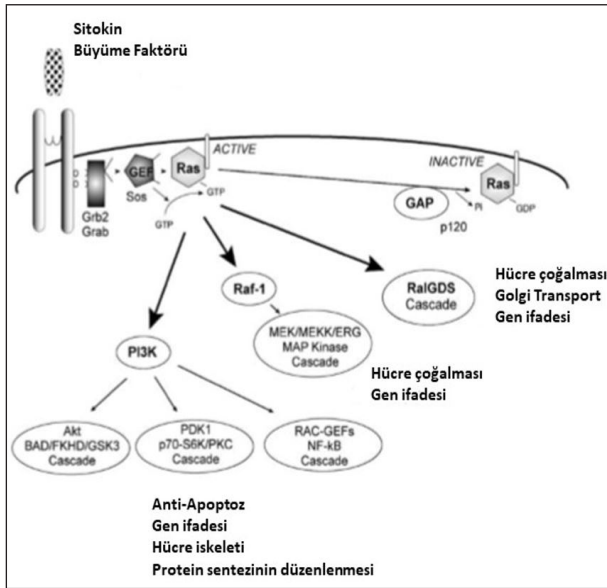
Bu yolda serin/treonin protein kinazlar görev almaktadır, hemen hemen tüm hücre tiplerinde aktif olan bir yoldur. Birçok büyüme faktörü mitojen olarak RAS/RAF/MEK/ERK yolağını aktifleştirmektedir. RAS ailesi proteinleri hücre biyolojisinin her alanında son derece kritik roller üstlenerek, hücrelerin bölünmesini, farklılaşmasını, hücre içi protein taşınmasını, hücre iskeletinin organizasyonunu gibi hücre içi sinyal iletimin anahtarları olarak görev yapmaktadırlar. RAS/RAF/MEK/ERK yolağında sinyalizasyon akışının bozulmasına neden olan nokta mutasyonları, delesyonlar ve kromozomal translokasyonlar; lösemi patogenezi nedenleri arasındadır (16-20). (Tablo 1).

Tablo 1: RAS/RAF/MEK/ERK yolağı genlerinin kromozomal lokalizasyonu, tespit edilen anomali-sıklığı ve ilişkili olduğu kanser türleri.

Kromozom	Genin Sembölü	Genin Açık Adı	Değişim tespit edilen ekzonlar	Anomali sonucu oluşan patofizyolojik ve klinik durum (Lösemide)	Lösemide Anomali Sıklığı (%)	İlişkili Olduğu kanser türleri
12p12.1	<i>KRAS</i>	KRAS Proto-Oncogene, GT-Pase	Ekzon 1-2	Kötü prognoz	%6-20	Tüm kanserlerde %30
1p13.2	<i>NRAS</i>	NRAS Proto-Oncogene, GT-Pase	Ekzon 1-2	Kötü prognoz	%15	Tüm kanserlerde %30
7q34	<i>BRAF</i>	B-Raf Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase	Ekzon 11-15	Bilinmiyor	%10-20	Tüm kanserler %28-37, melanoma % 60-70
15q22.31	<i>MAP2K1-MEK1</i>	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 1	Ekzon 2-3	Bilinmiyor	Bilinmiyor	%6-7 melanoma
19p13.3	<i>MAP2K2-MEK2</i>	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 2	Ekzon 4-6	Bilinmiyor	Bilinmiyor	%6-7 melanoma
16p11.2	<i>ERK1-MAPK3</i>	Mitogen-Activated Protein Kinase 3		Bilinmiyor	Bilinmiyor	Tüm kanserler %30
22q11.22	<i>ERK2-MAPK1</i>	Mitogen-Activated Protein Kinase 1	Ekzon 7-8	Bilinmiyor	Bilinmiyor	Tüm kanserler %30
12q24.13	<i>PTPN11</i>	Protein Tyrosine Phosphatase, Non-Receptor Type 11	Ekzon 15-16	Kötü prognoz	JMML %35	Nooanan Sendrom %50
13q12.2	<i>FLT3</i>	Fms Related Tyrosine Kinase 3	ITD mutasyonları	Kötü prognoz	AML'de %4-17	

RAS Gen Ailesi

RAS proteinleri, kütlelerine (yaklaşık 21 kD) ve enzimatik aktivitelerine bakılarak küçük GT-Paz'lar olarak isimlendirilmişlerdir. Ras aktivitesi GTP hidrolizi ile kontrol edilir, GDP bağlı formu etkisizken, GTP bağlı formu etkin bir enzim olarak görev yapmakta ve gen ifadesi aktivitesine kadar ilerleyen bir yolağın ilk sinyalinin başlatmaktadır. Bu sinyalizasyonun düzenlenmesinde GTPaz Aktive edici Proteinler (GAP), ve Guanin Değişim Faktörleri (GEF; Guanine Exchange Factors) görev alırlar. GAP ve GEF'ler çeşitli ligandlara bağlı olarak farklı hücre tiplerinde aktive olmaktadır. Buna bağlı olarak ortaya çıkan etkileşimlerde, efektör proteinler fosforillenerek etkin hale geçer ve sinyal iletim yollarının çalışmasını sağlarlar. Bu yollar arasında en bilinenleri MAPK/ERK, ve PI3-Kinaz sinyal iletim yollarıdır (Şekil 1).



Şekil 1: RAS/RAF/MEK/ERK sinyalizasyon yolağı.

RAS proto-onkogenlerindeki aktive edici mutasyonlar insan kanserlerinde en sık görülen genetik değişimdir. Ras genlerinde aktivasyona yol açan onkogenik mutasyonlar hücre çoğalmasını tetiklemekte olup, yapılan tüm çalışmalar bir araya getirilerek incelendiği zaman bu tür mutasyonların insanlardaki kanserlerinin %30'unda görüldüğü belirlenmektedir (14-20). RAS, RAS/RAF/MEK/ERK yolağını aktif hale getiren kilit basamaktır. GDP bağlı RAS inaktif iken, GTP bağlı RAS aktif konumdadır. RAS geninde görülen mutasyonlar RAS proteininde değişimine neden olur. Aktifleştirici (fonksiyon kazandıran) mutasyonlar GTP'nin RAS'a sürekli bağlı kalmasına neden olur. Bu durum sonucunda RAS-MAPK yolağı sürekli açık kalır ve anormal yolak ifadesi sonucu hücrede kontrolsüz bölünme sinyalleri üretilerek kanserleşmenin başlanmasına neden olur. İnsan tümörleri yapılan çalışmaların çoğunda RAS 12, 13 ve 61. kodonlarının sıklıkla mutasyona uğrayan onkogenik mutasyon bölgeleri olarak belirlenmiştir. N-K ve H-RAS mutasyonları tüm insan kanserlerinin %15'inde bulunduğu rapor edilmiştir. Lösemi özelinde ise ALL'de %6-20 arasında mutasyonun bu protein ailesinde olduğu ve en sık N-RAS kanser vakalarında mutasyona uğ-

radığı bilinmektedir (17, 18). Lubbert ve ark. ALL hastalarında yapmış oldukları çalışmada tüm RAS mutasyonlarının NRAS proteinini kodlayan gende tespit ettikleri ve RAS mutasyonları taşımanın yaş ve cinsiyet ile ilişkisi olmadığı fakat artmış relaps riski ile ilişkili olduğu rapor etmişlerdir (21).

Mixed Lineage Lösemili 109 infant üzerinde yapılan çalışmada RAS genleri mutasyonları çalışma grubunun %14'ünde tespit edilmiştir. RAS mutant infantların yüksek lökosit sayısı ve glukokortikoid direnci geliştiği rapor edilmiştir RAS mutasyonlarının varlığının infant lösemi için tek başına kötü prognoz ile ilişkilendirilebileceği bu yüzden risk sınıflandırılması yapılırken anormal RAS yolak aktivatörlerinin ve inhibitörlerinin belirlenmesi gerektiği rapor edilmiştir (22).

Jerchel ve ark. 460 yeni tanı Pediatrik prekürsör B-ALL'de RAS mutasyonlarının sıklığını %15 olduğunu rapor etmişlerdir (19). Fakat bu çalışmalar N-RAS ve K-RAS ile kısıtlı kalmış RAS/RAF/MEK/ERK kinaz yolağında görev alan diğer proteinleri kodlayan genleri içermemektedir. RAS mutasyonlarının klinik önemleri elde olan bilimsel veri eksikliği nedeni ile tartışmalıdır. NRAS, KRAS, PTNP11 ve FLT3 klonal mutasyonlarının kemoterapiye olan direnç gelişmesi ilişkili olabileceğini rapor etmişlerdir. RAS yolağı proteinlerini kodlayan genlerde olan mutasyonların MEK/ERK hedefli tedaviler için biyobelirteç niteliğinde olacağı önerilmektedir (23-26).

RAF Gen Ailesi

RAS/RAF/MEK/ERK yolağının ikinci basamağında bulunan RAF başka bir serin/tirozin kinazdır ve 3 farklı izoformu mevcuttur: ARAF, BRAF ve CRAF. Aktifleşen RAF yolağın bir sonraki adımında yer alan MEK'i aktifleştirir. RAF izoformlarından BRAF kanserle ilişkilendirilmiştir. BRAF mutasyonları sıklığının melanoma ve tiroid kanserlerinde yüksek olduğu bilinmektedir ancak hematolojik malignitelere de rastlanmaktadır Solid tümör vakalarında tespit edilen BRAF mutasyonlarının %80'i V600E mutasyonudur. Hematolojik malignitelere BRAF V600E mutasyonu sıklıkla hairy cell lösemiler ile ilişkilendirilmesine rağmen, plazma hücreli miyeloma, KLL, ALL gibi birçok lösemi ve miyeloma türü ile de ilişkilendirilmektedir. BRAF, P-Loop domaini ve aktivasyon segmenti üzerinde olan mutasyonlar proteinin inaktif konformasyona sahip olmasına neden olmakta ve kontrolsüz RAS/RAF/MEK/ERK kaskadının aktivasyonuna neden olmaktadır (27-29). Bu nedenle BRAF mutasyonu hedefli lösemi terapilerin akut lösemilerde kullanılabileceğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. BRAF mutasyonları varlığında ve RAS/RAF/MEK/ERK yolağındaki diğer genetik anomaliler AML tiplemesini değiştirebilecek nitelikte olabileceği öngörülmektedir (27-32).

MEK1/2 ve ERK1/2 Gen Ailesi

RAF proteinlerin aktifleştirdiği MEK1 ve MEK2 hedef proteinleri olan ERK1/2 aktifleştirir. MEK1 ve MEK2 genlerinde genetik değişim çok

nadir görülmesine rağmen ifade seviyelerindeki artış bazı kanser türlerinde rastlanmaktadır. ERK1/2 aktifleştikten sonra sitoplazmada bulunan ilgili proteinlerin aktifleşmesini sağlar. Hücre çekirdeğine geçerek ilgili genlerin aktifleşmesini sağlar. 5 farklı izoformu mevcuttur fakat en çok bilinen izoformlar ERK1 ve 2'dir. ERK proteinleri hücre döngüsünde S0/G1 fazından S fazına geçmesini sağlayarak hücrenin bölünmeye devam etmesini sağlar. ERK proteinleri hücre döngüsünü aktifleştirici genleri aktive ederken, hücre döngüsünü inhibe eden genleri susturmaktadır (34-35). Yetişkin yeni tanı ALL'li hastalarda yaptıkları çalışmada ERK1/2 mutasyon sıklığını %34,5 olarak tanımlamışlardır. ALL bireylerde tedavi sınıflandırılması sırasında kötü prognoz ile ilişkilendirilmiş hastalarda relaps gelişebilir ve relaps gelişen hastaların yeni tedavi rejimlerine ihtiyaçları mevcuttur. KRAS mutasyonlarının azalmış sağ kalım ile ilişkilendirildiği çalışmalar mevcuttur. RAS mutasyonu taşıyan hücre hattı modellerinde MEK1/2 inhibitörü olan selumetinib verilmesi sonucunda RAS yolağı mutant olan relaps ALL hastalarında tedavi rejimlerinde selumetinib kullanılması ile hastalığın prognozunun iyileştirilebileceği düşünülmektedir (33).

PTPN11 ve FLT3 Genleri

Yolağın önemli genlerinden olan PTPN11 geni mutasyonları JMML'lerin %35'inde, çocukluk miyelodisplastik sendromlarının %10'unda, akut lenfoblastik lösemilerin ~%7'sinde ve Akut Miyeloid Lösemilerin ~%4'ünde saptanmıştır. Bu olguların büyük çoğunluğu pediatrik yaş grubundadır. Yamamoto ve ark. PTPN11 SHP2 protein kinazı hücre sinyalizasyonunda önemli bir görevi olan proteindir. Somatik PTPN11 mutasyonları hematolojik malignitelere sıklıkla tanımlanmaktadır. 95 pediatrik ALL hastada PTPN11, RAS ve FLT3 mutasyonları araştırılmış ve PTPN11'in lösemi gelişiminde önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Prekürsör B-ALL'de PTPN11 sıklığı %9,5 olarak belirlenmiştir. Tespit edilen tüm mutasyonların yanlış anlam mutasyonu olduğu ve SH2 domaini üzerinde olduğu belirlenmiştir (24, 36). RAS yolağı ailesinin önemli reseptör tirozin kinazlarından FLT3, yeni kemoterapi ilaçlarının geliştirilmesi için güçlü bir hedef olarak bilinmektedir. AML'li pediatrik hastalarda FLT3 sıklığının %4-15 olduğu rapor edilmiştir.

Akın ve ark. pediatrik ALL hastalarda yapmış oldukları çalışmada FLT3 tanı ve tedavi için önemli bir biyobelirteç olarak belirlenmiş ve %22,2 oranında bu hasta grubunda FLT3 ITD ve nokta mutasyonu tespit edilmiştir. Bu mutasyonların tamamı proteinin amino asit sekansında değişime neden olması sebebi ile FLT3 ligand bağımsız aktivasyonuna neden olmaktadır (37, 38).

SONUÇ

Lösemi gelişiminde tek bir faktör olmayıp, çevresel ve genetik etmenler birlikte rol oynamaktadır. Sitogenetik ve moleküler genetik bozukluklar lösemilerin patogenezinde ve prognozunda belirleyici olduğu bilinen bir gerçektir. Sitogenetik ve

moleküler genetik temelli olan araştırma çalışmalarının yapılması; lösemilerin tanısında, prognoz belirlenmesinde, tedavi seçeneğinin kararında ve hastalığın takibinde önem taşımaktadır. Genetik değişimlerin lösemide önemli prognostik faktörler olduğu ve lösemisiz yaşam süresine ve tedavi seçenekleri üzerine etkileri yapılan çalışmalar sonucunda açıkça ortaya konulmuştur. Ayrıca lösemi tedavisindeki son yıllardaki başarı yüzdelerinde artışa rağmen, nüksün varlığı hala ciddi bir sorun olarak görülmektedir. Hastaya uygulanan tedaviden (radyoterapi, kemoterapi, kemik iliği nakli) kaçan ve nükse neden olan hücrelerin varlığı "minimal rezidüel hastalık-MRH" tanımlamasının hastalığın tedavisinin tamamlanmasında önemli rolü olduğu açıktır. Tedaviden kaçan bu rezidüel hücrelerin saptanması, varlığının ve miktarının saptanmasının klinik önemi konusunda giderek yeni teknolojilerin de eklenmesiyle önemli gelişmeler katedilmiştir.

Her yeni yapılan çalışma bireye özgü olan bu hastalığın sınıflandırılmamış genetik alt gruplarının belirlenmesi, nüksün önlenmesi ve hastalığın temelindeki aydınlatılmamış noktaların ortaya çıkartılması mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Golub E, Arceci RJ. *Acute myelogenous leukemia*. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins Company; 2002.
2. Margolin JF, Steuber CP, Poplack DG. *Acute Lymphoblastic Leukemia*. In: Pizzo PA, editor. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. 4 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
3. Williams WJ, Beutler E, Litchman MA, Coler BS, Kipps TJ, Mauner AM. *William's Hematology*. New York: McGraw Hill Company; 1991.
4. Franks LM, Teich NM. *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer*. New York: Oxford University Press; 2001.
5. Apak H. Çocukluk çağı lösemileri. *Türk Pediatri Arşivi*. 2006;41:189-96.
6. Lowell C. *Fundamentals of blood cell biology*. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, editors. *Medical Immunology*. 9 ed; 1997. p. 9-25.
7. Oláh E. *Basic Concepts of Cancer: Genomic Determination*. *The Journal of The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2005;16(2).
8. Martinez JD, Parker MD, Fultz KE, Ignatenko NA, Gerner EW. *Molecular Biology of Cancer*. Arizona: John Wiley & Sons; 2003.
9. Kleinsmith LJ. *Principles of Cancer Biology*. Michigan: Benjamin Cummings; 2006.
10. Mullighan CG, Downing JR. *Genome-wide profiling of genetic alterations in acute lymphoblastic leukemia: recent insights and future directions*. *Leukemia*. 2009 Jul;23(7):1209-18.
11. Durmaz ÖE. B hücre aktivasyonu ve antikor üretimi B cell activation and antibody. *Türkdern*. 2013;47(1):24-7.
12. Look AT. *Oncogenic transcription factors in the human acute leukemias*. *Science*. 1997 Nov 7;278(5340):1059-64.
13. Greaves M. *Molecular genetics, natural history and the demise of childhood leukaemia*. *European journal of cancer*. 1999 Dec;35(14):1941-53.

14. Takai Y, Sasaki T, ve Matozaki T. Small GTP binding proteins. *Physiol. Rev.*2001; 81: 153-208.
15. Hancock JF. Ras proteins: different signals from different locations. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2003; 4: 373-384.
16. Knight T, Irving JA. Ras/Raf/MEK/ERK Pathway Activation in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Therapeutic Targeting. *Front Oncol.* 2014 Jun 24;4:160.
17. Al-Kzayer LF, Sakashita K, Al-Jadiry MF, Al-Hadad SA, Ghali HH, Uyen le TN, Liu T, Matsuda K, Abdulkadhim JM, Al-Shujairi TA, Matti ZI, Sughayer MA, Rihani R, Madanat FF, Inoshita T, Kamata M, Koike K. Analysis of KRAS and NRAS Gene Mutations in Arab Asian Children With Acute Leukemia: High Frequency of RAS Mutations in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 Dec;62(12):2157-61.
18. Perentesis JP, Bhatia S, Boyle E, Shao Y, Shu XO, Steinbuch M, Sather HN, Gaynon P, Kiffmeyer W, Envall-Fox J, Robison LL. RAS oncogene mutations and outcome of therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2004 Apr;18(4):685
19. Jerchel IS, Hoogkamer AQ, Ariës IM, Steeghs EMP, Boer JM, Besselink NJM, Boeree A, van de Ven C, de Groot-Kruseman HA, de Haas V, Horstmann MA, Escherich G, Zwaan CM, Cuppen E, Koudijs MJ, Pieters R, den Boer ML. RAS pathway mutations as a predictive biomarker for treatment adaptation in pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 2018 Apr;32(4):931-940.
20. Barbosa TC, Andrade FG, Lopes BA, de Andrade CF, Mansur MB, Emerenciano M, Pombo-de-Oliveira MS. Impact of mutations in FLT3, PTPN11 and RAS genes on the overall survival of pediatric B cell precursor acute lymphoblastic leukemia in Brazil. *Leuk Lymphoma.* 2014 Jul;55(7):1501-9.
21. Lübbert M, Oster W, Knopf HP, McCormick F, Mertelsmann R, Herrmann F. N-RAS gene activation in acute myeloid leukemia: association with expression of interleukin-6. *Leukemia.* 1993 Dec;7(12):1948-54.
22. Driessen EM, van Roon EH, Spijkers-Hagelstein JA, Schneider P, de Lorenzo P, Valsecchi MG, Pieters R, Stam RW. Frequencies and prognostic impact of RAS mutations in MLL-rearranged acute lymphoblastic leukemia in infants. *Haematologica.* 2013 Jun;98(6):937-44.
23. Steelman LS, Franklin RA, Abrams SL, Chappell W, Kempf CR, Bäsecke J, Stivala F, Donia M, Fagone P, Nicoletti F, Libra M, Ruvolo P, Ruvolo V, Evangelisti C, Martelli AM, McCubrey JA. Roles of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway in leukemia therapy. *Leukemia.* 2011 Jul;25(7):1080-94.
24. Yamamoto T, Isomura M, Xu Y, Liang J, Yagasaki H, Kamachi Y, Kudo K, Kiyoi H, Naoe T, Kojima S. PTPN11, RAS and FLT3 mutations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Res.* 2006 Sep;30(9):1085-9.
25. Lipka DB, Witte T, Toth R, Yang J, Wiesenfarth M, Nöllke P, Fischer A, Brocks D, Gu Z, Park J, Strahm B, Wlodarski M, Yoshimi A, Claus R, Lübbert M, Busch H, Boerries M, Hartmann M, Schönung M, Kilik U, Langstein J, Wierzbinska JA, Pabst C, Garg S, Catalá A, De Moerloose B, Dworzak M, Hasle H, Locatelli F, Masetti R, Schmutz M, Smith O, Stary J, Ussowicz M, van den Heuvel-Eibrink MM, Assenov Y, Schlesner M, Niemeyer C, Flotho C, Plass C. RAS-pathway mutation patterns define epigenetic subclasses in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Commun.* 2017 Dec 19;8(1):2126.
26. Case M, Matheson E, Minto L, Hassan R, Harrison CJ, Bown N, Bailey S, Vormoor J, Hall AG, Irving JA. Mutation of genes affecting the RAS pathway is common in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res.* 2008 Aug 15;68(16):6803-9.
27. Jebaraj BM, Kienle D, Bühler A, Winkler D, Döhner H, Stilgenbauer S, Zenz T. BRAF mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2013 Jun;54(6):1177-82.
28. Xu Y, Wertheim G, Morrisette JJ, Bagg A. BRAF kinase domain mutations in de novo acute myeloid leukemia with monocytic differentiation. *Leuk Lymphoma.* 2017 Mar;58(3):743-745.
29. Falini B, Martelli MP, Tiacci E. BRAF V600E mutation in hairy cell leukemia: from bench to bedside. *Blood.* 2016 Oct 13;128(15):1918-1927.
30. Alonso CM, Such E, Gómez-Seguí I, Cervera J, Martínez-Cuadrón D, Luna I, Ibáñez M, López-Pavía M, Vera B, Navarro I, Senent L, Sanz Alonso MA. BRAF V600E mutation in adult acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2013 May;54(5):1105-6.
31. Lee JW, Soung YH, Park WS, Kim SY, Nam SW, Min WS, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. BRAF mutations in acute leukemias. *Leukemia.* 2004 Jan;18(1):170-2.
32. Gustafsson B, Angelini S, Sander B, Christensson B, Hemminki K, Kumar R. Mutations in the BRAF and N-ras genes in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Leukemia.* 2005 Feb;19(2):310-2.
33. Irving J, Matheson E, Minto L, Blair H, Case M, Halsey C, Swidenbank I, Ponthan F, Kirschner-Schwabe R, Groeneveld-Krentz S, Hof J, Allan J, Harrison C, Vormoor J, von Stackelberg A, Eckert C. Ras pathway mutations are prevalent in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia and confer sensitivity to MEK inhibition. *Blood.* 2014 Nov 27;124(23):3420-30.
34. Knight T, Irving JA. Ras/Raf/MEK/ERK Pathway Activation in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Therapeutic Targeting. *Front Oncol.* 2014 Jun 24;4:160.
35. Estep AL, Palmer C, McCormick F, Rauen KA. Mutation analysis of BRAF, MEK1 and MEK2 in 15 ovarian cancer cell lines: implications for therapy. *PLoS One.* 2007 Dec 5;2(12):e1279.
36. Liang DC, Chen SH, Liu HC, Yang CP, Yeh TC, Jaing TH, Hung IJ, Hou JY, Lin TH, Lin CH, Shih LY. Mutational status of NRAS, KRAS, and PTPN11 genes is associated with genetic/cytogenetic features in children with B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2018 Feb;65(2).
37. Armstrong SA, Mabon ME, Silverman LB, Li A, Gribben JG, Fox EA, Sallan SE, Korsmeyer SJ. FLT3 mutations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2004 May 1;103(9):3544-6.
38. Akin DF, Mumcuoglu M, Aslar D, Kurekci AE, Ezer U, Akar N. Screening Of Flt3 Gene Mutations (flt3-3'd835) In Turkish Childhood Acute Leukemia Patients. *Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications,* 2016, 2575-0305.