



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**BÖBREK TÜMÖRLERİNDE *RHEB* GENİNİN EKSPRESYON
DÜZEYİNİN ANALİZİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Betül KÜÇÜKGÜZEL

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK

TOKAT-2024

ETİK SÖZLEŞME

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT ve Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK danışmanlığında hazırlamış olduğum “Böbrek Tümörlerinde *RHEB* Geninin Ekspresyon Düzeyinin Analizi” adlı Yüksek Lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

26/09/2024
Betül KÜÇÜKGÜZEL

ÖNSÖZ

Akademik eğitimim sürecinde engin bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, yardımını esirgemeyen, beni bilimsel ve mesleki anlamda yetiştiren, manevi desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT 'a,

Eğitim sürecimde akademik bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK 'e,

Eğitimim süresince bilgilerinden her zaman faydalandığım, Anabilim Dalı Hocamız, Prof. Dr. H. Ömer ATEŞ 'e,

Çalışmam için gerekli olan örneklerin kriterlere uygun olarak toplanmasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Engin KÖLÜKÇÜ 'ye,

Tezimin deney ve yazım aşaması süresince bilgi ve desteklerini esirgemeyen, Arş. Gör. Sadegül ŞAVKIN ve Dr. Kübra ŞAHİN 'e,

Hayatımın her anında yanımda olan, desteklerini esirgemeyen, bana en büyük sevgi ve hoşgörüyü veren, Anneme, Babama, Ablama ve Kardeşim 'e

Teşekkürlerimi sunarım...

Betül KÜÇÜKGÜZEL

TOKAT, Eylül 2024

ÖZET

Böbrek Tümörlerinde *RHEB* Geninin Ekspresyon Düzeyinin Analizi

KÜÇÜKGÜZEL, Betül

Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanları: Dr. Öğr. Üyesi Nihan BOZKURT

Dr. Öğr. Üyesi Sümeyya Deniz AYBEK

Eylül 2024, LII +52 sayfa

Böbrek kanseri, böbrek dokusundaki hücrelerin değişime uğrayarak anormal derecede büyümesi ve kontrolsüzce çoğalmasındır. Böbrek kanseri, son yıllarda dünya genelinde en sık görülen kanser türleri arasında yer almaktadır. Beyinde Zenginleştirilmiş Ras Homoloğu (*RHEB*), hücrelerin büyümesini ve hücre döngüsünü kontrol eden, insanlarda ve diğer memelilerde bulunan bir GTP- bağlayıcı proteindir. *RHEB* proteini, memeli Rapamisin Hedefi (mTOR) sinyal yolunun anormal aktivasyonuna katkıda bulunmasının yanı sıra insülin/TOR/S6K sinyal yolunun merkezinde de yer alır. Çalışmamızın amacı, böbrek tümöründe *RHEB* geninin mRNA ekspresyon düzeylerinin kontrol böbrek dokusuna oranla böbrek tümörlerindeki değişikliklerini incelemektir. Çalışmaya üroloji polikliniğine başvuran böbrek kanseri tanısı almış 11 hasta dahil edildi. Çalışma grubu olarak böbrek tümör dokusu ve kontrol grubu olarak aynı hastaya ait sağlıklı böbrek dokusu kullanıldı. Gen ekspresyon seviyeleri SYBR Green Temelli Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR) ile belirlendi. *RHEB* geninin böbrek kanseri hücrelerindeki mRNA ekspresyon düzeyinin kontrol grubuna göre azaldığı bulunmuştur ancak bu azalışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır ($p=0,083$). *RHEB* geninin böbrek kanseri gelişimi ve ilerlemesi üzerindeki rolünü anlamak amacıyla yapılan çalışmalar, gelecekteki araştırmalara önemli bilgiler sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Böbrek Tümörü, mTOR, *RHEB*, qRT-PZR

ABSTRACT

Analysis of *RHEB* Gene Expression Levels in Renal Tumors

KÜÇÜKGÜZEL, Betül

Master's Thesis, Department of Medical Biology

Advisors: Dr. Asst. Prof. Nihan BOZKURT

Dr. Asst. Prof. Sümeyya Deniz AYBEK

September 2024, LII+52 pages

Kidney cancer is an abnormal growth and uncontrolled proliferation of cells in the kidney tissue. Kidney cancer has become one of the most common cancers worldwide in recent years. Ras Homolog Enriched in Brain (*RHEB*) is a GTP-binding protein found in humans and other mammals that controls the growth of cells and the cell cycle. The RHEB protein contributes to the abnormal activation of the mammalian Target of Rapamycin (mTOR) signaling pathway as well as being central to the insulin/TOR/S6K signaling pathway. The aim of our study was to investigate the changes in mRNA expression levels of *RHEB* gene in kidney tumors compared to control kidney tissue. Eleven patients diagnosed with kidney cancer who were admitted to the urology outpatient clinic were included in the study. Kidney tumor tissue was used as the study group and healthy kidney tissue from the same patient was used as the control group. Gene expression levels were determined by SYBR Green Based Real Time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR). It was found that the mRNA expression levels of *RHEB* gene in kidney cancer cells decreased compared to the control group, but this decrease was not statistically significant ($p=0.083$). Studies conducted to understand the role of the *RHEB* gene on the development and progression of kidney cancer may provide important information for future researches.

Key Words: Kidney Tumor, mTOR, RHEB, qRT-PZR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME	i
ÖNSÖZ.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Böbrek Anatomisi ve Fizyolojisi	4
2.2. Böbrek Kanseri.....	5
2.3. Epidemiyoloji.....	6
2.4. Etiyolojik Faktörler	7
2.5. Böbrek Kanseri Rol Oynayan Genler ve Genetik Değişimler	8
2.6. Böbrek Kanseri Tanı	9
2.7. Böbrek Tümör Evresi	10
2.8. Böbrek Kanseri Tedavi	11
2.9. Memeli Rapamisin Hedefi (mTOR).....	12
2.9.1. mTOR Sinyal Yolağı.....	15
2.9.2. <i>RHEB</i>	19
2.9.3. <i>RHEB</i> 'in mTOR Sinyal Yolağındaki Rolü ve Kanseri İlişkisi ..	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	24
3.1. MATERYAL.....	24
3.1.1. Çalışma Grubu	24
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar	25
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Kitler ve Kit İçerikleri.....	26
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	27
3.2. YÖNTEM	28
3.2.1. Dokuların Homojenizasyonu ve Total RNA İzolasyonu.....	28
3.2.2. cDNA Sentezi.....	30
3.2.3. cDNA Konsantrasyonlarının Ölçümü.....	31
3.2.4. Gerçek Zamanlı PZR (qRT-PZR).....	32
3.2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi	35
4. BULGULAR	36
4.1. <i>RHEB</i> Gen İfade Düzeyinin Analiz Sonuçları.....	37
5. TARTIŞMA.....	42
6. KAYNAKÇA	46
7. ÖZGEÇMİŞ.....	52

TABLolar LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 3.1. cDNA Sentezinde Kullanılan Bileşenler ve Miktarları.....	30
Tablo 3.2. cDNA Sentezinde Kullanılan PZR Prosedürü.....	30
Tablo 3.3. qRT-PZR İşleminde Kullanılan <i>RHEB</i> ve <i>ACTB</i> Genlerine ait Primerler.....	33
Tablo 3.4. qRT-PZR’da Örnek Başına Kullanılan Tepkime Bileşen ve Miktarları.....	33
Tablo 3.5. qRT-PZR Protokolü.....	34
Tablo 4.1. Çalışma Grubundaki Bireylerin Demografik Verileri.....	36
Tablo 4.2. p Değeri Tablosu.....	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 2.1. Böbreğin Anatomik Yapısı.....	5
Şekil 2.2. Böbrek Kanseri Evreleme.....	10
Şekil 2.3. mTOR Protein Yapısı ve İlişkili Kompleksler.....	13
Şekil 2.4. Büyüme Etmeni ile Tetiklenen mTOR Sinyal Yolağı.....	16
Şekil 2.5. mTOR Sinyal Yolağı.....	18
Şekil 2.6. Genomik Lokasyonda <i>RHEB</i> Geni.....	20
Şekil 2.7. <i>RHEB</i> Geninin mRNA Diziliminin gösterimi.....	20
Şekil 2.8. <i>RHEB</i> Gen Ekspresyon Paterni.....	20
Şekil 2.9. mTOR ‘un Hücre İşlevlerindeki Çok Yönlü Roller.....	22
Şekil 4.1. Çalışma Grubundaki Bireylerin Evre Dağılım Grafiği.....	36
Şekil 4.2. <i>ACTB</i> Genine ait Amplifikasyon Eğrisi Grafiği (A) ve Erime Piki (B).....	38
Şekil 4.3. <i>RHEB</i> Genine ait Amplifikasyon Eğrisi Grafiği (A) ve Erime Piki (B).....	39
Şekil 4.4. Tümör ve Sağlıklı Böbrek Dokularında <i>RHEB</i> Genine ait Kat Artış Grafiği.....	40

KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

Ang-1: Anjiyopietin-1

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü

BHBK: Berrak Hücreli Böbrek Kanseri

BT: Bilgisayarlı Tomografi

cDNA: Komplementer DNA

c-MET: Hepatosit Büyüme Faktörü Reseptörü

CRC: Kolorektal Kanser

EGF: Epidermal Büyüme Faktörü

FGF: Fibroblast Büyüme Faktörü

GDP: Guanozin Difosfat

GLUT1: Glukoz Taşıyıcı 1

FAT: FRAP, ATM, TRRAP

FATC: FAT C terminal

FH: Fumarat hidrataz

FLCN: Follikülin

FRB: FKBP12–Rapamisin Bağlayıcı Bölge

GTP: Guanozin Trifosfat

HCC: Hepatoselüler Karsinom

HEAT: Huntingtin, Elongasyon Faktörü 3, Protein Fosfataz 2A ve TOR1

HIF-1 α : Hipoksi ile İndüklenen Faktör 1 alfa

IFN α : İnterferon alfa

HRPT 2: Hiperparatiroidizm-Jaw Tümör Sendromu 2

IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1

IL-2: İnterlökin 2

KDM5C: Histon Lizin Demetilaz 5C

KDM6A: Histon Lizin Demetilaz 6A

LPN: Laparoskopik Parsiyel Nefrektomi

LUAD: Akciğer Adenokarsinomu

LUSC: Akciğer Skuamöz Hücreli Karsinomu

mLST8: Memeli SEC13 Proteini ile Ölümcül 8

MRHK: Metastatik Renal Hücreli Kanser

mTOR: Memeli Rapamisin Hedefi

PAAD: Pankreas Adenokarsinomu

PDGF: Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü

PI3K: Fosfatidilinositol 3-Kinaz

PTEN: Fosfataz ve Homolog Tensin

qRT-PZR: Kantitatif Real-Time PZR

RHEB: Beyinde Zenginleştirilmiş Ras Homoloğu

RHK: Renal Hücreli Karsinom

TNM: Tümör, Nod, Metastaz

SDH: Susinat Dehidrojenaz

SETD2: Histon-Likin N-Metiltransferaz 2

TFE3: Transkripsiyon Faktörü E3

TFEB: Transkripsiyon Faktörü EB

TSC1: Tüberoskleroz Kompleksi 1

TSC2: Tüberoskleroz Kompleksi 2

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VHL: Von Hippel-Lindau Hastalığı

WB: Western Blotlama

4E-BP: 4E Bağlayıcı Protein 1



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Böbrek kanseri, böbrekte bulunan "proksimal tübülüs" bölgesinden kaynaklanan, böbreğin idrar ürettiği ve idrarın toplandığı havuzcuk bölgesinde görülen bir kanser türüdür. Renal hücreli kanser (RHK), böbrekte bulunan duktus veya tübül epitelinden kaynaklanan kanserlerdir (Yılmaz, 2013). Böbrek kanseri, tüm kanser türleri içinde önemli bir yer tutmaktadır (Kavala & Yıldırım, 2023). Böbrek kanserlerine çok sayıda alt grup hastalıklar neden olabilir. Bu hastalıkların her biri farklı histolojiye sahip, farklı klinik seyir gösteren ve farklı bir genin neden olduğu hastalıklar olarak nitelendirilebilir (Linehan & Rathmell, 2012). Böbrek kanserinin en sık görülen alt tiplerinden biri olan berrak hücreli böbrek kanseri (BHBK), genellikle erkeklerde daha sık görülmektedir. Bu türün tümörlerinin özelliği, hücrelerde lipitin fazla bulunması sonucu altın rengine sahip olması ve genel olarak düzgün sınırları bulunmasıdır. BHBK'lı bireylerin, Von Hippel-Lindau (VHL) hastalığına genetik yatkınlığı bulunmaktadır (Yılmaz, 2013). Böbrek tümörlerinde görülme sıklığı açısından ikinci sırada yer alan Papiller böbrek hücreli kanser, iki alt tipe sahiptir. Bunlar; Kalıtsal Tip I: Germ hattı hepatosit büyüme faktörü reseptörü (c-MET) aktivasyon mutasyonlarına bağlı iken, Kalıtsal Tip II: Fumarat Hidrataz (FH) geninin germ hattı mutasyonuna bağlıdır. Bu böbrek kanseri türü genellikle kronik hemodiyaliz hastalarında görülmekte olup kortikal adenomlarla sıkça ilişkilidir (Yıldırım, 2016). Böbrek tümörlerinin yaklaşık %5' ini oluşturan Kromofob böbrek hücreli kanser (KBHK), genellikle yetişkinlerde görülmekte olup hem sporadik hem de kalıtsal formları bulunmaktadır. Bu tümörlerin genel özellikleri, iyi tanımlanmış, tekil ve katı yapıya sahip kortikal konumda olmalarıdır (Elibol, 2010).

Tüm kanser türleri arasında erkeklerde kadınlara oranla daha sık görülen kanser türü Renal hücreli kanser (RHK)'dir (Çelik ve ark., 2014). RHK' nın risk faktörleri arasında cinsiyet, yaş, etnik köken, sigara kullanımı, hipertansiyon ve obezite bulunmaktadır (Elibol, 2010). Böbrek kanserlerinde yapılan çalışmalar, birçok kanser tipinde olduğugibi hücre döngüsü kontrolü, DNA hasar onarımı, sinyal iletimi, apoptoz, anjiyogenez, hücresel proliferasyon, invazyon ve metastaz ile ilgili birçok genin değiştiğini göstermiştir (Bjornsti & Houghton, 2004).

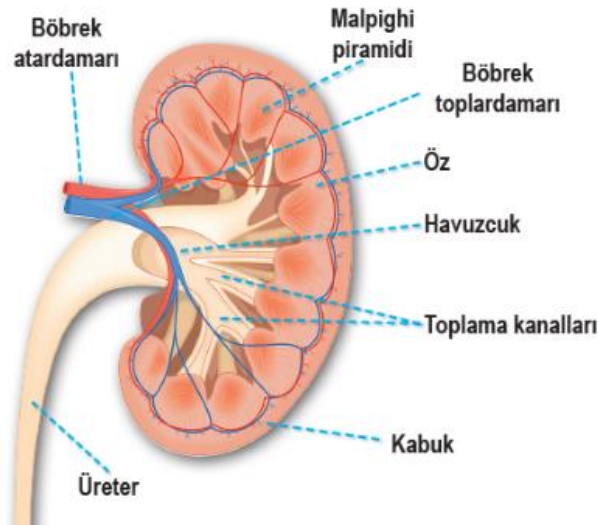
Beyinde Zenginleştirilmiş Ras Homoloğu (RHEB), memeli Rapamisin Hedefi (mTOR) sinyal yolunda bulunan 184 amino asitten oluşan 21 kDa büyüklüğünde bir proteindir. RHEB, mTOR aktivasyonu, hücre döngüsü düzenlemesi, apoptozis ve otofaji düzenlemesi gibi bazı moleküler görevlerde yer alır. *RHEB* ilk olarak N-metil D-aspartik asit' e bağımlı sinaptik aktivite ile sıçan beyinde ekspresyonu azalmış bir GTPaz olarak keşfedilmiştir (Long ve ark., 2005). İnsanlarda, RHEB1 7. kromozomda bulunurken, RHEB2 12. kromozomda yer alır. Ayrıca, insan genomunda üç *RHEB* psödogeni vardır: ikisi 10. kromozomda ve biri 22. kromozomda bulunur. Amino asit dizilimleri bakımından RHEB1 ve RHEB2 proteinleri %51 oranında benzerlik göstermekte olup evrim sürecinde oldukça korunmuşlardır (Laplane & Sabatini, 2009). RHEB, Ras'a benzer bir yapıda olup Guanozin Trifosfat (GTP) hidrolizleyebilir. Hücre zar proteini olan RHEB, mTOR sinyal yolağını kullanarak hücrelerin büyüme ve metabolizma döngüsünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. *In vitro* hücre hatları ve *in vivo* fare ksenograft modellerinde yapılan çalışmalarda, onkogen uyarılma veya tümör baskılayıcıların işlev görmemesinin, mTOR yolunun anormal aktivasyonuna, tümör büyümesine, anjiyogenez ve metastaza etki ettiği görülmüştür (Populo ve ark., 2012).

GTP, Guanozin Difosfat (GDP)'a dönüşerek RHEB proteinini etkisizleştirir. Yapılan çalışmalarda Tüberöz Skleroz Kompleksinin (TSC), farklı kanser tiplerini etkilediğini göstermiştir. Böbrek kanseri ve diğer kanser türleri için TSC-RHEB-mTOR bağlantısı son zamanlarda önem kazanmıştır. RHEB/mTORC1 sinyali böbrek fibroblastları ve interstisyel fibroz gelişimine katkıda bulunmakta olup ilerleyen böbrek hastalığının tedavisi için terapötik bir hedef haline gelmektedir. Birçok ürolojik kanser hastalarında tümör nüksü veya metastazı oluşmakta ve etkili bir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Böbrek kanseri hücrel büyüme ve bölünme süreçlerini etkilerken RHEB proteinini ise bu süreçleri düzenleyen bir protein olması ile önem kazanmıştır. Kanser tedavisinde yeni hedeflerin belirlenmesi için, RHEB proteininin işlevinin araştırılması ve anlaşılması önemlidir. Kanser tedavisinde RHEB proteinin inhibe edilmesi potansiyel bir tedavi yöntemi olabilir. Böbrek kanserinde metastaz önemli bir sorundur ve bunun için *RHEB*' in metastaz süreçlerindeki rolünün anlaşılması, bu yayılma mekanizmalarını hedefleyen tedavilere yol gösterebilir. Daha etkili ve hedefe yönelik tedaviler böbrek kanseri için yeni ilaçların geliştirilmesine katkıda bulunabilir. Çalışmadaki amacımız böbrek kanserli hastaların tümörlü doku örneklerinde, *RHEB* geninin ifade düzeyindeki değişiklikleri değerlendirmektir. Çalışmada normal ve tümörlü dokular arasında, *RHEB* geninin ifade düzeyindeki değişimler kıyaslanarak *RHEB* geninin böbrek kanseri oluşumundaki rolü araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BÖBREK ANATOMİSİ VE FİZYOLOJİSİ

Böbrekler, karın boşluğunun arka kısmında yer alır ve periton zarı ile çevrili değildir. Böbreğin üst uçları göğüs omurgası üst seviyesine, alt uçları ise bel omurgası alt seviyesine kadar uzanmaktadır. Her bir böbreğin uzunluğu yaklaşık olarak 11,5 cm, genişliği 5-7 cm ve kalınlığı 2,5 cm, ağırlığı ise erkeklerde 125-170 gr, kadınlarda 115-155 gr arasında değişmektedir (Elibol, 2010). Böbrekleri içten dışa doğru çevreleyen yapılar bulunmaktadır. Bunlar; en içte ince bir fibröz kapsül, adipoz kapsülün dışında oldukça kalın adipoz (yağ) dokusu bulunmaktadır. Bu yağ dokusu, bilgisayarlı tomografi (BT) görüntüsünde daha soluk görünmektedir (Sampaio ve ark., 2000). Renal fasya, böbreküstü bezini de içine alan, anterior ve posterior olmak üzere iki bölümden oluşmakta olup bilgisayarlı tomografide daha yoğun çizgi şeklinde görülmektedir (Kılıçarslan, 2015). Şekil 2.1.'de böbreğin yapısı gösterilmiştir. Vücudumuzun en önemli organlarından biri olan böbrekler, vücudun ihtiyacı olmayan metabolik ürünleri, ilaçları ve yabancı maddeleri idrar yoluyla uzaklaştırmak, vücut sıvılarının osmolaritesini korumak ve elektrolit konsantrasyonunu düzenlemek gibi birçok hayati görevi yerine getirmektedirler (Balzer ve ark., 2022). Bunun yanı sıra böbreklerin, asit salgılanmasını kontrol ederek vücut sıvılarının tampon stoklarını düzenlemek, su ve sodyum atılımıyla uzun süreli arter kan basıncını düzenlemek, kısa süreli arter kan basıncının düzenlenmesi için anjiotensin II gibi damar etkinleştirici faktörlerin yapımına neden olan renin' i salgılamak, uzun süreli açlık durumlarında glikoneojenezle glikoz sentezi yapmak, eritropoetin salgılayarak eritrosit üretimini teşvik etmek gibi, önemli görevleri bulunmaktadır (Yılmaz, 2013).



Şekil 2.1. Böbreğin Anatomik Yapısı (Land & Tee, 2007).

2. 2. BÖBREK KANSERİ

Kanser, dünya genelinde ve ülkemizde önemli bir toplumsal sağlık sorunu olarak kendini göstermektedir. Ölümle sonuçlanma açısından ilk sırada yer alan kardiyovasküler hastalıkları, ikinci sırada böbrek kanseri takip etmektedir. Böbrek kanserinin her geçen gün prevalansı arttığı için ilerleyen yıllarda birinci sıraya yerleşmesi beklenmektedir (Kavala & Yıldırım, 2023). Böbrek kanseri, böbreğin parankim ve pelvis bölgelerinden kaynaklanan, kötü huylu tümörlerin genel adıdır. Bu tümörler, tüm kanserlerin yaklaşık %2-3'ünü oluşturan ve adeno karsinom histolojisi gösteren RHK türüdür. RHK, erkeklerde kadınlara oranla daha fazla görülmekte olup son 20 yılda yıllık insidansında %2'lik bir artış tespit edilmiştir (Üyetürk ve ark., 2014). Erken belirti göstermeyen böbrek kanserinin başka hastalıklarla birlikte ortaya çıkan belirtilerinin değişkenliği nedeniyle teşhisi zordur (Balzer ve ark., 2022). Küçük kitleler genellikle semptomlara neden olmamaktadır (Bahadoram ve ark., 2022). Erken evrelerde saptanması hastalığın farklı bir seyir göstermesi açısından önemlidir (Kavala & Yıldırım, 2023).

2.3. EPİDEMİYOLOJİ

RHK, erişkin dönemde, böbrekteki kitlesel lezyonların % 90'ını oluştururken, tüm organ tümörlerinin %2-3'ünü meydana getirmektedir (Sampaio ve ark., 2000). RHK genellikle 60 ile 70 yaş aralığında görülmektedir (Bahadoram ve ark., 2022). Gelişmiş ülkeler içinde en sık görüldüğü ülke Çek Cumhuriyeti'dir ve burada yılda 10-20/100.000 yeni vaka bildirilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde en sık görüldüğü bölge ise Latin Amerika ülkeleri, özellikle Uruguay olarak belirtilmiştir (Yılmaz, 2013). Türkiye'de kanser istatistikleri, dünyanın geliştirmekte olan ülkeleriyle benzerlik göstermektedir. 2020 yılı Türkiye böbrek kanseri istatistikleri, yaklaşık 5.125 yeni vakanın tespit edildiğini göstermektedir. Aynı yıl boyunca, böbrek kanseri nedeniyle 1.965 kişi hayatını kaybetmiş ve beş yıllık prevalans oranına göre, bu hastalıkla mücadele eden kişi sayısı 14.172 olarak raporlanmıştır (Özdoğan, 2023).

2.4. ETİYOLOJİK FAKTÖRLER

Böbrek kanseri oluşumuna etki eden çeşitli faktörler bulunmaktadır. En iyi tanımlanmış risk faktörü sigaradır. Sigara tüketimi ile ilişkili durumlar ve oksijen yetersizliği, hücrel yolakların aktivasyonuna neden olmakta ve RHK'nın oluşmasına katkı sağlamaktadır. Sigara kullanma geçmişi olan kişilerin patolojik nitelikleri ve yaşam süreleri, sigara kullanma geçmişi olmayan kişilere göre daha olumsuz sonuçlar ortaya çıkarabilir. Sigara kullanma miktarı ile hastalığın evresi arasında doğru orantılı bir ilişki bulunmaktadır (Üyetürk ve ark., 2014). Böbrek kanserinin belirleyici bir risk faktörü ise obezitedir. Vücut kitle indeksi yüksek olan bireylerde vücuttaki yağ miktarının artması sonucu; insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve östrojen seviyelerinde artış meydana gelmektedir. Bu durum, diyabet ve hipertansiyon riskini artırabilir veya glomerüler filtrasyon hızı ve böbrek plazma akışının artmasına neden olabilir (Stone ve ark., 2007). Obeziteyi önlemek için fiziksel aktivitenin düzenli olarak yapılması, böbrek kanseri riskini azaltabilir (Elibol, 2010). Hipertansiyon, böbrek kanseri gelişimini hızlandırdığı için ölüm oranını artırmaktadır (Kılıçarslan, 2015). Mesleği gereği asbest, polisiklik aromatik hidrokarbonlar, organik çözücüler ve petrol ürünlerine maruz kalan kişilerde böbrek kanseri riski artmaktadır (Kuş, 2008). Ağrı kesicilerin böbrek kanseriyle ilişkisi belirsizdir. Fenasetin içeren ilaçların renal pelviste ürotelyal kanserlere yol açabileceği düşünülse de bu ilaçların böbrek parankim kanserleriyle bağlantısı zayıftır. Diüretik kullanan kadınların böbrek kanseri riski 5 kat artmaktadır (Kılıçarslan, 2015). Tedavi amaçlı iyonizan radyasyon alan hastalarda, kronik böbrek yetmezliği olan ve hemodiyaliz uygulanan kişilerde böbrek kanseri riski artmaktadır. Böbrek nakli olan hastalarda, erken tanı için düzenli ultrasonografi takibi önerilmektedir. Bu faktörlerin her biri, böbrek kanseri riskini etkileyebilir ve bu nedenle önemlidir (Elibol, 2010).

2.5. BÖBREK KANSERİNDE ROL OYNAYAN GENLER VE GENETİK DEĞİŞİMLER

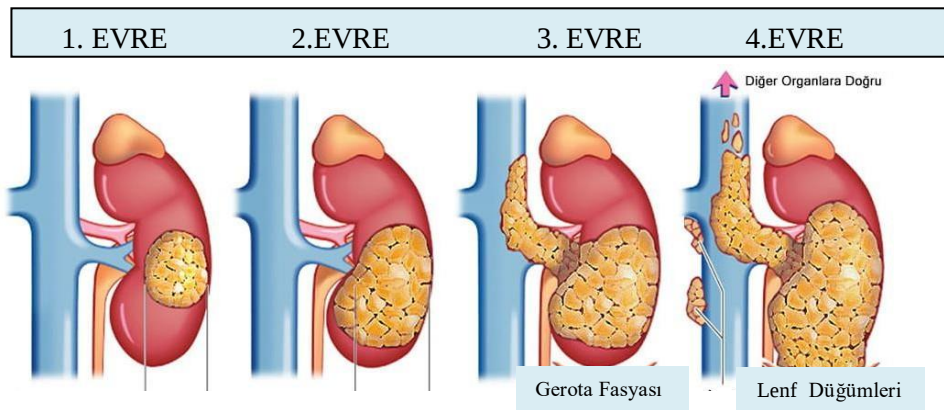
Böbrek kanseri, genetik ve epigenetik değişikliklerle tanımlanan bir kanser türüdür (Bahadoram ve ark., 2022). Böbrek kanseri riskinde genetik polimorfizm önemli bir etkidir. Özellikle VHL, Edinsel Kistik Hastalık, Tuberöz Skleroz, Birt-Hogg-Dube Sendromu, Nöroblastom ve Herediter Leiomyomatozis gibi genetik hastalıklar böbrek kanseri riskini artırabilir. Bu hastalıklar, çeşitli kromozomal anormallikler ve mutasyonlarla ilişkilendirilmiş olup, tümörlerin büyüklüğünde, sayısında ve metastaz yapma eğiliminde farklılıklar gösterirler (Elibol, 2010). Böbrek kanseri ile ilgili yapılan bazı araştırmalar, histon-likin N-metiltransferaz 2 (*SETD2*), histon lizin demetilaz 5C (*KDM5C*) ve histon lizin demetilaz 6A (*KDM6A*) gibi histon modifikasyon genlerinin, tümör oluşumunu etkileyebileceğini göstermektedir. Ayrıca, *VHL*, Tuberöz skleroz kompleksi 1 (*TSC1*), Tuberöz skleroz kompleksi 2 (*TSC2*), Fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfat 3-fosfataz (*PTEN*), Hepatosit büyüme faktörü reseptörü (*c-MET*), *FH*, Follikülin (*FLCN*), Hiperparatiroidizm-jaw tümör sendromu 2 (*HRPT 2*), Susinat dehidrojenaz (*SDH*), Transkripsiyon faktörü E3 (*TFE3*) ve Transkripsiyon faktörü EB (*TFEB*) gibi genlerde görülen mutasyonlar, böbrek kanseri riski ile ilişkilidir (Basso ve ark., 2005). Bu genler, besin, oksijen ve demir yoksunluğu durumunda metabolik cevabın ve enerjinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar (Yıldırım, 2016).

2.6. BÖBREK KANSERİNDE TANI

RHK tanısı, evrenmesi ve izlemi için radyolojik görüntüleme teknikleri, önemli bir rol oynamaktadır. Bilgisayarlı Tomografi, böbrek kitlelerinin daha iyi görüntülenmesini sağlar. Tek bir kontrast madde enjeksiyonu sonrasında farklı fazlarda incelemeler yapılabilir. Böbreklerin kontrastsız BT ile taranması, böbrek lezyonlarının kontrast tutulumunu değerlendirmek için kolaylık sağlamaktadır. RHK, yoğun damarlaşmaya sahip olup belirgin kontrast tutulumu göstermektedir. Kitle ile normal böbrek parankim sınırının net olarak seçilememesi, kötü huylu tümörü destekleyen önemli bir belirtidir (Kılıçarslan, 2015). Radyolojik olarak kesin tanı konamayan kitlelerde, ablasyon tedavisi veya farmakolojik tedavi planlanan hastalarda histolojik tanı koymak amacıyla böbrek biyopsisi yapılmaktadır ancak, bazı hastalarda tanı için yeterli bilgi vermeyen biyopsiler söz konusu olabilir. Bu hastalarda biyopsinin tekrarlanması düşünülmelidir (Üyetürk ve ark., 2014). Nefrektomi, böbrek tümörlerinin tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Ancak, küçük lezyonlar varsa, böbrek hastalığı farklı tedavi yöntemleri gerektirebilir. Nefron koruyucu cerrahi, tümörün çıkarılmasını ve normal böbrek dokusunun korunmasını amaçlamaktadır. Ancak, laparoskopik parsiyel nefrektomi (LPN) daha fazla komplikasyon riski taşır. Bu nedenle, genellikle açık parsiyel nefrektomi tercih edilmektedir ve laparoskopik yöntem daha risksiz vakalarda kullanılmaktadır (Bahadoram ve ark., 2022).

2.7. BÖBREK TÜMÖR EVRESİ

Tümör, Nod, Metastaz (TNM) sınıflandırması, dünya genelindeki merkezlerin klinik, patolojik verilerinin karşılaştırılmasını sağlayan ve kanserlerin evrelemesi için kullanılan bir yöntem olarak kabul görmüştür (Kılıçarslan, 2015). Bu evreleme, kanserlerin büyüme ve yayılma eğilimlerini anlamak için kullanılmaktadır. Sınıflandırma, tümörün boyutunu (T), lenf nodlarına yayılıp yayılmadığını (N) ve vücudun diğer kısımlarına yayılıp yayılmadığını (M) belirler. Şekil 2.2'deki her aşama, “1. EVRE,” “2. EVRE,” “3. EVRE” ve “4. EVRE” olarak etiketlenmiştir. İlk aşama, böbrek içinde sınırlı bir tümörü gösterirken, ikinci aşama böbrek içinde daha büyük bir tümörü göstermektedir. Üçüncü aşama, böbrek dışına doğru yayılan daha büyük bir tümörü ve “Gerota Fasyası” olarak etiketlenen yakındaki dokuları göstermektedir. Dördüncü aşama ise oklarla işaretlenmiş diğer organlara yayılan tümörü ve “Lenf Düğümleri” olarak adlandırılan lenf bezlerini göstermektedir (Anonim, 2018). T, N ve M sınıflandırmaları, kanserin yayılma durumunu belirtir. Bu bilgiler, tümörün tipini, tedavi yöntemini belirler ve hastalığın seyrini tahmin etmeye yardımcı olmaktadır. Ayrıca, benzer hasta grupları ve tedavi yöntemlerinin karşılaştırılmasını sağlamaktadır (Özkan ve ark., 2012).



Şekil 2.2. Böbrek Kanseri Evreleme

(Anonim. (2018). Kidney cancer. 29 Mayıs 2024, <https://patients.uroweb.org/>)

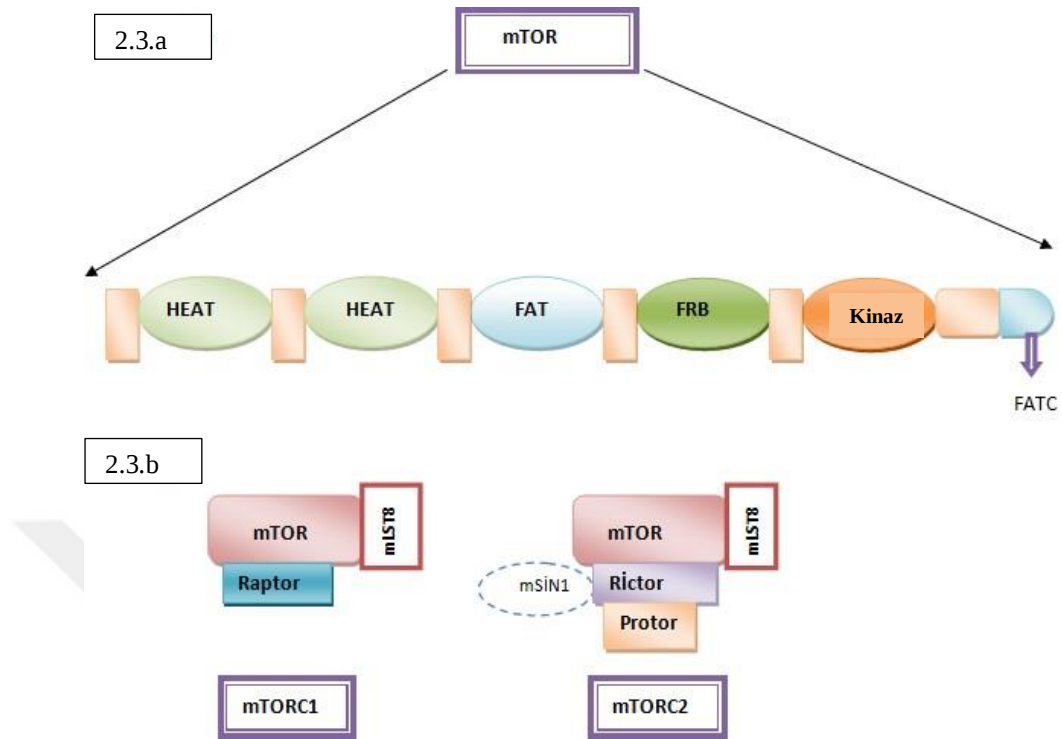
2.8. BÖBREK KANSERİNDE TEDAVİ

Böbrek kanserinin tedavisinde immünoterapi, radyoterapi, kemoterapi, cerrahi tedavi ve hedefe yönelik tedaviler gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Tedavi yöntemi seçilirken, hastanın genel sağlık durumu, kanserin evresi ve diğer birçok faktör göz önünde bulundurulur. Bu nedenle, her hasta için en uygun tedavi planının belirlenmesi, multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir. Tedavi seçenekleri, hastanın yaşam kalitesini artırmayı ve kanserin ilerlemesini yavaşlatmayı hedeflemektedir (Kavala & Yıldırım, 2023). Büyük tümörlerde genellikle radikal nefrektomi tercih edilirken, erken evre tümörlerde nefron koruyucu cerrahi teknikler kullanılır. Metastatik böbrek kanserlerinde başarılı sonuçlar elde etmek için, hedefe yönelik tedaviler birinci veya ikinci tedavi seçeneği olarak kullanılabilir. Bu tedaviler, Vasküler Endotelial Büyüme Faktörünü (VEGF) nötralize eden antikorları, Tirozin kinaz inhibitörü (TKI), mTOR içerir ve genellikle iyi tolere edilmektedir (Kavala & Yıldırım, 2023). Berrak hücreli RHK, immünoterapiye yanıt veren tek RHK tipidir. İnterferon alfa (IFN- α) ve İnterlökin 2 (IL-2), en tanınmış immünoterapötik ajanlardır. Radyoterapi, beyin ve kemik metastazları olan hastaların semptomatik tedavisi için kullanılır. Metastatik RHK (MRHK) tedavisinde kemoterapi ilaçlarının etkisi oldukça azdır. Tedavilerde kullanılan vinblastin genellikle % 3 oranında etkinlik göstermektedir (Elibol, 2010).

2.9. MEMELİ RAPAMİSİN HEDEFİ (mTOR)

Kanser, genlerdeki değişiklikler sonucu ortaya çıkar ve 250'den fazla genin etkisiyle oluşur. Bu genler, hücre yaşam döngüsünü düzenleyen yolaklarda aktif rol oynarlar. Kanser hücrelerinde, bu yolakların aktivitesi genellikle artar veya azalır, bu da kontrolsüz hücre bölünmesi ve doku yapısının değişmesine yol açar. Kanser yolağı, genellikle bir insan kanserinin gelişimi için genetik veya epigenetik bir mutasyonla aktivasyon veya inaktivasyon gerektiren bir hücre düzenleyici sistemdir (Pazarbaşı ve ark., 2011). Bu yolaklardan biri mTOR sinyal yolağıdır. mTOR, hücre zarında bulunan ve 2549 aminoasit ile 7 korunmuş yapısal bölgeden oluşan karmaşık bir protein olarak tanımlanabilir. Bu proteinin yapısı, mayalardan memelilere kadar geniş bir yelpazede korunmuştur (Tıgılı H., 2009). mTOR, katabolik ve anabolik metabolizma süreçlerinde merkezi rol oynayan bir kinazdır (Küçüköner & Işıkdogan, 2013). mTOR, amino asitler gibi besinlere, insülin ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 (IGF-1) gibi büyüme faktörlerine ve ATP gibi hücresel enerjiye yanıt olarak hücresel büyümeyi düzenlemektedir. Hücre büyümesinin, hücre sayısındaki bir artış yerine hücre boyutundaki bir artışı temsil ettiğini belirtmek önemlidir (Hall, 2008).

mTOR aktivasyonu, hücre içi ve hücre dışı sinyalleri birleştirerek büyüme, çoğalma ve hücre metabolizmasının düzenlenmesinde ve hayatta kalma gibi merkezi fonksiyonlarda görev almaktadır. Bu yolak, kanser hücrelerinin proliferasyonu, sağkalımı, kemoterapiye direnci ve anjiyogenez süreçleri ile ilişkili olup, kanser tedavisi için alternatif bir moleküler hedef olarak görülmektedir (Özcan & Dikmen, 2015). Şekil 2.3' de hücresel büyüme düzenlemesinde rol oynayan bu önemli sinyal yollarının bileşenleri gösterilmektedir.



Şekil 2.3. mTOR Protein Yapısı ve İlişkili Kompleksler (Tıǧlı H., 2009)

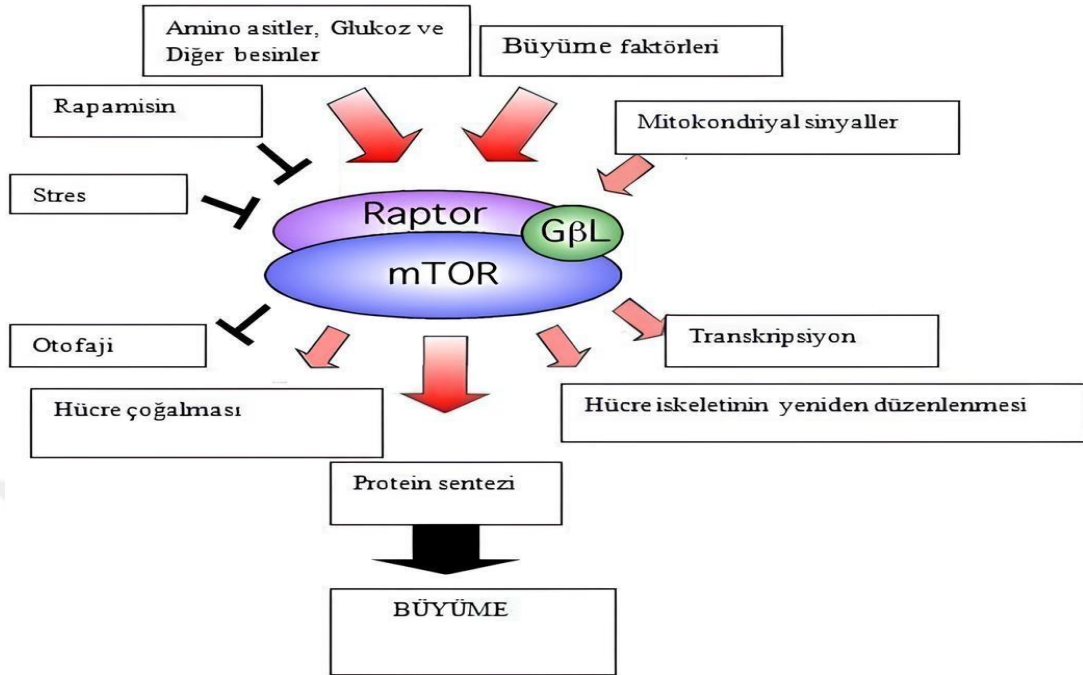
HEAT: Huntingtin, Uzama faktörü 3, protein fosfataz 2A ve TOR1; FAT: FRAP, ATM ve TRRAP; FRB: FKBP12-Rapamisin Bağlanma; FATC: FAT C-terminal; mTOR: Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi; mLST8: Memeli SEC13 Proteinini ile Ölümcül 8

Şekil 2.3.a’ da mTOR proteininin farklı bölümleri gösterilmektedir. Bunlar arasında Huntingtin, Elongasyon faktörü 3, protein fosfataz 2A ve TOR1 (HEAT), FRAP, ATM, TRRAP (FAT), FKBP12–rapamisin bağlayıcı bölge (FRB) ve Kinaz bölgeleri bulunur. Bu bölgeler, proteinin farklı işlevlerini yerine getirir. Şekil 2.3.b’ de, mTOR’un iki farklı kompleksi gösterilmektedir. mTOR Kompleks 1 (mTORC1), mTOR ve Raptor proteinlerinden oluşurken; mTOR Kompleks 2 (mTORC2), mTOR, Rictor ve muhtemelen mSIN1 proteinlerinden oluşur. Her iki kompleks de hücrenin besin ve enerji durumuna yanıt olarak protein sentezini ve hücre büyümesini düzenler (Tıǧlı H., 2009).

mTOR, mTORC1 ve mTORC2 olarak adlandırılan iki farklı kompleksten oluşur. mTORC1, Raptor ve Lst8/GβL adlı iki protein içermektedir (Tıǧlı H., 2009). mTORC1, protein ve lipid sentezi, hücresel büyüme ve çoǧalma, erken hücresel yaşlanma ve otofaji ile ilgilidir (Sarıkaya ve ark., 2023). Bu kompleks, rapamisin adlı bir antifungal ilacın hedefi olup, ilaçla etkisiz hale getirilebilir. Raptor proteinine bağlanan rapamisin, mTOR'un etkisizleşmesini sağlamaktadır. Raptor, substratlara bağlanabilen 150 kDa büyüklüğünde bir proteindir ancak, mTORC2'de raptor özelliği yoktur. Genellikle literatürde mTOR olarak geçen, mTORC1'dir. mTORC2 kompleksi, aktin hücre iskeletinin düzenlenmesinden sorumludur ve Rictor ve Lst8/GβL adlı iki protein içermektedir. Bu kompleks, hücre iskeletinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Tıǧlı H., 2009).

2.9.1. mTOR Sinyal Yolağı

Memelilerde, çevresel faktörlerin varlığına ve yoğunluğuna bağlı olarak büyüme ve gelişme süreçlerini mTOR sinyal yolağı düzenlemektedir. Şekil 2.4'de mTOR kompleksinin, protein oluşumu ve hücre büyümesinin ayarlanması için çeşitli ekstrasellüler ve intrasellüler sinyalleri birleştiren kritik bir merkez olarak görev yaptığı gösterilmiştir (Tıǧlı H., 2009). Bu faktörler arasında IGF, Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), VEGF, Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF) gibi çeşitli büyüme faktörleri amino asitler, kolesterol, glukoz, demir seviyeleri, stres, hipoksi, DNA hasarı, ısı şoku, ozmotik stres, oksidatif stres ve mitojenler bulunmaktadır (Rosner ve ark., 2008). Kanserde mTOR sinyal yolunun aktive olması, üç farklı mekanizma ile gerçekleşir: Birinci mekanizma, mTOR genindeki mutasyonlar sonucu yapısal olarak aşırı aktif olan mTOR sinyal yoluna neden olur; İkinci mekanizma, mTORC1 ve mTORC2' de meydana gelen mutasyonlar, mTOR sinyal yolunun aktivasyonunu tetikler ve üçüncü mekanizmada ise, genellikle akışın yukarı gerçekleştiği genlerdeki mutasyonlardan anormal mTOR sinyalleme gerçekleşir. Gerçekleşen mutasyonlar, baskılayıcı genlerdeki işlev kaybı mutasyonları ve onkogenlerdeki işlev kazanımı mutasyonları şeklinde olabilir (Dancey, 2010).

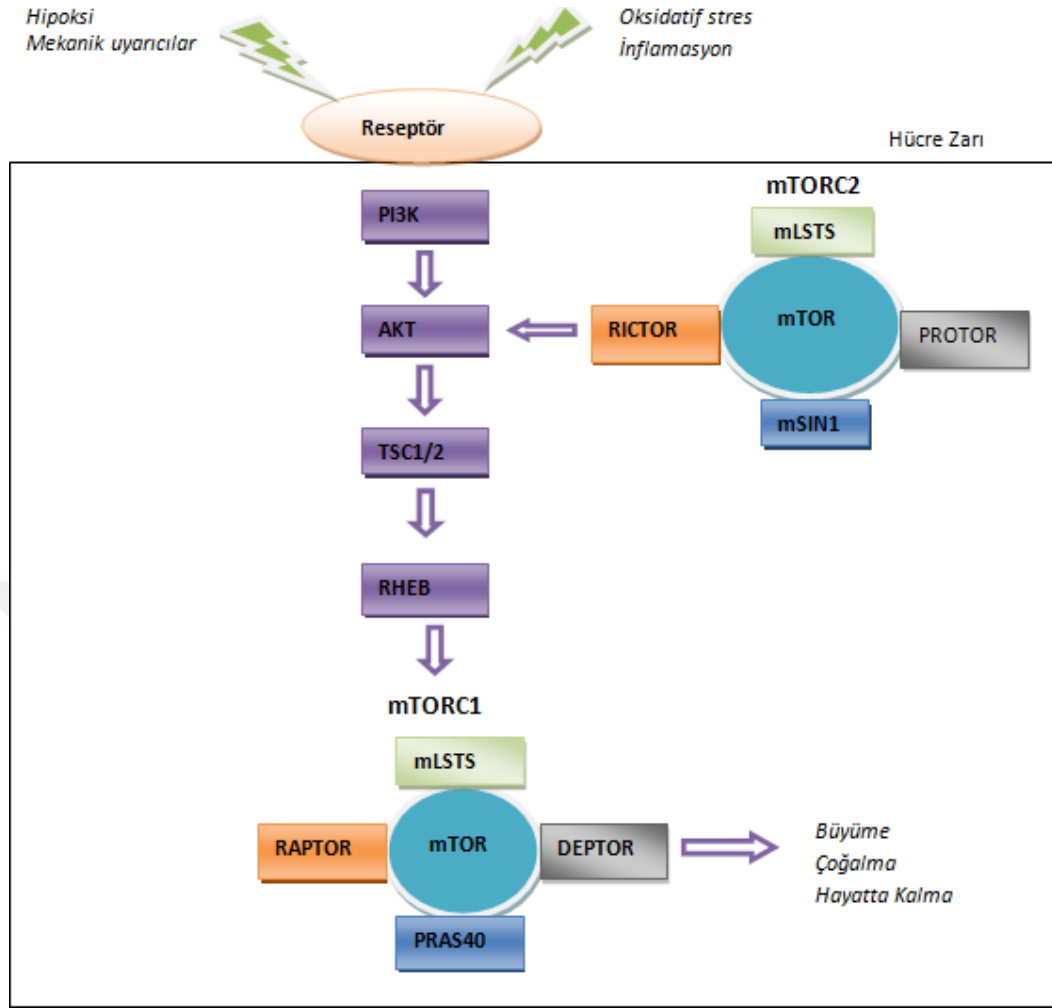


Şekil 2.4. Büyüme Etmeni ile Tetiklenen mTOR Sinyal Yolağı (Tıǧlı H., 2009)

Normal hücrelerde, mTOR sinyal yolağı, büyüme faktörlerinden gelen sinyaller veya glukoz ve amino asit seviyeleri ile düzenlenmektedir. Bir büyüme faktörü tarafından sinyal yolağı uyarı aldığında, Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) aktive olur. Tetiklenen PI3K, Protein Kinaz B (PKB)'nin aktive olmasına ve PKB'nin *RHEB*'in inhibitörü olan TSC1/TSC2'yi fosforillemesine neden olur. Bu, TSC1/TSC2'nin inaktive olmasına ve *RHEB*'in RHEB-GDP formdan RHEB-GTP formuna dönüşmesini sağlar (Laplane & Sabatini, 2009). Böylelikle mTOR aktive olur. Aktif mTOR, S6 kinazı ve 4E-Bağlayıcı Protein (4EBP)'i fosforillendirir, bunun sonucunda S6 kinaz aktive olur ve 5' Terminal Oligopyrimidine Tract (5'TOP) mRNA'ların transkriptini uyararak ribozom biyogenezini artırır.

Çevirimsel inhibisyon, ökaryotik çeviri başlatma faktörü 4E(eIF4E) 'nin aktive edilmesi için Ökaryotik çeviri başlatma faktörü 4E bağlayıcı proteini 1 (4E-BP1)'in fosforillenmesi ve inhibisyonunu gerektiren aşamadır. Ökaryotik başlatma faktörü eIF4E, 4E-BP1'i inhibe ederek, 4E'nin serbest kalmasını sağlar. Aktif 4E, ribozomal proteinlerin çevirisini uyarmak ve artırmak için harekete geçer (Kim ve ark., 2017).

mTOR sinyal yolunun aktivasyonu, çeşitli proteinlerin sentezinde artışa neden olmaktadır. mTOR' un aktivasyonu, hücre döngüsü düzenleyicisi Siklin D1'i, anjiyogeneze yol açan Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-1 Alfa (HIF-1 α) ve Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-2 Alfa (HIF-2 α), hücrelerin hayatta kalmasında rol oynayan P21 ve survivin ve hücre içine besin alımı ve taşıma işlemlerinde rol oynayan Glukoz Taşıyıcı 1 (GLUT1) ve T hücrelerinin aktivasyonu için bağlayıcı (LAT) proteinlerinin sentezini artırır. Bu yolu inaktive eden proteinler TSC1(Hamartin), TSC2 (Tuberin) ve fosfataz ve tensin homolog (pTEN)'dur. TSC1 ve TSC2, *RHEB*'in mTOR'u aktive etmesini *RHEB*'in RHEB-GDP formunda kalmasını sağlayarak engeller. pTEN ise fosfataz aktivitesi ile bu mekanizmayı sağlamaktadır. Şekil 2.5'de gösterilen diyagram, hücresel işlevlerle ilgili bir biyolojik yolağı temsil etmektedir (Tıǧlı H., 2009).



Şekil 2.5. mTOR Sinyal Yolağı (Tıgılı H. , 2009)

PI3K: Fosfatidilinositol 3-kinaz, AKT: Protein Kinaz B, TSC1/2: Tübero Skleroz Kompleksi 1/2,

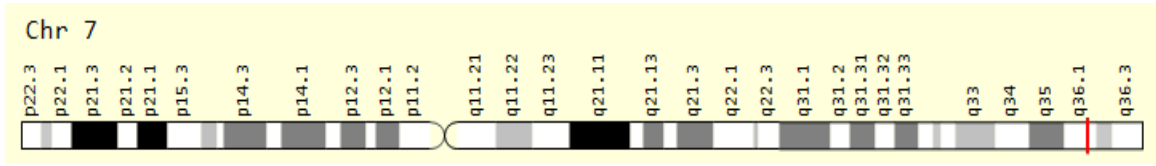
RHEB: Beyinde Zenginleştirilmiş Ras Homoloğu, mLSTs: Memeli Lethal with Sec Thirteen 8

PRAS40: Prolin-Rik Protein Kinaz Substratı 40, mSIN1: Memeli Stresle İlişkili Protein Kinaz Etkileşimcisi 1

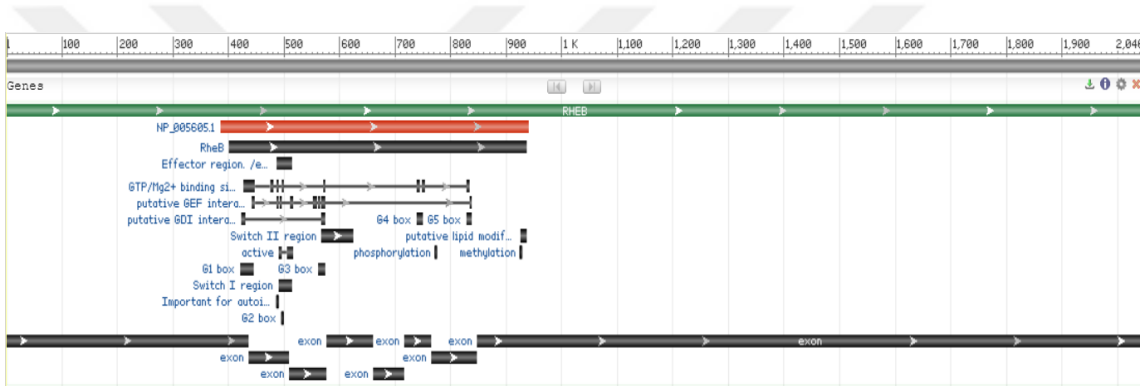
2.9.2. *RHEB*

1994 yılında Yamagata ve arkadaşları tarafından keşfedilen *RHEB* geni, nöbetler ve NMDA-bağımlı sinaptik aktivite sonucunda hızla indüklenen bir transkript olarak ortaya çıkarılmıştır. *RHEB*, Ras süper ailesine ait küçük G-proteinlerini kodlar ve Ras proteinleri gibi, *RHEB* de GTP ve GDP bağlı formlar arasında geçiş yapar. GTP bağlı formu aktifken, GDP bağlı formu inaktiftir. *RHEB*, Ras proteinleriyle %30-40 oranında dizi benzerliği paylaşır, bu da onların benzer işlevlere sahip olduklarını göstermektedir (Buerger ve ark., 2006). *RHEB* proteinleri mayadan memelilere kadar geniş bir yelpazede bulunur ancak prokaryotlarda bulunmaz. Bu proteinlerin GTP'ye bağlanma ve hidroliz yetenekleri, biyokimyasal analizlerle belirlenmiştir (Parmar & Tamanoi, 2010). *RHEB* ve Ras proteinleri arasında yapısal farklılıklar bulunmaktadır ve bu farklılıklar, iki proteinin biyokimyasal aktivitelerini belirleyen amino asit kalıntıları da görülebilir. *RHEB*'in hücre büyümesi ve hücre döngüsü ilerlemesi üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır (Aspuria & Tamanoi, 2004).

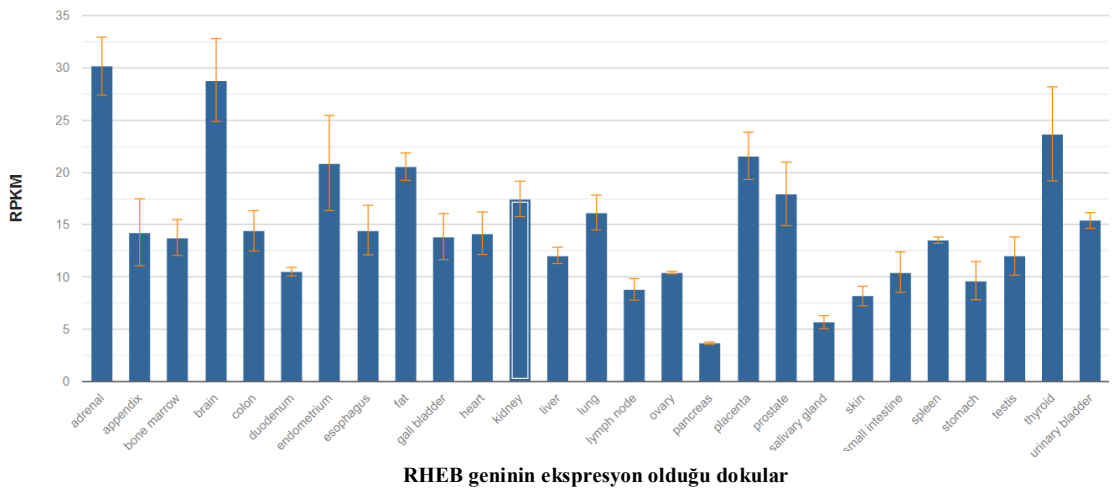
RHEB geni genomik lokasyonda "7q36'da" bulunur ve 8 ekzondan oluşur (Şekil 2.6). *RHEB* proteini, 20-30 kDa büyüklüğünde olup, *RHEB*'in mRNA uzunluğu 1376 nükleotidden oluşur. *RHEB* proteini ise 184 amino asit içerir (Tıgılı H., 2009). *RHEB* proteininin yapısı, RAS ile ilişkili GTP bağlanma bölgesinin beş tekrarını içerir ve bu protein lipid ile bağlı bir hücre zarı proteinidir. *RHEB*, "Güanozin-5'-trifosfat'a" ve "Güanozindifosfat'a" bağlanabilir ve bu iki form arasında geçiş yaparken konformasyonel değişikliklere uğrayabilir. Bu konformasyonel değişiklikler, I ve II olarak adlandırılan "geçiş" bölgelerinde gerçekleşmektedir. Bu genin bir psödogeni kromozom "10'da", diğer psödogeni ise kromozom "22'de" yer almaktadır (Tuncer & Kozacı, 2022). *RHEB* Geninin mRNA Diziliminin Gösterimi (Şekil 2.7) ve *RHEB* Gen Ekspresyon Paterni (Şekil 2.8) gösterilmiştir.



Şekil 2.6. Genomik Lokasyonda *RHEB* Geni (<https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RHEB&keywords=RHEB>)



Şekil 2.7. *RHEB* Geninin mRNA Diziliminin Gösterimi (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_005614.4?report=graph)

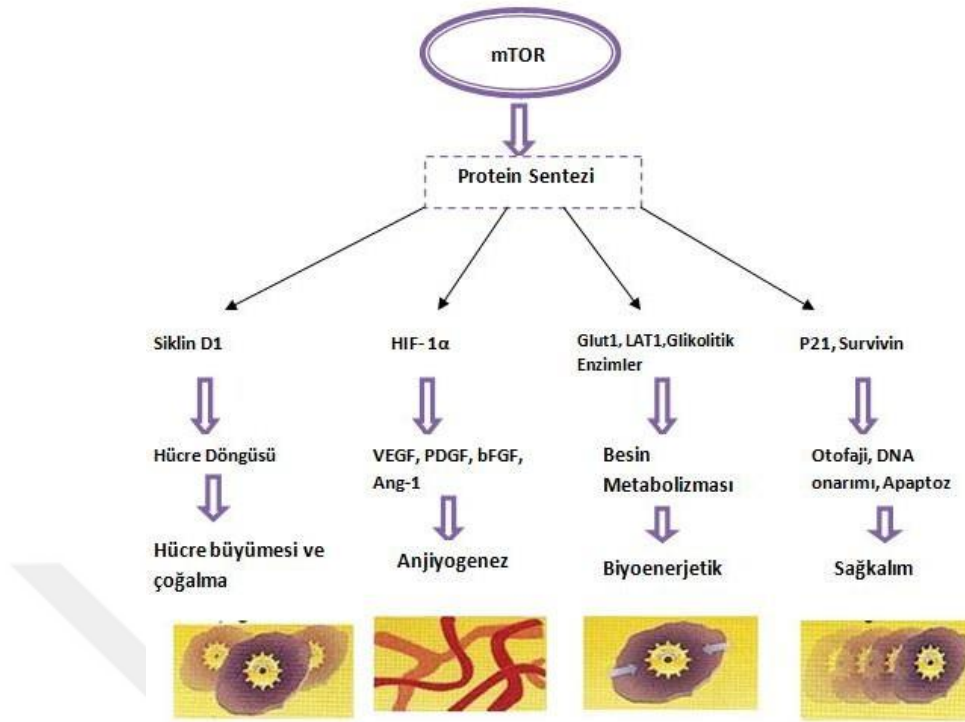


RHEB geninin ekspresyon olduğu dokular

Şekil 2.8. *RHEB* Gen Ekspresyon Paterni (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6009>)
RPKM: Kilobaz Milyon Başına Okuma

2.9.3. *RHEB*' in mTOR Sinyal Yolağındaki Rolü ve Kanser ile İlişkisi

RHEB, mTOR sinyal yolunu aktive ederek hücrelerin çoğalması, büyümesi ve yaşamasını sürdürmesi üzerinde etkili olan bir moleküldür (Parmar & Tamanoi, 2010). PI3K, besin ve büyüme faktörlerini algıladığında aktive olan bir serin/treonin kinazdır ve mTOR ile birlikte çalışır (Bjornsti & Houghton, 2004). Aktif hale gelen mTOR, p70S6K1 ve 4EBP'nin fosforillenmesini başlatarak protein sentezini tetikler. Fosforillenen 4EBP, eIF4E'yi aktive eder ve bu da protein sentezini uyarır (Hay & Sonenberg, 2004). mTOR sinyal yolunun aşırı aktif hale gelmesi, yeni tümör hücrelerinin oluşumunu ve bu hücrelerin hayatta kalmasını kolaylaştırır. Bu süreçte, tümör hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olan proteinlerin sentezi gerçekleştirilir. HIF-1 α proteininin sentezi arttığında, VEGF, PDGF, FGF, Ang-1 faktörleri aktive olur ve anjiyogenez artar, bu da kanser hücrelerinin beslenmesini sağlamaktadır (Powis ve Kirkpatrick 2004; Vaupel 2004). Şekil 2.7' de, mTOR sinyal yolunu ve hücresel süreçler üzerindeki çeşitli etkilerini göstermektedir. mTOR, hücre büyümesi ve çoğalma, protein sentezi ve hücrenin oksijen seviyelerine yanıt verme yeteneği gibi önemli hücresel işlevleri düzenler.



Şekil 2.7. mTOR'un Hücresel İşlevlerdeki Çok Yönlü Roller (Land & Tee, 2007)

mTOR: Rapamisin Hedefi Memeli; HIF-1α: Hipoksiye Bağlı Faktör 1-alfa

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü; PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

bFGF: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü; Ang-1: Anjiyopietin 1

Glut1, LAT1, Glisemik Enzimler: Glukoz Taşıyıcıları ve Glikoliz Enzimleri

mTOR sinyal yolunun aktif hale gelmesiyle, çok sayıda protein sentezlenebilir. Sentezlenen proteinlerin, büyüme faktörleri, onkoproteinler veya hücre döngüsünü düzenleyen proteinler olması, mTOR'un önemini göstermektedir. Bu protein seviyelerinin artışı, hücre bölünme hızını artırır. Örneğin, sentezlenen proteinin EGF olduğu varsayılırsa, hücre sürekli bir büyüme sinyali ile uyarılır. Ortamda yüksek seviyede büyüme faktörü bulunursa, bu uyarı tekrarlanır ve hücre kontrolsüz bir şekilde büyür ve çoğalır (Powis & Kirkpatrick, 2004). mTOR yolunun düzenli işleyişinin bozulması, örneğin pTEN'in mutasyona uğrayarak tümör baskılayıcı özelliğini kaybetmesi TSC1 veya TSC2'de bir mutasyon oluşması ile *RHEB*'in aşırı aktif olması gibi durumlar, karsinogenezin tetiklenmesine neden olabilir (Bai & Jiang, 2009).

İnsanlarda görülen çeşitli kanserlerde PI3K/Akt-mTOR yolundaki bozukluklar gözlemlenmiştir. 2009 yılında yapılan çalışmalar, mTOR sinyal yolunun apoptozu düzenlediğini ve birçok kanser ve hastalıkta önemli olduğunu göstermektedir. *RHEB* geninin aşırı ifade edilmesi, hücre döngüsünde S evresinin uzamasına, G2/M'ye geçişin kolaylaşmasına ve G1 evresinin kısalmasına yol açar, bu da hücre bölünme hızını artırır ve kanser oluşumuna yol açabilir (Tıǧlı H., 2009). Saucedo ve ekibi, RHEB proteininin işlevini bir deney üzerinde incelemişlerdir. Bu deneyde, *Drosophila* larvaları *RHEB* (+) (Transgenik olarak *RHEB* geni eklenmiş), *RHEB* (-) (*RHEB* geni eklenmemiş) ve *RHEB* (normal) olmak üzere üç gruba ayırmışlar ve *RHEB* geni eklenen larvalarda, gen eklenmeyenlere kıyasla çeşitli doku tiplerinde hücre büyümesi gözlemlemişlerdir. *RHEB* geni eksik olan larvalarda ise bir süre sonra ölümler meydana geldiği gözlemlenmiştir. Deneyin sonuçlarına göre, RHEB proteininin hücre büyümesinde kritik bir rol oynadığı gözlemlenmiştir (Saucedo ve ark., 2003).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

3.1.1. Çalışma Grubu

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Polikliniği'ne başvurarak RHK tanısı alan ve bu amaçla opere edilen yaşları 39 ile 75 aralığında olan 11 hasta (5 erkek ve 6 kadın) çalışmaya dahil edildi. Katılımcıların izni ve bilgisi dahilinde cerrahi operasyon sırasında rezekte edilen tümör dokuları hasta grubu ve aynı hastaların tümör hücreleri içermeyen dokuları ise kontrol grubu olarak kullanıldı. Dokuları sağlayabilmek için hastalara ek bir işlem yapılmadı. Çalışma için gerekli izin Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 22.12.2022 tarihli toplantısında 22-KAEK-292 proje numarası ile alındı. Bu çalışma Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na 2023/69 proje no ile desteklenmiştir. Çalışmanın tamamı Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapıldı.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- ❖ Gerçek Zamanlı PZR cihazı (Applied Biosystems, İngiltere)
- ❖ Termal Cyclor cihazı (Applied Biosystems, MiniAmp Plus Thermal Cyclor, Singapur)
- ❖ Vorteks (Velp, Scientifica, F20220176, İtalya)
- ❖ Santrifüj (Hettich, Almanya)
- ❖ Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Almanya)
- ❖ Qubit 3.0 Fluormeter (İnvitrogen, Life Technologies, Avusturalya)
- ❖ Otomatik Pipetler (Gilson, Fransa)
- ❖ Buzdolabı (Arçelik, 570465, Türkiye)
- ❖ -20°C Derin Dondurucu (Arçelik, 2052dy, Türkiye)
- ❖ -80°C Derin Dondurucu (Nuaire, Nu9483e, ABD)
- ❖ Homojenizatör (Heildolph Silent Crusher, Almanya)

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler, Kitler ve Kit İçerikleri

- ❖ Etanol (Sigma-Aldrich Katalog No: E7023, ABD)
- ❖ Nükleaz Free Water (Thermo Fisher Scientific)
- ❖ 2-Merkaptoetanol (Biotech, Lot: N6563970, Kanada)
- ❖ RNA İzolasyon Kiti (Thermo Scientific GeneJET RNA Purification Kit, K0731, ABD)
 - Proteinaz K 600 µL
 - Lizis Tamponu 40 mL
 - Wash Buffer 1(konsantre) 40 mL
 - Wash Buffer 2(konsantre) 23 mL
 - Nükleaz-Free Water, 30 mL
 - RNA Saflaştırma Kolonları (Toplama Tüpleri ile birlikte) 50 adet
- ❖ Komplementer DNA (cDNA) sentez kiti (Applied biosystems marka High Capacity cDNA ReverseTranscription Kit, (4368814, Lot:0152470, ABD)
 - 10X Reaksiyon Buffer (RT Buffer)
 - 25X dNTP Karışımı (100mM)
 - 10X Random Primer
 - Reverse Transkriptaz (50U/µl)
 - RNase İnhibitor (100µl)
 - RNase- Free Water

❖ cDNA ölçüm kiti Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kit (Q10212,

Lot:1759394,ABD),

- Working solution (50ml)
- Standart 1 (1 ml)
- Standard 2 (1 ml)

❖ AMPIGENE® qPCR Sybr Green Mix HI-ROX (ENZ-NUC104-1000, Lot:05272212, ABD)

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

RNA eldesinde kullanılan tampon ve çözeltiler:

LYS Solüsyonu: 300 µL Lys

33 µL B-merkaptoetanol

Proteinaz K Solüsyonu: 10 µL Proteinaz K

590 µL TE

Yıkama Tamponu 1: 40 ml Wash Buffer 1 + 10 ml Etanol (% 96)

Yıkama Tamponu 2: 23 ml Wash Buffer 2 + 39 ml Etanol (% 96)

3.2. YÖNTEM

Hastalardan cerrahi operasyon sırasında rezekte edilen tümör dokuları ve aynı hastaların tümör hücresi içermeyen dokuları toplandı ve çalışma zamanına kadar -80°C 'de muhafaza edildi. RNA izolasyon kit protokolü uygulanarak hasta ve kontrol gruplarına ait doku örneklerinden RNA elde edildi. Daha sonra cDNA sentez kiti protokolü kullanılarak bu RNA'lar cDNA'ya çevrildi. qRT-PZR analizi ile *RHEB* geninin ekspresyon değişiklikleri belirlendi.

3.2.1. Dokuların Homojenizasyonu ve Total RNA İzolasyonu

RNA izolasyonu Thermo scientific GeneJET RNA Purification Kit (Thermo, ABD) kullanılarak üretici firmanın protokolüne uygun şekilde yapıldı. İzolasyon işlemi aşağıda belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

- -80°C 'de muhafaza edilen böbrek dokularının, çalışmadan önce çözünmesi sağlandı.
- Tüplerin içerisinde bulunan dokuların üzerine 300 μl Lizis solüsyonu (lisis tamponu+beta-merkaptoetanol) eklendi ve örnekler 10 sn vortekslendi.
- 12.000 rpm'de homojenizatör yardımıyla dokuların parçalanması sağlandı.
- Dokular homojenize olmuş şekilde 1.5 ml'lik ependorf tüpüne alındı.
- Her bir örnek üzerine 600 μl seyreltilmiş Proteinaz K eklendi
- Örnekler 25°C 'de 10 dk inkübe edildi.

- Dokular, 12.000 rpm'de vortekslenerek santrifüj edildi.
- Süpernatant, yeni bir steril 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.
- 600 µl etanol (% 70 'lik) eklendi ve pipetaj yapıldı.
- Örnekler filtreli tüpe alındı ve 700 µl lizat aktarıldı ardından, 12.000 rpm'de 1 dk boyunca santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrası, filtre yeni bir toplama tüpüne alındı. Bu adım, tüm lizat bitene kadar tekrarlandı.
- Tüplere 700 µl Wash buffer 1 eklenerek, 1 dk boyunca 12.000 rpm'de santrifüj edildi ve filtre yeni bir toplama tüpü ile değiştirildi.
- Yeni bir toplama tüpüne yerleştirildikten sonra, üzerine 600 µl Wash buffer 2 eklendi ve 1 dk boyunca 12.000 rpm'de santrifüj edildi ve filtre yeni bir toplama tüpü ile değiştirildi.
- Spin kolonu, yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi ve 1 dk boyunca 12.000 rpm'de santrifüj edildi (kolon temizliğinden emin olmak için yapıldı).
- Spin kolonu, 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi ve üzerine 100 µl RNase-Free water eklenerek 12.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi. Bu işlemler sonucunda elde edilen RNA'lar, ölçüm yapılana kadar -80 °C'de saklandı.

3.2.2. cDNA Sentezi

İzole edilen RNA örneklerinin cDNA'ya çevrilmesi işlemi, Applied Biosystems marka High Capacity cDNA Reverse Transcription kit kullanılarak Termal Cyclus cihazında gerçekleştirildi. Sentez işleminde üretici firma kit protokolü uygulandı. Kit bileşenleri önerilen oranlarda toplam hacim 20 µL olacak şekilde cDNA sentez karışımı hazırlandı. Uygulanan karışım ve tepkime koşullarında, izole edilen RNA'dan cDNA sentez işlemi gerçekleştirildi. cDNA sentezinde kullanılan bileşenler ve PZR prosedürü sırasıyla Tablo 3.1. ve Tablo 3.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. cDNA Sentezinde Kullanılan Bileşenler ve Miktarları

Bileşenler	Miktar
10x RT Buffer	2 µL
25x dNTP	0.8 µL
10x RT Random Primers	2 µL
Revers Transkriptaz Enzimi	1 µL
Nükleaz Free Water	4,2 µL
RNA Örneği	10 µL
Total Hacim	20 µL

Tablo 3.2. cDNA Sentezinde Kullanılan PZR Prosedürü

Adım	İşlem Adı	Sıcaklık	Süre
Adım I	Bağlanma	25°C	10 dakika
Adım II	Uzama	37°C	120 dakika
Adım III	Sonlandırma	85°C	5 dakika
Adım IV	Bekletme	4°C	∞

3.2.3. cDNA Konsantrasyonlarının Ölçümü

cDNA konsantrasyon ölçümü için Qubit® 3.0 Fluorometer cihazı (Life Technologies, ABD) ve Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kiti (Invitrogen Katalog No: Q33230, ABD) kullanıldı.

0.5'lik PZR tüplerine Standard 1 ve Standard 2' den 10 µL, çalışma solüsyonundan 190 µL eklenerek son hacimleri 200 µL'ye tamamlandı. Her cDNA örneğinden 5 µL alınarak, son hacim 200 µL olacak şekilde çalışma solüsyonu eklendi. Pipetaj yapılarak örnek ve çalışma solüsyonunun karışması sağlandı. Tüm örnekler oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 2 dk inkübe edilerek ölçüm için hazırlandı. Qubit 3.0 cihazına önce Standard 1, daha sonra Standard 2 okutuldu ve cDNA örneklerinin ölçümüne geçildi. Her bir cDNA'nın konsantrasyonu kaydedildi. cDNA miktarı her bir reaksiyonda 60 ng olacak şekilde hesaplama yapılarak, cDNA miktarları her bir örnek için ayrı ayrı hesaplandı.

3.2.4. Gerçek Zamanlı PZR (qRT-PZR)

Hücre içindeki RNA miktarı, bir genin ne kadar ifade edildiğini belirtir. Ekspresyon düzeyleri, genler arasında, hücreler arasında ve deneysel koşullara göre değişebilir. Kantitatif gen ekspresyon çalışmaları, protein seviyelerini, sağlıklı ve hastalıklı dokulardaki gen ifadesini karşılaştırmak için transkripsiyon seviyelerini, hücre farklılaşması ve gelişimi sırasında gen ifadesi değişikliklerini, kimyasal maddelere (ilaçlar, toksinler, hormonlar veya sitokinler) maruz kalan hücrelerdeki ifade değişikliklerini, kodlanmayan RNA'ların ifade miktarlarını veya antisens oligonükleotitlerinin etkinliğini ölçmeyi amaçlar (Livak & Schmittgen, 2008). Kantitatif RT-PZR (qRT-PZR), nükleik asitlerin miktarını belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. qRT-PZR'da, amplifikasyon sırasında oluşan ürün miktarı, reaksiyon boyunca artan floresan boyası ve prob sinyali ile izlenir. Bu, belirli bir miktardaki DNA moleküllerinin elde edilmesi açısından önemlidir. En basit yöntemlerden biri, çift zincirli DNA'ya bağlanan "SYBR Green I" floresan boyasının kullanılmasıdır (Şirin, 2018).

Çalışmamızda izole edilen RNA'ların cDNA'ya çevrilmesinden sonra qRT-PZR ile gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi gerçekleştirildi. Qubit ölçümlerine göre reaksiyon sonucundaki değişimleri net görmek için cDNA miktarı her bir reaksiyonda 60 ng olacak şekilde hesaplama yapılarak, cDNA miktarları her bir örnek için ayrı ayrı hesaplandı. Elde edilen cDNA örneklerinin yoğunluğuna göre uygun miktarda Nükleaz-free water eklenip sulandırıldı. qRT-PZR analizinde hedef gen olarak *RHEB* geni, housekeeping gen olarak BETA AKTİN (*ACTB*) geni kullanıldı. Çalışmada negatif kontrol olarak içerisinde cDNA örneği içermeyen Real time karışımı kullanıldı.

Tablo 3.3'de qRT-PZR işleminde kullanılan *RHEB* ve *ACTB* genlerine ait primerler gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan qRT-PZR bileşenleri ve miktarları Tablo 3.4.'de verildiği gibi hazırlandı.

Tablo 3.3. qRT-PZR İşleminde Kullanılan *RHEB* ve *ACTB* Genlerine Ait Primerler

<i>RHEB</i> F	5'- AAGTCCCGGAAGATCGCCA-3'
<i>RHEB</i> R	5'-GGTTGGATCGTAGGAATCAACAA-3'
<i>ACTB</i> -F	5'-GCATGGGTCAGAAGGATTCC-3'
<i>ACTB</i> -R	5'-CACGCAGCTCATTGTAGAAGG-3'

Tablo 3.4. qRT-PZR'da Örnek Başına Kullanılan Tepkime Bileşen ve Miktarları

Bileşenler	Miktar
2x Master Mix Green	12,5 µl
Primer F	0,5 µl
Primer R	0,5 µl
cDNA Örneği	3 µl
dH ₂ O	8,5 µl
Total Hacim	25 µl

RT-PZR karışımları hazırlandıktan sonra 96 örneklik plate'e eşit hacimlerde dağıtıldı ve üzerlerine cDNA örnekleri eklendi. Tablo 3.5'de belirtilen RT-PZR programı kullanıldı.

Tablo 3.5. qRT- PZR Protokolü

Aşama	Aşama Adı	Döngü Sayısı	Sıcaklık	Süre
1	Başlangıç Denatürasyonu	1	95.0°C	15 dakika
2	PCR Amplifikasyonu	40	95.0°C	15 saniye
			60.0°C	1 dakika
Erime Eğrisi	Erime Eğrisi	1	95.0°C	30 saniye
			60.0°C	15 saniye
			95.0°C	15 saniye

RHEB geninin ifade düzeyi, $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu ile hesaplandı. Hesaplama işlemi aşağıdaki formüle göre yapıldı;

$$\Delta Ct (\text{Böbrek tümör dokusu}) = RHEB \text{ geni (Ct ortalama)} - Aktin \text{ geni (Ct ortalama)}$$

$$\Delta Ct (\text{Kontrol dokusu}) = RHEB \text{ geni (Ct ortalama)} - Aktin \text{ geni (CT Ortalama)}$$

$$\Delta\Delta CT = \Delta Ct (\text{böbrek tümör dokusu}) - \Delta Ct (\text{kontrol grubu}) \text{ (Schmittgen ve Livak, 2008).}$$

3.2.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

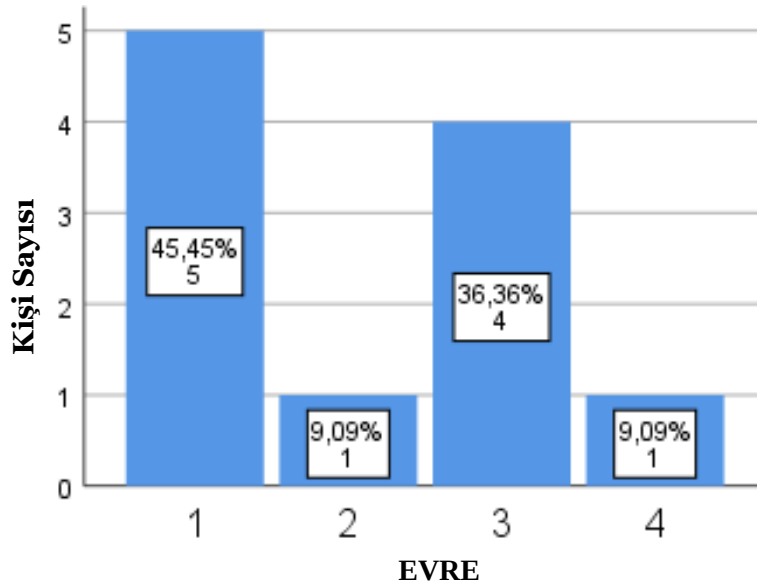
Çalışma gruplarının genel niteliklerini belirlemek için tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. Sürekli değişkenlerin verileri Ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak ifade edildi; kategorik değişkenlerin verileri ise n (%) formatında sunuldu. İstatistiksel analizler, SPSS yazılımının Statistics 26.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Tümör ve kontrol dokularına ait mRNA ekspresyonu analizi, Paired Sample Test ile analiz edildi. p değerlerinin "0.05'ten" küçük olması durumunda, bu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Bu çalışma için, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Polikliniği'ne başvurarak böbrek kanseri tanısı alan 11 bireye ait böbrek tümör dokuları ve bu hastalara ait sağlıklı böbrek dokuları kullanıldı. Çalışma grubu, yaş aralığı 39 ile 75 olan 6 kadın ve 5 erkek bireyden oluşmaktaydı. Tüm analizler Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Çalışma gruplarına ait demografik veriler Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Çalışma grubundaki bireylerin; 5 tanesi Evre 1, 1 tanesi Evre 2, 4 tanesi evre 3, 1 tanesi evre 4 olarak tespit edilmiştir ve evre dağılım grafiği Şekil 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma Grubundaki Bireylerin Demografik Verileri

n=11		
Yaş Ortalaması, Ort $\pm$ SS		62 $\pm$ 11.61
Cinsiyet, n (%)	Kadın	6 (% 54.55)
	Erkek	5 (% 45.45)

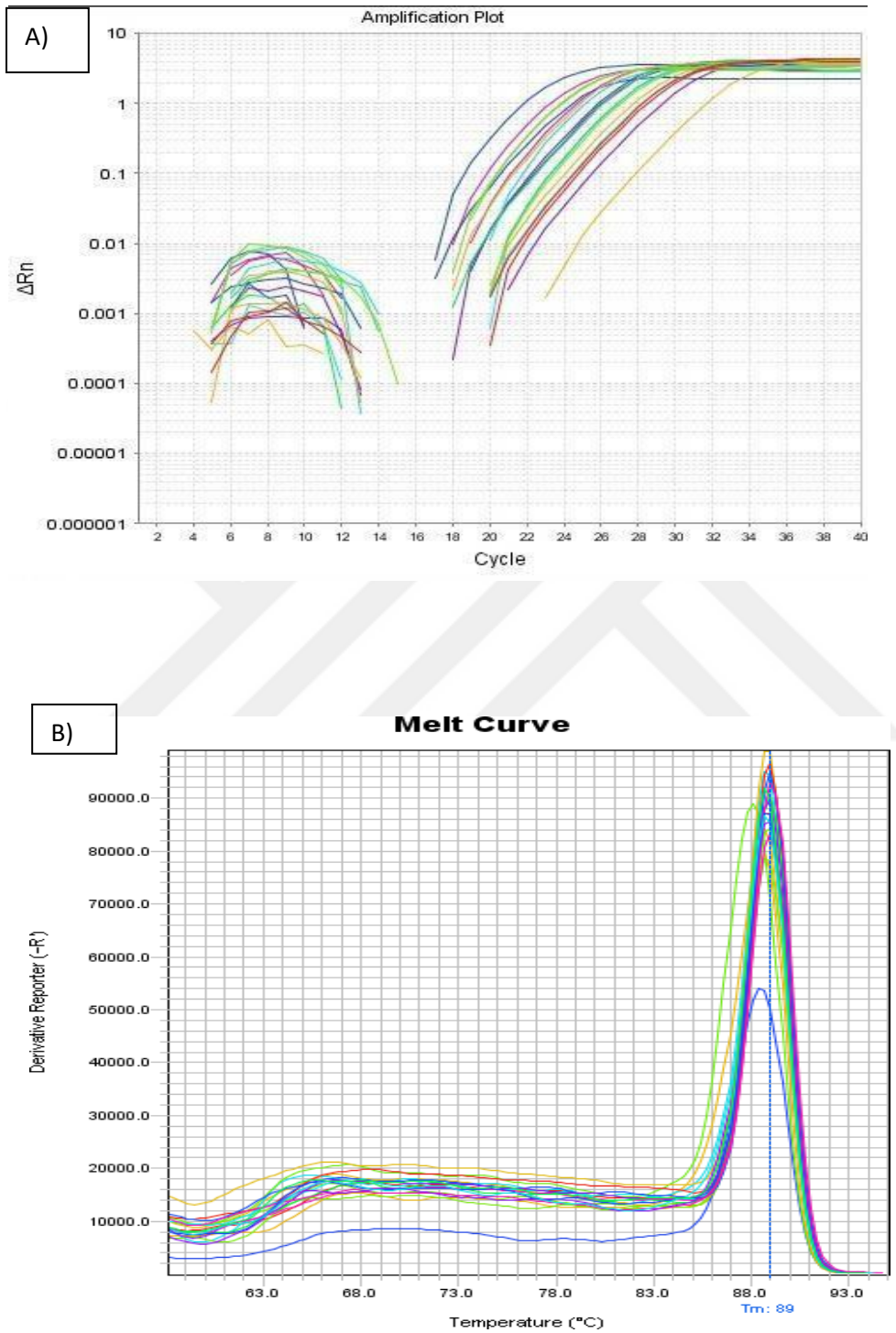


Şekil 4.1. Çalışma Grubundaki Bireylerin Evre Dağılım Grafiği

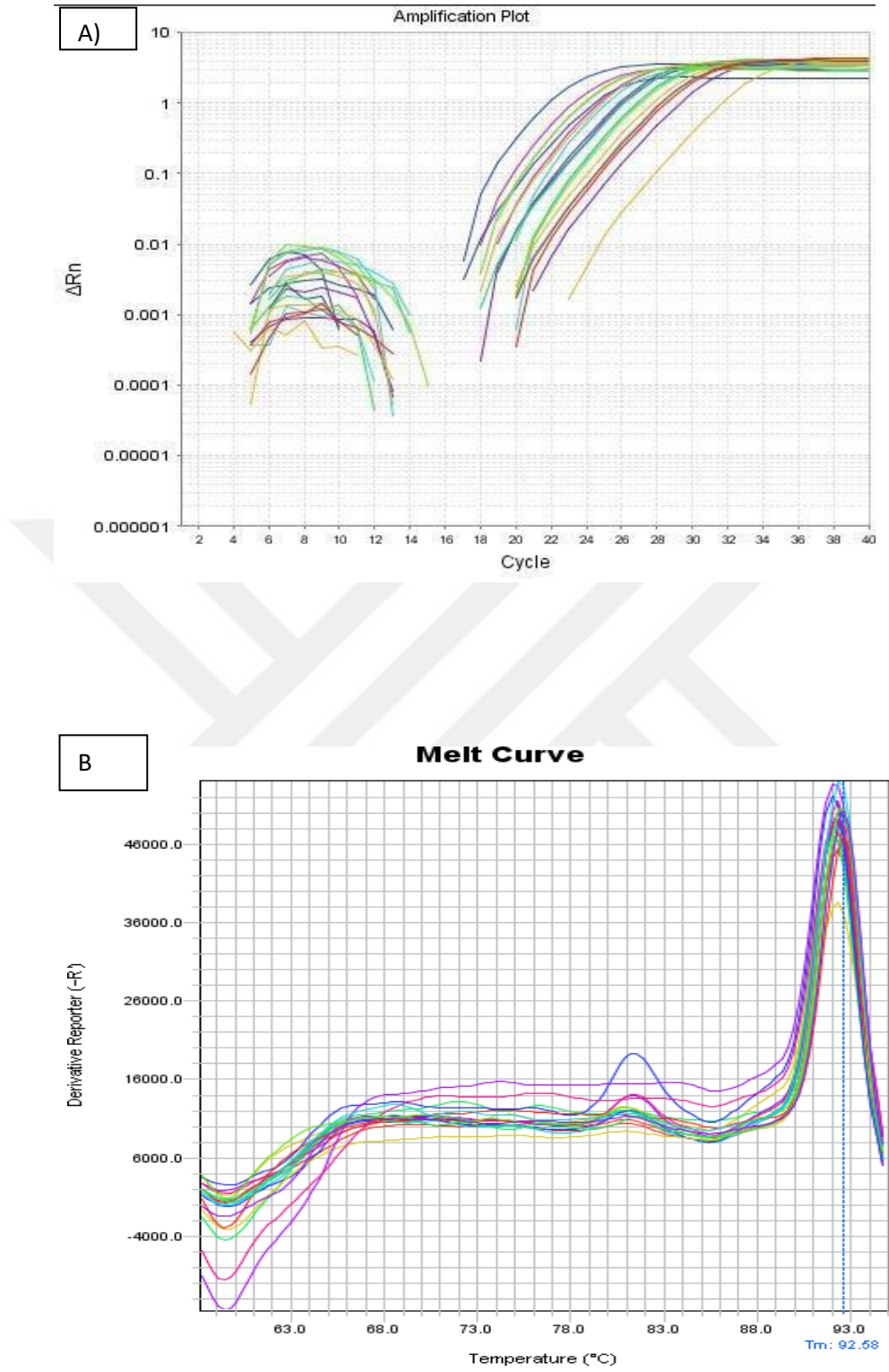
4.1. *RHEB* Gen İfade Düzeyinin Analiz Sonuçları

Böbrek tümör dokularından ve sağlıklı böbrek dokularından total RNA izolasyonundan sonra, cDNA elde edildi. *ACTB*, housekeeping geni olarak seçildi ve *RHEB* gen ekspresyon düzeyleri bu gen ile normalize edildi. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü ile kat artışı hesaplanarak elde edilen veriler ile istatistiksel analizler yapıldı. Veriler ort $\pm$ SS olarak verildi. qRT-PZR sonuçları, *RHEB* gen ekspresyonunun böbrek tümör dokularının %18'inde (2/11) arttığını, %82'sinde (9/11) ise azaldığını gösterdi.

qRT-PZR sonuçlarına göre *ACTB* ve *RHEB* genine ait amplifikasyon ve erime piki sırasıyla Şekil 4.2 ve Şekil 4.3' de gösterilmiştir.



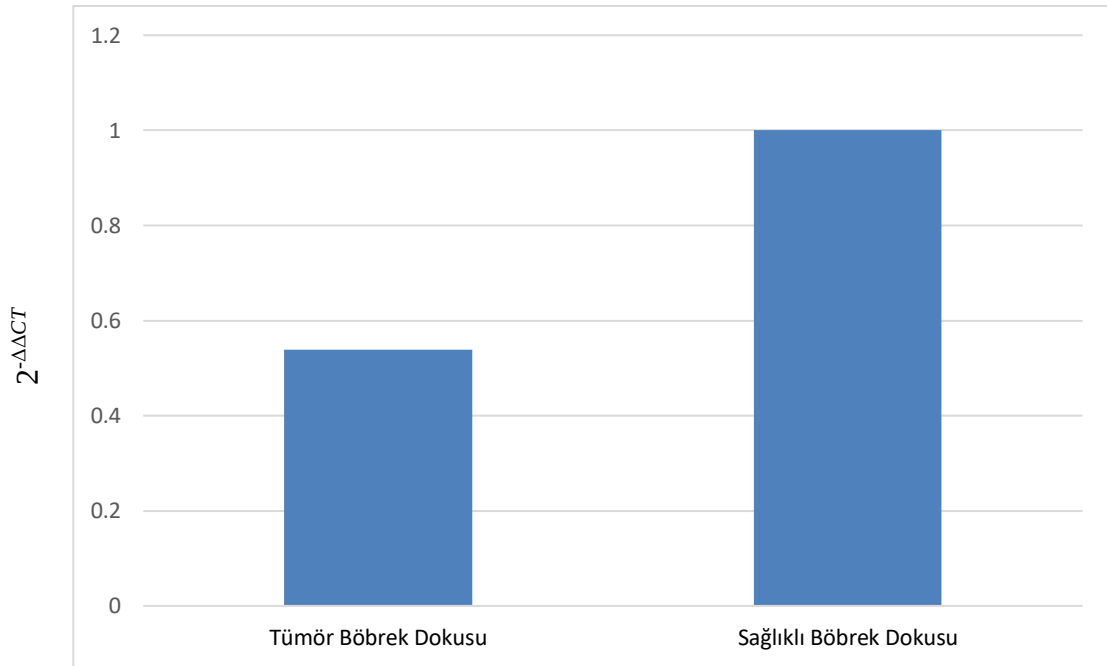
Şekil 4.2. *ACTB* Genine ait Amplifikasyon Eğrisi Grafiği (A) ve Erime Piki (B)



Şekil 4.3. *RHEB* Genine ait Amplifikasyon Eğrisi Grafiği (A) ve Erime Piki (B)

Sonuçların değerlendirilmesi 0.9-1.1 aralığı kullanılarak yapıldı. 0.9'dan küçük değerler sağlıklı böbrek dokusuna oranla böbrek tümör dokusunda *RHEB* geninin ifade düzeyinin azaldığı, 1.1' den büyük değerler sağlıklı böbrek dokusuna oranla böbrek tümör dokusunda *RHEB* geninin ifade düzeyinin arttığı, 0.9-1.1 arasındaki değerler ise sağlıklı böbrek dokusu ile karşılaştırıldığında ifade düzeyinde bir değişiklik olmadığı kabul edildi (Livak & Schmittgen, 2001). Bu değerlendirmeye göre böbrek tümör dokusunda *RHEB* geninin ifade düzeyindeki kat artışı 0.53 olarak bulundu. Şekil 4.4'de tümör böbrek dokusu ve sağlıklı böbrek dokusuna ait kat artış grafiği verilmiştir. Bu sonuçlara göre tümör dokusunda *RHEB* gen ekspresyon düzeyi kontrol dokusuna oranla düşük bulunmuş olmasına rağmen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.083$).

Tablo 4.2'de gösterildiği gibi sonuçlar değerlendirilirken Bağımlı Örneklem T Testi kullanıldı ve p değeri 0.05'ten büyük hesaplandığı için sonuç istatistiksel olarak anlamsız kabul edildi.



Şekil 4.4. Tümör ve Sağlıklı Böbrek Dokularında *RHEB* Genine ait Kat Artış Grafiği

Tablo 4.2. p Değeri Tablosu

Örnekler	2- $\Delta\Delta CT$	p Değeri
Tümör Böbrek Dokusu (n = 11)	0,53	0,083
Sağlıklı Böbrek Dokusu (n = 11)	1	

4. TARTIŞMA

RHEB proteini, GTP'yi bağlama ve hidroliz etme yeteneği olan hücre zarında bulunan önemli bir proteindir. Bu protein, hücre büyümesi ve düzenlenmesinde kritik bir rol oynayarak mTOR sinyal yolunda merkezi bir rol üstlenir (Tee ve ark., 2005). Literatürü taradığımız kadarıyla böbrek kanserinin de dahil olduğu ürolojik kanserler ile *RHEB* geni arasındaki ilişkiyi araştıran sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

RHEB/mTOR aktivasyonunun kanserdeki rolünün ve bu sinyal yolunun regülasyonunun incelendiği Babcock ve Quilliam tarafından yapılan bir çalışmada *RHEB* ve mTOR sinyal yolunun kanser gelişimindeki önemi vurgulanmıştır. Bu çalışmada *RHEB* gen ekspresyon düzeyinin RHK dokularında azaldığı tespit edilmiş ve bu azalma mTOR sinyal yolunun inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu sinyal yolunun hedeflenmesinin RHK tedavisinde potansiyel bir strateji olabileceği öne sürülmüştür. Babcock ve Quilliam tarafından yapılan bu çalışmaya ait sonuçlar ile bizim çalışma sonuçlarımız uyum göstermektedir. Bu da *RHEB* geninin hem RHK gelişmesi hem de tedavisindeki potansiyel rolünü destekler niteliktedir (Babcock & Quilliam, 2011).

Tıgılı ve ark.'ları, tarafından ürolojik kanserlerden biri olan mesane kanseri ile *RHEB* gen ifade düzeyinin incelediği çalışmada tümör doku örneklerinde *RHEB* gen ifade düzeyinin, normal doku örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiş ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Tıgılı ve ark.'nın çalışması ile benzer nitelikte olan çalışmamızda, *RHEB* gen ifade düzeyinin tümör dokularında azaldığı tespit edilmiştir. Ancak, Tıgılı ve ark.'nın çalışmasında *RHEB* gen ifade düzeyinin tümör dokularında yüksek olduğu belirlenmiştir (Tıgılı H., 2009).

Eom ve ark.'larının *RHEB*'in hücre büyümesi ve proliferasyonundaki önemini vurguladığı çalışmasında meme fibroadenomlarında *RHEB* gen ekspresyon düzeyi incelenmiş ve *RHEB* gen ekspresyonunun fibroadenomlarda arttığı bildirilmiştir (Eom ve ark., 2008).

Liu ve ark.'larının yapmış olduğu çalışma, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC) miRNA'ların tümör oluşumunu *RHEB*'i hedef alarak etkilediğine dair bilgiler sunmaktadır. Araştırma, miRNA'ların, *RHEB* geninin ekspresyonunu baskılayarak hücre proliferasyonunu ve tümör büyümesini engellediğini ortaya koymuştur. Spesifik olarak, miRNA'ların *RHEB* mRNA'sına bağlanarak onun translasyonunu inhibe ettiği ve bu mekanizma ile *RHEB* protein seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Bu, hücrelerin büyüme ve proliferasyon kapasitesini düşürmekte, dolayısıyla tümör gelişimini baskılamaktadır (Liu ve ark., 2022).

Knowless ve ark.'ları mesane karsinomun mTOR/*RHEB* sinyal yolağında bir tümör baskılayıcı olarak görev alan *TSC1* genine ait mutasyonları incelemişler ve bu gende meydana gelen mutasyonların mTOR yolunun aşırı aktivasyonuna yol açarak hücrel proliferasyonu artırabileceğini rapor etmişlerdir. Dolayısıyla çeşitli kanser türlerinde *RHEB* ekspresyonunun azalması, *TSC1* gibi tümör baskılayıcı genlerin fonksiyon kaybından kaynaklanıyor olabilir ve bu durum mTOR yolunun aşırı aktivasyonuna neden olarak tümör gelişiminde etkili olabilir (Knowless ve ark., 2003).

Kobayashi ve ark.'larının çalışması *RHEB*'in prostat kanseri hücrelerinde androjen reseptörünün transaktivitesini ve mTOR-S6 kinaz yolunun regülasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir. Bu bulgu, *RHEB*'in kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve büyümesini etkileyebileceğini öne sürmektedir (Kobayashi ve ark., 2010).

Liu ve ark.'ları çalışmalarında, farklı karaciğer kanseri hücre hatlarında *RHEB* ekspresyonunu incelemişlerdir ve aynı zamanda klinik verilerle ilişkisini değerlendirmişlerdir. Karaciğer kanseri dokusunda *RHEB* ekspresyonu, normal dokulara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, yüksek *RHEB* ekspresyonu olan hastalarda genel sağkalım süresinin azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgular, *RHEB*'in Hepatoselüler karsinom (HCC)'un gelişiminde ve prognozunda önemli bir rol oynadığını vurgulamaktadır (Liu ve ark., 2018).

Tan ve ark.'ları *RHEB*'in pankreas adenokarsinomu (PAAD)'ndaki işlevini daha iyi anlamak amacıyla çalışma yapmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, *RHEB*'in, PAAD'da anlamlı derecede aşırı eksprese edildiği gösterilmiş ve yüksek ekspresyonu kötü prognozla ilişkilendirilmiştir. *RHEB*, pankreas kanseri hücrelerinin çoğalmasını, göçünü teşvik etmektedir. Çalışma sonuçları, *RHEB*'in hücre döngüsü ilerlemesine ve WNT sinyal yoluna katıldığını göstermiştir. Bu bulgular, *RHEB*'in PAAD'de yukarı regüle edildiğini ve potansiyel bir terapötik hedef olabileceğini göstermektedir (Tan ve ark., 2021).

Tian ve ark.'ları *RHEB* ve rapamisin (mTOR) sinyal yolunun Kolorektal kanser (CRC) ile ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, *RHEB* gen susturmasının, CRC hastalarından elde edilen hücrelerde mTOR sinyal yolunu hedefleyerek hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve apoptozu etkileyip etkilemediği incelenmiştir. CRC dokularında *RHEB* ve Ki-67 ekspresyon oranları belirlenmiş ve *RHEB* susturması sonucunda hücrelerde mTOR, p70S6K ve 4EBP1 fosforilasyonunun azaldığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda *RHEB* susturulmasının, hücre proliferasyonunu ve farklılaşmasını baskıladığı, ancak apoptozu hızlandırdığı görülmüştür. Bax ekspresyonu ise artmıştır. Bu veriler, *RHEB* gen susturmasının mTOR sinyal yolunu etkisiz hale getirerek apoptozu hızlandırabileceğini ve hücre çoğalmasını baskılayabileceğini göstermektedir (Tian ve ark., 2019).

Yukarıda da belirtildiği gibi, literatürü incelediğimiz kadarıyla farklı kanser türlerinde *RHEB* gen ekspresyon değişiklikleri incelenmiş ve genellikle *RHEB* gen ifade düzeyinin tümör dokularında arttığı rapor edilmiştir.

Çalışmamızda, hasta ve kontrol grupları arasında *RHEB* geninin mRNA ekspresyon seviyeleri karşılaştırıldığında tümör dokusunda kontrol dokusuna oranla *RHEB* geninin mRNA ekspresyon seviyesinin azaldığı ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p= 0.83$). Bu çalışma, 11 hasta üzerinde gerçekleştirilmiş olup ve bu göreceli olarak küçük örneklem grubu çalışmadaki sonuçlarımızın genelleştirilebilirliğini sınırlamaktadır. Çalışmamızda hasta sayısının sınırlı olması ve ekspresyon seviyelerinin farklı evrelerdeki hasta gruplarında incelenmesi nedeniyle, elde edilen sonuçların literatürdeki verilerle uyum göstermemiş olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, daha geniş örneklem grupları üzerinde yapılacak ileri çalışmalar, *RHEB* geni mRNA ekspresyon seviyelerindeki değişikliklerin hastalık sürecindeki rolünü daha iyi anlamamızı sağlayabilir.

6. KAYNAKÇA

- Anonim. (2018). Kidney cancer. *Information for Patients*, (<https://patients.uroweb.org/>), 29 Mayıs 2024.
- Aspuria, P.-J., ve Tamanoi, F. (2004). The *RHEB* family of GTP-binding proteins. *Cellular Signalling*, 16(11), 1227–1235.
- Ateş, F., ve Dursun, F., (2016). Böbrek Kanseri Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi: Yeni Gelişmeler. Böbrek Kanseri Güncelleme, Editör: YILDIRIM, A., *TÜD/TÜRK ÜROLOJİ AKADEMİSİ YAYINI*, İstanbul, 30-37.
- Babcock, J. T., ve Quilliam, L. A. (2011). RHEB/mTOR Activation and Regulation in Cancer: Novel Treatment Strategies beyond Rapamycin. *Current Drug Targets*, (12), 1223-1231.
- Bahadoram, S., Davoodi, M., Hassanzadeh, S., Bahadoram, M., Barahman, M., ve Mafakher, L. (2022). Renal cell carcinoma: an overview of the epidemiology, diagnosis, and treatment. *Giornale Italiano di Nefrologia*, 39(13), 633-1941.
- Bai, X., ve Jiang, Y. (2009). Key factors in mTOR regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67(2): 239–253.
- Balzer, M. S., Rohacs, T., ve Susztak, K. (2022). How Many Cell Types are in the Kidney and What Do They Do? *Annual Review of Physiology*, 10(84), s. 507–531.
- Basso, A. D., Mirza, A., Liu, G., Long, B. J., Bishop, W. R., ve Kirschmeier, P. (2005). The Farnesyl Transferase Inhibitor (FTI) SCH66336 (lonafarnib) Inhibits *RHEB* Farnesylation and mTOR Signaling. Role in FTI enhancement of taxane and tamoxifen anti-tumor activity. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*, 280(35), s. 31101.
- Bjornsti, M.-A., ve Houghton, P. J. (2004). The mTOR Pathway: A Target for cancer therapy. *Focus on Targeted Therapies*, 4(5), s. 335-348.
- Buerger, C., DeVries, B., ve Stambolic, V. (2006). Localization of *RHEB* to the endomembrane is critical for its signaling function. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 344(3), s. 869–880.
- Chakraborty, S., Balan, M., Sabarwal, A., S. Pal., ve Choueiri, T. K. (2021). Metabolic reprogramming in renal cancer: Events of a metabolic disease. *BBA- Reviews on Cancer*, 1876(1), s. 188559.
- Chen, R., Mao, L., Shi, R., Wang, W., ve Cheng, J. (2020). circRNA MYLK Accelerates Cervical Cancer via Up-Regulation of *RHEB* and Activation of mTOR Signaling. *Cancer Management and Research*, 19:12, s. 3611–3621.

- Çelik, O., Yüksel, M. B., İpekçi, T., ve Aydoğdu, Ö. (2014). Renal Hücreli Kanserde Güncel Tanı ve Tedavi Yöntemleri, *The Cystoscope*, s. 166-171.
- Çelik, Z. E. (2011). Renal Hücreli Karsinomlarda Makroskopik, Mikroskopik, Morfometrik ve İmmünohistokimyasal Prognostik Belirleyicilerin Görüntü Analizi Sistemi de Kullanılarak İncelenmesi. s. 10-12.
- Dancey, J. (2010). mTOR signaling and drug development in cancer. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 7(4), s. 209-219.
- Elibol, C. (2010). Böbrek Tümörlerinde İntraoperatif Gri-Skala ve Doppler Ultrasonografinin Parsiyel-Radikal Nefrektomi Kararı Alınmasındaki Yeri. (Uzmanlık Tezi), Dokuz Eylül Üniversitesi. Radyoloji Ana Bilim Dalı, İzmir.
- Eom, M., Han, A., Yi, S. Y., Shin, J. J., Cui, Y., ve Park, K. H. (2008). *RHEB* expression in fibroadenomas of the breast. *Pathology International*, 58(4), s. 226–232.
- Erbil, S., Kızılay, F., Sarsık, B., ve Şen, S. (2017). Yeni bir antite: hereditör leiomyomatozis ilişkili renal hücreli. 27. *Ulusal Patoloji Kongresi*. Antalya: Çukurova Patoloji Derneği.
- Anonim, 2024. *RHEB gene*. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=RHEB-> (20.06.2024).
- Hall, M. N. (2008). mTOR—What Does It Do? *New York: Elsevier*. 40(10), s. 5-8.
- Hanrahan, J., ve Blenis, J. (2006). *RHEB* Activation of mTOR and S6K1 Signaling. *Methods in Enzymology*, 407, 55-542.
- Hay, N., ve Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes and Development*, 18(16), 1926-1945.
- Heard, J. J., Phung, I., Potes, M. I., ve Tamanoi, F. (2018). An oncogenic mutant of *RHEB*, *RHEB* Y35N, exhibits an altered interaction with BRAF resulting in cancer transformation. *BMC Cancer*, 18-69.
- İlik, Z. A., Erten, R., ve Demir, F. (2017). Berrak Hücreli Renal Hücreli Karsinom ve Papiller Adenom Birlikteliği: Olgu Sunumu. *Güncel Patoloji Dergisi*, 15-18 Kasım 2017, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Van.
- Inoki, K., Li, Y., Xu, T., ve Guan, K.-L. (2003). *RHEB* GTPase is a direct target of TSC2 GAP activity and regulates mTOR signaling. *Genes & Development*. 17(15), s. 1829-34.
- Karta, M. G., Bakır, B., ve Türkay, R. (2016). Böbrek Tümörlerinde Görüntüleme. *Böbrek Kanseri Güncelleme. Tüd/Türk Üroloji Akademisi Yayını*, YILDIRIM A., İstanbul, s. 82-92.

- Kavala, A., ve Yıldırım, D. (2023). Böbrek Kanseri ve Hemşirelik Yönetimi. *Nefroloji Hemşireliği Dergisi*, 18(1), s. 37-44.
- Kılıçarslan, G. (2015). Böbrek Hücreli Kanserde Görünür Difüzyon Katsayısı ile Histolojik Derecelendirme Arasındaki İlişki. (Uzmanlık Tezi), Fırat Üniversitesi. Radyoloji Anabilim Dalı, Elâzığ.
- Kim, L. C., Cook, R. S., ve Chen, J. (2017). mTORC1 and mTORC2 in cancer and the tumor micro environment. *Oncogene*, 36(16), s. 2191–2201.
- Knowless, M. A., Habuchi, T., Kennedy, W., ve Curthbert, D. (2003). Mutation spectrum of the 9q34 tuberous sclerosis gene TSC1 in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Research*, 63(22), s. 7652-6.
- Kobayashi, T., Shimizu, Y., Terada, N., Yamasaki, T., Nakamura, E., Toda, Y., et al. (2010). Regulation of Androgen Receptor Transactivity and mTOR-S6 Kinase Pathway by *RHEB* in Prostate Cancer Cell Proliferation. *RHEB in Prostate Cancer Cells*, 70(8), s. 866-874.
- Kuş, E. (2008). Böbrek Hücreli Karsinomlarda Histolojik Tip, Çekirdek Derecesi ve Patolojik Evrelemenin Sağkalım ile İlişkisi. (Uzmanlık Tezi), Kocaeli Üniversitesi. Patoloji Anabilim Dalı, Kocaeli.
- Küçüköner, M., ve Işıkdoğan, A. (2013). Kanseri tedavisinde mTOR sinyal yolağı ve mTOR inhibitörleri. *Dicle Tıp Dergisi*, 40(1), s. 156-160.
- Kwiatkowski, D. J. (2003). RHEB bing up mTOR. New Insights on TSC1 and TSC2, and the Pathogenesis of Tuberous Sclerosis. *Cancer Biology & Therapy*, 2(5), s. 471-476.
- Land, S. C., ve Tee, A. R. (2007). Hypoxia-inducible Factor 1 α is Regulated by the MammalianTarget of Rapamycin (mTOR) via an mTOR Signaling Motif. *The Journal Of Biological Chemistry*, 282, s. 20534-20543.
- Laplane, M., ve Sabatini, D. M. (2009). mTOR signaling at a glance. *Journal of Cell Science*, 122(20), s. 3589-3594
- Ludański, P., Kowalczyk, O., Mazurkiewicz, D. K., Milczek, T., Lubrowicz, D. R., Garbowicz, M., et al. (2011). Selective gene expression profiling of mTOR associated tumor suppressor and oncogenes in ovarian cancer. *Folia Histochemica et Cytobiological*, 49(2), s. 317–324.
- Li, C., Qian, B., Ni, Z., Wang, Q., Wang, Z., Ma, L., et al. (2020). Construction of recombinant lentiviral vector containing human stem cell leukemia gene and its expression in interstitial cells of cajal. *Open Access*, 15(1), s. 83–91.

- Linehan, W. M., ve Rathmell, W. K. (2012). Kidney cancer. *Urologic Oncology*, 30(6), s. 948 –951.
- Linehan, W. M., ve Ricketts, C. J. (2013). The Metabolic Basis of Kidney Cancer. *NIH Public Access*, 23(1), s. 46-55.
- Liu, F., Pan, Z., Zhang, J., Ni, J., Wang, C., Wang, Z., et al. (2018). Overexpression of *RHEB* is associated with metastasis and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *ONCOLOGY LETTERS*, 15(3), s. 3838-3845.
- Liu, X., Wang, X., Chai, B., Wu, Z., Gu, Z., Zou, H., et al. (2022). miR-199a-3p/5p regulate tumorigenesis via targeting *RHEB* in non-small cell lung cancer. *International Journal of Biological Sciences*, 18(10), s. 4187-4202.
- Livak, K. J., ve Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Elsevier*, 25(4), s. 402–408.
- Long, X., Lin, Y., Ortiz-Vega, S., Yonezawa, K., ve Avruch, J. (2005). *RHEB* Binds and Regulates the mTOR Kinase. *Current Biology*. 15(8), s. 702-13.
- Ordu, M. (2021). Akkiz Kistik Hastalık İlişkili Renal Hücreli Karsinom. *Renal Neoplaziler*. Editör: Karakök M., Akademisyen Yayınevi. Aksaray Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji. Aksaray.
- Özcan, Ö., ve Dikmen, M. (2015). Kanser Tedavisinde mTOR İnhibitörleri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 19:290-297.
- Özdoğan, M. (2023). Kanser belirtileri, Tanı ve Tedavisi. <https://www.drozdogan.com> .(06 /01/2024).
- Özkan, T. A., Yıldız, K., ve Dillioğlugil, Ö. (2012). Böbrek hücreli kanser evrelemesi:2010 TNM sınıflandırma sistemi ve Türkiye geçerliliği. *Kocaeli, Üroonkoloji bülteni*.11(3), s.206-211.
- Parmar, N., ve Tamanoi, F. (2010). *RHEB* G-Proteins and the Activation of mTORC1. *NIH Public Access*, 27
- Pazarbaşı, A., Kasap, M., & Kasap, H. (2011). Kanser Yolakları. *Dergipark Akademik*. 20(4), s. 187- 229
- Populo, H., Lopez, J. M., ve Soares, P. (2012). The mTOR Signalling Pathway in Human Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 13(2), s. 1886-1918.
- Powis, G., ve Kirkpatrick, L. (2004). Hypoxia inducible factor-1alpha as a cancer drug target. *Molecular Cancer Therapy*, 3(5), s. 647-654.

- Robb, V. A., Karbowniczek, M., Szanto, A. J., ve Henske, E. P. (2007). Activation of the mTOR Signaling Pathway in Renal Clear Cell Carcinoma. *The journal of urology*, 177(1), s. 346-352.
- Rosner, M., Hanneder, M., Siegel, N., Valli, A., Fuchs, C., ve Hengstschlager, M. (2008). mTOR Pathway and Its Role In Human Genetic Diseases. *Mutation Research*, 659(3), s. 18-20.
- Ross, H., ve Argan, P. (2010). Xp11 translocation renal cell carcinoma. *Pathology*, 42(4), s. 369–373.
- Sampaio, F. J., MD, ve PhD. (2000). Renal Anatomy. Endourologic considerations. *Urologic Clinics of North America*, 27(4), s. 585- 607.
- Sarıkaya, H., Önder, E., Çil, N., Mete, E., ve Mete, G. A. (2023). Determination of mTOR activity depending on donor age of mesenchymal stem cells isolated from adipose tissue. *Pamukkale Tıp Dergisi*, s. 16(4):704-714, s. 39-56.
- Sato, T., Umetsu, A., ve Tamanoi, F. (2008). Characterization of the RHEB-mTOR Signaling Pathway in Mammalian Cells: Constitutive Active Mutants of *RHEB* and mTOR. *Methods in Enzymology*, (438), 308-318.
- Saucedo, L. J., Gao, X., Chiarelli, D. A., Li, L., Pan, D., ve Edgar, B. A. (2003). *RHEB* promotes cell growth as a component of the insulin/TOR signalling network. *Nature Cell Biology*, 5(6), s.566–571.
- Stone, M. J., Venkatesan, A. M., Locklin, J., Pinto, P., Linehan, M., ve Wood, J. (2007). Radiofrequency Ablation of Renal Tumors. *Elsevier*, 10(2), s. 1089-2516.
- Şen, S. (2015). Böbrek Tümörlerinin Morfolojik ve Moleküler Özellikleri. *Bulletin of Urooncology*. İzmir. 14, s. 278-284.
- Şirin, N. (2018). Hepatoselüler Kansere Hücresinde Apigenin, Sorafenib ve Kombine Uygulamalarının Apoptoz ve Hücre Döngüsü Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi) Pamukkale Üniversitesi, Denizli. s. 34-36.
- Tan, J., Liu, W., Li, J., Zhang, X., Liu, Y., Yuan, Y., et al. (2021). Over-expressed *RHEB* promotes the progression of pancreatic adenocarcinoma. *Life Sciences*. s. 119-462
- Tee, A. R., Blenis, J., ve Proud, C. G. (2005). Analysis of mTOR signaling by the small G-proteins, *RHEB* and RHEBL1. *FEBS Letters*, 579(21), s. 4763-4768.
- Tıgılı, H. (2009). Anjiyogenez ile İlgili Trombospondin-1, HIF-1 ve CA9 Moleküllerinin Böbrek Kanseri Hastalarında Araştırılması. (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi. Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

- Tıgılı, H. (2009). Hücre Büyümesi ile İlgili mTOR Sinyal Yolağında Yer Alan *RHEB* Proteininin Mesane Kanseri Hastalarında Araştırılması. (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul. s. 15-30.
- Tian, Y., Shen, L., Li, F., Yang, J., Wan, X., ve Ouyang, M. (2019). Silencing of *RHEB* inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in colorectal cancer cells via inhibition of the mTOR signaling pathway. *Journal Of Cellular Physiology*, 235(1): s. 442-453.
- Tsai, T.-S., Chuang, C. K., ve Chu, D.-C. (2018). PTEN Suppression on *RHEB* Expression through Inhibition of mTORC1/S6K1-Dependent Protein Translation in Prostate Cancer Cells. *Journal of Oncology Research and Therapy* .142, s .1-6.
- Tuncer, Z., ve Kozacı, L. D. (2022). Büyüme Faktörleri, Reseptörleri ve Sinyal İletim Yolları. *KTO Karatay Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(2), 91-107.
- Üyetürk, Ü., Üyetürk, U., ve Metin, A. (2014). Böbrek Hücreli Kanseri (Renal Cell Carcinoma). *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 6(1), 1-17.
- Yıldırım, A. (2016). Böbrek Kanseri Güncelleme. Tüd/Türk Üroloji Akademisi Yayını No: 4, 1-147
- Yılmaz, A. N. (2013). Böbrek Hücreli Kanselerde Histolojik Alt Tiplerin Klinikopatolojik Özellikleri. (Uzmanlık Tezi). Atatürk Üniversitesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı. Erzurum.
- Zheng, M., Zang, S., Xie, L., Fang, X., Zhang, Y., Ma, X., et Al. (2015). *RHEB* Phosphorylation is Involved In P38-Regulated/Activated Protein Kinase-Mediated Tumor Suppression in Liver Cancer. *Oncology Letters*, 10(3): 1655–1661.