**T.C**
**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# HASS VE FUERTE AVOKADO (*PERSEA AMERİCANA*) EKSTRAKTLARININ APOPTOTİK ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

**Dilan ULUKAYA**
ORCID: 0000-0001-8050-4628

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Yüksek Lisans Programı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İZMİR**
**EYLÜL 2024**

**TEZ KODU:** DEU.HSI.MSc-2020970165

**T.C**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

# HASS VE FUERTE AVOKADO (*PERSEA AMERİCANA*) EKSTRAKTLARININ VE APOPTOTİK ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI

**Dilan ULUKAYA**

ORCID: 0000-0001-8050-4628

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Programı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sefa KIZILDAĞ**

ORCID: 0000-0001-7939-5153

**İZMİR**

**EYLÜL 2024**

# ETİK BEYAN

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

ETİK BEYAN

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum "Hass ve Fuerte Avokado (*Persea Americana)* Ekstraktlarının Apoptotik Etkilerinin İn Vitro Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza:
Öğrencinin Adı Soyadı: Dilan ULUKAYA
Tarihi: 03.09.2024

# TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimde beni destekleyen ve deneyimlerini benimle paylaşarak kendimi geliştirmemi sağlayan danışmanım Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sefa KIZILDAĞ'a teşekkür ederim.

Ekstraktlarımın elde edilmesinde bana yardımcı olan Pamukkale Üniversitesi, Gıda Bilimleri Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Fatma IŞIK ve Ünkan URGANCI'ya destekleri ve tezime katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ekip olarak birçok güzel anları paylaştığımız, yaşadığımız zorluklarda kafa kafaya verip beraberce problemleri çözdüğümüz ve daha nice güzel işler başaracaklarına inandığım sevgili Duygu ZÜHRE, Serap KURT, Khayala RASULOVA, Deniz Evrim KAVAK ve Beste BALBAL'a teşekkür ederim.

Uzun yıllardır hayatımda olan, beni aldığım kararlarda sorgulamayan ve destekleyen, yüksek lisans sürecimde sabırla yanımda olan sevgili arkadaşlarım Fatma ÖREN, Yağmur DEMİRCİOĞLU, Seda Nur HOMURLU, Dilara ÖZKALE ve Öykü SEZGİN'e çok teşekkür ederim.

Üniversiteye başladığım yıldan beri yanımda olan, kendimi her zaman daha ileriye taşımam konusunda beni cesaretlendiren, fikir ve önerilerine her zaman ihtiyaç duyduğum ve hep de duyacağım sevgili Onur TONK' a en içten şekilde teşekkür ederim.

Hayatta her zaman bilginin gücüne ve içimde olan o inatçı başarma duygusuna inanan, aldığım her kararda beni destekleyen ve emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim canım anneannem Sabire İYİCE'ye ve sevgili dedem Kemal İYİCE'ye, eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini benden eksik etmeyen, zorluklara karşı mücadele etmemi sağlayan, mesafeleri yakın eden ve yürüdüğüm bu yolda beni asla yalnız hissettirmeyen canım annem Ayşegül İYİCE ve babam Atilla ULUKAYA'ya, yaşadığım her deneyimden ders almamı bana öğreten ve eğitim hayatımda yürüdüğüm yolda bana ışık olan canım dayım Muammer İYİCE'ye teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

**TABLOLAR DİZİNİ** ..... **i**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **ii**
**KISALTMALAR** ..... **iii**
**ÖZET** ..... **iv**
**ABSTRACT** ..... **v**
**1. GİRİŞ VE AMAÇ** ..... **1**
**2. GENEL BİLGİLER** ..... **3**
**2.1 Kanser** ..... **3**
**2.2 Yumurtalık Kanseri** ..... **5**
2.2.1 Yumurtalık Kanserinin İnsidansı ve Risk Faktörleri ..... 5
2.2.2 Yumurtalık Kanseri Semptomları ..... 8
2.2.3 Yumurtalık Kanseri Tanı Ve Teşhisi ..... 9
2.2.4 Yumurtalık Kanseri Türleri ..... 10
2.2.5 Yumurtalık Kanseri Evrelemesi ..... 11
2.2.6 Yumurtalık Kanseri Tedavileri ..... 13
**2.3 Apoptoz** ..... **14**
**2.4 Avokado (*Persea Americana*)** ..... **17**
2.4.1 Avokadonun Tarihçesi ..... 17
2.4.2 Avokado Tür ve Bitki Özellikleri ..... 17
2.4.3 Avokado Çeşitleri ..... 19
2.4.4 Avokado Ticareti ..... 20
2.4.5 Avokado Besin İçeriği ..... 23
2.4.6 Avokado ve Sağlık ..... 24
2.4.7 Avokado Ve Kanser ..... 27
**3. GEREÇ VE YÖNTEM** ..... **30**
**3.1 Araştırmanın Tipi** ..... **30**
**3.2 Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı** ..... **30**
**3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi** ..... **31**
**3.4 Çalışma Materyali** ..... **31**
**3.5 Araştırmanın Değişkenleri** ..... **31**
**3.6 Veri Toplama Araçları** ..... **32**
3.6.1 Çalışmada Kullanılan Materyaller ..... 32
3.6.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları ..... 32
3.6.1.2 Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Markaları ..... 33

3.6.2 Kullanılan Metotlar ..... 34
3.6.2.1 Ekstraktların Elde Edilmesi ..... 34
3.6.2.2 Hücre Hattının Çözülmesi ..... 35
3.6.2.3 Hücre Hattının Pasajlanması ve Dondurulması ..... 36
3.6.2.4 Hass ve Fuerte Türü Avokado Ekstraktlarının Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması ..... 37
3.6.2.5 Sitotoksisite Deneyi (MTT Analizi) ..... 38
3.6.2.6 Total RNA İzolasyonu ..... 38
3.6.2.7 cDNA Sentezi ..... 40
3.6.2.8 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ..... 41
3.6.2.9 Agaroz Jel Elektroforezi ..... 43
3.6.3 Verilerin Değerlendirilmesi ..... 44
3.6.4 Etik Kurul Onayı ..... 44
**4. BULGULAR ..... 45**
**4.1 MTT Sitotoksisite Deney Bulguları ..... 45**
**4.2 Gerçek Zamanlı PZR Analiz Sonuçları ..... 47**
**4.3 Agaroz Jel Elektroforezi ..... 51**
**5. TARTIŞMA ..... 52**
**6. SONUÇ VE ÖNERİLER ..... 55**
**7. KAYNAKLAR ..... 57**
**8. EKLER ..... 64**

# TABLOLAR DİZİNİ

**Tablo 1.** Yumurtalık kanserinin FIGO sınıflandırılması. ..... 12
**Tablo 2.** Araştırma planı tablosu ..... 31
**Tablo 3.** Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları ..... 32
**Tablo 4.** Çalışmada kullanılan malzemeler ve markaları ..... 33
**Tablo 5.** cDNA sentez kiti bileşenleri ..... 40
**Tablo 6.** PowerUp "SYBR" green mastermix kiti bileşenleri ve miktarları ..... 41
**Tablo 7.** Gerçek zamanlı PZR ısıl koşul tablosu ..... 41
**Tablo 8.** Tasarlanan primer dizileri ..... 42
**Tablo 9.** Primerlerin ürün boyutları. ..... 43

# ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1.** Sağlıklı bir hücrenin kanser hücresine dönüşümü. ..... 3
**Şekil 2.** Kanserin temel özellikleri. ..... 4
**Şekil 3.** Dünya genelinde yumurtalık kanserinin görülme oranı. ..... 5
**Şekil 4.** Dünya genelinde yumurtalık kanserinin ölüm oranı. ..... 6
**Şekil 5.** Yumurtalık kanseri türlerinde görülen risk faktörleri. ..... 7
**Şekil 6.** Yumurtalık kanseri türleri ve görülen gen mutasyonları ..... 11
**Şekil 7.** Apoptoz yolakları ..... 15
**Şekil 8.** Fuerte türü avokadonun yaprak, et ve çekirdek yapısı ..... 19
**Şekil 9.** Hass türü avokadonun yaprak ve çekirdek yapısı ..... 20
**Şekil 10.** Türkiye'de 2022 yılında iller bazlı avokado üretim yüzdesi (%) ..... 21
**Şekil 11.** Antalya ilçelerinde 2017-2021 yılları ortalama avokado üretiminin yüzdesel (%) dağılımı ..... 22
**Şekil 12.** Avokado bölümlerinin farmakolojik etkileri ..... 25
**Şekil 13.** İş - akış şeması ..... 30
**Şekil 14.** Ekstraktların hazırlanma basamakları ..... 35
**Şekil 15.** SKOV-3 hücre hattının inkübe edildiği inkübatör ..... 36
**Şekil 16.** Hücre kültürü çalışmalarının yapıldığı biyogüvenlik kabini. ..... 37
**Şekil 17.** RNA izolasyonu için kurulan deney düzeneği. ..... 39
**Şekil 18.** Kontrol ve Hass avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 24 saat sonraki % Canlılığı ..... 45
**Şekil 19.** Kontrol ve Fuerte avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 24 saat sonraki % Canlılığı ..... 46
**Şekil 20.** Kontrol ve Hass avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 48 saat sonraki % Canlılığı ..... 46
**Şekil 21.** Kontrol ve Fuerte avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 48 saat sonraki % Canlılığı ..... 47
**Şekil 22.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BAX geninin Gerçek Zamanlı PZR analizi ..... 48
**Şekil 23.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BCL-2 geninin Gerçek Zamanlı PZR analizi ..... 48
**Şekil 24.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BCL-2 ve BAX genlerinin Gerçek Zamanlı PZR analizi ..... 49
.**Şekil 25.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde Sitokrom-c (CYC) genlerinin Gerçek Zamanlı PZR analizi ..... 49
**Şekil 26.** Gerçek Zamanlı PZR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü. ..... 51

## KISALTMALAR

| | |
|---|---|
| AHC | Açık Hücreli Karsinom |
| APAF-1 | Apoptotik Proteaz Aktivasyon Faktörü-1 |
| BT | Bilgisayarlı Tomografi |
| CA125 | Kanser Antijeni 125 |
| CA19-9 | Karbonhidrat Antijeni 19-9 |
| CEA | Karsinoembriyonik Antijen |
| Ct | Eşik Eğrisi |
| DDSK | Düşük Dereceli Seröz Karsinom |
| DMSO | Dimetil Sülfoksit |
| DMPST | Düşük Malign Potansiyelli Seröz Tümörler |
| DNA | Deoksiribonükleik Asit |
| END | Endometrioid Kanser |
| FBS | Fetal Bovine Serum |
| FIGO | Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Fedarasyonu |
| GAPDH | Gliseraldehit 3-Fosfat Dehidrasyon |
| HE4 | İnsan Epididimal Salgı Proteini 4 |
| MMR | Yanlış Eşleşme Tamiri |
| MOMP | Mitokondriyal Dış Zar Geçirgenliği |
| MR | Manyetik Rezonans |
| mRNA | Mesajcı RNA |
| MTT | 3-4,5-dimetil-tiyazolil-2,5-difeniltetrazolyum bromür |
| MUC16 | Müközin 16 |
| NCC | Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı |
| PARP | Poli (ADP-riboz) Polimeraz |
| PBS | Fosfat Tamponlu Salin |
| PZR | Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| TNF-R | Tümör Nekroz Faktörü Reseptörü |
| YDSK | Yüksek Dereceli Seröz Karsinomlar |
| ° C | Santigrat |
| µl | Mikrolitre |
| µg | Mikrogram |

**HASS VE FUERTE AVOKADO (*PERSEA AMERİCANA*) EKSTRAKTLARININ APOPTOTİK ETKİLERİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Dilan ULUKAYA**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı**

## ÖZET

Yumurtalık kanseri, kadın üreme sisteminin önemli bir parçası olan yumurtalıklarda ortaya çıkan ve ölümcül bir kanser türüdür. Erken dönemde belirti vermemesi ve bu kansere özgü spesifik bir belirti bulunmaması sebebiyle teşhis edilmesi güçtür ve genellikle geç teşhis edilmektedir. Yumurtalık kanseri görülme olasılığı ilerleyen yaşla beraber artmaktadır ve yumurtalık kanserinin ilk tedavi sonrasında olumlu bir yanıt alınmasına rağmen kanser yüksek oranlarda tekrarlama göstermektedir. Yumurtalık kanseri hastalarında görülen ilaç direnci hastaların sağkalımlarını önemli ölçüde düşürerek alternatif tedavilerin aranmasına sebep olmaktadır. Antik çağlardan günümüze kadar gelen ve tıbbi amaçlarla da kullanılan avokado meyvesi, içeriğinde bulunan biyoaktif maddeler ve tekli doymamış yağ asitleri sayesinde kanser tedavisi için önemli bir tedavi alternatifi sunmaktadır.

Çalışmamızda Fuerte ve Hass türündeki avokado ekstraktlarının yumurtalık kanseri hücre hattında (SKOV-3) gösterdiği sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bu doğrultuda SKOV-3 hücre hattında Hass ve Fuerte türü avokadolarının et ekstraktlarının sitotoksik etkileri MTT yöntemi ile incelendi. Hass ve Fuerte türü ekstraktlarının $IC_{50}$ değerleri apoptotik etkinin incelenmesi için Gerçek Zamanlı PZR yöntemi kullanılarak araştırıldı.

Farklı dozlarda uygulanan Hass ve Fuerte ekstraktlarının 24. saatte $IC_{50}$ değerleri sırası ile 142,3 µg/ml ve 123,2 µg/ml olarak belirlendi. MTT deneyi sonucunda 48. saatte doza ve zamana bağlı anlamlı bir sonuç gözlemlenmedi. SKOV-3 hücre hattında bulunan $IC_{50}$ değerleri ile uygulanan Hass ve Fuerte ekstraktları BAX/BCL-2 oranını arttırdı. Hass ekstraktı uygulanan SKOV-3 hücrelerinde BAX/BCL-2 oranı 1,28 kat, Fuerte ekstraktı uygulanan hücrelerde ise BAX/BCL-2 oranı 1,35 kat arttı. Apoptoz mekanizmasında görev yapan genlerden olan Sitokrom-c geninin ifadesi de Hass ekstraktı verilen SKOV-3 hücrelerinde 2,74 kat, Fuerte ekstraktı verilen hücrelerde ise 4,94 kat artış gösterdi.

**Anahtar Sözcükler:** yumurtalık kanseri, skov-3, avokado, apoptoz, persea americana

**Tezin sayfa adedi:** 78

**Danışman:** Prof.Dr. Sefa KIZILDAĞ

# IN VITRO INVESTIGATION OF APOPTOTIC EFFECTS OF HASS AND FUERTE AVOCADO (PERSEA AMERICANA) EXTRACTS

**Master Thesis**

**Dilan ULUKAYA**

**DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCES INSTITUTE**
**Department of Medical Biology**

## ABSTRACT

Ovarian cancer is a deadly form of cancer that occurs in the ovaries, which are a crucial part of the female reproductive system. It's diagnosis is challenging due to the lack of specific symptoms in the early stages and the absence of distinctive signs for this cancer, leading to often late diagnosis. The likelihood of developing ovarian cancer increases with age, and despite positive responses to initial treatment, the cancer frequently recurs at high rates. Drug resistance observed in ovarian cancer patients significantly reduces survival rates, prompting the search for alternative treatments. The avocado fruit, which has been used for medicinal purposes since ancient times, offers a significant alternative for cancer therapy due to its bioactive compounds and monounsaturated fatty acids.

This study aims to investigate the cytotoxic and apoptotic effects of Fuerte and Hass avocado extracts on the SKOV-3 ovarian cancer cell line. To this end, the cytotoxic effects of Hass and Fuerte avocado extracts on the SKOV-3 cell line were evaluated using the MTT assay. The $IC_{50}$ values of Hass and Fuerte extracts were determined for examining apoptotic effects using Real-Time PCR.

At the 24. hour mark, the $IC_{50}$ values of Hass and Fuerte extracts were found to be 142.3 µg/ml and 123.2 µg/ml, respectively. No significant results were observed in the MTT assay at the 48. hour mark in relation to dose and time. The Hass and Fuerte extracts applied to the SKOV-3 cell line with the determined $IC_{50}$ values increased the BAX/BCL-2 ratio. The BAX/BCL-2 ratio was 1,28 fold change in SKOV-3 cells treated with the Hass extract, and 1,35 fold change in cells treated with the Fuerte extract. Additionally, the expression of the Cytochrome-c gene, which is involved in the apoptotic mechanism, increased 2,74 fold change in SKOV-3 cells treated with the Hass extract and 4,94 fold change in cells treated with the Fuerte extract.

**Keywords:** ovarian cancer, skov-3, avocado, apoptosis, persea americana

**Page number:** 78

**Advisor:** Prof. Dr. Sefa KIZILDAĞ

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Vücut içerisinde bulunan sağlıklı hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi olarak adlandırılan kanser, dünya çapındaki yüksek insidansı ve ölüm oranına sahip olan hastalıklardan biridir. Tedavilerin etkisizliği ve ilaçların yüksek maliyetleri nedeni ile kanser tedavisi için yeni ilaç üretimi ve geliştirme alanlarında yoğun çalışmalar yapılmaktadır(1,2).

Yumurtalık kanseri; dişi üreme sisteminde en sık görülen, geç teşhis edilen ve diğer kanser türlerine göre daha fazla ölümle sonuçlanan bir kanser türüdür (3). Yumurtalık kanserinin riski yaşla doğru orantılı bir şekilde artmaktadır. 50 yaş ve üzerinde görülme riski önemli ölçüde artarken 30 yaş ve altında oldukça düşük bir görülme riski bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda yumurtalık kanserinin ortalama 50 ile 70 yaş arasında daha sık görüldüğü gösterilmiştir (4) Yumurtalık kanserinin hastalığa özgün olarak görülen bir semptomu olmamasına karşın hastaların birçoğunda görülen birbirine benzer semptomlar bulunmaktadır. Karın ağrısı, pelvik ağrısı, artmış karın büyüklüğü, yeme bozukluğu, kusma ve mide bulantısı gibi şikayetler hastalarda ortak olarak görülen semptomlara örnek oluşturmaktadır. Yumurtalık kanserinde ilk tedavi sonrasında yanıt oranı yüksek olmasına karşın hastalık tekrarlama göstermektedir (5). Özellikle ileri seviyede teşhis edilmiş hastalarda bu tekrarlama daha sık görülmektedir. Yumurtalık kanseri hastalarında kemoterapi sonrasında gelişen ilaç direnci tedaviyi oldukça zorlaştırmakta ve hastanın sağkalım oranını ciddi şekilde düşürmektedir(6)

Avokado (*Persea americana*), diğer meyvelerle kıyaslandığında benzersiz bir fizyolojiye ve besin içeriğine sahiptir. Avokadolar büyük bir adet çekirdeğin etrafında kremsi dokuda yenilebilen bir meyve eti ve bazen pürüzlü bir yapıya sahip olan kalın bir kabukla kaplıdır. Avokado içerisinde bulunan besin maddeleri ve biyoaktif bileşenler sağlık açısından birçok fayda göstermektedir(7). Avokado içeriğinde %76 gibi yüksek oranda doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri bulunmaktadır. Avokado içerisindeki yer alan yağ asitlerine örnek olarak %47-60 oranı arasında oleik asit, %13 oranında linoleik asitler ve yaklaşık olarak %24 oranında palmitik asit bulunmaktadır (8) Yapılan çalışmalar sonucunda avokado tüketilmesi ile kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet ve kanser gibi hastalıkların riskini azaldığı görülmüştür(9) Meyve ve sebze tüketiminin insanlarda kanser riskini

azaltabileceği, çoğu araştırmalar sonucunda kabul edilmektedir. Avokado, birçok ülkede geleneksel tıpta tümör tedavisinde kullanılmakta ve insan hücrelerinde kemoprotektif bir etki göstermektedir (2).

Avokado içeriğinde yüksek oranda bulunan tekli doymamış yağ asitleri kanseri önlemek açısından oldukça önemlidir. Avokado ile yapılan kanser çalışmalarında tekli doymamış yağ asitlerinin ağız ve farenks kanseri, pankreas kanseri ve mesane kanseri üzerinde etkili rol oynadığı görülmüştür. Aynı zamanda prostat kanseri riskinin avokado içeriğinde bulunan tekli doymamış yağ asitlerinin alımının artmasıyla azaldığı da yapılan bir başka çalışma sonucunda rapor edilmiştir (10).

Bu çalışmada insan yumurtalık kanseri SKOV-3 hücre hattında, Hass ve Fuerte türü avokadoların meyve eti ekstraktlarının apoptotik bir etki gösterip göstermediği araştırıldı. Bu amaca bağlı olarak Hass ve Fuerte avokado ekstraktlarının SKOV-3 hücre hattı üzerinde göstermiş olduğu etkiyi görebilmek için belirli konsantrasyonlarda doz uygulamaları yapıldı. Bu uygulamalar sonucunda ekstraktların antiproliferatif ve apoptotik etkileri araştırıldı.

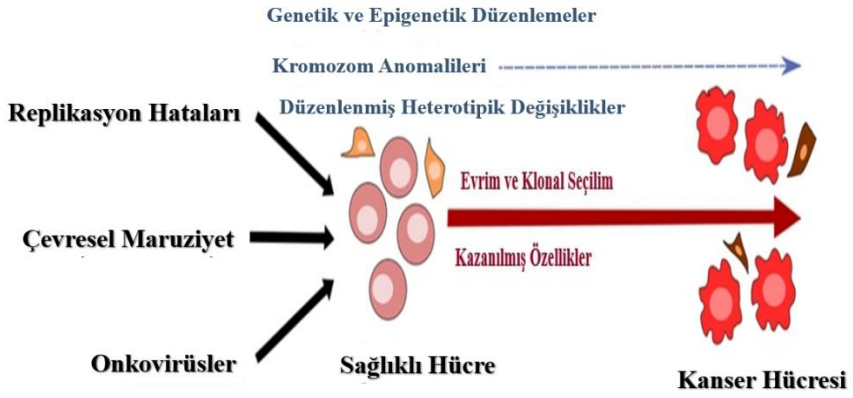
En son aşama olarak Hass ve Fuerte avokado ekstraktlarının apoptotik etkisinin araştırılması için pro-apoptotik ve anti- apoptotik genlerin gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi kullanılarak ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler araştırıldı.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1 Kanser

Dünya genelinde kalp hastalıklarından sonra en büyük ölüm sebeplerinden biri kanserdir (11). Yapılan istatistiksel analizlere göre; 2030 yılına kadar 23.6 milyon yeni kanser hastası görülmesi beklenmektedir (12). Kanserin en yüksek görülme yüzdesi erkeklerde prostat, akciğer, bronş, kolon ve mesane olarak sıralanırken kadınlarda meme, akciğer, bronş, kolon, rahim ve tiroid kanseri olarak sıralanmaktadır (13). Vücut içerisinde bulunan normal hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi kanser olarak adlandırılmaktadır (11). Normal hücrelerin neoplastik bir bölünme şekli göstermesi ve bunun sonucunda malign tümörler oluşturması, kanserin en temel özelliklerinden biri olarak tanımlanmaktadır (Şekil 1).

Kanser, hücre - hücre ilişkisini ve hayati genlerin işlevlerini bozmaktadır. Bunun sonucunda hücre döngüsü sekteye uğradığından hücre anormal bir bölünme göstermektedir (14). Kontrolsüz bölünme sonucunda ise anormal yeni hücreler görülmekte; bu anormal hücrelerin bir araya gelmesiyle de tümör adı verilen doku parçaları oluşmaktadır (11).




**Şekil 1.** Sağlıklı bir hücrenin kanser hücresine dönüşümü (15)

Kanserin oluşmasında hücre DNA'sında görülen ve genellikle ardışık olan mutasyonlar serisi önemli bir etmen kabul edilmektedir. Öte yandan sigara tüketimi, radyasyon, viral enfeksiyonlar ve bakteri kontaminasyonu gibi çevresel etmenler de kanser oluşumunda etkili rol oynamaktadır (12). Bu fizyolojik ve çevresel etmenler hücre içerisindeki sitoplazmayı ve çekirdeği etkileyerek hücre fonksiyonlarında

düzensizliğe ve DNA'da mutasyonlara sebep olmaktadır (16). DNA'da görülen bozulmalar sonucunda kanser hücreleri komşu dokulara da yayılma göstermekte ve metastaza yol açmaktadır (17). Karsinom, lösemi, sarkom, lenfomalar ve merkezi sinir sitemi olarak kanser beş sınıfta incelenmektedir (11). 2022 yılında Hanahan'ın yayınlamış olduğu makale sonucunda kanser hücrelerinin göstermiş olduğu sekiz temel özelliğin yanına fenotipik plastisite, senesens hücreler, polimorfik mikrobiyomlar ve mutasyonel olmayan epigenetik programlama özelliklerinin de eklenmesi ile 14 temel özellik literatürde görülmektedir (Şekil 2) (14).




**Şekil 2.** Kanserin temel özellikleri (16)

Kanser tanısı ve tedavinin potansiyel başarısını açıklamak için mutasyona uğrayan genleri ve gen ürünleri olan proteinlerin belirlenmesi büyük bir önem taşımaktadır (17). Kanser tedavisinde kullanılan cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve immünoterapi gibi yöntemler hastaların hayat kalitesini düşürmekte ve olumsuz yan etkiler görülmesine sebep olmaktadır. Bunun sonucunda yan etkileri daha az ve etkisi daha fazla olan tedaviler geliştirilmeye devam edilmektedir (18).

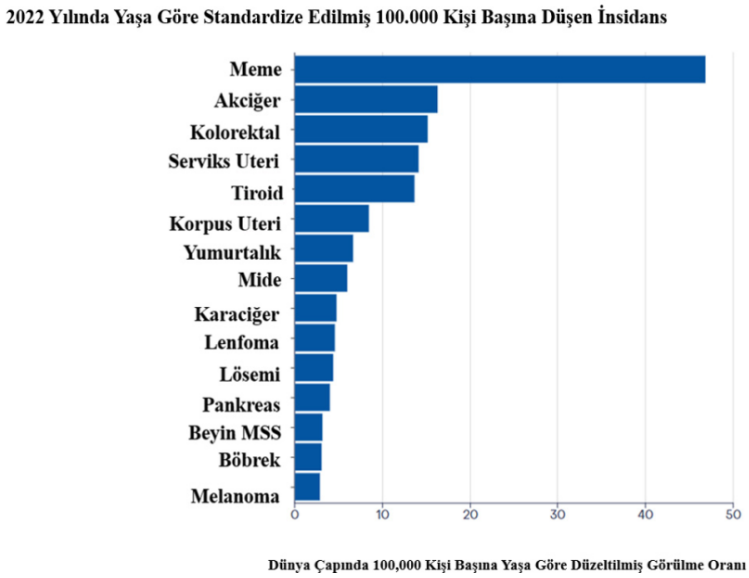
## 2.2 Yumurtalık Kanseri

Yumurtalık kanseri; kadınların üreme sisteminde en sık görülen, geç evrelerde teşhis edilen ve kötü prognozu ile karakterize olan malign tümörlerden biridir (6). Yumurtalık kanseri, kadınlarda en fazla görülme sıkılığı olan 7. kanser türüdür (4). Yumurtalık kanseri dişi üreme sisteminde görülen diğer kanser türlerinden daha fazla ölüme sebep olmakta ve kadınlar arasındaki kanser ölümleri sıralamasında 6. sırada yer almaktadır (3). Endometrium kanserinden sonra ülkemizde kadınlarda en sık görülen jinekolojik kanser türü yumurtalık kanseridir (19).

Yumurtalık kanseri olgularının %70'i metastazın görüldüğü geç evrelerde teşhis edilmektedir. Yumurtalık kanseri metastazı klasik kan yolu ile gerçekleşen metastaz yerine asit oluşumu sonucunda peritoneal dolaşım yoluyla meydana gelmektedir. Peritoneal boşluk boyunca, omentum, karaciğer ve akciğer parankimi dokularında yumurtalık kanseri metastazı görülmektedir (20).

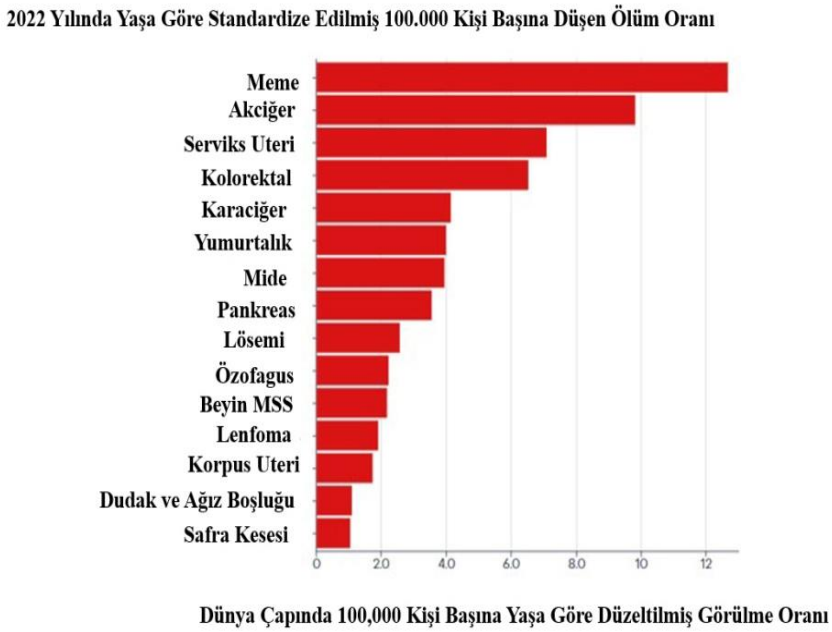
### *2.2.1 Yumurtalık Kanserinin İnsidansı ve Risk Faktörleri*

Kolon, akciğer ve mide kanseri ile karşılaştırıldığında hastalık sonucu ölümlerde önemli bir yer tutan yumurtalık kanseri için Global Cancer Observatory 2022 yılında yayınladığı istatistiklerde 324,603 vaka bildirilmiştir (Şekil 3)(21,22)




**Şekil 3.** Dünya genelinde yumurtalık kanserinin görülme oranı (GLOBOCAN 2022 verilerinden türkçeleştirilmiştir) (22)

Vakaların 184,799'u ölümle sonuçlanmıştır. Bu veriler sonucunda hastalığın insidansı 100,000 kişi de 6.6 ve mortalite olarak da 3.9 olarak bildirilmiştir (Şekil 4) (21).

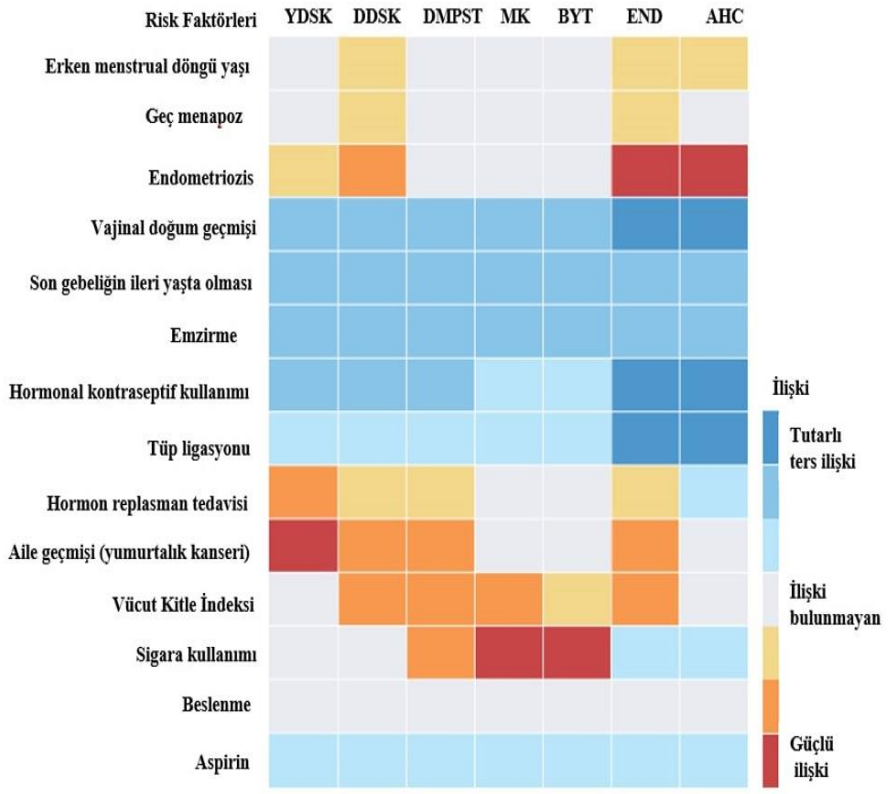



**Şekil 4.** Dünya genelinde yumurtalık kanserinin ölüm oranı (GLOBOCAN 2022 verilerinden türkçeleştirilmiştir) (22)

Yumurtalık kanserinin insidansı ve riski yaşla beraber artmaktadır. 50 yaş ve üzerinde riskler dramatik bir şekilde artarken, 30 yaş ve altındakilerde nadir olarak gözlemlenmektedir. Hastalığın teşhisi ortalama olarak 50 ile 70 yaş arasında yapılmaktadır (4,23).

Genetik faktörler, yaş, menapoz sonrası hormonal tedavi, kısırlık, erken menarş başlangıcı, geç menapoz, uzun süreli emzirme ve daha önce hiç doğum yapmamış (nulliparite) olmak yumurtalık kanser riskini arttıran faktörlerden bazıları olarak sayılmaktadır (3,24).

Polikistik over sendromu, ailede meme kanseri öyküsü ve sigara kullanımı da yumurtalık kanseri riskini arttıran faktörler olarak sayılmaktadır. Bunun yanı sıra birden fazla doğum (multiparite), kombine oral kontraseptif kullanımı ve çeşitli cerrahi yaklaşımların (salpenjektomi, histerektomi ve tubal ligasyon vb) yumurtalık kanserinde risk düşürücü bir rol oynadığı saptanmıştır (Şekil 5) (19)




**Şekil 5.** Yumurtalık kanseri türlerinde görülen risk faktörleri (25) Şekil içerisinde risk faktörleri; yüksek dereceli seröz karsinom, düşük dereceli seröz karsinom, Düşük malign potansiyelli seröz tümörler, Müsinöz kanser, Borderline yumurtalık tümörleri, Endometrioid kanser ve Açık hücreli kanser türlerinde gösterilmiştir.

Yumurtalık kanserinin en büyük risk gruplarından biri olan genetik faktörler, hastalığın görülme yaşında ve prognozunda çok etkin rol oynamaktadır. Bir akrabada yumurtalık kanseri öyküsünün saptanması, bir kadının yaşam boyu yumurtalık kanseri geliştirme riskini %5'e çıkartırken iki akraba varlığında bu risk %7'ye yükselmektedir (5).

Yumurtalık kanseri gelişme riski, genetik faktörlerin karmaşık bir etkileşimi tarafından belirlenen bir süreçtir. Özellikle germ hattında yanlış eşleşme tamiri (MMR) genleri, BRCA1 ve BRCA2 mutasyonları, yumurtalık kanserinin temel genetik risk faktörleri olarak öne çıkmaktadır ve bu mutasyonları taşıyan bireylerin %17'sinde tespit edilebilmektedir. Bu genler; hücre döngüsü kontrolü, apoptoz ve genomik istikrar gibi temel biyolojik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır. BRCA mutasyonlarının gen içindeki konumu, mutasyon türü, nükleotid pozisyonu ve

mutasyonun fonksiyonel sonucuna göre yumurtalık kanseri gelişimi riski etkilenmektedir (26).

Genetik faktörlere bağlı olarak gelişen yumurtalık kanserlerinin yaklaşık %10'u özellikle BRCA1 veya BRCA2 genlerindeki germ hattı mutasyonlarına dayanmaktadır. BRCA1 mutasyonu taşıyan kadınların yumurtalık kanseri geliştirme riski %36 ila %46 arasında değişirken BRCA2 mutasyonu taşıyan kadınların riski %10 ila %27 arasında değişmektedir. Bu genetik mutasyonlar, ailede meme veya yumurtalık kanseri öyküsü olmayan kadınlarda da sıklıkla gözlemlenmekte; bu da genetik faktörlerin geniş kapsamlı etkisini vurgulamaktadır (27). BRCA1 mutasyon taşıyıcılarının 70 yaşına kadar olan yumurtalık kanseri geliştirme olasılığı %40 ila %50 arasında değişirken BRCA2 için bu oran %10 ila %20 arasında değişmektedir. Yumurtalık kanseri teşhisi konmuş kadınlar arasında normal tip BRCA1 ve BRCA2 genlerine sahip hastaların mutasyon taşıyan hastalara göre sağkalımında artış görülmüştür. Mutasyonların görüldüğü genler de sağkalım süresi ile doğrudan ilişki içerisindedir. BRCA2 mutasyonları taşıyan hastaların BRCA1 mutasyonu taşıyan hastalara göre sağkalımı çok daha fazla olduğu saptanmıştır (28).

Genetik olarak gelişen yumurtalık kanseri genellikle BRCA1/BRCA2 mutasyonları veya Lynch sendromlu hastalarda ortaya çıkmaktadır (29).

Germ hattında görülen BRCA2 gen mutasyonları meme, yumurtalık ve prostat kanserinde yatkınlık oluşturmaktadır (30).

### *2.2.2 Yumurtalık Kanseri Semptomları*

Yumurtalık kanserinde spesifik olarak görülen semptomlar olmamakla birlikte hastaların çoğunda görülen semptomlar birbirine benzerlik göstermektedir. Hastaların tanı konulmadan önce altı aydan uzun süren karın ağrısı, pelvik ağrısı, artmış karın büyüklüğü, yeme zorluğu, mide bulantısı ve kusma, ishal, kabızlık ya da bağırsak tıkanıklığı gibi şikayetleri olduğu gözlemlenmiştir (24).

Semptomların bir ay içerisinde 12 günden fazla sürmesi yumurtalık kanserinin erken evrede teşhis edilmesinde %56.7 ve ilerlemiş evre yumurtalık kanseri için ise %79.5 oranında tanı konulmasında doğruluk sağlamaktadır (5).

Yumurtalık kanseri, semptomların şiddetli bir şekilde artması sonucu müdahale gerektirdiği durumlarda teşhis edilmektedir. Geç tanılanan hastalık kanserin ileri seviyelerinde (III. veya IV. evre) tespit edilmektedir (24).

### *2.2.3 Yumurtalık Kanseri Tanı Ve Teşhisi*

Hastalığın geç teşhisi yumurtalık kanserinin kötü prognozu ile doğrudan ilişkilidir. Tanısal testler, radyografik görüntüleme (transvajinal ultrasonografi, MR, PET, BT, abdominal ultrasonografi) yapılarak yumurtalık kanseri tanısı konulmaktadır. Görüntüleme prosedürlerinden biri olan transvajinal ultrasonografi tümörün benign ve malign olarak sınıflandırılmasında büyük rol oynamaktadır (31,32). Yumurtalık kanseri ve gastrointestinal tümörün ayırıcı tanısında bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR) cihazı kullanılmaktadır (27).

Klinikte rutin olarak tespit edilen yumurtalık kanseri vakalarında moleküler belirteç olarak kanser antijeni 125 (CA125), karsinoembriyonik antijen (CEA), insan epididimal salgı proteini 4 (HE4), karbonhidrat antijeni 19-9 (CA19-9), mezotelin, α-fetoprotein, PARP, FRα, TP53, HRD, BRCA1/2 ve AXL kullanılmaktadır (33).

Bu belirteçler arasından en çok kullanılanı, müközin 16 (MUC16) tarafından kodlanan bir glikoprotein olan CA125 epitelyumdan kana salgılanmaktadır. CA125'in yapılan çalışmalar sonucunda onkojenez ve metastazda önemli roller oynamadığı görülmüştür (32). CA125 seviyesi 35 U/ml'den yüksek olan postmenopozal kadınların malignite riski taşıdıkları kabul edilmiştir (34).

Tümör hakkında daha detaylı bilgi edinilmesi açısından hastalardan laproskopik cerrahi ile tömörün uzaklaştırılması önemlidir. İşlem sonrası tümörden alınan örneklere yapılan histopatoloji muayenesi yumurtalık kanseri için altın standart olarak değerlendirilmektedir. Ancak benign ve malign tümörlerde yapılan işlemlerin farklılığı önemlidir. Bu sebeple işlem öncesinde preoperatif görüşler çok önemli rol oynamaktadır (31).

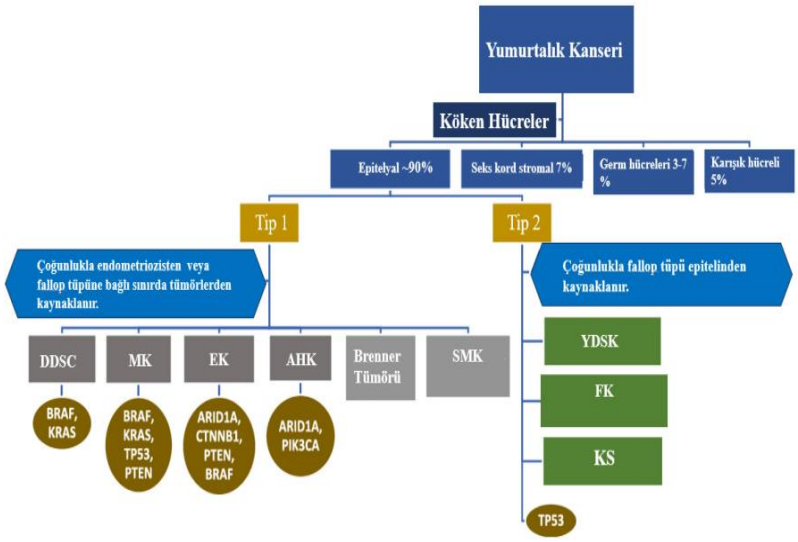
Yapılan çalışmalar sonucunda biyobelirteç olarak yumurtalık kanserinin tanı konmasında eksiklikler bulunmuştur. Biyobelirteç olarak kullanılan CA125 sadece tümör varlığında değil aynı zamanda gebelik, yumurtalık kistleri, endometriozis vakalarında da yüksek seviyelerde olduğu gözlemlenmiştir. Hatta yumurtalık kanseri erken evrede teşhis edilen vakaların %50'sinde yüksek değerde CA125 tespit

edilmemiştir. Bu eksiklikler sonucunda son yıllarda çoklu biyobelirteç panelleri geliştirilmiştir. HE4 proteini, ultrason sonuçları ve menopoz durumu gibi moleküler biyobelirteçler ile birlikte kullanılarak tanı doğruluğunun arttırılması hedeflenmektedir (5,34).

### *2.2.4 Yumurtalık Kanseri Türleri*

Yumurtalık kanseri en az beş farklı histolojik türe ayrılabilmekte ve bundan dolayı da tek bir hastalık olarak sayılmamaktadır. Bu alt türler; risk faktörleri, köken hücreleri, mutasyonlar, moleküler bileşimleri, klinik özellikleri ve tedavi şekillerine göre farklılıklar göstermektedir (35). Hastalığın evresine bağlı bir şekilde yönetilen yumurtalık kanserinde, her bir tipin farklı varyasyonlar içermesinden kaynaklı olarak tümörlerden alınan örneklerin histolojik tür sınıflandırılması yapılarak ilerlenmesi önem taşımaktadır (23).

Yumurtalık kanserinin üç ana tipi bulunmaktadır. Bunlar; epitelyal, germ hücresi ve seks kord /stromal şeklinde sınıflandırılmaktadır (4). Bu üç tip dokudan gelişen kanser epitelyal hücrelerden yaklaşık %85 ila %95, stromal hücrelerden %5 ila %8 ve germ hücrelerinden %3 ila %5 şeklinde gelişim göstermektedir (Şekil 6) (5) En yaygın görülen yumurtalık kanseri epitelyal yumurtalık kanseridir ve yumurtalık kanseri vakalarının %90'ını oluşturmaktadır (23). Epitelyal yumurtalık kanseri kendi içerisinde histolojik olarak dört alt gruba sahiptir. Seröz, endometrioid, müsinöz, açık hücreli olarak adlandırılan bu alt gruplardan seröz tümörler kendi içerisinde yüksek dereceli seröz karsinomlar (YDSK) ve düşük dereceli seröz karsinomlar (DDSK) olarak ikiye ayrılmaktadır (36,37).




**Şekil 6.** Yumurtalık kanseri türleri ve görülen gen mutasyonları (23).

DDSK, müsinöz kanser, düşük dereceli endometrioid kanser ve açık hücreli kanserler Tip I grubunda yer almaktadırlar. Tip I grubu tümörler genellikle yavaş büyüme gösteren ve diğer tiplere göre genetik olarak daha stabil bir yapıya sahiptirler. KRAS ve BRAF gen mutasyonları Tip I gurubu tümörlerinde sıklıkla görülmektedir. Yüksek dereceli endometrioid kanser, farklılaşmamış karsinomlar ve karsinosarkomlar Tip II olarak gruplanmaktadır. Bu tümörler agresif bir süreç izlerler ve genetik instabilite göstermektedirler. Tip II gurubunda sıklıkla p53 gen mutasyonları görülmektedir (35).

En yaygın şekilde görülen epitelyal tümörleri, YDSK (%70) oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra endometrioid kanserler %10, açık hücreli karsinomlar %10, düşük dereceli karsinomlar <%5 ve müsinöz kanserler ise %3'ünü kapsamaktadır (6).

### *2.2.5 Yumurtalık Kanseri Evrelemesi*

Yumurtalık kanseri evrelemesi, hastalığın ilk teşhisi sırasında yapılan cerrahi işlemler sonucunda Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO)'nun belirlediği evreleme sistemi kullanılarak yapılmaktadır (24). Tümör evrelemelerinde sıklıkla kullanılan TNM sınıflandırılması, FIGO sınıflandırılmasına da karşılık gelmektedir (27). Tablo 1' de sınıflandırılma kriterleri belirtilmiştir.

Epitelyal yumurtalık kanseri görülen vakaların %70'i III. veya IV. evrede teşhis edildiğinden kötü bir prognozla ilişkilendirilmektedir (5). Ancak teşhis edilen grupta olan tümörler kendi içlerinde aynı histolojik tipe ait olsalar bile farklı prognozlar ve moleküler alt tipler olarak görülebilmektedirler (38). Hastaların sağkalım süreleri yumurtalık kanserinin hangi evrede teşhis edildiği ile doğrudan ilişkilidir. FIGO evrelerinde I ve IIA'ya denk gelen, erken teşhis edilen tümörlerin beş yıllık sağkalım oranları %80 ve üzerinde olduğu görülmüştür. Öte yandan IIB ve IV'e kadar olan ileri seviyede teşhis edilebilen tümörlerde bu oran %40'ın altına kadar inmektedir (27,28).

**Tablo 1.** Yumurtalık kanserinin FIGO sınıflandırılması (39)

| **EVRE** | | | |
|---|---|---|---|
| I | Overde sınırlı tümör | | |
| | **IA** | Tümör tek overe sınırlı, kapsül intakt, peritoneal yıkama sıvısında veya asitte tümör hücreleri yok | |
| | **IB** | Tümör her iki overde, kapsül intakt, peritoneal yıkama sıvısında veya asitte tümör hücreleri yok | |
| | **IC** | Tümör bir yada iki overde, malign hücre içeren asit yada yıkama sıvısı var, kapsül rüptüre | |
| II | Pelvik yayılımlı bir yada iki overi içeren tümör | | |
| | **IIA** | Uterus ve/veya tubalara yayılım ve/veya implant | |
| | **IIB** | Diğer pelvik dokulara yayılım | |
| III | Bir ya da iki overi içeren tümör ile birlikte pelvis dışına peritoneal yayılım ve/veya (+) retroperitoneal lenf nodu tutulumu | | |
| | **IIIA** | | |
| | | **IIIA1** | Pozitif retroperitoneal lenf nodu (sitolojik veya histolojik verifiye) |
| | | **IIIA2** | Mikroskopik ekstraperitoneal yayılım +/- pozitif retroperitoneal lenf nodu |
| | **IIIB** | Peritonda 2 cm'yi aşmayan makroskopik yayılım, +/- pozitif retroperitoneal lenf nodu | |
| | **IIIC** | Peritonda 2 cm'yi aşan makroskopik yayılım +/- pozitif retroperitoneal lenf | |
| IV | Uzak metastaz | | |
| | **IVA** | Plevral effüzyonda (+) sitolojinin gösterilmesi | |
| | **IVB** | Parankimal metastaz ve ekstra abdominal organlara metastaz | |

Mutasyonlar arası görülen sağkalım süresi farklılıklarının sebebi BRCA2 geninde oluşan mutasyonların platin bazlı kemoterapilere olan duyarlılığı

arttırmasıdır. Bu artan duyarlılık sonucunda tedaviye daha etkili olumlu bir yanıt alınmaktadır (24).

### *2.2.6 Yumurtalık Kanseri Tedavileri*

Yumurtalık kanserinin ilk evrelerindeki standart tedavi sitoredüktif cerrahi ve kombinasyon kemoterapisidir. Kombinasyon kemoterapisinde etkili bir şekilde kullanılan ajanlar platin analoglarına (cisplatin veya carboplatin) taksel (paklitaksel veya dosetaksel ) eklenmesidir (6).

Platin bazlı kombinasyon kemoterapiye yanıt açısından musinöz tümörler; seröz ve endometriyal tümörlere göre daha az olumlu yanıt vermektedir (27). Seröz tümörlerin içinde yer alan düşük dereceli ve yüksek dereceli seröz tümörler hastalık progresyonu ve platin bazlı kemoterapiye birbirlerinden farklı yanıt vermektedir. DDSK daha sakin bir hastalık seyri izlemekte ve genellikle platin direnci göstermektedir (6).

İlk tedaviye yanıt oranı %80-90 olmasına rağmen çoğu hastada kanser nüksetmektedir. İleri evre kanser teşhisi alan hastalar için kanserin nüksü oldukça yaygın bir şekilde görülmektedir. Bu hastaların tedavisinin en zorlayıcı kısmı ise ilk kemoterapi sonrasında platin direncinin gelişmesidir. Bu dirençle beraber hastaların beş yıllık sağ kalımları %45'in altına düşmektedir (40).

Ulusal Kapsamlı Kanser Ağı (NCC)'nın yayınlamış olduğu kılavuza göre dirençli yumurtalık kanseri için kullanılabilecek birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Ancak direnç mekanizmalarının karmaşıklığı sebebiyle sağkalım süresi 12 aydan kısa sürmektedir (41).

Yumurtalık kanseri tedavisi için günümüzde geliştirilen yeni ajan ve terapötikler, hücre döngüsü üzerine yoğunlaşmaktadır. DNA hasarı meydana gelen hücrelerin kendi onarım mekanizmasından biri olan hücre döngüsünün duraklatılması ve hücre döngüsü kontrol noktalarının aktive edilmesi hasarın DNA onarım mekanizması ile tamir edilmesini sağlamaktadır. Yüksek dereceli seröz yumurtalık kanserinde görülen p53 gen mutasyonu hücre döngüsünün G1/S kontrol noktasında fonksiyon kaybına neden olmaktadır. Hücre döngüsünde görülen bu bozulma G2/M kontrol noktasının duraklatılması ile yeni bir tedavi fırsatı yaratmaktadır (42).

Tekrarlayan yumurtalık kanserinin tedavisinde son zamanlarda poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) inhibitörleri, anti-anjiyogenez ajanları ve immünoterapi ajanları kullanılmaya başlanmıştır. Bu ilaçlar kanser hücrelerinin proliferasyonu, tümör boyutunun büyümesi ve bağışıklık gözetiminden kaçma ile ilgili olan moleküler yolakları kapsamaktadır (43).

## 2.3 Apoptoz

Embriyonik gelişim süresince aktif olan hücre bölünmesinin dışında, hücre farklılaşması ve büyümekte olan dokuların organları oluşturmasının da temelleri atılmaktadır. Çok hücreli canlıların yaşamı, hücrelerinin çoğalması ve en sonunda da ölümü ile ilerlemektedir (44).

Eski Yunanca "apo´pto´sis" kelimesinde günümüze gelen apoptoz, “bir çiçeğin taç yapraklarının dökülmesi” veya “sonbaharda bir ağaçtan yaprakların dökülmesi” anlamına gelmektedir (45). Apoptoz terimi; genomik DNA’nın parçalanması ve bir hücreden “apoptotik cisimlerin” oluşumunu tanımlamak için 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmıştır (46).

Toksinler, hücresel stres, onarılamaz DNA hasarı, kontrolsüz proliferasyon ve matriks ayrılması apoptozu tetikleyen başlıca etmenlerdir (15). Apoptoz mekanizmasının indüklenmesinde birçok hücre organeli rol oynamaktadır. Bu organeller arasında hücre zarı, mitokondri, endoplazmik retikulum, golgi, lizozom, çekirdek ve sentrozom bulunmaktadır (44).

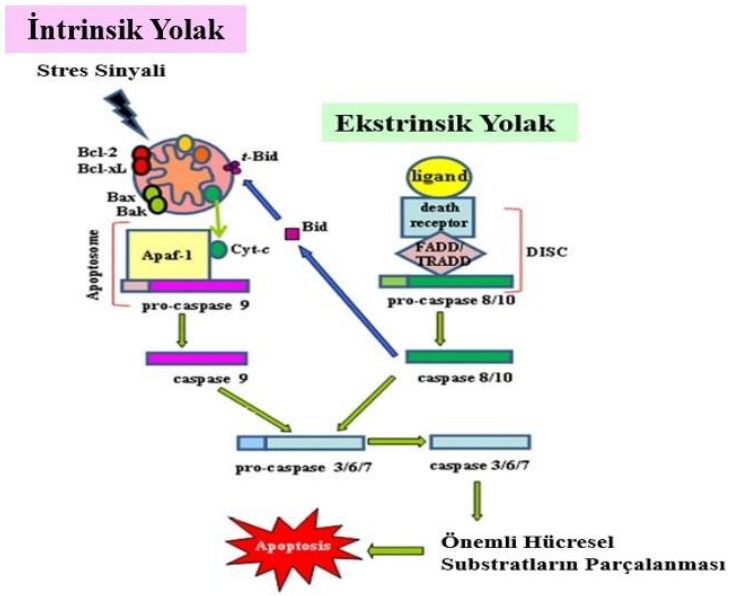
Sitoplazma, çekirdek ve hücre zarını içeren bir dizi biyokimyasal ve fiziksel değişiklik apoptoz ile ilişkilidir. Apoptozun erken aşamalarında hücreler komşu hücreler ile temasını kaybetmekte ve yuvarlak bir şekil alarak küçülmektedir. Sitoplazmada, endoplazmik retikulum genişlemekte ve çekirdekte kromatin yoğunlaşarak kompakt kütleler halinde birleşmektedir. Oluşan bu kütleler endonükleazlar tarafından kesilmekte ve agaroz jel elektrofezi yöntemi kullanılarak incelendiğinde “DNA merdiveni” formunda görülmektedir (45).

Apoptotik hücrelerin morfolojisinde karakteristik bir sitoplazma büzülmesi ve hücre membranın tomurcuklanması görülmektedir. Fosfatidilserinin hücre zarının dışına eklenmesi makrofajlar tarafından apoptotik hücrelerin tanınması ve apoptotik hücrenin fagositozu için önemlidir (47).

Apoptotik bir hücre ölümü altı basamakta görülmektedir. Bu basamaklar;

1. Apoptozun tetiklenmesi
2. Proapoptotik hücrelerin aktive olması
3. Kaspazların aktive olarak hedef proteinlerin kesilmesi
4. Hücresel organellerin parçalanması ve yeniden yapılandırılması
5. Apoptotik cisimlerin oluşturulması
6. Komşu hücreler veya makrofajlar aracılığı ile hücrenin fagositoz için hazırlanması (44).

Apoptoz mekanizması birçok sinyal yolağı ile ilişkilidir. Hücre içerisinde hem kaspaz aracılı ekstrinsik hem de intrinsik yollar aracılığı ile apoptoz indüklenebilmektedir (Şekil 7).




**Şekil 7.** Apoptoz yolakları (47)

Bu iki yol sonucunda kaspazlar olarak bilinen proteaz ailesi üyeleri olan sisteinil ve aspartat özgül proteazlar aktifleştirilmektedir. Kaspazlar, apoptozun başlatılması ve hücresel bileşenlerin kesilmesi işlevlerinde görev alan poretin ailesidir. Kaspaz 2, 8, 9 ve 10 başlangıç mekanizmasında görevliyken 3, 6, ve 7 kesimde rol oynamaktadır (47).

Reseptör aracılığı ile ya da ekstrinsik yol olarak da adlandırılan apoptoz, hücre zarında bulunan reseptörlere dış hücre ligandlarının bağlanması ile indüklenmektedir.

Bu reseptörler ölüm reseptörleri olarak bilinen FAS (Apo-1 ve CD95) ve tümör nekroz faktörü reseptörü (TNF-R)'dür. Ekstrinsik yol başlatıcı kaspazlar olan kaspaz 8 ve 10'un DISC'e gönderilmesini sağlar ve ayrıca bu kaspazlar infaz kaspazlarını da aktive ederek hedef bölgelerin kesilmesini başlatmaktadır (45).

Mitokondriyal ya da intrinsik yolak olarak adlandırılan diğer yolda ise hücre içerisindeki oksidatif stres seviyesi, onarılamaz genetik hasar, hipoksi, mitokondriyal dış zarın geçirgenliğinde (MOMP) oluşan artış gibi içsel uyarıcılar rol oynamaktadır (15). Pro-apoptotik proteinler olan BAX, BAK'ın etkinleşmesi anti-apoptotik proteinler olan Bcl-2, Bcl-XL gibi proteinleri nötralize etmektedir. Bu sayede mitokondriyal dış zarında bozulma meydana gelmektedir. Bunun sonucunda mitokondriyal proteinler sitoplazmaya yayılmaktadır. Bu proteinlerin arasında sitoplazmadaki mitokondri bağımlı ölümü aktive etmede önemli rol oynayan sitokrom-c gibi apoptojenik faktörler bulunmaktadır (47). Sitokrom-c, Apoptotik Proteaz Aktivasyon Faktörü-1 (Apaf-1)'e bağlanmaktadır. Bu kompleks görevli kaspazları indükleyerek hücre içi yıkımı başlatmaktadır (45).

Hücrenin apoptoza girmesinin belirlenmesi için anahtar nokta pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin arasındaki dengeye dayanmaktadır. DNA hasarı sonucunda indüklenen apoptoz erken aşamada ön kanserli dokularda mutasyonlu hücreleri engellemek açısından etkin bir rol oynamakta ve tümör büyümesini engellemektedir. Bu düzenin bozulması, kontrolsüz hücre proliferasyonunda kanserin gelişimi ve ilaç direnci tedavileri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle apoptozun düzensizliği kanserin temel özelliklerinde yer almaktadır (47).

Kanser hücreleri, apoptozdan çeşitli mekanizmalar kullanarak kaçmayı başarmaktadır. Kanser hücresi içerisinde p53 genini inaktif hale getiren mutasyonlar hücrenin birçok apoptotik uyarana karşı yanıtsız kalmasına yardımcı olmaktadır. Anti-apoptotik proteinlerin artması ve epigenetik yollarla pro-apoptotik genlerin kaybı da tümörlerde görülen değişikliklerdir. MOMP oluşmasında kanser hücrelerinde kaspaz aktivitelerinin de inhibe edildiği görülmüştür. Kanser hücrelerinde apoptoz, evrimsel olarak uyum sağlamayan hücrelerin popülasyondan uzaklaştırarak kanserin ilerlemesine ve seçilmiş koşullarda uygun olan klonların hakimiyet sağlamasında etkili olmaktadır. Bu değişikliklerin kanser hücrelerinde tümör sağkalımını sağladığı

bilinmektedir ancak bu tümörlerin tüm apoptotik sinyallere karşı duyarsızlaştığı kanısını da düşündürmemelidir (15).

## 2.4 Avokado (*Persea Americana*)

### *2.4.1 Avokadonun Tarihçesi*

Avokado Milattan Önce (MÖ) 7000 ile 5000 yılları arasında Güney-Orta Meksika'dan geldiği bilinen bir meyvedir. Arkeolojik kanıtların en eskisi, Peru'da MÖ 750 yılına ait Inka mumyalarında görülen avokado tohumlarıdır. Bu tohumlar incelendiğinde, tohumların kültüre edildiği ve kültüre alınmaya MÖ 500'lü yıllarda başlandığı gözlemlenmiştir (48,49).

### *2.4.2 Avokado Tür ve Bitki Özellikleri*

Avokado; Plantae krallığına, Lauraceae ailesine, Laurales takımına ve Perseal cinsine ait çift çenekli bir bitkidir (50). Botanik olarak sınıflandırıldığında avokado meyvesi tek büyük çekirdek içeren bir çilek türü olarak karşımıza çıkmaktadır (51). 50 cins ve 2500-3000 türden oluşmakta olan avokado "timsah armudu, tereyağı meyvesi ve avocato" gibi farklı adlandırılmalar ile anılmaktadır (48,52). Avokado adının Aztek dilinde bulunan "ahuacatl" ve "ahoacaquahuitl" kelimelerinden gelmekte olan isminin "avokado" olarak daha kolay telaffuz edilmesi Sir Henry Sloane'a atfedilmektedir. İsmi İspanyolcadan türemiş ve "Amerikan armudu" anlamına gelmektedir (53). Avokado Maya, Olmec ve Antik Aztek kültürlerinde "Tanrının armağanlarından biri" olarak benimsenmektedir (48). Bu kültürlerde avokadonun yaprak, meyve, çekirdek, çiçek ve filizlerinin hem gıda hem de tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir (52).

Yeşil tropik iklim meyvelerinden biri olan avokado, köken olarak Güney ve Orta Amerika'nın Meksika ve Guatemala Bölgeleri'nin dağlık alanları ve Pasifik Okyanusu'nun kıyı bölgelerinden gelen bir meyvedir (54). İklim adaptasyonu ve soğuk toleransına göre bakıldığında don olaylarının çok sık yaşanmaması koşulunda avokado Akdeniz ikliminin görüldüğü birçok bölgede de yetiştirilmektedir (49). Tarih boyunca

birçok farklı isimle anılan avokado, Amerika'dan gelen tropikal bir meyvedir. Avokadonun birçok farklı ülkede üretimi yapılmaktadır (48).

Avokado ağacı Persea ve Oreodaphne olmak üzere iki alt türden oluşmaktadır. Botanik olarak *Persea americana* olarak adlandırılan avokadonun yaygın olarak tüketilen üç türü bulunmaktadır. Bunlar *P. americana var. Drymifolia* (Meksikan ekotipi), *P. americana var. Guatemalensis* (Guatemalan ekotipi) ve *P. americana var. Americana* (Batı Hindistan ekotipi)'dır. Üç avokado çeşidi benzer genomlara sahiptir fakat içerik bakımından farklılıklar göstermektedir (55).

Soğuk havaya en hassas olan çeşit, Doğu Hindistan tipi -2$^{o}$C'ye kadar dayanabilmektedir. Bu tip avokadoların meyveleri iri ve içerdiği yağ oranı ise %5 ile %10 arasında değişim göstermektedir. Guatemala tipi avokadoların %8 ile %20 arasında değişen bir yağ içeriği bulunmaktadır ve bu meyveler -4$^{o}$C'ye kadar dayanabilmektedirler. Aralarında soğuğa karşı en toleransı olanı ise Meksika tipi avokadodur ve -6$^{o}$C'ye kadar dayanabilmektedir. Meyveleri diğer çeşitlere göre küçüktür ve yaprakları anason kokuludur. Meyvenin yağ oranı ise %28'e kadar çıkabilmektedir (54).

Avokado meyvesinin ağaçları yalnızca sıcak iklimlere dayanabilen ve tropikal yaprak dökmeyen ağaçlardır. Genellikle yayvan ancak belli durumlarda ise dikine bir uzama gösteren avokado ağaçları, uzunluk olarak ortalama 6 ile 20 metreye kadar ulaşabilmektedir. Kalın, kabuklu, grimsi renkte gövdeye ve geniş yapraklara sahiptir (56,57).

Döllenme biyolojisi olarak diğer bitkilerden oldukça farklı olan avokado hem dişi hem de erkek üreme organına sahiptir. Bu iki üreme organına da sahip olan avokado iki organı da aynı zamanda etkin bir şekilde kullanamamaktadır. Avokado ağacında bulunan çiçekler iki eşeyli bir açılma düzeni göstermektedirler. Çiçekler ilk açıldıklarında hep dişi organları aktif olmaktadır. Bu safhada çiçeğin erkek organından herhangi bir polen saçılımı yapılmamakta olup bu aşama "Dişi Safha" olarak adlandırılmaktadır. Çiçek kapanıp ertesi gün tekrar açıldığında ise erkek organ aktif olarak polen saçılımı yaparken dişi organ kullanılmaz. Bu aşama ise "Erkek Safha" olarak adlandırılmaktadır. Avokadoda görülen bu durum "Senkronoiz Dikogami" olarak adlandırılmaktadır. Erkek ve dişi organların olgunlaşması farklı zamanlarda görülse de günün hep aynı saatlerinde gerçekleşmektedir. Çiçek tipleri bakımından

avokado çeşitleri iki gruba ayrılır. A ve B tipi olarak adlandırılan bu sınıflandırmada A tipi çiçekler ilk günün sabahında dişi, bir sonraki günün öğleden sonrasında ise erkek safhasındadır. B tipi çiçekler ise ilk günün öğleden sonrasında dişi, ertesi sabahında ise erkek safhasında görülmektedir. Avokado meyvesinde görülen bu döllenme biyolojisi sonucunda döllenmeden en yüksek verimin elde edilebilmesi adına A ve B tipi çiçeklere sahip olan çeşitlerin birlikte dikilmesi önerilmektedir (57).

### *2.4.3 Avokado Çeşitleri*

En çok bilinen avokado çeşitleri Fuerte, Hass, Bacon ve Zutano'dur (57). Fuerte çeşidi Meksika ile Guatemala ırklarının melezi olup 1911 yılında bulunmuştur. Yapraklarında anason kokusu vardır ve B tipi çiçek yapısına sahiptir. Çiçeklenme zamanı Mart ayından Mayıs ayının ilk haftasına kadar sürmektedir. Fuerte çeşidinin hasat zamanı Kasım ayıdır ancak meyveler Nisan ayına kadar ağaçta kalabilmektedir. Meyve ağırlığı 170-500 g arasında değişiklik göstermektedir (Şekil 8). Antalya koşullarında ise meyve ağırlığı ortalama olarak 300 g'ı bulmaktadır. Fuerte çeşidinin meyve etinin yağ oranı %19-20 değerlerinde görülmektedir (54).



**Şekil 8.** Fuerte türü avokadonun yaprak, et ve çekirdek yapısı (58)

Hass çeşidi, Meksika ve Guatemala tiplerinin melezlenmesiyle 1935 yılında üretilmiştir. A tipi çiçek yapısına sahip olup Mart ayından Mayıs ayının sonuna kadar çiçeklenmeye devam etmektedir (Şekil 9). Genel olarak Hass çeşidinin meyve ağırlığı 140-400 g arasında görülürken Antalya'da ortalama 160-180 g olarak ölçülmüştür. Hass çeşidi avokadonun meyve kabuğunun rengi diğer türlere göre koyu (siyahımsı

mor), kabuk yüzeyi pütürlü ve meyve eti koyu sarı renktedir. Hass çeşidinin hasat zamanı Şubat ayı olarak bilinmektedir ancak Haziran ayına kadar meyveler ağaçta kalabilmektedir. Hass çeşidi avokadonun meyve yağ oranı %15-17 değerleri arasındadır (54)



**Şekil 9.** Hass türü avokadonun yaprak ve çekirdek yapısı (58)

Bacon çeşidi, 1928 yılında Meksika ve Guatemala tiplerinin melezlenmesi sonucunda elde edilmiştir. Yapraklarında anason kokusu bulunan bu çeşit B tipi çiçek yapısına sahiptir. Hasat için en uygun zaman Kasım ve Aralık ayları ortasıdır. Meyve ağırlığı 170-510 g arasında olan Bacon çeşidi avokado, Antalya şartlarında yetiştiğinde 250-260 g olduğu belirtilmektedir. Bacon çeşidi avokadonun, meyve eti yağ oranı %15-16 arasındadır (57)

Zutano çeşidi, Meksika ve Guatemala tiplerinin 1926 yılında melezlenmesi ile oluşturulmuş bir türdür. B tipi çiçek yapısına sahiptir. Hasat için olgunlaşma zamanı Kasım ve Aralık ayları önerilen bu çeşidin, meyve ağırlığı 200-400 g arasındadır. Antalya koşullarında yetiştirilen Zutano çeşidi avokadoların 280-290 g ağırlığında olduğu görülmüştür. Zutano çeşidinin meyve eti yağının %15-18 değerleri arasında olduğu rapor edilmiştir (54)

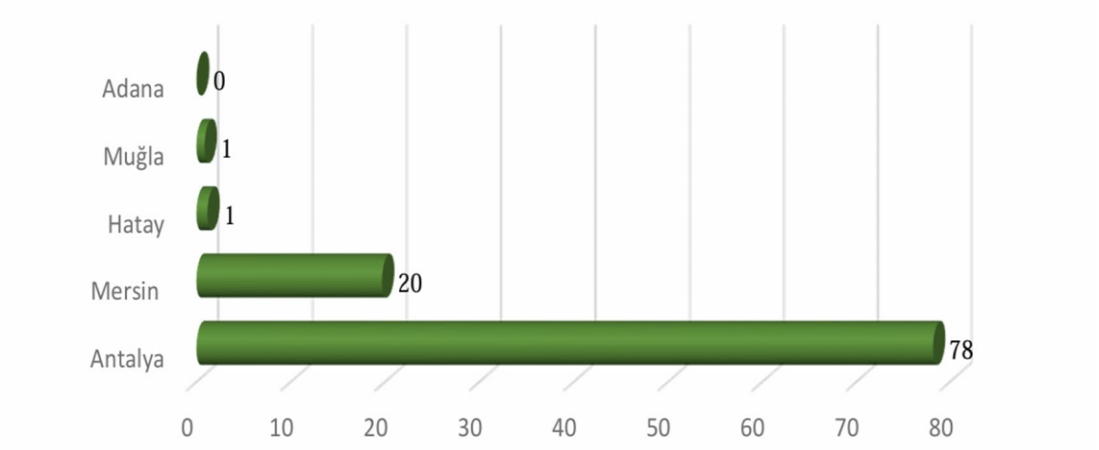
### *2.4.4 Avokado Ticareti*

Ticari anlamda en çok bilinen ve pazarlanan avokado çeşitleri Hass ve Fuerte çeşitleridir. Günümüzde Hass avokado en küresel çeşittir. Ülkemizde de ekili

alanlarında ve üretiminde önemli bir artış görülmektedir (48,56). Yüksek lipit içermesi sayesinde avokado gıda, kozmetik ve farmasötik gibi alanlarda yaygın bir kullanıma sahiptir (59).

Avokadonun mevcut ticari çeşitleri üç ırkın melezlenmesi ile üretilmektedir (52). 2022 yılı Gıda ve Tarım Örgütü (GTÖ) verilerine göre dünyada 65 ülke avokado üretmektedir (49). Meksika, Dominik Cumhuriyeti, Peru, Endonezya, Kolombiya, Brezilya ve Kenya gibi ülkeler dünyada en fazla avokado üretimi yapılan ülkeler olarak sıralanmaktadır. Avokado üretiminde en önde yer alan Meksika, dünya ihracatında %60'lık bir oranı temsil etmektedir (53,56).

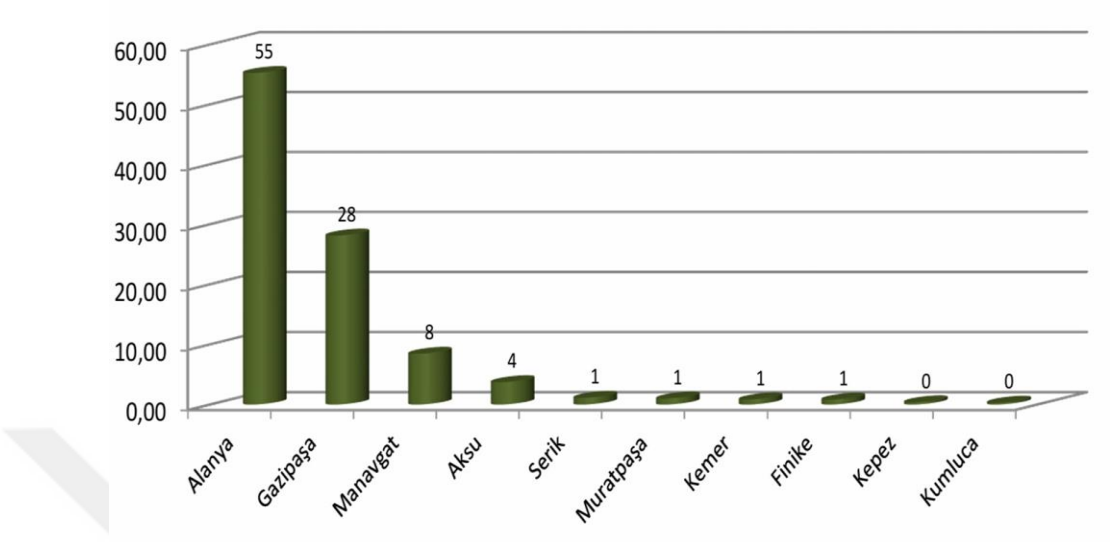
Türkiye'ye ilk olarak 1970'li yılların başında Kaliforniya'dan Fuerte, Hass, Bacon ve Zutano kültürleri getirilmiş olup bu türlerin ancak 1980'li yıllarında adaptasyonunun sağlandığı görülmüştür. Yapılan adaptasyon çalışmaları sonucunda 1980'li yıllarda avokado yetiştiriciliği özellikle Antalya ve çevresinde hızla yaygınlaşmıştır. 1988 yılında Türkiye'nin toplam avokado üretimi 100 ton ve üretim alanı 25 hektar iken ilerleyen yıllarda üretim ve ekim alanı giderek büyümüştür (Şekil 10) (48)




**Şekil 10.** Türkiye'de 2022 yılında iller bazlı avokado üretim yüzdesi (%) (49)

Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 2010 yılında yayınladığı araştırmada; avokado üretiminin %75-80'nin Antalya ve bölgesinde, %15-20'sinin Mersin'de ve %2-5'nin Muğla ve Hatay illerinde yapıldığı rapor edilmiştir (Şekil 11). Ülkemizde avokado üretiminde en önemli yere sahip olan Antalya ilinin üretim miktarları ilçelerine göre

incelendiğinde en fazla üretimin %55,25'inin Alanya ilçesinde gerçekleştiği görülmektedir. İkinci sırada ise %28,12 oranında Gazipaşa izlemektedir (49).




**Şekil 11.** Antalya ilçelerinde 2017-2021 yılları ortalama avokado üretiminin yüzdesel (%) dağılımı (49)

Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2019 verilerine göre ise Türkiye'de avokado üretimi 2017 yılında 2.765 ton iken, 2018 yılında 3.164 tona çıktığı belirtilmiştir. 2018 yılındaki avokado üretiminin 2.567 tonunun Antalya, 496 tonunun Mersin, 79 tonunun Muğla ve 22 tonunun ise Hatay illerinde üretildiği rapor edilmiştir (52). 2019 yılında avokado üretimi 4.209 tona ve üretim alanı 949 hektara ulaşmıştır (48).

Antalya'da en çok üretilen avokado çeşitleri Fuerte ve Hass'dır. Yağ oranının %16,26 olması sonucunda diğer ülkelerde yetiştirilen avokadolardan daha fazla olması sebebiyle Alanya'da yetişen Fuerte çeşidi "Alanya Avokadosu" olarak coğrafi işaret kazanmıştır. Alanya Ticaret ve Sanayi Odası tarafından 15/10/2018 tarihinde Alanya Avokadosu coğrafi işareti tescil ettirilmiştir. Bu tescil kapsamında olan coğrafi alan, Antalya ilinin Alanya ve Gazipaşa ilçelerini kapsamaktadır (49).

Türkiye'de Akdeniz Bölgesi'nde avokado üreticiliğine uygun ekolojik alanların olması, avokadonun ülke ekonomisine önemli avantajlar sağlamasında etkin bir rol oynamaktadır. Bunun yanı sıra iklim ve çevre koşullarının ülkemizde belirli bölgelerde sınırlı kalması ve üreticilik tecrübesinin fazla olmaması, avokado üretimi açısından diğer ülkelerle kıyaslandığında oldukça düşüktür. Türkiye'de üretilen

ortalama avokado miktarı 2017-2021 yılları arasında GTÖ verilerine göre 5.028 ton olup dünya üretiminin %1'den daha az kısmını oluşturmaktadır. Ülkemizde avokado üretimin büyük bir çoğunluğu iç pazarda tüketilmekle birlikte son yıllarda İran, Suriye, Azerbaycan, Rusya, Gürcistan, Ukrayna, Polonya ve Almanya gibi ülkelere Alanya ve Gazipaşa ilçelerinden ihracat yapılmaktadır (60).

### *2.4.5 Avokado Besin İçeriği*

Avokado, birbirinden farklı biyolojik aktivitelere sahip birçok fitokimyasal içerir. Bu bileşenlerin biyoerişebilirliği ve farmakokinetiğini anlamak meyvenin insan biyolojik sistemi üzerindeki etkilerini anlamak için en önemli basamaklarından biridir. Birçok farklı cinsi bulunan avokado oldukça kompleks bir bileşime sahiptir. Meyvenin besin içeriği; çeşit, olgunluk derecesi ve yetiştirilme koşullarına (rakım, ekoloji, toprak yapısı vb.) bağlı şekilde değişiklik gösterebilmektedir (59,61).

Bitkisel kaynaklarda bulunan biyoaktif bileşenler, bitkinin büyümesi ve gelişmesi gibi farklı fonksiyonlarda etkili olan ikincil metabolitlerdir. Avokado farklı kimyasal sınıflardan gelen geniş bir ikincil metabolit içeriğine sahiptir. Bu metabolitler kimyasal olarak sınıflara ayrılabilmektedir. Bunlar; yağ alkolleri, furan türevleri, karotenoidler, karbonhidratlar, diterpenoidler, fenolik bileşikler (flavonoidler ve lignanlar dahil olmak üzere flavonoid olmayanlar) ve çeşitli bileşikler olarak sınıflandırılabilmektedir (61).

Avokado, riboflavin, niasin, folat, pantotenik asit, magnezyum, kükürt, demir ve potasyum elementlerinin yanında iyi bir C, K, E ve B grubu (B2, B3, B5, B6,B9) vitamin kaynağıdır. Ayrıca fizyolojik ve hücresel aktivitelere etki ederek sağlığı olumlu şekilde etkileyen lutein, β-karoten, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri gibi biyoaktif bileşenlerini içerir (51).

Avokado içeriğinde bulundurduğu provitamin A, E ve C vitamini gibi çeşitli vitaminler serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin azalmasını sağlayarak antioksidan işlevi gösterir (48). Bunların dışında karotenoid antioksidanlardan glutatyon, lutein, antraksantin, neoksantin, violaksantin fenolik antioksidanlar ve fitosteroller içermektedir. Avokadonun meyve etinde bol miktarda bulunan oleik asit meyvenin karakteristik içeriği olarak ifade edilmektedir (53). Meyve içeriğinde bulunan karotenoitler ve tokoferoller çoğunlukla avokado meyvesinin etinde yoğunluk

gösterirken polifenoller; meyve eti, kabuk, tohum ve yapraklarda dağılmış halde bulunmaktadır (52).

Avokado içerisinde bulunan protein düzeyi yaklaşık %2 kadarken bu oran diğer pek çok meyvede %1'dir. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı'na göre ortalama bir avokado porisyonunda diğer meyvelere kıyasla önemli ölçüde daha fazla glutatyon içermektedir (51). Üçlü peptit yapısında olan glutatyon oksidatif stres ve kanser riskinin azaltılmasında ayrıca detoksifikasyon yollarında önemli rol oynayan güçlü bir antioksidandır (59).

Avokado meyvesinin çekirdeği ve kabuğu meyvenin yaklaşık %21-30'unu temsil etmektedir. Meyve eti ise meyvenin yaklaşık %65-75 kadarını oluşturmaktadır (48). Avokado meyvesinin içeriğinin belirlenmesi için yapılan çalışmalarda; avokado meyve etinin; %67-78 nem, %13.5-24 yağ, %0.8-4.8 karbonhidrat, %1.0-3.0 protein, %0.8-1.5 kül ve %1.4-3.0 oranında lif içerdiği görülmüştür. Meyvenin kabuk içeriği %62-73.3 karbonhidrat, %4-8.3 proteinler, %4.4-9.1 lipid, yaklaşık %7.3- 9.1 oranında ise lif olarak belirtilmiştir (52).

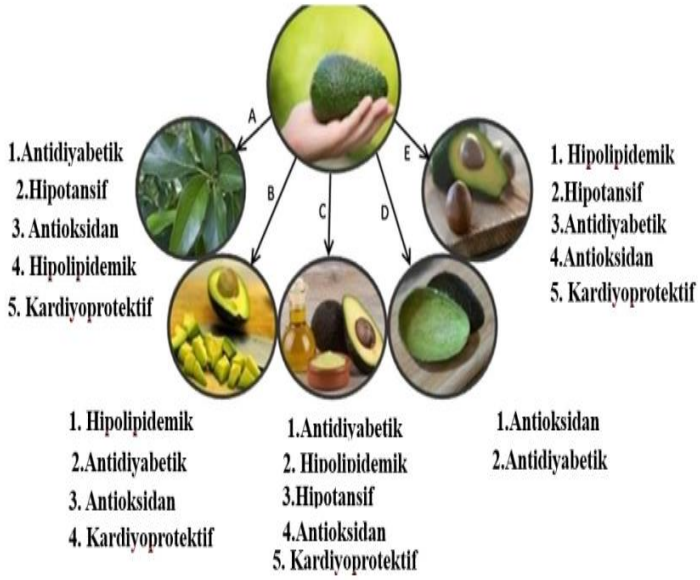
Antalya'nın Alanya ilçesinde yetiştirilen avokadolarda Hass ve Fuerte çeşitlerinin yüksek oranda fenolik içerik ve antioksidan kapasiteye sahip oldukları belirtilmiştir (53). Alanya'da yetiştirilen Hass ve Fuerte çeşitlerinin meyve içeriğinde ve yapraklarında bulunan fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmada, en yüksek toplam fenolik madde içeriği Fuerte çeşidinin yaprak ekstraktlarında görülürken en düşük içerik ise Hass çeşidinin meyve eti ekstraktlarında gözlemlenmiştir. Antioksidan kapasite olarak en yüksek değer ise Fuerte çeşidinin yaprak ekstraktlarında ölçülmüştür(49).

### *2.4.6 Avokado ve Sağlık*

Avokado meyvesi besin içeriği ve sağlık üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı süper gıda olarak bilinmektedir (52). Avokado tüketimi ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda sağlıklı bir yaşama vurgu yapılmaktadır. Oldukça geniş bir besin içeriğine sahip olması sebebiyle meyve içerisinde bulunan bileşiklerin insanlarda kolesterol düzeyinin korunması, obezite, diyabet, kalp hastalığı, bronşit, sindirim sıkıntıları, nörodejeneratif hastalıklar ve ölüm riskini azaltma gibi etkilerinin olduğu öne sürülmüştür (54). Avokado aynı zamanda sağlığa yararlı etkilerinden dolayı tıbbi

amaçlar için yetiştirilen bir meyvedir. Avokado sağlık açısından geleneksel olarak toplumlarda kullanılmakta olan bir meyvedir. Nijerya'da avokado yaprağı dekoksiyonu olarak tümör ve ilişkili olan hastalıkların tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (51). Aynı zamanda Meksika'da yara izleri, döküntüler ve hatta dizanteri gibi hastalıkların tedavisinde avokado çekirdeği yağı halk arasında geleneksel olarak kullanılmaktadır. Panama, Jamaika, Brezilya ve Endonezya gibi Orta ve Güney Amerika'da bulunan diğer ülkeler avokado ağaçlarının yapraklarını hipertansiyon hastalığını dengelemek için kullanmışlardır (56).

Avokadonun yaprak ve meyve etinin antiülser, antiinflamatuvar, antifungal, antibakteriyel, antidepresan ve oksidatif strese karşı koruyuculuk gösterdiği yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar sonucunda görülmüştür (Şekil 12) (62)Meyvenin içeriğinde bulunan yağ alkollerinin antiviral, antifungal, sitotoksik etki gösterdiği ve β-sitosterol'ün de kanser oluşumunu baskılama ve bağışıklık sistemini güçlendirdiği bildirilmiştir (51).




**Şekil 12.** Avokado bölümlerinin farmakolojik etkileri (61)

Ultraviyole (UV) ışınlara sıkça maruz kalan cilt dokusu, oksidatif ve inflamatuar hasara maruz kalmaktadır. Avokado içerisinde bulunan karotenoidlerin bu hasarla mücadele ederek sağlıklı bir cilt görünümünde etkisi olduğu yapılan çalışmalar sonucunda gözlemlenmiştir. Deride bulunan karotenoid konsantrasyonunun yapılan

çalışmalar sonucunda doğrudan sebze ve meyve alım düzeyi ile bağlantılı olduğu da araştırmacılar tarafından savunulmaktadır (52).

Avokado meyvesi içeriğinde bulunan doymamış yağlar beyin hücre zarlarının esnekliğine katkı sağlamaktadır ve avokado yapısında yüksek miktarda folat içermektedir. Alzheimer hastalığı için önemli bir faktör olan folat, beyindeki yumakların oluşumunun önlenmesinde rol almaktadır. Ayrıca folat, DNA ve diğer hücre bileşenlerinin sentezinde aldığı rol sebebiyle hücre bölünmesi aşamalarında da oldukça önemli bir yere sahiptir. Avokadonun antidepresan etkisinde de folat etkili bir rol almaktadır. Folat seviyesi yüksek gıdaların depresyon riskini azaltması, avokadonun antidepresan etkisini de göstermektedir. Folat, vücut içerisinde besin maddeleri ve kanın beyne ulaşmasını engelleyebilecek olan aşırı homosistein oluşumunu önlemeye de yardımcı olur (48). Homosistein, temel amino asit olan metioninin sülfür içeren bir metabolitidir. Homosistein, homosistin ve karışık disülfidlerin bir kombinasyonu olan total homosistein plazma ve serumda ölçülmektedir (63,64). Vücut içerisinde fazla miktarda bulunan homosistein, serotonin ve dopamin hormonu üretimini ve ayrıca uyku ve iştahı da düzenleyen norepinefrin üretimini de baskılayabilmektedir. Bu sebeple vücuda alınan folat miktarı ve homosistein ile folat dengesi önemlidir (48).

Lutein ve zeaksantinin vücuda alımı yaşla birlikte azalmaktadır. Kadınlarda bu miktar daha da düşük seviyelerde görülmektedir. Avokado meyvesinde oldukça yüksek miktarlarda bulunan bu ksantofiller doğal bir antioksidan görevi görmektedir. Özellikle katarakt ve sarı nokta hastalığı gibi göz hastalıklarından da korunmayı sağlayan lutein, avokadonun göz sağlığına da katkıda bulunduğu sonucunu göstermektedir. Yarım avokado meyvesi içeriğinde 185 μg lutein/zeaksantin kombinasyonu bulunduğu yapılan araştırmalar sonucunda gözlemlenmiştir (52).

Polifenollerin serbest radikal oluşumunu önleme ve bunun sonucunda oksidatif stres üzerinde düşürücü etki göstermesinin yanı sıra bu sayede kan basıncını düşürme, endotel fonksiyonunu iyileştirme, trombosit agregasyonu ve düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu inhibe ederek kalp ve damar sistemi üzerinde yararlı etkiler göstermesi sebebiyle avokado meyvesi kalp hastalıklarının riskini de azaltıcı bir yönde etki göstermektedir. Avokadonun kardiyovasküler hastalıkları önleyici ve iyileştirici etkisi olduğunu gösteren çalışmalarda, meyvenin K vitamini içermesinden kaynaklı

kanın pıhtılaşma süresini düzenlediği ve transaminazları azaltıcı etkisiyle karaciğer hastalarının tedavisinde de olumlu bir etkisi olduğu çalışmalar sonucunda bildirilmiştir (61).

Özellikle kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynayan doymamış yağ asitleri avokado içerisinde yüksek oranlarda bulunmaktadır ve sağlık açısından oldukça önemlidir. Avokado içerisindeki doymamış yağ asitlerinin kardiyovasküler hastalıklar üzerindeki etkileri araştırıldığında; avokado tüketen kişilerde tüketmeyenlere göre koroner kalp hastalık riskinin %21 ve kardiyovasküler hastalık riskinin ise %16 daha düşük olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir (54). Kardiyovasküler hastalıklar dışında tekli doymamış yağ asitleri diyabet hastalarında glisemik indeks kontrolünü iyileştirdiği görülmüştür (56). Yapılan çalışmalarda avokado yapraklarının da diyabeti önlemek için α-glukozidaz aktivitesi incelendiğinde; in vivo çalışmalar sonucunda avokado yapraklarının metanol ekstraktların erkek Sprague-Dawley sıçanlarında, α-glukozidaz enziminin aktivitesini inhibe ettiği bulgusu elde edilmiştir (52).

### *2.4.7 Avokado Ve Kanser*

Kanser oluşum riskini azaltmayı amaçlayan bir yaklaşım olarak çeşitli meyve, sebze, tahıllar ve baklagillerin tüketimini arttırma diyetle kanseri önleme stratejisidir. Birçok gıda bitki sekonder metabolitleri olarak da bilinen fitokimyasallar bakımından zengindir ve bunun sonucunda kanser risklerini azaltmakta etkili olduğu gözlemlenmiştir. 1940 ve 2010 yılları arasında geliştirilen birçok kanser karşıtı ilaçların neredeyse %75'i fitokimyasal bileşiklerin de dahil olduğu doğal kaynaklardan doğrudan ya da dolaylı yollardan elde edilmiştir (56).

Avokado meyvesi yapısında karotenoidler, terpenoidler, alkaloidler, tanenler, flavonoidler, saponinler, polifenoller, D-manno-heptuloz, persenon A ve B gibi kanser önleyici özelliklere sahip olduğu bildirilen çok çeşitli biyoaktif fitokimyasal içerektedir. Meyveden ekstrakte edilen bu fitokimyasalların spesifik olarak hücre döngüsünü durdurma, prekanseröz ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği gözlemlenmiştir (52).

Farklı avokado ekstraktları ve spesifik olarak izole edilen bileşikler kullanılarak kanser hücre hatlarında yapılan çalışmalarda apoptoz mekanizmasının kaspaz aracılı

indüksüyonu ve hücre döngüsünün farklı sinyal yolakları kullanılarak regüle ettiği ve durdurulduğu görülmüştür (51).

Avokadonun biyoaktif bileşenlerinden olan polifenollerin hücre içerisindeki serbest radikalleri bağlama kapasitesi ve antioksidan etki göstermesi aynı zamanda demiri indirgeme gücü, tümör hücrelerinin çoğalmasını sağlayan enzimleri baskılama kapasitesi de kanser riskinin azaltılmasında önemli rol oynamaktadır (62). Avokado tüketiminin kanser oluşumuna olası koruyucu etkisi in vitro çalışmalar ile sınırlıdır (65). Literatürde meme, kolon, karaciğer, akciğer, gırtlak, lösemi, yemek borusu ve prostat gibi kanser hücre hatları üzerinde avokadonun in vitro sitotoksik özellikler gösterdiği yapılan araştırmalar sonucunda gösterilmiştir(66). Avokado kabuklarından elde edilen prosiyanidin açısından zengin ekstraktların sağlıklı insan hücreleri HEK293 de sitotoksik bir etki göstermediğini ve güvenli bir bileşen olduğu görülmüştür. B16F10 fare melanoma hücre hattında ise sitotoksik etki gösteren ekstraktın tümör oluşumunu engellediği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (52).

Avokado ekstraktlarının sağlıklı hücre hatları üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar olumlu sonuçlar görülmesine dayanak sağlamıştır. MCF-12A hücre hattında 10 mg/ml'den az olan kabuk ekstraktı konsantrasyonlarının sitotoksik etki olarak anlamlı bir değişiklik göstermediği görülmüştür. Bir başka çalışma da ise avokado çekirdeklerinin lipit ekstraktlarının 150 µg'a kadar olan konsantrasyonlarının 48 saat süresince insan eritrosit hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiş ve sitotoksik bir etkiye rastlanmamıştır. Avokado kabuğu ekstraktının 24 saat boyunca 908.6 µg/ml konsantrasyona kadar L929 sağlıklı fare fibroblast hücrelerinde çok düşük bir sitotoksik etki gösterdiği görülmüş ve aynı çalışmada 8 ila 73 µg/ml konsantrasyon aralığında avokado ekstraktının normal metabolik aktiviteyi teşvik ettiği ve herhangi bir sitotoksik etki göstermediğine rastlanmıştır (56).

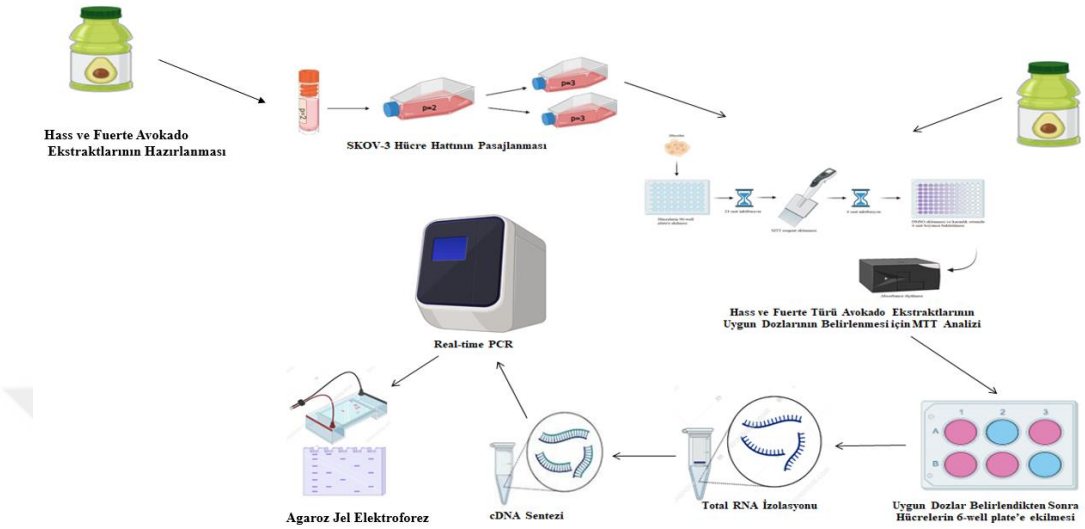
Avokado meyve etinde bulunan luteinin prostat kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ederek tümör oluşumunu durdurduğu ve oksidatif stresi azaltarak aynı zamanda meme kanseri için önemli bir tetikleyiciye karşı da etkili olduğu gözlemlenmiştir. Avokado tohumları ve kabuklarının metanol ekstraktlarının kullanıldığı bir çalışmada MDA-MB-231 hücrelerinde kaspaz-3 ve PARP aktivasyonunu gözlemlenmiştir (51). Bir başka çalışmada ise MDA-MB-231 hücrelerinde avokado çekirdeklerinin metanolik ve etanolik ekstraktlarının etkilerine bakılmış ve apoptozu indüklediği

sonucunda antikanser aktivitesi olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada avokado çekirdeğinin etanolik ekstraktının meme ve karaciğer hücrelerinde etkili bir sitotoksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (52).

Avokadonun tohum, yaprak ve endokarp bölümlerinin ethanol ekstraktlarının kullanıldığı bir çalışmada ise Jurkat hücrelerinde p53, kaspaz-3, apoptoz indükleyici faktör ve mitokondriyal membran depolarizasyonu yoluyla oksidatif stres bağımlı apoptozu aktive ettiği bulunmuştur. Literatürde avokadonun kanser hücre hatları üzerindeki etkilerinin araştırıldığı yayınlar incelendiğinde avokadonun çeşit bilgisi az sayıda yayınlarda rapor edilmiştir. Bu yayınlar incelendiğinde kanser çalışmalarında kullanılan en çok avokado çeşidinin Hass olduğu saptanmıştır. Hass avokado çekirdeklerinin metanol ekstraktlarının, LNCap hücre hattındaki etkisinin incelendiği bir çalışmada, hücre döngüsünü $G_0$ / $G_1$ fazında durdurduğu ve aynı zamanda hücre döngüsünde rol alan siklin D ve siklin E'nin aşağı regüle olduğu kanıtlanmıştır (51).

Avokado yapraklarından elde edilen yağın, OVCAR-5 hücrelerindeki antikanser potansiyeli değerlendirilmiş ve avokado yaprağının OVCAR-5 hücrelerinde sitotoksik bir etki göstermediği görülmüştür (56).

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM




**Şekil 13.** İş - akış şeması (Biorender kullanılarak yapılmıştır).

## 3.1 Araştırmanın Tipi

Deneysel, kontrollü bir araştırma yapılmıştır.

## 3.2 Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi'nde Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır. Araştırma Planı Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Araştırma planı tablosu

| İş Planı | Ocak | Şubat | Mart | Nisan | Mayıs |
|---|---|---|---|---|---|
| Literatür İncelemesi | x | | | | |
| Sarf malzemelerin alınması ve HücreKültürü Deney Setnin Kurulması | x | x | | | |
| SKOV-3 hücre kültürü çalışması | | x | x | | |
| Hass ve Fuerte Avokado Ekstraktlarının uygun dozlarının belirlenmesi | | | x | x | |
| Total RNA izolasyonu | | | | x | |
| mRNA – cDNA çevirimi ve Gerçek Zamanlı PZR | | | | x | x |
| İstatistiksel Veri Analizi | | | | | x |

### 3.3 Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Bu çalışma insan yumurtalık kanseri hücre hattı (SKOV-3) üzerinde çalışılacaktır.

### 3.4 Çalışma Materyali

Bu çalışmada yer alan SKOV-3 hücre hattı Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

### 3.5 Araştırmanın Değişkenleri

Bağımlı değişken, BAX, BCL-2, Sitokrom-c ve GAPDH gen ifadeleri.

Bağımsız değişken; Hass ve Fuerte ekstraktları olarak kabul edilmiştir.

## 3.6 Veri Toplama Araçları

### *3.6.1 Çalışmada Kullanılan Materyaller*

Çalışma kapsamında kullanılan cihazlar, sarf malzemeler, diğer malzemeler markalarıyla aşağıda belirtilmiştir.

#### *3.6.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Markaları*

**Tablo 3.** Çalışmada kullanılan cihazlar ve markaları.

| CİHAZLAR | MARKA |
|---|---|
| 4°C Buzdolabı | D8540SM Beko |
| Laminar Akışlı Biyogüvenlik Kabini | LN090 Nuve |
| Karbondioksit İnkübatör | EC160 Nuve |
| Mikroplate Okuyucu | Multi Scan Go, Thermo |
| Faz-Kontrast Mikroskop | CKX41 Olympus |
| Otomatik Pipet Seti | Eppendorf |
| Thermal Cycler | Eppendorf Mastercycler Nexus Sx1 |
| Vorteks | Labnet |
| Hassas Elektronik Tartı | Precisa 205 ASCS |
| -80°C Derin Dondurucu | Hettich |
| Santrifüj | Rotanta 460 R Hettich |
| Buharlı Sterilizatör | NC 90M |
| Santrifüj | 5453 Minispin Plus Eppendorf |
| -20°C Derin Dondurucu | Beko |
| Cobas Z480 | Roche |

### *3.6.1.2 Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Markaları*

**Tablo 4.** Çalışmada kullanılan malzemeler ve markaları.

| MALZEMELER | MARKA |
|---|---|
| RPMI 1640 with L-glutamine | Capricorn |
| FBS (Fetal Bovine Serum) | Biological Industries |
| PBS (Phosphate Buffered Saline) | Gibco |
| Penisilin/Streptomisin | Capricorn |
| Trypsin-Edta (0.25%), Phenol Red | Gibco |
| Filtre Kapaklı Hücre Kültürü Flaskları (25$cm^2$ -75 $Cm^2$) | Cellstar |
| DMSO (Dimetil Sülfoksit) | Panreac Applichem |
| 96, 6 Kuyucuklu Kültür Plakaları | Thermo |
| Serolojik Pipet 5 ml, 10 ml ve 25 ml | Isolab |
| 15 ml'lik ve 50 ml'lik Santrifüj Tüpleri | Isolab |
| MTT Hücre Canlılığı Test Kiti | SIGMA |
| Tripan Mavisi | Biological Industries |
| Agaroz | Prona Agarose Biomax |
| TBE10X | AppliChem Pancreac |
| Etidyum Bromür | Sigma-Aldrich |
| Kryojenik vial | Tarsons 523021 |
| High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kits | Thermo Fisher Scientific |
| PowerUp SYBR Green Mastermix | Thermo Fisher Scientific |
| RNA İzolasyon Kiti | Bio Basic |

### *3.6.2 Kullanılan Metotlar*

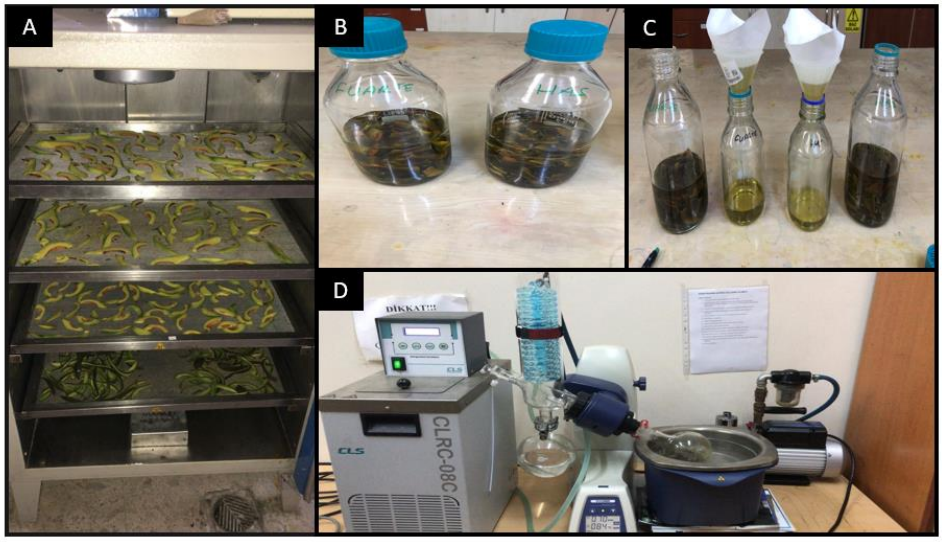
Kanser araştırmalarının ilk basamaklarında in vitro çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda kullanılan hücre hatlarının verilen maddelere olan tepkisinin tayin edilmesi ve gözlemlenmesi verilen maddenin kanser üzerindeki etkilerinin anlaşılması için önemli ilk veriler sunmaktadır. Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilen SKOV-3 yumurtalık kanseri hücre hattı kullanılmıştır. Hass ve Fuerte avokadolarının yaprak, çekirdek ve et kısımlarından total ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktlar liyofilizasyon sonrasında uygun koşullarda saklanmıştır. Hass ve Fuerte ekstraktlarının SKOV-3 hücre hattı için uygun dozlarının belirlenebilmesi adına sitotoksisite testi olan MTT testi yapılmıştır. MTT sonuçlarına göre $IC_{50}$ değerleri yapılan istatistiksel analizler sonucunda belirlenmiştir.

SKOV-3 yumurtalık kanserinde Hass ve Fuerte avokadolarının apoptotik etkilerinin incelenmesi için sırasıyla RNA izolasyonu, cDNA sentezi yapılmıştır. Pro-apoptotik ve apoptotik genlerin ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin analizi için gerçek zamanlı PZR yöntemi kullanılmıştır ve elde edilen Ct değerleri istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Gerçek zamanlı PZR yönteminde kullanılan primerlerin ve oluşan ürünlerin doğrulaması için PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi yöntemi kullanılarak %2’lik agaroz jelde görüntülenmiştir.

#### *3.6.2.1 Ekstraktların Elde Edilmesi*

Ekstraksiyon işlemi için Antalya’nın Alanya ilçesinden getirilen olgunlaşmış Hass ve Fuerte türü avokadolar kullanıldı. Ekstraktlar Ahmed ve diğ.'deki metot modifiye edilerek hazırlanmıştır (66). Avokadoların kabukları soyulduktan sonra meyve eti küçük parçalara ayrıldı. Bu parçalar, 50°C'de ve %20 bağıl nemde 24 saat boyunca kurutucuda bırakılarak kurutuldu. Kurutulan avokado parçaları, 100 gram olacak şekilde tartıldı ve üzerine 500 ml %70 etil alkol eklendi. Karışım, etüvün içine yerletirilen 100 rpm hızında çalışan mekanik çalkalayıcıyla karıştırılarak 50°C'de 24 saat süreyle inkübe edildi.




**Şekil 14.** Ekstraktların hazırlanma basamakları. A) Avokadoların kurutulması, B) Kurutulmuş avokadolara %70 etil alkol eklenmesi, C) Ekstraktların filtreden geçirilmesi, D) Alkolün uzaklaştırılması için evaporasyon işlemi yapılması basamakları şekilde gösterilmiş.

İnkübasyonun ardından, eluatı almak için tüm sıvı filtre kağıdından geçirildi ve elde edilen eluat +4°C'de saklandı. Supernatant üzerine tekrar 500 ml %70 etil alkol eklenip 50°C'lik etüvde çalkalayarak inkübasyon işlemi tekrarlandı. Tekrar süzme işlemi ile elde edilen eluatlar, önceki işlemde elde edilen eluatlarla birleştirildi. Bu karışım, etil alkolün uzaklaştırılması için rotary evaporatör cihazına aktarıldı ve yaklaşık 78°C'de alkol buharlaştırıldı. Geriye kalan sulu çözeltiler alüminyum folyo ile kapatıldı ve -15°C'de bir gece boyunca bekletildi. Çözelti içindeki suyun uzaklaştırılması için, liyofilizatör cihazında -50°C'de 3 saat süreyle liyofilizasyon işlemi yapıldı. İşlem sonunda elde edilen liyofilize ekstraktlar, Falcon tüplerine alınıp -20°C'de saklanmak üzere depolandı.

### *3.6.2.2 Hücre Hattının Çözülmesi*

-80$^{o}$C'de muhafaza edilen SKOV-3 hücre hatları 37$^{o}$C su banyosunda tüm buzları eriyene kadar tutuldu ve sonrasında 15 ml'lik falcona %10'luk FBS, %1'lik penisilin/streptomisin içeren RPMI 1640 besi yeri 9 ml eklendi. Kriyojenik tüplerde bulunan hücreler 15 ml'lik falkonlara eklendi ve 120 x g de 6 dakika santrifüj yapıldı.




**Şekil 15.** SKOV-3 hücre hattının inkübe edildiği inkübatör.

Supernatant kısmı atıldıktan sonra hücreler 1 ml %10'luk FBS, %1'lik penisilin/streptomisin içeren RPMI 1640 besiyerinde çözüldü. Hücrelerin ekimi yapılacak olan T25 flasklara 4 ml besi yeri eklendi ve 1 ml içerisinde çözünen hücreler T25 flasklara ekildi. Hücre kültürleri, 37ºC, %5'lik $CO_2$'li nemli ortamda (EC160 Nuve) tutuldu. Hücre ekiminden 24 saat sonra dondurma ortamında bulunan DMSO kalıntılarını uzaklaştırmak için besi yeri değişimi yapıldı. Hücreler kültür ortamında konfluensi sağlanana kadar çoğaltıldı.

### *3.6.2.3 Hücre Hattının Pasajlanması ve Dondurulması*

Kültür edilen hücre hatları inverted mikroskopta incelendi ve konfluensi kontrol edildi. İstenilen % 80 konfluensi oranı gözlemlendikten sonrasında pasaj işlemi yapıldı. Pasaj işlemi için flask içinde bulunan besi yeri vakum ile alındı. Sonrasında T25 flask için uygun hacim olan 1 ml 10X PBS çözeltisi flaskın içine eklendi ve yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi sonrası PBS uzaklaştırıldı ve T25 flask için uygun olan 1 ml hacimde %0,25 oranında Tripsin-EDTA eklendi ve T25 flask üzerinde gezdirildikten sonra inkübasyon için 37ºC'de 5 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında alınan T25 flask inverted mikroskopta incelenip hücrelerin

yüzeyden ayrılıp ayrılmadığı kontrol edildi. Sonrasında tripsin enzimini inaktive etmesi için T25 flaska 3 ml besi yeri eklendi. Flask içerisinde bulunan sıvı 15 ml'lik falkona alınıp 120 x g de 5 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatant tüpten uzaklaştırıldı, hücreler besi yerinde çözdürüldü ve 1:3 oranında seyreltilerek pasajları yapıldı. Deney devamlılığını sağlaması açısından SKOV-3 hücreleri her tüp için $1x10^6$ hücre olacak şekilde %90 FBS ve %10 DMSO olarak hazırlanan dondurma çözeltisi ile kriyojenik tüplere eklendi. 2 saat -20°C'de bekletildikten sonra tüpler -80°C'ye kaldırıldı.




**Şekil 16.** Hücre kültürü çalışmalarının yapıldığı biyogüvenlik kabini.

#### *3.6.2.4 Hass ve Fuerte Türü Avokado Ekstraktlarının Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması*

Ekstraktların hangi konsantrasyonlarda kullanılabilir olduğunun belirlenmesi için gerekli literatür taramaları yapıldı. Yapılan literatür taramaları dikkate alınarak uygun doz için çalışmalar yapıldı. Çalışmalar için kullanılacak dozlar 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 µg/ml olarak belirlendi ve sonrasında SKOV-3 hücre hattı hücreleri 96 kuyucuklu plaklara kuyu başına 10.000 hücre olacak şekilde ekildi. Hücre

ekiminden 24 saat sonra belirlenen Hass ve Fuerte avokado konsantrasyonları hücre besi yerlerine konuldu. %5 CO2 ayarlı inkübatörde 37°C sıcaklıkta 24 ve 48 saat bekletildi. Bu sayede hücrelerin yüzey bölgeye yapışmaları sağlandı. İnkübasyona bırakılan hücreler sonrasında hücre canlılığı analizinde kullanılan MTT analizi ile ekstraktların sitotoksisite durumları değerlendirildi.

Bu çalışmada ve sonrasında kullanılan her avokado ekstraktı deney öncesinde taze olarak hazırlandı ve kullanıldı.

### *3.6.2.5 Sitotoksisite Deneyi (MTT Analizi)*

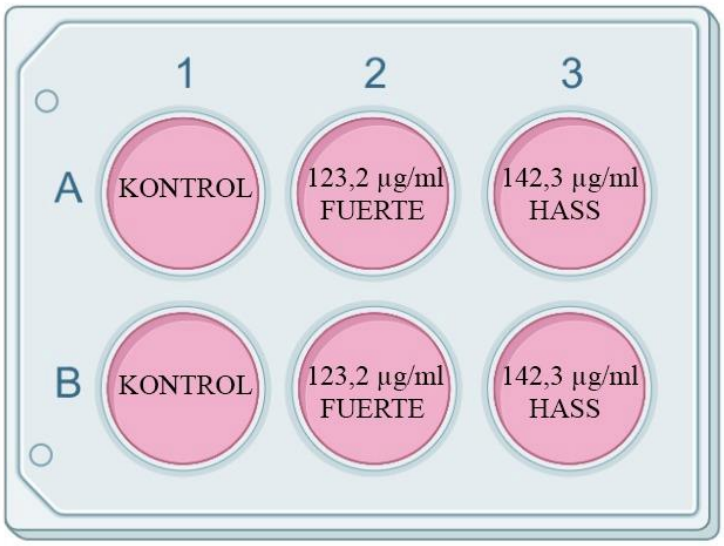
SKOV-3 hücrelerinin sitotoksisite testinde kullanılmak üzere yeterli sayıya ulaşması için hücreler %10 FBS içeren RPMI 1640 besiyerinde, %5 $CO_2$ ve $37^0$C inkübatörde 25 $cm^2$'lik flasklarda kültüre edildi. Hücreler deney için 96 kuyulu plakalara her kuyu da $1x10^4$ hücre olacak şekilde ekildi. Ekim işleminin ardından hücreler mikroskopta kontrol edildi ve yapılan işlemin kontrolünden sonra hücreler 24 saat %5 $CO_2$ ve $37^0$C inkübatöre bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücrelerin yüzeye yapışıp farklılaşmaları mikroskop ile bakılarak kontrol edildi. Hücrelerin deney için hazır olduğu görüldüğünde besi yeri kuyulardan uzaklaştırıldı ve kuyu içerisine besi yeri ve avokado dozları (100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 µg/ml) eklendi.

Hücreler tekrar 24 saat %5 $CO_2$ ve $37^0$C inkübatörde bırakıldı. Sonraki gün MTT deneyi için kuyuların içerisine 10 µl MTT solüsyonu karanlık bir ortamda eklendi, plakayı ışıktan korumak için alüminyum folyo ile üzeri kapatıldı. Hücreler %5 $CO_2$ ve $37^0$C inkübatörde 3 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında ortam uzaklaştırıldı ve kuyu içerisine 100 µl DMSO eklendi. Oda sıcaklığında çalkalayıcının düşük ayarında plaka 20 dakika çalkalandı ve spektrofotometre kullanılarak 540 nm de absorbans değerleri ölçüldü.

### *3.6.2.6 Total RNA İzolasyonu*

SKOV-3 hücrelerinin 6 kuyucuklu plakalara kuyu başına $3x10^5$ hücre olacak şekilde çift tekrar olarak ekimi gerçekleştirildi. Hücrelerin kuyu yüzeyine yapışması için 24 saat %5 $CO_2$ ve $37^o$C inkübatörde bırakıldı. Sitotoksisite deneyi sonucunda bulunan Hass ve Fuerte avokado ekstraktlarının $IC_{50}$ doz değerleri seri dilüsyon yardımıyla hazırlandı. SKOV-3 hücre hattı için Hass avokado ekstraktında 24 saat için

$IC_{50}$ değeri 142.3 µg/ml ve Fuerte avokado ekstraktı için ise 123.2 µg/ml olarak GraphPad Prism 8.0 programı kullanılarak hesaplandı. Hass ve Fuerte ekstraktlarından seri dilüsyonlar yapılarak hücrelere verilecek olan doz grupları 2 ml'lik ependorflara hazırlandı. Ertesi gün hücreler kontrol edildi, besi yeri kuyulardan uzaklaştırıldı ve ekstrakt içeren yeni besi yeri kuyu içerisine eklendi.




**Şekil 17.** RNA izolasyonu için kurulan deney düzeneği (Biorender kullanılarak yapılmıştır).

Hücreler 24 ve 48 saat %5 $CO_2$ ve 37$^{o}$C inkübatörde bırakıldı. Sonrasında hücreler hücre kazıyıcı yardımıyla yüzeyden kazındı. Tekrar grupları 15 ml'lik falkonda birleştirildi. 15 ml'lik falkonlar Hass, Fuerte ve Kontrol grubu olarak adlandırıldı ve gruplar falkonların içine alındı. Hücreler 4600 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Supernatant uzaklaştırıldı ve pellet çözülmeden üzerine 7 ml 1X PBS eklendi. PBS ile yıkama için hücreler tekrar 4600 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Supernatant atıldı. İzolasyon için hücre hazırlığı tamamlandıktan sonra RNA izolasyonu için ticari olarak satın alınan Bro Basic EZ-10 Spin Column Total RNA Minipreps Super Kit kullanıldı. 15 ml'lik falkonların içerisinde bulunan pelletlerin üzerine 350 µl RLT solüsyonu eklendi, pipetaj yapıldı ve sonrasında 1,5 ml'lik ependorfa alındı. Ependorflara vorteks yapıldı. Sonrasında ependorf içerisine RLT solüsyon ile aynı miktar da (350 µl) %70 ETOH eklendi ve tekrar vorteks yapıldı. Kit içerisinde bulunan spin column-collection tüplerinden 3 adet çıkartıldı ve grup

adlarına göre adlandırıldıktan sonra ependorf içerisindeki sıvılar column tüp içerisine aktarıldı. Tüpler 1 dakika 8000 rpm de santrifüj edildi. Collection tüp içerisine dolan sıvı boşaltıldı ve column tüp altına tekrar yerleştirildi. 500 µl RPE solüsyonu column tüp içerisine eklendi ve tüpler 1 dakika 8000 rpm de santrifüjlendi. Collection tüpte oluşan atık uzaklaştırıldı ve tekrar column tüp altına yerleştirildi. RPE solüsyonunu tamamen uzaklaştırmak için santrifüj işlemi tekrarlandı ve collection tüp direkt çöpe atıldı. Column tüpler temiz 1,5 ml'lik ependorflar içerisine yerleştirildi. 40 µl RNAase free su column tüp içine eklendi ve tüpler +5$^{o}$C'de 2 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında tüpler santrifüje yerleştirildi ve 1 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edildi. Örneklerin konsantrasyonu ve saflıkları spektrofotometrede ölçüldü.

*3.6.2.7 cDNA Sentezi*

İzolasyon sonucunda elde edilmiş olan total RNA'lar Pol A kuyruğu ekleme reaksiyonu kullanılarak cDNA'ya çevrildi. Bu işlem için High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit kullanıldı. 2 µg'a kadar kullanılabilen RNA örnekleri için her grup adına 3 tüp hazırlandı. Her tüpün içeriği Tablo 5'de gösterildiği gibi kit protokolüne göre hazırlandı.

**Tablo 5.** cDNA sentez kiti bileşenleri.

| **KİT BİLEŞENİ** | **KULLANILAN MİKTAR** |
|---|---|
| 10X RT Buffer | 2 µl |
| 10X RT Random Primers | 2 µl |
| 25X dNTP Mix (100 mM) | 0.8 µl |
| MultiScribe™ Reverse Transcriptase | 1 µl |
| RNA Örneği | 6 µl |
| PZR Dereceli Su | 8.2 µl |

Hazırlanan karışımlara iyice pipetaj yapıldı ve tüp içeriğinin homojen bir şekilde karışması için spin yapıldıktan sonra thermal cycler cihazına tüpler yerleştirildi.

İlk olarak reaksiyon 10 dakika $25^0$C'de inkübe edildi. Ardından $37^0$C'de 120 dakika ve sonrasında $85^0$C'de 5 dakika inkübe edildi. Örnekler $-20^0$C'de saklanmak üzere kaldırıldı.

### *3.6.2.8 Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu*

Daha önceden cDNA'ya dönüştürülen örnekler 1:10 oranında sulandırılarak Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu işlemine hazırlandı. Bcl-2 geni, Bax geni ve sitokrom-c geni ifadelerindeki değimi gözlemek amacıyla PowerUp "SYBR"Green Mastermix kiti protokolüne uygun bir şekilde tam hacimli PZR bileşenleri Tablo 6'ya göre hazırlandıktan sonra Cobast Z-480 (Roche) cihazında Tablo 7'de gösterilen koşullarda reaksiyon başlatıldı.

**Tablo 6.** PowerUp "SYBR" green mastermix kiti bileşenleri ve miktarları.

| **Bileşenler** | **Miktar** |
|---|---|
| PowerUp "SYBR" Green Mastermix | 5 µl |
| Forward Primer | 0.5 µl |
| Reverse Primer | 0.5 µl |
| $H_20$ | 2 µl |
| cDNA | 2 µl |

**Tablo 7.** Gerçek zamanlı PZR ısıl koşul tablosu.

| **Program** | **Siklus** | **Analiz Modu** | **Zaman ve Sıcaklık** | **Okuma Modu** |
|---|---|---|---|---|
| UPG Aktivasyonu | 1 | Yok | 50ºC – 2 dk | Yok |
| Başlangıç Denatürasyonu | 1 | Yok | 95ºC – 2 dk | Yok |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Amplifikasyon | 40 | Quantificatıon | 95ºC – 15 sn<br>60ºC – 15 sn<br>72ºC – 1 dk | Yok<br>Single<br>Yok |
| Melting Curve | 1 | Melting Curve | 95ºC – 15 sn<br>60ºC – 1 dk<br>95ºC - devamlı | Yok<br>Yok<br>Devamlı |
| Soğutma | 1 | Yok | 40ºC – 30 sn | Yok |

Bcl-2 geni, BAX geni, sitokrom C geni Ct değerleri ile referans gen (housekeeping) gliseraldehit 3-fosfat Dehidrasyon (GAPDH) geni Ct değerinin karşılaştırılması eşik çevrim ($2^{-\Delta\Delta CT}$) kullanılarak hesaplandı. Her gen 3 tekrarlı çalışıldı. Tasarlanan primer dizileri Tablo 8'de gösterildi.

**Tablo 8.** Tasarlanan primer dizileri.

| | | |
|---|---|---|
| **GAPDH** | İleri: | 5'-CGGGAAGCTTGTCATCAATG-3' |
| | Geri: | 5'-CGTCATGGGTGTGAACCATG-3' |
| **BCL-2** | İleri: | 5'-ACCTGACGCCCCTTCAC-3' |
| | Geri: | 5'-GTGGATGACTGAGTACCT-3' |
| **BAX** | İleri: | 5'-TCAGGATGCGTCCACCAAGAAG-3' |
| | Geri: | 5'-GATGTTGCCGCCGTGGACACA-3' |
| **CYC** | İleri: | 5'-TGGGTGATGTTGAGAAAGG-3' |
| | Geri: | 5'-AGTACATCCCTGGAACAA |

#### *3.6.2.9 Agaroz Jel Elektroforezi*

Gerçek Zamanlı PZR ürünleri büyüklüklerinin doğrulanması için %2'lik agaroz jelde elektroforeze edildi. Kullanılan primerlerin ürün boyutları Tablo 9'da gösterildi. %2'lik agaroz jelin hazırlanması için 1 gram agaroz 50 ml 0,5 X TBE tamponunun içerisinde mikrodalga ile ısıtılarak çözündürüldü. Çözünen agarozun ilk buharının uzaklaştırılması ve sıcaklığının düşmesi için oda koşullarında kısa süre bekletildi. Jel içerisinde son konsantrasyonu 0,05 µg/ml olacak şekilde etidyum bromid eklendi. Hazırlanan jel, tarak yerleştirilmiş olan jel döküm aparatına döküldü ve jelin polimerize olması beklendi.

**Tablo 9.** Primerlerin ürün boyutları.

| **PRİMERLER** | **ÜRÜN BOYUTLARI** |
|---|---|
| GAPDH | 222 bp |
| BCL-2 | 184 bp |
| BAX | 104 bp |
| CYC | 237 bp |

Polimerize olan jelden taraklar dikkatli bir şekilde çıkartıldı ve jel elektroforez tankına yerleştirildi. Tankın içerisinde işaretli çizgiye kadar 0,5 X TBE tamponu doldurulduu. Elektroforez işlemi yapılacak olan örnekler 6X jel yükleme boyası ile karıştırılarak sırası ile kuyucuklara yüklendi. Örnek büyüklüklerinin saptanabilmesi için jel içerisindeki ilk ve son kuyucuklara moleküler ağırlık belirleyici yüklendi. Elektroforez sonuçları ultraviyole jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi.

### 3.6.3 Verilerin Değerlendirilmesi

SKOV-3 hücre hattında yapılmış olan Gerçek Zamanlı PZR yönteminin sonuçları Karşılaştırmalı Eşik Çevirim ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) istatistiksel analiz yöntemi kullanılarak oluşturuldu. Analizler GraphPad Prism 8.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi.

### 3.6.4 Etik Kurul Onayı

Çalışmamızın etik kurul onayı 17.01.2024 tarihinde, 2024/03-22 numaralı karar ile Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Komisyonun'dan alındı.

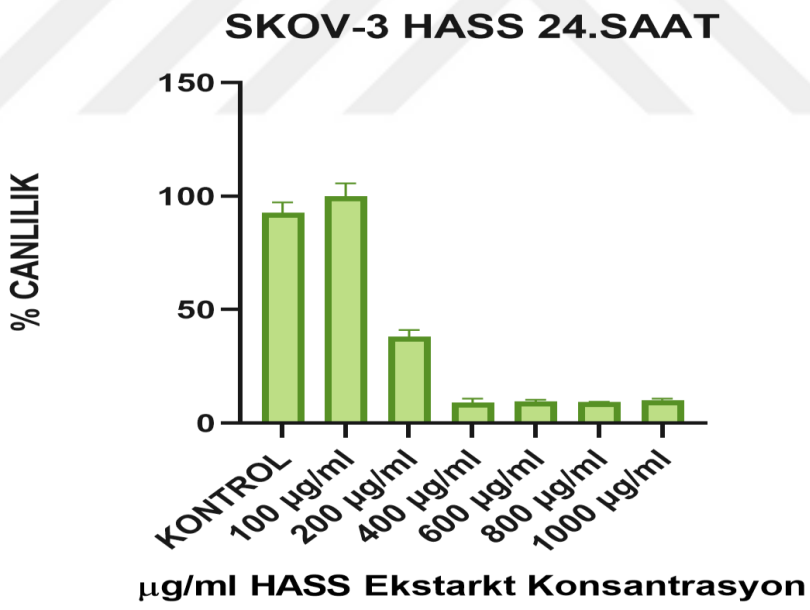
# 4. BULGULAR

## 4.1 MTT Sitotoksisite Deney Bulguları

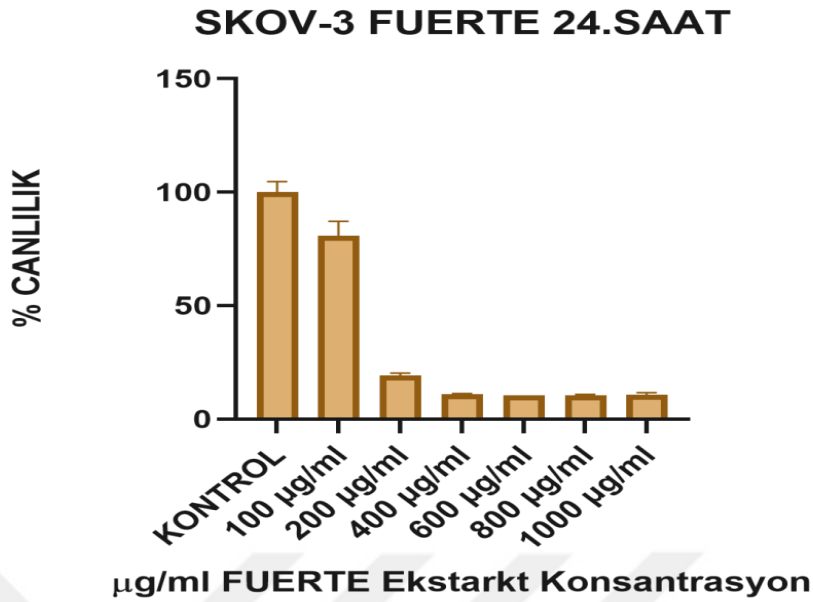
Araştırmamızda avokadonun Fuerte ve Hass türlerinin et kısımlarından elde edilen total ekstraktlar kullanıldı. Hass ve Fuerte avokado çeşitlerinin et kısımlarının sitotoksik etkilerinin araştırılması için MTT testi uygulandı.

96 kuyucuklu plakalara ekilmiş olan SKOV-3 hücrelerine Hass ve Fuerte ekstraktları 100 µg/ml, 200 µg/ml, 400 µg/ml, 600 µg/ml, 800 µg/ml ve 1000 µg/ml kontrol gruplarına ise %1 EtOH dozları uygulandı ve doz uygulamaları üç tekrarlı olarak çalışıldı.

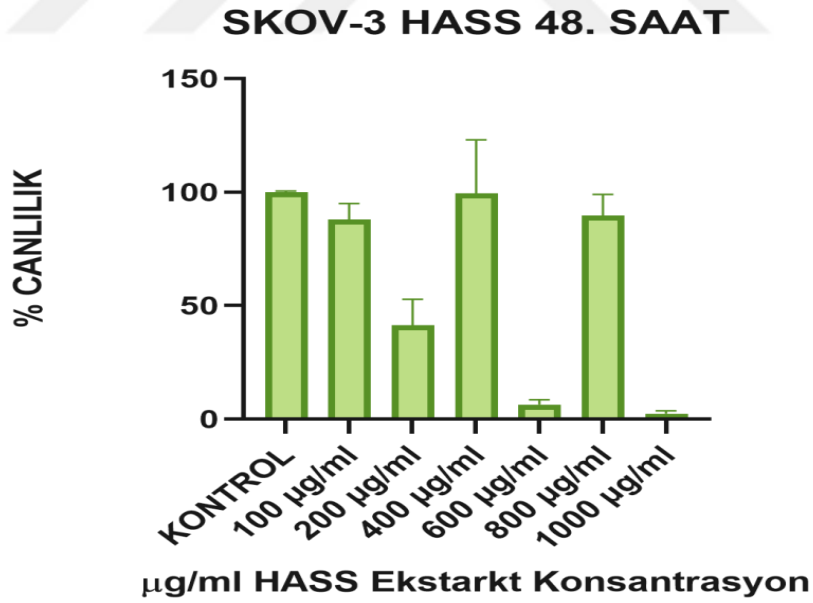
MTT sonucunda veriler Graphpad Prism 8.0 programı kullanılarak hücre canlılığı grafikleri oluşturularak değerlendirildi. Sonuçlar üç bağımsız deneyin standart sapma ortalaması ile açıklandı. SKOV-3 hücrelerinin canlılık değerlerinin anlamlılığı Graphpad Prism 8.0 programında Student t-testi kullanılarak belirlendi.



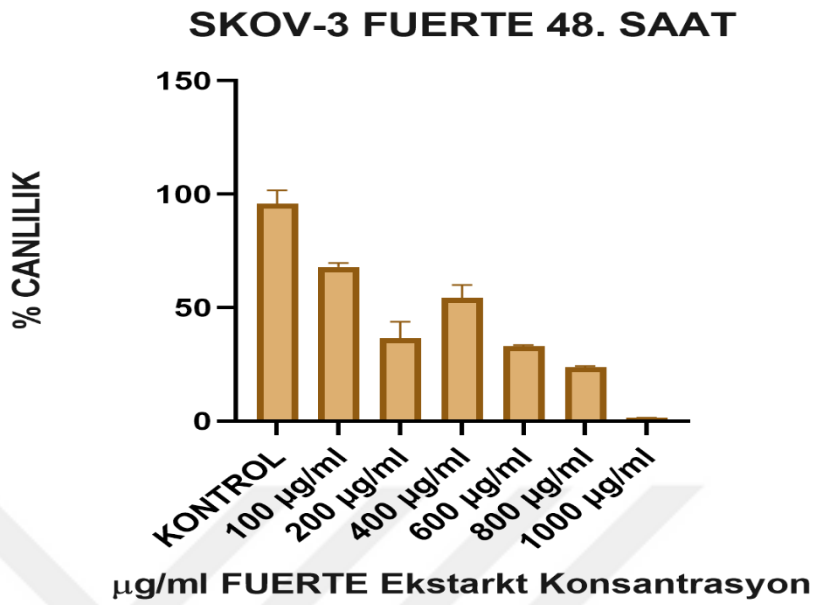

**Şekil 18.** Kontrol ve Hass avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 24 saat sonraki % Canlılığı. Sonuçlar, kontrol yüzdesi olarak sunuldu. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.




**Şekil 19.** Kontrol ve Fuerte avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 24 saat sonraki % Canlılığı. Sonuçlar, kontrol yüzdesi olarak sunuldu. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.




**Şekil 20.** Kontrol ve Hass avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 48 saat sonraki % Canlılığı. Sonuçlar, kontrol yüzdesi olarak sunuldu. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.



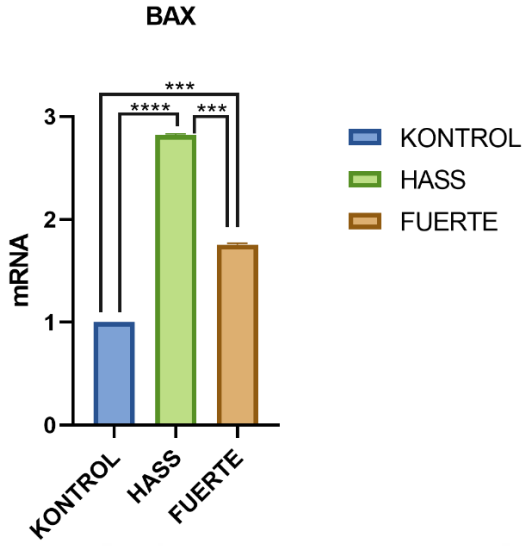

**Şekil 21.** Kontrol ve Fuerte avokado ekstraktı dozları verilen SKOV-3 hücre hattının 48 saat sonraki % Canlılığı. Sonuçlar, kontrol yüzdesi olarak sunuldu. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.

MTT testinin 48. saat verilerinde doza ve zamana bağlı olarak anlamlı bir sonuç elde edilmemişken, 24. saatte Fuerte ekstraktı için 123,2 µg/ml ve Hass ekstraktı için 142,3 µg/ml $IC_{50}$ değerleri belirlendi.

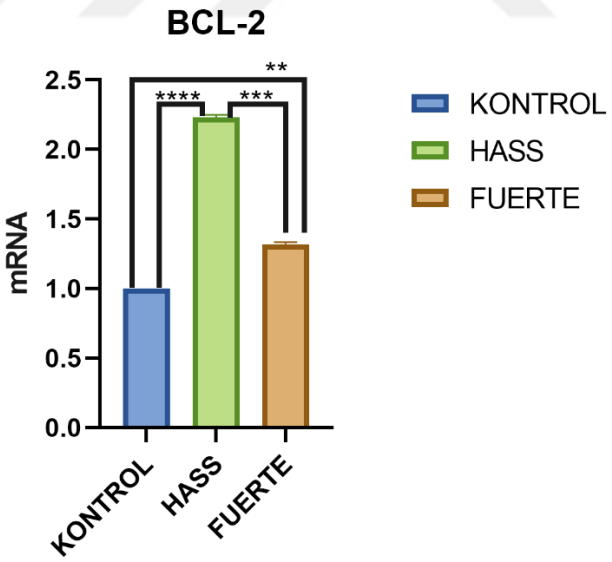
24. saat sonuçlarında Fuerte ekstraktı verilen SKOV-3 hücrelerinde doza bağlı olarak hücre canlılığında düşüş görüldü. Hass ekstraktında ise 100 µg/ml dozunda proliferasyon görülürken artan dozlarda hücre canlılığı doza bağlı şekilde azalış gösterdi.

### 4.2 Gerçek Zamanlı PZR Analiz Sonuçları

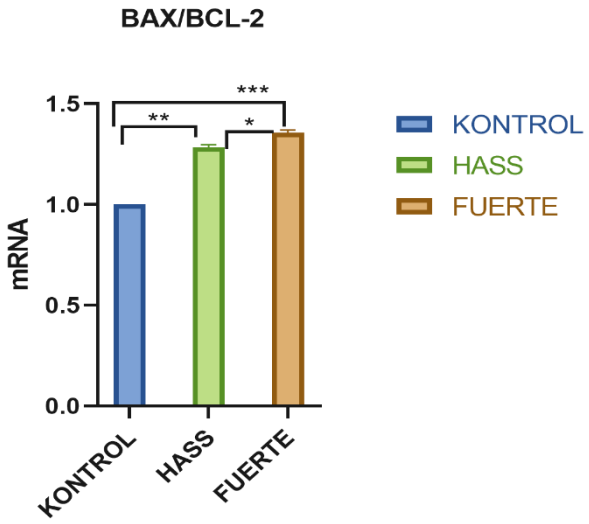
Hass ve Fuerte ekstraktı uygulanan SKOV-3 hücre hatlarında hücre ölümlerinin apoptoza bağlı olup olmadığını saptamak amacıyla BCL-2, BAX ve Sitokrom-c genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendi.



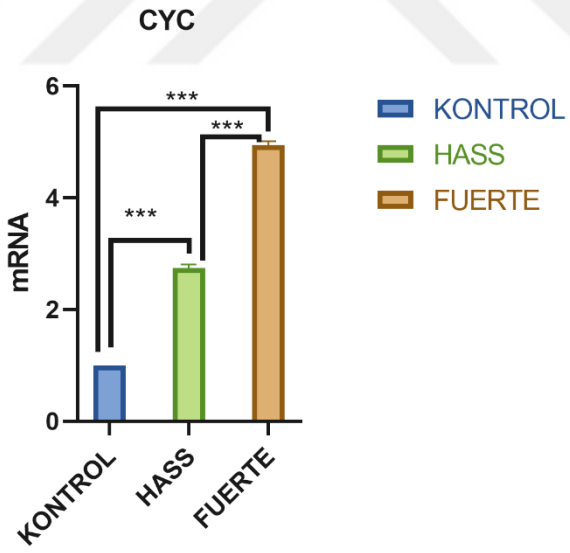

**Şekil 22.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BAX geninin Gerçek Zamanlı PZR analizi. **** $p < 0.01$ vs. kontrol; İstatistiksel analizler Student-t test kullanılarak yapıldı. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.




**Şekil 23.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BCL-2 geninin Gerçek Zamanlı PZR analizi. **** $p < 0.01$ vs. kontrol; İstatistiksel analizler Student-t test kullanılarak yapıldı. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.




**Şekil 24.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde BCL-2 ve BAX genlerinin Gerçek Zamanlı PZR analizi. *** $p < 0.01$ vs. kontrol; İstatistiksel analizler Student-t test kullanılarak yapıldı. Ortalama ± standart sapma (n=3) gösterildi.



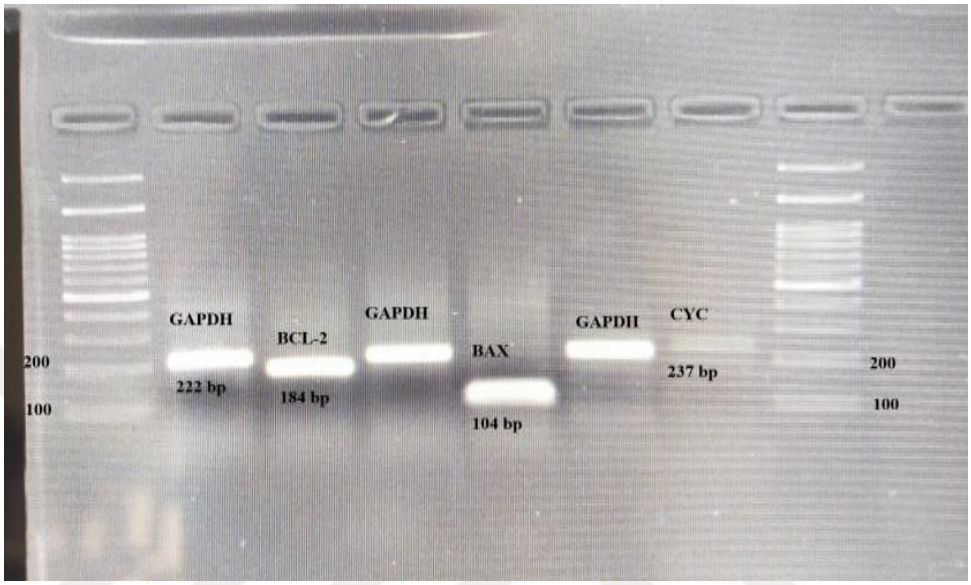

.**Şekil 25.** Kontrol, Hass ve Fuerte dozları ile 24 saat sonra SKOV-3 hücre hattı üzerinde Sitokrom-c (CYC) genlerinin Gerçek Zamanlı PZR analizi. *** $p < 0.0001$ vs. kontrol; Tüm istatistiksel analizler Student-t test kullanılarak yapıldı. Ortalama ± standart sapma(n = 3) gösterildi

Çalışmalar sonucunda mRNA düzeyinde olan gen ifadelerindeki değişimler belirlendi. Elde edilen bulgular Hass ve Fuerte ekstraktlarının SKOV-3 hücre hattı üzerinde apoptotik süreçte rol oynayan BAX, BCL-2 ve Sitokrom-c genlerine ait mRNA gruplarında kontrol grubuna göre, BAX geni ekspresyonunda, Hass ekstraktı verilen hücrelerde 2,81 kat ve Fuerte ekstraktı verilen grupta ise 1,75 kat artış görüldü. BCL-2 geni ekspresyon seviyeleri ise Hass ekstraktı verilen hücrelerde 2,23 kat, Fuerte ekstraktı verilen hücrelerde ise 1,32 kat artış gösterdi. Hass ekstraktında BAX/BCL-2 oranında 1,28 kat, Fuerte ekstraktında ise BAX/BCL-2 oranında 1,35 kat artış görüldü. Sitokrom-c gen ifadesi için ise; Hass ekstraktında 2,74 kat ve Fuerte Ekstarktında 4,94 kat artış gözlemlendi.

Hass ve Fuerte ekstraktlarının genler üzerindeki ekspresyon değişimleri incelendiğinde, Hass ekstraktı verilen hücrelerde BAX gen ekspresyonunun 1,6 kat, BCL-2 gen ekspresyonunun ise 1,68 kat Fuerte ekstraktına göre daha fazla indüklendiği gözlemlenmiştir. BAX/BCL-2 ekspresyon oranı incelendiğinde, Fuerte ekstraktı verilen hücrelerde bu oranın Hass ekstraktı verilen hücrelere göre 1,05 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Öte yandan, sitokrom-c geninde Fuerte ekstraktı verilen hücrelerde ekspresyon seviyesinin Hass ekstraktı verilen hücrelere kıyasla 1,80 kat daha fazla arttığı tespit edilmiştir.

### 4.3 Agaroz Jel Elektroforezi

Yapılan gerçek zamanlı PZR testinin doğrulanması için jel görüntüsü incelendi. Ürünlerin büyüklükleri ilk ve son kuyuya eklenen ağırlık belirleyici kullanılarak belirlendi.




**Şekil 26.** Gerçek Zamanlı PZR ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü.

Ürünler, kullanılan primerlere uygun olarak çoğalmış olup bant görüntüleri bunlara uygun olan bölgede görüldü.

## 5. TARTIŞMA

Yumurtalıkları etkileyen en önemli jinekolojik kanserlerden olan yumurtalık kanseri, heterojen bir hastalıktır ve en yaygın olarak görülen türü epitelyal yumurtalık kanseridir. Yumurtalık kanseri peritoneal ve follop tüplerinde görülen kanserleri de içermektedir. Bu sebeple tümörün kökeninin belirlenmesi zordur. Dünya genelinde yumurtalık kanseri kadınlarda yaygın görülen kanser türüdür ve her 100.000 kadında 6.6 insidansa ve 4.2 ölüm oranına sahiptir (67,68).

Yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan birincil tedavi yöntemi kemoterapidir. Tedavide kullanılan kemoterapötik ajanlar kanser hücrelerini inhibe ederken, normal dokularda verdiği zarar birçok yan etkiye neden olmaktadır. Bu etkiler hastanın özellikle bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz sonuçlar göstermektedir. Yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan platin bazlı kemoterapi sonucunda hassasiyet ve direnç gelişimi hastalarda kanserin nüks etmesine ve kötü prognoza sebep olmaktadır. Bu hastalarda %65-80 oranında hastalığın beş yıl içerisinde tekrarladığı görülmüştür (69).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapinin fazla yan etki oluşturması ve yüksek mortaliteye sebep olması tedaviler için yeni alternatifler araştırılmasını gerektirmektedir (68)Avokado (*Persea Americana*) meyvesi subtropikal ve tropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilen meyvelerden biridir (69). Avokado içerdiği vitaminler, polifenoller ve fitosteroller bakımından ikinci metabolitler olarak zengin bir meyvedir. Bu içerikler meyvenin birçok farmakolojik özelliklere sahip olmasını sağlamakla birlikte avokadonun farklı bölümlerinden elde edilen ekstraktların farklı etkiler göstermesini sağlamaktadır (67)

Avokadonun çekirdek, yaprak ve kabuk gibi farklı kısımları kullanılarak yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucunda antioksidan, antiproliferatif, anti inflamatuar ve antidiyabetik gibi farklı biyolojik aktiviteler gösterdiği belirlenmiştir (70) Avokado meyvesinin antikanser aktivitesi yapılan in vitro çalışmalar sonucunda meme kanseri, karaciğer kanseri, akciğer kanseri ve lenfoma gibi farklı kanser hücre hatlarında incelenmiş olup çalışmaların sonucunda avokado çekirdek ekstraktlarının apoptozu indüklediği görülmüştür. Aynı zamanda avokado ekstraktının kanser hücrelerine göstermiş olduğu bu etkiyi sağlıklı hücreler üzerinde seçici olarak göstermediği bulunmuştur (71)

Avokado çekirdeğinin etanolik ekstraktının kullanılmış olduğu in vivo çalışmalarda sıçanlarda antioksidan ve antiinflamatuar etkilerin görüldüğü bildirilmiştir (67). Avokado ekstraktları kaspaz-8 ve kaspaz-9'un aktivasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinin kaybolması gibi pro-apoptotik etkiler göstererek ve aynı zamanda p53 aktivasyonu, kaspaz-3'ün ekspresyonunun artması gibi farklı basamaklardan apoptozu indüklemektedir. Avokado çekirdeğinin metanolik ekstraktının prostat kanseri hücre hattı üzerinde göstermiş olduğu antioksidan etki ve hücre döngüsünün $G_0/G_1$ fazında rol oynayan siklin D1 ve E2'nin ekspresyonunu aşağı regüle ederek bölünmeyi durdurması sonucunda kanser hücrelerinin apoptoza uğramalarına sebep olmaktadır. Avokado kabuğunun metanolik ekstraktı verilen insan lenfositlerinde görülen yapısal ve sayısal kromozom anomalilerinin %88 gibi önemli bir oranda azaldığı yapılan çalışmalar sonucunda görülmüştür. Avokado meyve etinin sitotoksik, antioksidan, antiproliferatif ve antiinflamatuar etkisi meme kanseri ve karaciğer kanseri hücre hatları kullanılarak yapılan in vitro çalışmalarda görülmüştür. Bu etkilerin görülmesinin nedeni olarak avokado meyve etinin içeriğinde bulunan fenolik bileşikler, glikozitler, triterpenoidler gibi bileşenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (70).

Avokado ekstraktı Wistar sıçanlarında endometrial hiperplazinin proliferasyonunu engellemiş ve endometrial implant gerilemesini indüklemiştir. Bu in vivo çalışmaların sonucunda avokado ekstraktı verilen sıçanlarda yumurtalık dinamiğinin yeniden sağlandığı da görülmüştür (69).

Literatür taramaları sonucunda özellikle çekirdek kısmından elde edilen ekstraktların kullanılması ve en başta apoptotik etkilerinin görülmesinin yanı sıra endometriozis tedavisinde yapılan çalışmalar sonucunda olumlu etkiler görülmesi, avokado meyve ekstraktının yumurtalık kanseri için de alternatif bir tedavi olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Mevcut literatürde özellikle ülkemizde yetişen Hass ve Fuerte türü avokadoların yumurtalık kanseri üzerinde göstermiş olduğu etkileri ele alan bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda avokadonun ülkemizde en çok yetiştiği il olan Antalya'nın Alanya ilçesinde üretilen Hass ve Fuerte avokadolarının meyve eti ekstraktlarının yumurtalık kanseri üzerindeki apoptotik etkilerini inceledik.

Çalışmamızın ana fikri, Hass ve Fuerte avokado türlerinin yumurtalık kanseri ile ilişkisini açıklamak ve aynı zamanda ülkemizin iklim koşullarında yetişen avokado meyvesinin apoptotik etki mekanizmasını aydınlatmaktır. Bu amaç doğrultusunda Hass ve Fuerte avokadolarının meyve etinden elde edilen ekstraktlar, SKOV-3 hücre hattına verilerek sitotoksisite değerleri elde edildi ve ekstraktların hücre canlılığı üzerinde göstermiş olduğu etkiler araştırıldı. Sonuçlarımız Hass ve Fuerte avokado ekstraktlarının sırası ile 142,3 µg/ml ve 123,2 µg/ml konsantrasyonlarında 24. saatte etkili olduğunu gösterdi. Sitotoksisite çalışmalarında doza ve zamana bağlı olarak 48. saatte anlamlı bir sonuç gözlemlenmedi. Çalışmamızda kullandığımız Hass ve Fuerte ekstraktlarının yapılan hücre canlılığı deneyleri sonucunda doza bağlı bir sitotoksisite göstermiş olduğu saptandı.

Doza bağlı bir şekilde hücre canlılığının azalması yumurtalık kanseri hücrelerine verilen Hass ve Fuerte meyve eti ekstraktlarının bu azalmayı apoptoz aracılığı ile sağladığını saptayabilmek amacıyla apoptozun regülasyonunda ve indüklenmesinde görev alan BAX, BCL-2 ve Sitokrom-c genlerinin ekspresyon seviyeleri incelendi. Hücrenin ölüm ve yaşam arasında olan dengesini sağlayan apoptoz, hayatta kalma yanlısı olan BCL-2 protein ailesi ve proapoptotik genler tarafından düzenlenen, evrimsel olarak korunmuş hücre ölüm yoludur (72). Apoptoz mekanizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayan BAX, BCL-2 genleri ve mitokondriyal apoptoz yolaklarında rol alan Sitokrom-c geninin ekspresyon seviyelerini belirleyerek Hass ve Fuerte ekstraktlarının SKOV-3 hücre hattında apoptotik etkileri incelendi. SKOV-3 hücre hattına uygulanan her iki avokado ekstraktında da kontrol grubuna göre BAX/BCL-2 oranında artış görüldü. Sitokrom-c geninde de Hass ve Fuerte meyve eti ekstraktı verilen SKOV-3 hücrelerinde ekspresyon seviyesinde anlamlı derecede artış gözlemlendi. Hass ve Fuerte türlerinden elde edilen ekstraktların SKOV-3 hücre hattı üzerindeki apoptotik etkileri incelendiğinde, Fuerte ekstraktı verilen hücrelerdeki BAX/BCL-2 ekspresyon oranının, Hass ekstraktı verilen hücrelere kıyasla 1.05 kat arttığı, sitokrom-c gen ekspresyonunun ise 1.80 kat yükseldiği görülmüştür. Bu bulgular, Fuerte ekstraktının Hass ekstraktına göre apoptotik süreçlerde daha etkili olduğunu göstermektedir.

# 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yumurtalık kanseri erken safhalarında teşhis edilemeyen ölümcül bir kanser türüdür. Dünya genelinde kadınlarda ölümcül kanser türlerinde önde gelen yumurtalık kanserinin yaklaşık %60'ı hastalığın ileri evrelerinde tespit edilmektedir. Bu sebeple kanser daha kötü ve agresif bir prognoz izler (73). Hastaların beş yıllık sağkalım süreleri yaklaşık %48 olarak belirlenmiştir. Cerrahi müdahale sonrasında tümör boyutunun ciddi oranda küçülmesi hastalığın nüks ve sağkalımı arasında direkt olarak pozitif bir ilişki yaratsada ileri evre yumurtalık kanseri hastalarının çoğunda hastalık nüks etmekte ve kemoterapi sonrasında direnç göstermektedir. Avokado ile son yıllarda yapılan çalışmalar eşsiz besin değeri ve içeriğinde bulunan biyoaktif bileşenleri üzerinde önemli bilgiler edinilmesini sağlamaktadır. Ayrıca avokadonun bu zengin yapısı sayesinde yeni geliştirilmesi planlanan ilaçlarda etken madde olarak kullanılması vurgulanmaktadır. Avokado içeriğinde bulunan fitokimyasallar ve antioksidan özelliği yaşa bağlı olan hastalıkların önlenmesi ve tedavilerde kullanılma potansiyelini arttırmaktadır (74).

Çalışmamızda Antalya'nın Alanya ilçesinde yetiştirilen Hass ve Fuerte avokado çeşitlerinin yumurtalık kanseri üzerindeki apoptotik etkilerini araştırdık. Araştırmalarımız sonucunda Hass ve Fuerte avokadolarının et kısımlarının yumurtalık kanseri SKOV-3 hücre hattında sitotoksik etki yarattığını ve $IC_{50}$ değerlerinin apoptotik etki yarattığını gözlemledik. Birçok kanser türlerinde çalışılmış olan avokadonun yumurtalık kanseri üzerinde de apoptotik bir etki yarattığı çalışmamız sonucunda görülmüştür. Ülkemizde yetişen Hass ve Fuerte türü avokadoların yumurtalık kanseri üzerinde göstermiş olduğu bu olumlu yanıt ileride yapılacak olan çalışmalara öncü nitelik taşımaktadır. Sonraki çalışmalarda avokado ekstraktlarının LC-MS/MS yöntemi kullanılarak etken maddelerine ayrıştırılması apoptotik etkinin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır. İleride yapılacak olan çalışmalarda farklı kanser türlerinde araştırılması ve etkilerinin belirlenmesi ülkemizde yetişen avokado türlerinin kanser üzerinde gösterdiği apoptotik etkinin aydınlatılmasına katkı sunacaktır. Ayrıca, Türkiye'de yetişen avokado meyvesinin çekirdek, yaprak ve kabuk bölümlerinin farklı çözgenlerle hazırlanmış ekstraktlar ile araştırılması, avokadonun kanser üzerindeki etkisinin daha belirgin hale gelmesini sağlayacaktır.

Sonuçlarımız Alanya'da üretilen Hass ve Fuerte avokadolarının et kısmından elde edilen ekstraktların yumurtalık kanseri tedavisinde potansiyel bir terapötik olarak yer alabileceğini düşündürmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

**1.** Engel N, Oppermann C, Falodun A, Kragl U. Proliferative effects of five traditional Nigerian medicinal plant extracts on human breast and bone cancer cell lines. J Ethnopharmacol. 2011 Sep 2;137(2):1003–10.

**2.** Widiyastuti Y, Pratiwi R, Riyanto S, Wahyuono S. Cytotoxic activity and apoptosis induction of avocado Persea americana Mill. Seed extract on MCF-7 cancer cell line. Indones J Biotechnol. 2018;23(2):61–7.

**3.** Arend R, Martinez A, Szul T, Birrer MJ. Biomarkers in ovarian cancer: To be or not to be. Vol. 125, Cancer. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 4563–72.

**4 .**Stewart C, Ralyea C, Lockwood S. Ovarian Cancer: An Integrated Review. Vol. 35, Seminars in Oncology Nursing. W.B. Saunders; 2019. p. 151–6.

**5.** Roett MA, Evans P. Ovarian Cancer: An Overview [Internet]. Vol. 80. 2009. Available from: www.aafp.org/afp.

**6.** Moufarrij S, Dandapani M, Arthofer E, Gomez S, Srivastava A, Lopez-Acevedo M ve ark. Epigenetic therapy for ovarian cancer: Promise and progress. Vol. 11, Clinical Epigenetics. BioMed Central Ltd.; 2019.

**7.** Ford NA, Spagnuolo P, Kraft J, Bauer E. Nutritional Composition of Hass Avocado Pulp. Vol. 12, Foods. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2023.

**8.** Poljšak N, Kreft S, Kočevar Glavač N. Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology. Vol. 34, Phytotherapy Research. John Wiley and Sons Ltd; 2020. p. 254–69.

**9.** Chikwendu JN, Udenta EA, Nwakaeme TC. Avocado Pear Pulp (Persea americana)-Supplemented Cake Improved Some Serum Lipid Profile and Plasma Protein in Rats. J Med Food. 2021 Mar 1;24(3):267–72.

**10.** Ericsson CI, Pacheco LS, Romanos-Nanclares A, Ecsedy E, Giovannucci EL, Heather Eliassen A ve ark. Prospective Study of Avocado Consumption and Cancer Risk in U.S. Men and Women. Cancer Prevention Research. 2023 Apr 1;16(4):211–8.

**11.** Hazafa A, Rehman KU, Jahan N, Jabeen Z. The Role of Polyphenol (Flavonoids) Compounds in the Treatment of Cancer Cells. Vol. 72, Nutrition and Cancer. Routledge; 2020. p. 386–97.

**12.** Dhar S, Datta A, Brosh RM. DNA helicases and their roles in cancer. Vol. 96, DNA Repair. Elsevier B.V.; 2020.

**13.** Hassanpour SH, Dehghani M. Review of cancer from perspective of molecular. Journal of Cancer Research and Practice. 2017 Dec;4(4):127–9.

**14.** Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. Vol. 12, Cancer Discovery. American Association for Cancer Research Inc.; 2022. p. 31–46.

**15.** Fouad YA, Aanei C. Revisiting the hallmarks of cancer. Am J Cancer Res. 2017 May 1;7(5):1016-1036.

**16.** Swanton C, Bernard E, Abbosh C, André F, Auwerx J, Balmain A ve ark. Embracing cancer complexity: Hallmarks of systemic disease. Vol. 187, Cell. Elsevier B.V.; 2024. p. 1589–616.

**17.** Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Kalagasidou S, Pagkalos A ve ark. Basic principles of molecular biology of cancer cell-Molecular cancer indicators. JBUON. 2021;26(5):1723–34.

**18.** Mun EJ, Babiker HM, Weinberg U, Kirson ED, Von Hoff DD. Tumor-treating fields: A fourth modality in cancer treatment. Vol. 24, Clinical Cancer Research. American Association for Cancer Research Inc.; 2018. p. 266–75.

**19.** Güzel D, Yıldırım N, Besler A, Akman L, Özdemir N, Zekioğlu O ve ark. Over kanserinin epidemiyolojisi ve genel sağ kalım özellikleri Epidemiologic fetaures and survival outcomes of ovarian cancer. Vol. 58, Ege Journal of Medicine. 2019.

**20.** Yeung TL, Leung CS, Yip KP, Lam C, Yeung A, Wong STC ve ark. A Review in the Theme: Cell and Molecular Processes in Cancer Metastasis. Am J Physiol Cell Physiol. 2015; 309:444–56.

**21.** Gaona-Luviano P, Adriana L, Medina-Gaona, Magaña-Pérez K. Epidemiology of ovarian cancer. Vol. 9, Chinese Clinical Oncology. AME Publishing Company; 2020.

**22.** Cancer (IARC) TIA for R on. Global Cancer Observatory [Internet]. [a.yer 28 Temmuz 2024]. Erişim adresi: https://gco.iarc.fr/

**23.** Elsherif SB, Faria SC, Lall C, Iyer R, Bhosale PR. Ovarian Cancer Genetics and Implications for Imaging and Therapy. Vol. 43, Journal of computer assisted tomography. NLM (Medline); 2019. p. 835–45.

**24.** Matulonis UA, Sood AK, Fallowfield L, Howitt BE, Sehouli J, Karlan BY. Ovarian cancer. Nat Rev Dis Primers. 2016 Aug 25; 2:1–22.

**25.** Webb PM, Jordan SJ. Global epidemiology of epithelial ovarian cancer. Vol. 21, Nature Reviews Clinical Oncology. Springer Nature; 2024. p. 389–400.

**26.** Zhao C, Li S, Zhao M, Zhu H, Zhu X. Prognostic values of DNA mismatch repair genes in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. Arch Gynecol Obstet. 2018 Jan 1;297(1):153–9.

**27.** Burges A, Schmalfeldt B. Ovarialkarzinom: Dagnostik und therapie. Vol. 108, Deutsches Arzteblatt. 2011. p. 635–41.

**28.** Berek JS, Renz M, Kehoe S, Kumar L, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum: 2021 update. International Journal of Gynecology and Obstetrics. 2021 Oct 1;155(S1):61–85.

**29.** Webb PM, Jordan SJ. Epidemiology of epithelial ovarian cancer. Vol. 41, Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology. Bailliere Tindall Ltd; 2017. p. 3–14.

**30.** Düzkale N, Karaçin C, Yörübulut S, Erdem HB, Öz Ö, Altınbaş M. Investigation of BRCA2 Gene K3326X Variant in Patients with Breast and Ovarian Cancer by Next-Generation Sequencing Technique. Acta Oncologica Turcica. 2023;56(2):145–52.

**31.** Zhang R, Siu MKY, Ngan HYS, Chan KKL. Molecular Biomarkers for the Early Detection of Ovarian Cancer. Vol. 23, International Journal of Molecular Sciences. MDPI; 2022.

**32.** Zhang M, Cheng S, Jin Y, Zhao Y, Wang Y. Roles of CA125 in diagnosis, prediction, and oncogenesis of ovarian cancer. Vol. 1875, Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer. Elsevier B.V.; 2021.

**33.** Li X, Li Z, Ma H, Li X, Zhai H, Li X, ve ark. Ovarian cancer: Diagnosis and treatment strategies (Review). Oncol Lett [Internet]. 2024 Jul 18;28(3):441. Available from: http://www.spandidospublications.com/10.3892/ol. 2024.145 74

**34.** Gupta KK, Gupta VK, Naumann RW. Ovarian cancer: Screening and future directions. Vol. 29, International Journal of Gynecological Cancer. BMJ Publishing Group; 2019. p. 195–200.

**35.** Mungenast F, Thalhammer T. Estrogen biosynthesis and action in ovarian cancer. Front Endocrinol (Lausanne). 2014;5(NOV).

**36.** Kossaï M, Leary A, Scoazec JY, Genestie C. Ovarian Cancer: A Heterogeneous Disease. Pathobiology. 2018 May 1;85(1–2):41–9.

**37.** Motohara T, Masuda K, Morotti M, Zheng Y, El-Sahhar S, Chong KY ve ark. An evolving story of the metastatic voyage of ovarian cancer cells: cellular and molecular orchestration of the adipose-rich metastatic microenvironment. Vol. 38, Oncogene. Nature Publishing Group; 2019. p. 2885–98.

**38.** Cortez AJ, Tudrej P, Kujawa KA, Lisowska KM. Advances in ovarian cancer therapy. Vol. 81, Cancer Chemotherapy and Pharmacology. Springer Verlag; 2018. p. 17–38.

**39.** Topal E, Şanlı Y. F-18 FDG PET/CT Imaging in Ovarian Cancer. Nuclear Medicine Seminars. 2022 Nov 1;8(3):174–81.

**40.** Weng Z, Gao H, Hu J, Fan Y, Wang H, Li L. Isoalantolactone induces autophagic cell death in SKOV3 human ovarian carcinoma cells via upregulation of PEA-15. Oncol Rep. 2016 Feb 1;35(2):833–40.

**41.** Wang L, Wang X, Zhu X, Zhong L, Jiang Q, Wang Y ve ark. Drug resistance in ovarian cancer: from mechanism to clinical trial. Vol. 23, Molecular Cancer. BioMed Central Ltd; 2024.

**42.** Lee JM, Minasian L, Kohn EC. New strategies in ovarian cancer treatment. Vol. 125, Cancer. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 4623–9.

**43.** Laurent JS, Liu JF. Treatment Approaches for Platinum-Resistant Ovarian Cancer. Journal of Clinical Oncology. 2024 Jan 10;42(2):127–33.

**44.** Savitskaya MA, Onishchenko GE. Mechanisms of apoptosis. Vol. 80, Biochemistry (Moscow). Maik Nauka Publishing / Springer SBM; 2015. p. 1393–405.

**45.** Lawen A. Apoptosis - An introduction. Vol. 25, BioEssays. John Wiley and Sons Inc.; 2003. p. 888–96.

**46.** Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. Vol. 27, Oncogene. 2008. p. 6194–206.

**47.** Pistritto G, Trisciuoglio D, Ceci C, Garufi A, D'Orazi G. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. Aging (Albany NY). 2016 Apr;8(4):603-19. doi: 10.18632/aging.100934.

**48.** Demircan B, Velioğlu YS. Avocado: Composition and Effects on Health. Vol. 19, Akademik Gida. Sidas Medya A.S.; 2021. p. 309–24.

**49.** Lisans Y, Üniversitesi BU, Fakültesi Z, Bölümü TE. Türkiye'de Avokado Üretimi ve Dış Ticareti Avocado Production and Foreign Trade in Türkiye Sultan ER Sorumlu yazar / Corresponding author Sertaç Dokuzlu Azmatullah Karimi. 2023.

**50.** Weremfo A, Adulley F, Adarkwah-Yiadom M. Simultaneous Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Avocado (Persea americana Mill.) Seeds Using Response Surface Methodology. J Anal Methods Chem. 2020;2020.

**51.** Bhuyan DJ, Alsherbiny MA, Perera S, Low M, Basu A, Devi OA ve ark. The odyssey of bioactive compounds in Avocado (Persea Americana) and their health benefits. Vol. 8, Antioxidants. MDPI; 2019.

**52.** Gümüştepe L, Aydin E, Özkan G. Avokadonun Biyoaktif Bileşenleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi. 2022 Mar 23;10(1):341–59.

**53.** Murathan ZT, Kaya A. Alanya Ekolojik Koşullarında Yetiştirilen Hass ve Fuerte Avokado Çeşitlerinin Bazı Fitokimyasal İçerikleri ile Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi. 2020 Dec 31;23(6):1435–40.

**54.** Şan B, Yildirim A, Yildirim F, Binici S, Çelik C, Bayram S ve ark. Antalya ekolojik koşullarında bazı avokado (Persea americana Mill.) çeşitlerinin yağ asitleri içerikleri. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi. 2022 Dec 1;27(3):525–31.

**55.** Ochoa-Zarzosa A, Báez-Magaña M, Jaquelina &, Guzmán-Rodríguez J, Luis &, Flores-Alvarez J ve ark. Bioactive Molecules from Native Mexican Avocado Fruit (Persea americana var. drymifolia): A Review. Available from: https://doi.org/10.1007/s11130-021-00887-7

**56.** Collignon TE, Webber K, Piasecki J, Rahman ASW, Mondal A, Barbalho SM ve ark. Avocado (Persea americana Mill) and its phytoconstituents: potential for cancer prevention and intervention. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Taylor and Francis Ltd.; 2023.

**57.** Dr. Süleyman BAYRAM, Avokado Yetiştiriciliği [Internet]. [a.yer 28 Temmuz 2024]. Tarım ve Orman Bakanlığı Kütüphanesi El Kitabı. Erişim adresi: https://arastirma.tarimorman.gov.tr/batem/Belgeler/Kutuphane/Teknik%20Bilgiler/Avokado%20Yetistiriciligi.pdf

**58.** Kurt N. Fuerte ve Hass çeşidi avokado meyve ve çekirdek kabukları ile yapraklarından fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda işlem parametrelerinin optimizasyonu [Yüksek Lisans Tezi]. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi; 2023.

**59.** Çelik C, Binici S, Yildirim A, Yildirim F, Şan B, Bayram S. Antalya Ekolojik Koşullarında Yetiştirilen Bazı Avokado (Persea americana Mill.) Çeşitlerinin Meyve Özellikleri ve Farklı Dokularının Biyokimyasal İçeriklerinin Belirlenmesi. Anadolu Journal of Agricultural Sciences. 2022 Dec 13

**60.** Gölge Ö. Alanya ve Gazipaşa'da Üretilen Avokadolarda Pestisit Kalıntı Varlığının Araştırılması ve Quechers Analiz Metodunun Verifikasyonu. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi. 2020 Jul 21;6(2):229–45.

**61.** Tabeshpour J, Razavi BM, Hosseinzadeh H. Effects of Avocado (Persea americana) on Metabolic Syndrome: A Comprehensive Systematic Review. Vol. 31, Phytotherapy Research. John Wiley and Sons Ltd; 2017. p. 819–37.

**62.** Rodríguez-Carpena JG, Morcuende D, Andrade MJ, Kylli P, Estevez M. Avocado (Persea americana Mill.) phenolics, in vitro antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. J Agric Food Chem. 2011 May 25;59(10):5625–35.

**63.** Yılmaz F. İskemik Serebrovasküler Hastalıkta Homosisteinin Rolü. Akademik Acil Tıp Dergisi. 2010;

**64.** Minareci E, Sadan G. Homosistein Metabolizmasını Etkileyen İlaçlar ve İlaç Etkileşimleri. Turkiye Klinikleri J Pharm Sci. 2012;1(1):46-58

**65.** Bonilla-Porras AR, Salazar-Ospina A, Jimenez-Del-Rio M, Pereañez-Jimenez A, Velez-Pardo C. Pro-apoptotic effect of Persea americana var. Hass (avocado) on Jurkat lymphoblastic leukemia cells. Pharm Biol. 2014 Apr 1;52(4):458–65.

**66.** Ahmed OM, Fahim HI, Mohamed EE, Abdel-Moneim A. Protective effects of Persea americana fruit and seed extracts against chemically induced liver cancer in rats by enhancing their antioxidant, anti-inflammatory, and apoptotic activities. Environmental Science and Pollution Research. 2022 Jun 1;29(29):43858–73.

**67.** Baulland DNA, Narcisse VB, Hervé T, Adamou M, Momo CMM, Nadège DM, ve ark. Influence of ethanolic extract of avocado (Persea americana Mill.) seed flour on the estrous cycle, the serum concentrations of reproductive hormones, and the activities of oxidative stress markers in female cavies (Cavia porcellus L.). J Adv Vet Anim Res. 2021 Sep 1;8(3):501–10.

**68.** Lye HS, Ong MK, Teh LK, Chang CC, Wei LK. Avocado. In: Valorization of Fruit Processing By-products. Elsevier; 2020. p. 67–93.

**69.** Minko Essono S, Mvondo MA, Ngadjui E, Kemka Nguimatio FX, Watcho P. The Ethanol Extract of Avocado (Persea americana Mill. (Lauraceae)) Seeds Successfully Induces Implant Regression and Restores Ovarian Dynamic in a Rat Model of Endometriosis. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. 2020;2020.

**70.** Salazar-López NJ, Domínguez-Avila JA, Yahia EM, Belmonte-Herrera BH, Wall-Medrano A, Montalvo-González E ve ark. Avocado fruit and by-products as

potential sources of bioactive compounds. Food Research International. 2020 Dec 1;138.

**71.** Velderrain-Rodríguez GR, Quero J, Osada J, Martín-Belloso O, Rodríguez-Yoldi MJ. Phenolic-rich extracts from avocado fruit residues as functional food ingredients with antioxidant and antiproliferative properties. Biomolecules. 2021 Jul 1;11(7).

**72.** Singh R, Letai A, Sarosiek K. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. Vol. 20, Nature Reviews Molecular Cell Biology. Nature Publishing Group; 2019. p. 175–93.

**73.** Gulia M, Nishal S, Maddiboyina B, Dutt R, Kumar Desu P, Wadhwa R ve ark. Physiological Pathway, diagnosis and nanotechnology-based treatment strategies for ovarian Cancer: A review. Medicine in Omics. 2023 Jun; 8:100020.

**74.** Kuroki L, Guntupalli SR. Treatment of epithelial ovarian cancer. Vol. 371, The BMJ. BMJ Publishing Group; 2020.

# 8. EKLER

## EK 1: ETİK KURUL KARARI

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr. Sefa Kızıldağ

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

| | |
|---|---|
| ETİK KOMİSYONUN ADI | DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU |
| AÇIK ADRES | Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR |
| TELEFON | 0 232 412 22 54-0 232 412 22 58 |
| FAKS | 0 232 412 22 43 |
| E-POSTA | goaek@deu.edu.tr |

| | | | |
|---|---|---|---|
| BAŞVURU BİLGİLERİ | DOSYA NO: | 8634-GOA | |
| | ARAŞTIRMA | UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☒ DOKTORA ☐ | |
| | ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI | Hass ve Fuerte Avokado (Persea Americana) Ekstraktlarının Apoptotik Etkilerinin in vitro Araştırılması | |
| | ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU | | |
| | SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI | Prof.Dr. Sefa Kızıldağ<br>Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D. | |
| | TEZ SAHİBİNİ ADI SOYADI | Dilan Ulukaya | |
| | ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER | TEK MERKEZ ☒ | ÇOK MERKEZLİ ☐ |

| | Belge Adı | Tarihi | Versiyon Numarası | Dili |
|---|---|---|---|---|
| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ | Mevcut | | Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐ |
| | ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR | Mevcut | | Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐ |
| | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU | Mevcut | | Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐ |
| | OLGU RAPOR FORMU | Mevcut | | Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐ |

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

| KARAR BİLGİLERİ | Karar No:2024/03-22 | Tarih:17.01.2024 |
|---|---|---|
| | Prof.Dr. Sefa Kızıldağ'ın sorumlusu olduğu **"Hass ve Fuerte Avokado (Persea Americana) Ekstraktlarının Apoptotik Etkilerinin in vitro Araştırılması"** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, araştırmanın mevcut haliyle etik yönden uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir. | |

| ETİK KURUL BİLGİLERİ | |
|---|---|
| **ÇALIŞMA ESASI** | Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi<br>İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |

**ETİK KURUL ÜYELERİ**

| Unvanı/Adı/Soyadı | Uzmanlık Alanı | Kurumu | Cinsiyet | Araştırma ile İlişkili mi? | | İmza |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Prof.Dr.Mehmet Birhan Yılmaz (Başkan) | Kardiyoloji | DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü | Erkek | E ☐ | H ☒ | |
| Prof.Dr. Şükran Köse (Başkan Yardımcısı) | Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı | DEÜ Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Prof.Dr. Ahmet Okay Çağlayan | Moleküler Tıp | Sağlık Bilimleri Enstitüsü | Erkek | E ☐ | H ☒ | |
| Prof.Dr. Aylin Özgen Alpaydın | Göğüs Hastalıkları | DEÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Prof.Dr. Özgür Er | Endodonti A.D. | Diş Hekimliği Fakültesi | Erkek | E ☐ | H ☒ | |
| Prof.Dr. Hatice Şimşek Keskin | Halk Sağlığı | DEÜ Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr.Seher Özyürek | Muskuloskeletal Fizyoterapi | DEÜ Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Fakültesi | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr.Nil Hocaoğlu Aksay | Tıbbi Farmakoloji | DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr. Meryem Öztürk Haney | Halk Sağlığı Hemşireliği | Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr. Şule Özbilgin | Anesteziyoloji ve Reanimasyon | DEÜ Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü | Kadın | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr.Tolga Şahin | Spor Yönetim Bilimleri | Necat Hepkon Spor Bilimleri Fakültesi | Erkek | E ☐ | H ☒ | |
| Doç.Dr.Gamze Tuna | Tıbbi Biyokimya | Sağlık Bilimleri Enstitüsü | Kadın | E ☐ | H ☒ | |

## EK 2: ÖZGEÇMİŞ



**DİLAN ULUKAYA**

### Kişisel Bilgiler

**İletişim Bilgileri**

İletişim Adresi
Telefon
E-posta
İnternet Sayfası

**Öğrenim Bilgileri**

28 Temmuz 2015 - 26 Haziran 2020 (4 yıl 11 ay)
Lisans, Anadal/Normal Öğretim, İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
FEN-EDEBİYAT FAKÜLTESİ, MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK PR. (İNGİLİZCE)
Diploma Numarası: 2020/03-00245
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.18 / 4.0

**Yabancı Dil Bilgileri**

İNGİLİZCE (Okuma: İyi, Yazma: İyi, Konuşma: İyi)

### TÜBİTAK Burs ve Destekleri

**Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı**

| Görev | ARDEB | BİDEB | BİLİM TOPLUM | UİDB | TEYDEB | Toplam |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Moderatorlük Sayısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Raportörlük Sayısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Katılmadığı Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |