

Akut Miyeloid Lösemi Hastalarında “Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör-Gama” Geninin Epigenetik Düzenlenmesi

Epigenetic Regulation of the “Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Gamma” Gene in Acute Myeloid Leukemia Patients

Deniz GÖREN ŞAHİN^a,
Eren GÜNDÜZ^b,
Buket YURTERİ^c,
Ahmet YEŞİLİYURT^c,
Neslihan ANDIÇ^b,
Hava ÜSKÜDAR TEKE^b,
Olga Meltem AKAY^d

^aHematoloji BD,
Demiroğlu Bilim Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
İstanbul, TÜRKİYE

^bHematoloji BD,
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Eskişehir, TÜRKİYE

^cTıbbi Genetik Kliniği,
Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve
Araştırma Hastanesi,
Ankara, TÜRKİYE

^dHematoloji BD,
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İstanbul, TÜRKİYE

Received: 22 Apr 2019

Received in revised form: 26 Aug 2019

Accepted: 26 Aug 2019

Available online: 29 Aug 2019

Correspondence:

Deniz GÖREN ŞAHİN
Demiroğlu Bilim Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Hematoloji BD, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
drdenizgoren@gmail.com

Bu çalışma, 41. Ulusal Hematoloji Kongresi
(21,24 Ekim 2015, Antalya)'nde sözel olarak
sunulmuştur.

ÖZET Amaç: Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör (PPAR) gama; hücre büyüme, farklılaşma ve apoptozisi düzenleyen nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesidir. Normal kemik iliğinde ve periferik CD34+ hücrelerde PPAR gama ifadesi mevcuttur. Akut miyeloid lösemi (AML)'de bu ifadenin azaldığını gösteren çalışmalar vardır. Ancak, bu azalmanın transkripsiyonel mi yoksa epigenetik mi olduğuna dair çalışma yoktur. Hipotezimiz, AML hastalarında PPAR gama ifadesinin azalmasının, bu gen bölgesinin aşırı metilasyonu sonucu olduğudur. Bu amaca yönelik olarak çalışmamızda, AML ve sağlıklı kontrol grubunda *PPAR gama* geninin ifadesi ve metilasyon düzeylerini araştırdık. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya yeni tanı konulmuş 31 AML hastası, 25 sağlıklı birey dâhil edildi. *PPAR gama* gen ifadesinin farklılığına gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile bakıldı. Aynı hastalarda Epitect bisülfid protokolü uygulanarak metilasyon spesifik PCR yapıldı. *PPAR gama* gen bölgesinde aşırı metilasyon olabilecek promoter bölgesine uygun primerler dizayn edildi. Ardından termal cyclers ile bisülfid DNA dönüşümü yapıldı. Epitect HRM PCR protokolü ile *PPAR gama* genindeki metilasyon düzeyi ölçüldü. **Bulgular:** RT-PCR sonucunda AML hastalarında *PPAR gama* gen ifadesinin sağlıklı bireylere göre yaklaşık 1,5 kat kadar azaldığı tespit edildi. *PPAR gama* ifadesinin azaldığı gösterilen hastalarda metilasyon spesifik PCR ile *PPAR gama* geni promoter bölgesinin metilasyon durumu incelendiğinde, AML hastalarında aday gen bölgesinde metilasyonun anlamlı olarak arttığı (AML hastalarında %29 ve kontrol grubunda %8, p<0,001) tespit edildi. **Sonuç:** Çalışmamızda, kemik iliğindeki hematopoetik süreci düzenleyen genlerden biri olan *PPAR gama* geninin ifadesinin AML hastalarında anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir. Bunun yanı sıra, bu gen ifadesinin baskılanmasından, genin promoter bölgesinin aşırı metilasyonunun sorumlu olabileceği gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Akut miyeloid lösemi; epigenetik; peroksizom aktive edici reseptör gama

ABSTRACT Objective: Peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR) is a member of the nuclear hormone receptor family that regulates cellular growth, differentiation and apoptosis. PPAR gamma expression is present in normal bone marrow and peripheral CD34+ cells. There are studies showing that this regulation is decreased in acute myeloblastic leukemia (AML). However, there is no study of whether this reduction is transcriptional or epigenetic. For this purpose we investigated the expression and methylation levels of the *PPAR gamma* gene in AML and healthy control group. **Material and Methods:** Thirty-one newly diagnosed cases of AML and 25 healthy individuals were included in the study. Differences in the *PPAR gamma* gene expression between the study group and the control group were analyzed by real time polymerase chain reaction (RT-PCR) technique. Methylation-specific PCR was performed using the Epitect bisulfite protocol. After primers were designed, bisulfite DNA transformation was performed. The methylation level of the *PPAR gamma* gene was measured by the Epitect HRM PCR protocol. **Results:** As a result of RT-PCR, the expression of *PPAR gamma* gene in AML cases was found to be reduced by about 1.5 times compared to healthy individuals. When the methylation status of the PPAR gamma promoter region was examined by methylation-specific PCR in the cases where the PPAR gamma expression was decreased, methylation in the candidate gene region in AML cases was significantly increased (29% in AML cases and 8% in control group, p<0.001). **Conclusion:** In our study, the expression of the *PPAR gamma* gene was significantly reduced in patients with AML. It has also been shown that over-methylation of the promoter region may be responsible for suppression of this gene expression.

Keywords: Acute myeloid leukemia; epigenetic; peroxisome proliferator activated receptor gamma

Moleküler biyolojide son yıllarda ortaya çıkan baş döndürücü gelişmeler sonucu akut miyeloid lösemi (AML) etiyopatogenezinin aydınlığa kavuşturulmasına yönelik önemli adımlar atılmakta ve bunun yanı sıra çeşitli yeni tedavi hedefleri gündeme gelmektedir. Klinik ve deneysel veriler, AML'nin lökomojenik füzyon proteinlerin ifadesine neden olan kromozom translokasyonlarını da içeren pek çok farklı genetik değişimin bir sonucu olduğunu göstermektedir.¹ Bununla birlikte, gen ifadelerinin ortaya çıkmasını veya susturulmasını sağlayan epigenetik mekanizmaların da gün ışığına kavuşturulmasının önemi son yıllarda yapılan çalışmalarla vurgulanmıştır.²⁻⁵ Günümüzde hipometilasyon yapıcı ajanların miyelodisplastik sendrom tedavisinde kendisine yer edinmesi ile birlikte epigenetik mekanizmaların rolü AML tedavisinde de önemli bir araştırma konusu hâline gelmiştir.^{6,7}

Akut lösemiler, tüm kanserlerin %5-7 kadarını oluştururken, AML, tüm erişkinlik çağı akut lösemilerinin %80'ini teşkil eder. AML'nin yaş ile görülme sıklığı da artış göstermektedir.⁸ Bunun yanı sıra son yıllarda solid malignitelerin tedavileri sırasında kullanılan alkilleyici ve topoizomeraz enzim inhibitörü gibi ilaçlarla tedavilerin yaygınlaşması sonucu sekonder AML (tedavi ile ilişkili AML) sıklığında da belirgin artış izlenmektedir.⁹ Ciddi bir sağlık sorunu olan AML'nin etiyopatogenezinin aydınlatılması bu yüzden önem taşımaktadır. AML, farklı ve çok sayıda genetik anomalinin eşlik ettiği, gerek biyolojik gerekse klinik olarak heterojen bir hastalıktır. Sitogenetik anormalliklere hücre çoğalma ve farklılaşmasında rol oynayan birçok genin ifadesindeki değişim de eşlik etmektedir. Bu genlerden önemli bir tanesi peroksizom proliferatör aktive edici reseptör (PPAR) *PPAR gama* genidir.¹⁰ AML hastalarında kemik iliğinde farklı çalışmalarda bu gen ifadesi artmış, azalmış veya normal olarak bulunmuştur.¹¹⁻¹³ Özellikle hücre proliferasyonu, farklılaşması ve apoptoziste önemli rol oynayan *PPAR gama* geninin bu ifade değişimlerinde epigenetik mekanizmaların rolünün olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu konuda yeterli çalışma yoktur. Bu çalışmada amacımız, AML hastalarında ifadesi artmış veya azalmış bulunan *PPAR*

gama genindeki bu ifade değişikliğine neden olacak epigenetik mekanizmalardan biri olan hipermetilasyonun araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamıza, kliniğimizde tanı konulan 31 AML hastası ve 25 sağlıklı birey alınmıştır. Tüm hastalardan, gereği durumunda yasal temsilcilerinden ve sağlıklı gönüllülerden gerekli izin alınmıştır. Bu çalışma için ayrıca Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 23.10.2013 tarih ve 09 karar numarası ile etik kurul onamı alınmış ve çalışmaya ilişkin tüm prosedürler Helsinki Deklarasyonu 2008 Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır.

Çalışmaya dâhil edilme kriterleri:

- a) AML tanısının periferik yayma morfolojisi, kemik iliği sitoloji/histolojisi ve akım sitometri gibi metotlar ile doğrulanması
- b) Sitogenetik analizin normal olduğunun gösterilmesi
- c) Bilinen hematolojik veya sistemik kronik bir hastalığının olmaması
- d) Yaş aralığının 18-65 yıl olması
- e) Daha önce başka bir merkezde veya merkezimizde herhangi bir tedavi (sitoredüktif tedavi hariç) almamış olması veya kemik iliği nakli yapılmamış olması,
- f) Çalışma öncesi hastaların yazılı onam formu vermesi.

Çalışma materyali, hasta grubunda kemik iliği aspiratı, sağlıklı gönüllülerde ise periferik kan örnekleri idi. Çalışmaya dâhil edilenlerden alınan kemik iliği aspirasyon örnekleri ESOGÜ Hematoloji Laboratuvarında bulunan Roche Magnapure ekstraksiyon cihazı ile ayrı ayrı DNA ve RNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Elde edilen DNA örnekleri uygun şekilde etiketlenerek analiz gününe kadar -20 derecede saklandı. Örneklerde ilk aşamada gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)] ile *PPAR gama* ifade analizi yapılmıştır. Bu aşamada özetle: Elde edilen RNA örneklerinden SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen Corp., Carlsb-

lad, CA, ABD) ve oligo(dT) priming (Promega, Madison, WI, ABD) kullanılarak cDNA sentezlenmiş, ardından RT-PCR için primerler Primer Express (ver 2,0-Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA, ABD) yazılımı kullanılarak dizayn edilmiştir. Primer özgüllüğü NCBI nükleotid veri tabanlarında BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide) taramaları yapılarak doğrulanmıştır. Özellikle 16-40 baz çifti uzunluğunda, %20-80 guanin-sitozin içeriği olan ve erime noktası 58-60°C arasında olan sekansların belirlenmesine dikkat edilmiştir. Ayrıca, 140-160 baz çifti aralığında tek ampikon oluşturulması amaçlanmıştır (Tablo 1). RT-PCR Applied Biosystems Taqman PCR Master Mix, Micro-Amp Optical 96-well Reaction Plate kullanılarak Roche Lightcycler 480 cihazında spesifik oligonükleotid primerleri kullanılarak çalışılmıştır. İnternal aktif referans olarak gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz, beta-2-mikroglobulin mRNA seviyeleri kullanılarak gen ifadeleri standardize edilmiştir. Bu aşamada elde edilen ifade seviyelerine göre hastalar iki gruba (PPAR gama ifadesi yüksek ve düşük olmak üzere) ayrılmıştır.

Daha sonraki aşamada, *PPAR gama* geninin promoter bölgesinin metilasyon durumuna bakmak için metilasyon spesifik PCR uygulanmıştır. Metilasyon analizlerinde HRM tekniği kullanılmıştır. Elde edilen DNA ürünlerinin bisülfite modifikasyonu işlemi için Epiect® Bisulfite Kit (48) (Qiagen) kullanılmıştır. Bisülfite modifikasyonu aşaması sonunda metilli olan C'ler kalırken metile olmayan C'lerin modifikasyonu sağlanmıştır (Tablo 1). HRM aşamasında kullanılacak olan pozitif/metillenmiş kontrol örneği CpGenome™ Universal Methylated DNA (Millipore-Chemicon® International) ve negatif/metillenmemiş kontrol örneği CpGenome™

Universal Unmethylated DNA (Millipore-Chemicon® International) bu aşamada modifiye edilmiştir. Bu aşamadaki işlemler LightCycler® 480 real time PCR (Roche) cihazında uygulanmıştır. Cihazla uyumlu olan "LightCycler® 480 High Resolution Melting Master" kiti kullanılarak PCR amplifikasyonu ve yüksek rezolüsyonlu erime analizi gerçekleştirilmiştir. Yüksek rezolüsyonlu erime verilerinin analizi LightCycler® 480 "Gene Scanning" yazılım programı ile yapılmıştır. Bu değerlendirilmede, örnekler arasındaki farklı floresan düzeylerine göre bir değerlendirme yapılmıştır, normalize erime profilleri direkt olarak karşılaştırılmakta, hastalara ilişkin örneklerdeki DNA metilasyon düzeyi, metillenmiş/metillenmemiş oranı bilinen standartların erime profillerine benzerliklerine göre değerlendirilmiştir. Bu algoritmada hastalara ilişkin PCR ürünlerinin erime sıcaklık eğrileri ile metillenmemişin metillenmişe olan oranının bulunduğu kontrol PCR ürünlerinin erime sıcaklık eğrileri karşılaştırılmıştır.

Çalışmanın istatistiksel analizleri IBM SPSS versiyon 20.0 kullanılarak yapılmıştır. Normal dağılımın analizinde Shapiro-Wilk testi ve değişkenlerin karşılaştırılmasında Student t-testi kullanılmıştır. p değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmaya alınan AML hastalarının ve sağlıklı kontrol bireylerin yaş ortalaması sırası ile 48±12,3 ve 38±5,8 yıl idi. Her iki grupta da ılımlı bir erkek cinsiyet predominansı olmakla birlikte, gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir. Hasta grubunda hemoglobin (Hb) değerlerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşük (AML grubu orta-

TABLO 1: Metilasyon spesifik PCR ve RT-PCR için kullanılan primerler.

Primer	Primer sekansı		Boyut (kb)	Annealing ısısı (°C)
	Forward	Reverse		
CpG-1 M	TATTTTGTGAGGAGGAGGTTTC	GACTAAAAATCCTAACTACGCGCT	218	54.5
CpG-2 U	TATTTTGTGAGGAGGAGGTTTT	TACAATAAAAAATCCTAACTACACT	221	54.5
RT-PCR	TTGTTCCAGGAAATTCACCTGC	CGCCGTAATATTCTAAACC	171	60.0

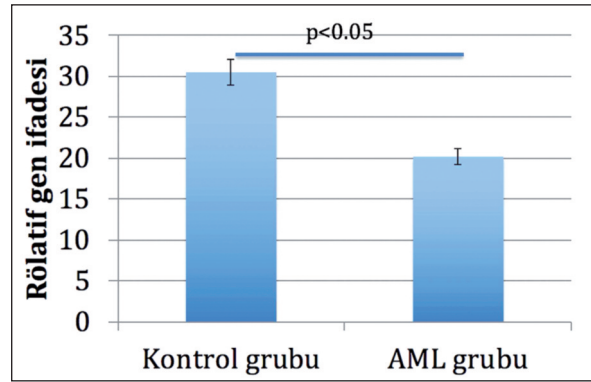
M: Metilasyon spesifik primer; **U:** Unmetilasyon spesifik primer; **RT-PCR:** Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu.

lama Hb: $9,1 \pm 2,3$ g/dL, sağlıklı kontrol ortalama Hb: $12,7 \pm 1,6$ g/dL, $p < 0,05$), beyaz küre (BK) sayılarının anlamlı yüksek (AML grubu ortalama BK: $24,8 \pm 18,3$ ($\times 10^3$), sağlıklı kontrol ortalama BK: $7,2 \pm 2,1 \times 10^3$, $p < 0,05$) ve trombosit sayılarının da istatistiksel anlamlı düşük (AML grubu ortalama platelet (Plt): $83,8 \pm 60,6$ ($\times 10^3$) sağlıklı kontrol ortalama Plt: $210,9 \pm 60,7$ ($\times 10^3$), $p < 0,05$) olduğu izlenmiştir.

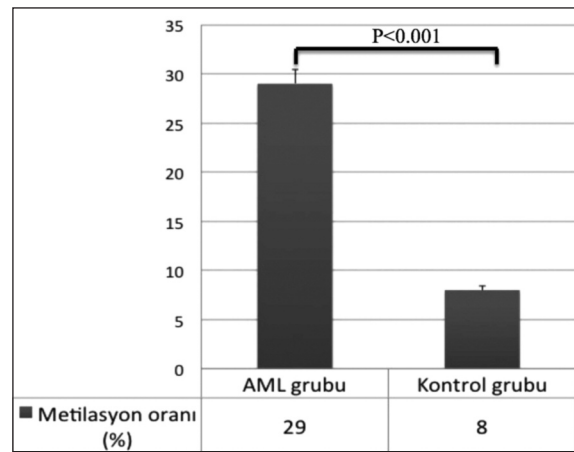
AML hastalarında *PPAR gamma* gen ifade değişikliği RT-PCR ile iki grupta değerlendirildi. AML hastalarında *PPAR gamma* gen ifadesinin sağlıklı bireylere göre %34,4 oranında azaldığı tespit edildi (Şekil 1). Bunun yanı sıra, *PPAR gamma* ifadesinin azaldığı gösterilenlerde metilasyon spesifik PCR ile *PPAR gamma* geni promoter bölgesinin metilasyon durumu incelenmiştir. AML hastalarında aday gen bölgesinde metilasyonun anlamlı olarak arttığı (AML olgularında %29 ve kontrol grubunda %8, $p < 0,001$) tespit edilmiştir (Şekil 2). *PPAR gamma* mRNA düzeyleri metile ve metile olmayan bireyler arasında karşılaştırıldığında, metile bireylerdeki mRNA düzeylerinin anlamlı derecede azalmış olduğu izlenmiştir ($p < 0,005$). İlâveten; sadece metile olanlara bakıldığında da toplam 9 hastanın 8 (>%90)'inde *PPAR gamma* mRNA ifadesinin 1,2 kat daha fazla azaldığı görülmüştür.

TARTIŞMA

PPARs α , β/δ , ve γ , transkripsiyon faktörlerinin nükleer hormon reseptör süper-ailesine ait üyeleridir ve dokuya özel birçok metabolik yolağın düzenlenmesinde rol oynarlar.¹⁴ Bu grupta yer alan *PPAR gamma* ligandları *PPAR gamma* bağımlı ve bağımlı olmayan iki farklı etki mekanizmasına sahiptir. Bir taraftan *PPAR gamma* molekülü ile bağlanıp, bunu aktive ederek, temelde, granülosit ve makrofaj diferansiyasyonunu artırdığı, matris metalloproteinazların ifadesini azaltarak hücre adezyonunu, migrasyonunu ve metastazı inhibe ettiği gösterilmiştir.^{15,16} *PPAR gamma*'nın reseptör bağı olmayan etkileri ise apoptozisin indüklenmesi, siklin D1 ve NFkB molekülleri üzerinden hücre proliferasyonunun inhibisyonudur.¹⁵ Dolayısıyla bu reseptörlerin etkinlikleri genel olarak antiproliferatif, pro-diferansiyatif, antimetastatik ve pro-apopto-



ŞEKİL 1: RT-PCR ile AML hastalarında *PPAR gamma* gen ifadesinin sağlıklı bireylere göre azaldığını gösteren grafik.



ŞEKİL 2: *PPAR gamma* ifadesinin azaldığı gösterilen AML hastalarında genin promoter bölgesinin metilasyon yüzdesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılması.

tiktir şeklinde özetlenebilir. Biz çalışmamızda, *PPAR gamma* gen ifadesinin AML hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığını gösterdik. Normal kemik iliği ve periferik kan CD34+ progenitör hücrelerde yüksek *PPAR gamma* ifadesinin varlığı daha önce gösterilmiştir.¹⁷ Bunun yanı sıra, lösemik hücre serilerinde de *PPAR gamma* ifadesinin varlığı bildirilmiştir.^{18,19} Ancak, bizim bilgilerimize göre, in vitro hücre kültürü çalışmaları dışında, hasta ve kontrol grubuna ait gen ifadelerinin karşılaştırıldığı bir çalışma literatürde görünmemektedir. Konopleva ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, in vitro ortamda HL-60, U937 ve THP1 insan miyeloid lösemik hücre serilerinde, *PPAR gamma* ligandlarının tek başına veya RXR-spesifik aktivatörlerle kombine bir şekilde klonal proliferasyonu inhibe edebildiği ve bu hücrelerin

diferansiyasyonunu tetikleyebildiği gösterilmiştir.¹³ Yine aynı çalışmada, PPAR gama mRNA ifadesinin miyelomonositik AML alt tipinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu sonuca ilişkin, PPAR gama ligandlarına yönelik geliştirilecek tedavilerin, özellikle AML M4 alt tipinde daha etkili olabileceğini düşündüklerini ifade etmişlerdir. Diğer yandan, PPAR gama ifadesi olan hücre kültür serilerinde, ortama eklenen PPAR gama agonistinin hücre siklusunu G1 fazında durdurarak klonal hücre proliferasyonunu baskıladığı, monositlerdeki farklılaşmayı indüklediği ve yüksek konsantrasyonlarda apoptozis artışına yol açtığını gösteren çalışmalar da mevcuttur.^{11,20} Asou ve ark.nın yaptığı çalışmada, potent ve spesifik bir PPAR gama aktivatörü olan troglitazoneun miyeloid lösemik hücre serilerinde proliferasyonu tek başına zayıf bir şekilde, retinoid reseptör ligand inhibitörleri ile kombinasyonda ise güçlü bir şekilde inhibe edebildiği gösterilmiştir.¹¹ Proteomik analiz kullanılarak yapılan bir Faz 1 çalışmada ise 260 yeni tanı AML hastasından alınan örneklerde, PPAR gama ifadesi saptanmıştır. Bu çalışmada, artmış PPAR gama ifadesinin, PPAR gama agonistleri ile indüklenen apoptozise lösemik hücrelerin duyarlılığındaki artma ile de birliktelik gösterdiği vurgulanmıştır.¹² Bizim çalışmamızda, AML hastalarındaki PPAR gama gen ifadesinin sağlıklı kontrollere göre azalmış bulunması, in vitro çalışmaları indirekt olarak desteklemektedir.

Çalışmamızdaki ikinci önemli bulgu, PPAR gama gen ifadesinin baskılanmasından, genin promoter bölgesinin aşırı metilasyonunun sorumlu olabileceğinin gösterilmiş olmasıdır. Daha önce insanlarda ve hayvan modellerinde, farklı dokularda yapılan çalışmalarda, PPAR gama reseptör ifadesinin metilasyon paternleri çalışılmıştır. Örneğin; kronik hepatit B hastaları, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, PPAR gama gen promoter bölgesinin hipermetilasyonu, karaciğerdeki inflamasyon ve fibrozis ile anlamlı derecede ilişkili olarak saptanmıştır.²¹ Yine Fujiki ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, adipoz dokuda PPAR gama ifadesinin, genin promoter bölgesinin DNA metilasyonu ile düzenlendiğini ve metabolik sendromun patogenezinde

bu yolağın önemli olabileceğini belirtmişlerdir.²² Ancak, çalışmamızda olduğu gibi, akut lösemili hastalarda PPAR gama geninin ifade değişikliklerine etki eden metilasyon paternini değerlendiren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

SONUÇ

Çalışmamızda, kemik iliğindeki hematopoetik süreci düzenleyen genlerden biri olan PPAR gama geninin ifadesinin AML hastalarında anlamlı olarak azaldığı izlenmiştir. Bunun yanı sıra, bu gen ifadesinin baskılanmasından, genin promoter bölgesinin aşırı metilasyonunun sorumlu olabileceği gösterilmiştir. Hücre bölünmesi ve farklılaşması üzerinde rol oynayan PPAR gama geni gibi diğer genlerin epigenetik düzenlenmesinin aydınlatılmasının, gelecekte farklı tedavi seçeneklerinin gündeme gelmesini sağlayabileceğini düşünüyoruz.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Deniz Gören Şahin, Eren Gündüz; **Tasarım:** Ahmet Yeşilyurt, Buket Yurteri, Deniz Gören Şahin; **Denetleme/Danışmanlık:** Deniz Gören Şahin, Neslihan Andıç, Hava Üsküdar Teke; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Deniz Gören Şahin, Neslihan Andıç, Eren Gündüz; **Analiz ve/veya Yorum:** Deniz Gören Şahin, Olga Meltem Akay; **Kaynak Taraması:** Deniz Gören Şahin, Eren Gündüz, Olga Meltem Akay; **Makalenin Yazımı:** Deniz Gören Şahin, Eren Gündüz; **Eleştirel İnceleme:** Olga Meltem Akay, Hava Üsküdar Teke; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Eren Gündüz, Ahmet Yeşilyurt; **Malzemeler:** Ahmet Yeşilyurt, Buket Yurteri, Deniz Gören Şahin.

KAYNAKLAR

1. Steffen B, Müller-Tidow C, Schwäble J, Berdel WE, Serve H. The molecular pathogenesis of acute myeloid leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005;56(2):195-221. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
2. Corces-Zimmerman MR, Hong WJ, Weissman IL, Medeiros BC, Majeti R. Preleukemic mutations in human acute myeloid leukemia affect epigenetic regulators and persist in remission. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(7):2548-53. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
3. Sasca D, Huntly BJ. Independence of epigenetic and genetic diversity in AML. *Nat Med.* 2016;22(7):708-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, Erpelinck-Verschuren C, Deng X, Christos PJ, et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell.* 2010;17(1):13-27. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
5. Mehdipour P, Santoro F, Minucci S. Epigenetic alterations in acute myeloid leukemias. *FEBS J.* 2015;282(9):1786-800. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Wouters BJ, Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. *Blood.* 2016;127(1):42-52. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
7. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute myeloid leukemia-genetic alterations and their clinical prognosis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017;11(4):328-39. [[PubMed](#)]
8. Dores GM, Devesa SS, Curtis RE, Linet MS, Morton LM. Acute leukemia incidence and patient survival among children and adults in the United States, 2001-2007. *Blood.* 2012;119(1):34-43. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
9. Kayser S, Döhner K, Krauter J, Köhne CH, Horst HA, Held G, et al. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood.* 2011;117(7):2137-45. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Tabe Y, Konopleva M, Andreeff M, Ohsaka A. Effects of PPARgamma ligands on leukemia. *PPAR Res.* 2012;2012:483656. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
11. Asou H, Verbeek W, Williamson E, Elstner E, Kubota T, Kamada N, et al. Growth inhibition of myeloid leukemia cells by troglitazone, a ligand for peroxisome proliferator activated receptor gamma, and retinoids. *Int J Oncol.* 1999;15(5):1027-31. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Tsao T, Kornblau S, Safe S, Watt JC, Ruvolo V, Chen W, et al. Role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and its coactivator DRIP205 in cellular responses to CDDO (RTA-401) in acute myelogenous leukemia. *Cancer Res.* 2010;70(12):4949-60. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
13. Konopleva M, Elstner E, McQueen TJ, Tsao T, Sudarikov A, Hu W, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and retinoid X receptor ligands are potent inducers of differentiation and apoptosis in leukemias. *Mol Cancer Ther.* 2004;3(10):1249-62. [[PubMed](#)]
14. Braissant O, Foufelle F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat. *Endocrinology.* 1996;137(1):354-66. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Garcia-Bates TM, Lehmann GM, Simpson-Haidaris PJ, Bernstein SH, Sime PJ, Phipps RP. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and its ligands in the treatment of hematological malignancies. *PPAR Res.* 2008;2008:834612. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
16. Olivieri C, Baldari CT. The potential of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) ligands in the treatment of hematological malignancies. *Mini Rev Med Chem.* 2007;7(9):877-87. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Ikezoe T, Miller CW, Kawano S, Heaney A, Williamson EA, Hisatake J, et al. Mutational analysis of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene in human malignancies. *Cancer Res.* 2001;61(13):5307-10. [[PubMed](#)]
18. Padilla J, Kaur K, Harris SG, Phipps RP. PPAR-gamma-mediated regulation of normal and malignant B lineage cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;905:97-109. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
19. Padilla J, Kaur K, Cao HJ, Smith TJ, Phipps RP. Peroxisome proliferator activator receptor-gamma agonists and 15-deoxy-Delta(12,14)(12,14)-PGJ(2) induce apoptosis in normal and malignant B-lineage cells. *J Immunol.* 2000;165(12):6941-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
20. Fujimura S, Suzumiya J, Nakamura K, Ono J. Effects of troglitazone on the growth and differentiation of hematopoietic cell lines. *Int J Oncol.* 1998;13(6):1263-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Zhao Q, Fan YC, Zhao J, Gao S, Zhao ZH, Wang K. DNA methylation patterns of peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene associated with liver fibrosis and inflammation in chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2013;20(6):430-7. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Fujiki K, Kano F, Shiota K, Murata M. Expression of the peroxisome proliferator activated receptor gamma gene is repressed by DNA methylation in visceral adipose tissue of mouse models of diabetes. *BMC Biol.* 2009;7:38. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]