



Özgün Araştırma/Research Article

Quercetin'in HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücre hatları üzerine etkisinin RIPK1, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyonları ile incelenmesi

The investigation of the effect of quercetin on HT-29 and HCT-116 colon cancer cell lines through the expression of RIPK1, RIPK3, and MLKL genes

Alp Can TUNCER<sup>1</sup> , Şevval HAS<sup>1</sup> , Haydar BAĞIŞ<sup>2</sup> , Esra BOZGEYİK<sup>3</sup>  

<sup>1</sup>Adıyaman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı, 02040, Adıyaman-Türkiye

<sup>2</sup>Adıyaman Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, 02040, Adıyaman-Türkiye

<sup>3</sup>Adıyaman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, 02040, Adıyaman-Türkiye

**Atıf gösterme/Cite this article as:** Tuncer AC, Has Ş, Bağış H, Bozgeyik E. Quercetin'in HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücre hatları üzerine etkisinin RIPK1, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyonları ile incelenmesi. *ADYÜ Sağlık Bilimleri Derg.* 2023;9(3):182-187. doi:10.30569.adiyamansaglik.1302585

Öz

**Amaç:** Quercetin kolon kanseri dahil birçok kanser çeşidinde anti-kanser aktivite gösteren bir bileşiktir. Ancak, quercetin'in nekroptoz yolağı üzerine etkilerini gösteren çalışmalar kısıtlıdır ve bu nedenle bu çalışmada quercetin'in nekroptoz yolağına etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücreleri kültür edilip farklı konsantrasyondaki quercetin'in hücre canlılığına etkisi MTT yöntemi ile belirlendi. Sonrasında quercetin'in nekroptoz etkisinin belirlenmesi için RIPK1, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyon seviyesi analiz edildi.

**Bulgular:** HT-29 hücrelerinde quercetin'in aktif dozu 50 µM ( $p=0,0286$ ) olarak bulunurken HCT-116 hücrelerinde 100 µM ( $p=0,009$ ) bulundu. 50 ve 100 µM quercetin ile maruz bırakılan HT-29 hücrelerinde nekroptoz belirteçlerinin ekspresyon seviyesinde ciddi bir artış tespit edildi.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları quercetin'in nekroptoz yolağının aktif bir düzenleyicisi olabileceğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kolon kanseri, MLKL, Nekroptoz, Quercetin, RIPK1, RIPK3

Abstract

**Aim:** Quercetin is a compound with anti-cancer activity in many types of cancer. However, studies showing the effects of quercetin on the necroptosis pathway are limited, and therefore, the aim of this study was to determine the effect of quercetin on the necroptosis pathway.

**Materials and Methods:** Colon cancer cells were cultured and effect of different concentrations of quercetin on cell viability was determined by MTT method. Afterwards, the expression level of RIPK1, RIPK3 and MLKL genes were analyzed to determine the effect of quercetin on necroptosis.

**Results:** The active dose of quercetin was found to be 50 µM in HT-29 cells ( $p=0.0286$ ), while 100 µM was found in HCT-116 cells ( $p=0.009$ ). A significant increase in the expression level of necroptosis markers was detected in HT-29 cells treated with 50 and 100 µM quercetin.

**Conclusion:** The results of this study showed that quercetin may be an active regulator of the necroptosis pathway.

**Keywords:** Colon cancer, MLKL, Necroptosis, Quercetin, RIPK1, RIPK3.

**Yazışma Adresi/Address for Correspondence:** Esra BOZGEYİK, Adıyaman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, 02040, Adıyaman-Türkiye, E-mail: [ebozgeyik@adiyaman.edu.tr](mailto:ebozgeyik@adiyaman.edu.tr)

**Geliş Tarihi/Received:**26.05.2023

**Kabul Tarihi/Accepted:**14.09.2023


**Yayın Tarihi/Published online:**31.12.2023



Bu eser, Creative Commons Atıf-GayriTicari 4.0 Uluslararası Lisansı ile lisanslanmıştır.  
Telif Hakkı © 2023 Adıyaman Üniversitesi Rektörlüğü



Bu makale araştırma ve yayın etiğine uygun hazırlanmıştır.

 iThenticate®  
for Authors & Researchers intihal incelemesinden geçirilmiştir.



## Giriş

Kolon kanseri, Dünya genelinde yaygın görülen bir kanser çeşididir. 2020 Global kanser istatistiklerine göre insidans olarak üçüncü sırada, mortalite olarak ikinci sırada yer almaktadır.<sup>1</sup> Dünya genelinde kolorektal kanserlerin her yıl 1 milyondan fazla insanı, kansere bağlı ölümlerde ise yarım milyondan fazla insanı etkilediği bilinmektedir.<sup>1</sup> Kolon kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde birçok genin önemli olduğu bilinmektedir. Kolon kanserlerinin gelişimi için genetik mutasyonların yanı sıra, diyet, fiziksel aktivite eksikliği, obezite, aşırı alkol tüketimi, sigara, stres ve kırmızı et tüketimi gibi risk faktörleri sıralanabilir.<sup>2</sup> Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bol sebze, meyve, tahıl, lif ve vitamin içeren diyetlerin kolon kanseri riskinde önemli bir düşüş ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir.<sup>3</sup> Besinlerin içerisindeki polifenolik bileşiklerin en büyük sınıfı olan flavonoidlerin, *in vitro* ve *in vivo* tümör hücresi büyümesini baskıladığı birçok çalışmada gösterilmiştir.<sup>4</sup>

Quercetin; kapari, yaban mersini, dereotu, kişniş, brokoli, soğan, kırmızı meyveler ve çay dahil olmak üzere çeşitli sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunan en önemli ve iyi çalışılmış flavonoidlerden biridir.<sup>5</sup> Quercetin birçok bitkinin kabuğunda bulunan kimyasal bir pigmenttir. Vücutta antioksidan olarak işlev gördüklerinden yararlı etkileri fazladır. Her çeşit kırmızı, mor ve yeşil pigmentli bitkiler quercetin içermektedir. Bitkisel kaynaklarda bulunan quercetin miktarı yetiştirilen yere göre, tazeliğine göre ve nasıl hazırlandığına göre değişmektedir.<sup>5</sup>

Quercetin'in kolon kanseri dahil birçok kanser çeşidinde anti-kanser etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Quercetin'in hücre çoğalması, anjiyogenez, apoptoz, inflamasyon, ilaç dirençliliği, hücre göçü, metastaz ve otofaji gibi çeşitli mekanizmalarda etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>2</sup> Örneğin; Caco-2 kolon kanseri hücrelerinde CDC6 (cell division cycle 6), CDK4 (cyclin-dependent kinase 4) ve siklin D1 gibi hücre döngüsü ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyesinin düşmesine neden olarak hücre döngüsünü duraksattığı gösterilmiştir.<sup>6</sup> HT-29 hücrelerinde AMPK ve p53'ün fosforilasyonu

yoluyla apoptozu uyardığı gösterilmiştir.<sup>7,8</sup> HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde ise AMPK sinyal yolağı aracılığı ile apoptoz yolağının uyarılmasında önemli olduğu gösterilmiştir.<sup>9</sup> Bunun yanı sıra, LoVo kolon kanseri hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini arttırarak apoptozu uyardığı gösterilmiştir.<sup>10</sup> Quercetin'in kolon kanseri hücrelerinde farklı mekanizmalara etki ettiği yukarıda sıralanmıştır. Ancak nekroptoz üzerine etkilerinin gösteren çalışmalar kısıtlıdır. Nekroptoz, apoptoz ve nekrozun izlerini taşıyan bir programlı hücre ölümü çeşididir. Programlı olmasından dolayı apoptoz, hücre ölümü morfolojisi olarak nekroza benzediği için nekroptoz olarak adlandırılmıştır. Nekroptotik sinyalizasyonu, tümör nekrozis faktörü alfa reseptörleri (TNFR1), Toll benzeri reseptörler, interferon reseptörleri veya belirli DNA bağlayıcı proteinlerin aktivasyonunun aşağı akışındaki üç anahtar protein ile uyarılır. Bu proteinler: RIPK1 (receptor interacting serine/threonine kinase 1), RIPK3 ve MLKL (mixed lineage kinase domain-like pseudokinase).<sup>11-15</sup> İlk olarak RIP proteinleri nekrosom oluşturur ve sonrasında MLKL'nin bir araya toplanmasını ve fosforilasyonunu sağlar. MLKL'nin RIPK3 ile fosforilasyonu, litik hücre ölümünü uyararak için membranları geçirgen hale getiren MLKL oligomerlerinin toplanmasını ve plazma zarı translokasyonunu kolaylaştırır.<sup>16</sup>

Quercetin'in HT-29<sup>17</sup> ve HCT-116<sup>18</sup> hücrelerinin proliferasyonunu baskıladığı ve apoptozu uyardığı gösterilmiştir. Ancak, yapılan literatür taramaları neticesinde quercetin'in kolon kanseri hücrelerinde nekroptoz yolağına etkisini gösteren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada, quercetin'in kolon kanseri hücrelerinde nekroptoz yolağına etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Hücre kültürü

Bu çalışma için HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücreleri ATCC'den temin edilmiştir. Hücrelerin kültür işlemleri 37 °C sıcaklıkta, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeren inkübatörde gerçekleştirildi. HT-29 ve HCT-116 hücreleri

%10 fetal sıgır serumu (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD) ve %1 penisilin/streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco, Thermo Fisher Scientific, ABD) besiyerinde çoğaltıldı. Flasklarda çoğaltılarak yeterli sayıya ulaşmış hücreler Tripsin-EDTA (Thermo, Thermo Fisher Scientific, ABD) ile kaldırılarak falkon tüpe toplandı. Ardından 2000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve pelet tekrardan süspanse edilerek Triphan blue ile Thoma lamında hücre sayımı yapıldı.

### Quercetin'in kolon kanseri hücrelerinde hücre canlılığına etkisinin gösterilmesi

İlk olarak 96-kuyucuklu kültür kaplarına 30.000 hücre/ml ekildi ve 24 saat karbondioksitli inkübatörde inkübe edildi. 24 saatin sonunda hücrelerdeki besi yeri uzaklaştırıp PBS (Phosphate-Buffered Saline) ile yıkama işlemleri yapıldı. Dimetil sülfoksit (Sigma, ABD) içinde çözdürülen quercetin farklı konsantrasyonlara (200-100-50-25-12.5-6.25-0 µM) hazırlandı ve HT-29 ve HCT-166 hücrelerine verilerek 24h inkübe edildi.<sup>19</sup> İnkübasyon sonrasında kuyucuklara 100 µl 1 mg/ml oranında methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (Sigma, ABD) solüsyonu eklendi ve 2-3 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında süpernatant çekilip mavi-mor formazan partiküller DMSO ile çözdürülerek 570 nm dalga boyunda Thermo Scientific Multiskan GO (Thermo Fisher Scientific, ABD) mikropłaka okuyucuda okutuldu.

### Real-Time PCR deneyleri

Gene ekspresyonları için ilk olarak hücrelerden RNA izolasyonu yapıldı. Hücreler kaldırıldıktan sonra beta-merkaptoetanol içeren liziz tampon çözeltisi ile çözdürüldü. RNA izolasyonları için GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific, ABD) kullanıldı. Kitin prosedürüne göre diğer işlemler aşama aşama takip edildi. Son olarak, elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonlarını belirlemek için RNA'lar NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, ABD) spektrofotometrede ölçüldü ve hızlıca -80 °C dondurucuya kaldırıldı.

İzole edilen RNA örneklerinden tek sarmal cDNA sentezi için RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific,

ABD) kullanıldı. cDNA sentezi için 500 ng RNA kullanıldı ve üretici firmanın önerisi doğrultusunda belirlenen miktarlarda karışım hazırlandı. Hazırlanan karışım SensoQuest PCR cihazında uygun termal şartlara tabii tutuldu.

Nekroptoz ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerini belirlemek için bu genlere spesifik primerler kullanıldı.<sup>20</sup> Bu primerler ve RealQ Plus 2x Master Mix Green Kit (Amplicon, Danimarka) ile genlerin ekspresyon seviyeleri belirlendi. Her bir örnek için hazırlanan bu karışım RotorGene (Qiagen, Almanya) cihazında 95 °C'de 15 dk, 95°C'de 15 s 60°C'de s ve 72 °C'de 30 s (40 döngü) termal şartlara tabii tutuldu. Her reaksiyon sonunda 55-95°C arasında erime eğrisi analizi yapıldı. Reaksiyon sonrasında uygun bir eşik değerde her bir örnek için Ct (cycling threshold) değeri belirlendi. Hesaplanan Ct değerlerine göre gen ekspresyon seviyesi  $2^{-\Delta Ct}$  ( $\Delta Ct = C_{t\text{ hedef gen}} - C_{t\text{ referans gen}}$ ) formülüne göre belirlendi.<sup>21</sup> Formüldeki hedef genler RIPK1, RIPK3, MLKL'yi, referans gen ise GAPDH'i ifade etmektedir.

### Verilerin analizi

Tüm sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve grafik olarak gösterilmesinde GraphPad Prism (v.8) programı kullanıldı. Verilerin normalitesini analiz etmek için Shapiro-Wilk testi uygulandı. Sonrasında, ikili grupların karşılaştırılmasında t-testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında ise One-Way ANOVA analizi kullanıldı. Tüm sonuçlar için %95 güven aralığından  $p < 0,05$  olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

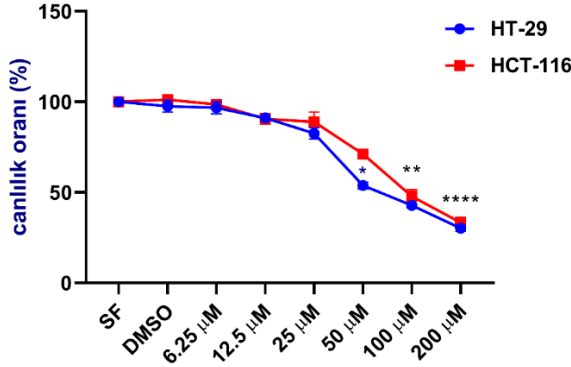
### Araştırmanın etik boyutu

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmediğinden etik kurul izni alınmamıştır.

### Bulgular

Quercetin'in kolon kanseri hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkilerinin belirlenmesi için MTT deneyleri yapıldı. Doza bağılı olarak HT-29 ve HCT-116 hücrelerinde hücre canlılığının azaldığı gösterildi (Şekil 1). HT-29 kolon kanseri hücrelerinde quercetin'in

etkin dozu 50 µM olarak belirlendi ( $p=0,0286$ ). HCT-116 hücrelerinde ise etkin doz 100 µM olarak belirlendi ( $p=0,009$ ).

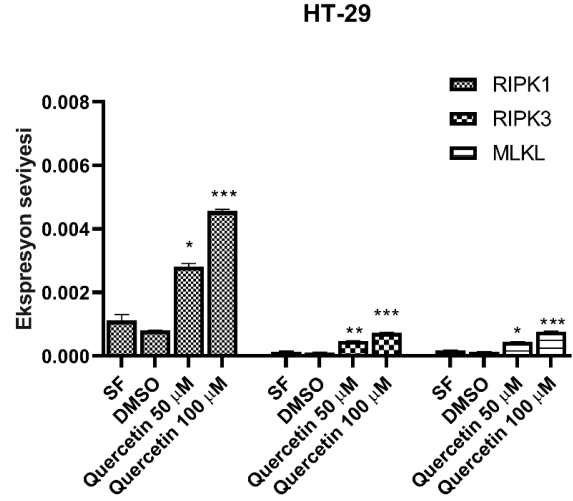


**Şekil 1.** HT-29 ve HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde quercetin'in hücre canlılığına etkisi gösterilmiştir. \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\*\* $p<0,0001$ . SF: serum içermeyen besiyeri, DMSO: dimetilsülfoksit

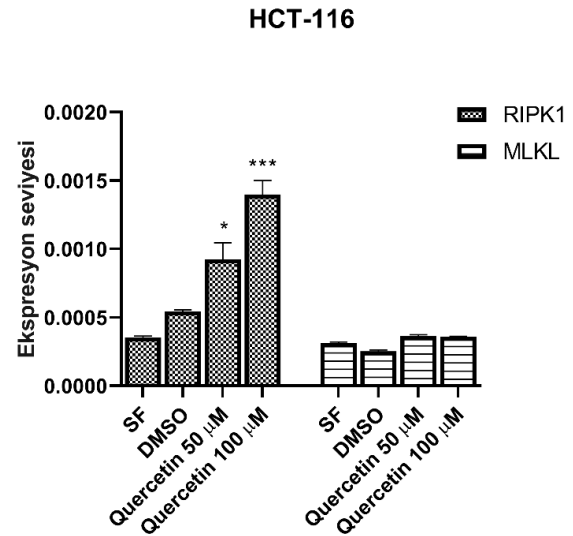
HT-29 ve HCT-116 hücrelerinde quercetin maruziyeti sonrasında nekroptoz ile ilişkili genlerin ekspresyon seviyesinin belirlenmesi için Real-Time PCR deneyleri yapıldı. Nekroptoz ilişkili genlerin ekspresyon seviyesindeki değişimler iki farklı dozdaki (50-100 µM) quercetin uygulaması sonrasında belirlendi. HT-29 hücrelerinde RIPK1 ekspresyon seviyesi, 50 µM ve 100 µM quercetin uygulanan iki grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış gösterdi. 50 µM quercetin uygulanan grupta RIPK1 ekspresyon seviyesi yaklaşık 4 kat artış gösterirken ( $p=0,023$ ), 100 µM quercetin uygulanan gruptaki RIPK1 seviyesinin yaklaşık 6,5 kat artış gösterdiği bulundu ( $p=0,001$ ). Bunun yanı sıra, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyon seviyesinde de anlamlı artışlar gözlemlendi (Şekil 2).

HCT-116 kolon kanseri hücrelerinde RIPK1 ve MLKL genlerinin ekspresyon seviyesi gösterildi. HCT-116 hücrelerinin RIPK3 eksprese etmediği daha önceki çalışmalarda gösterilmişti.<sup>20,22</sup> HCT-116 hücrelerinin 50 µM ve 100 µM quercetin maruziyeti sonrasında RIPK1 ekspresyon seviyesi kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış gösterdi. HCT-116 hücrelerinin 50 µM quercetin maruziyeti sonrasında RIPK1 ekspresyon seviyesinin kontrol grubuna

kıyasla yaklaşık 2 kat arttığı ( $p=0,049$ ), 100 µM quercetin maruziyeti sonrasında ise 2,5 kat arttığı bulundu ( $p=0,001$ ). Ancak MLKL geninin ekspresyon düzeyinde anlamlı bir değişim görülmedi ( $p=0,136$ ) (Şekil 3).



**Şekil 2.** HT-29 kolon kanseri hücrelerinin 50 µM ve 100 µM quercetin maruziyeti sonrasında RIPK1, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyon seviyelerindeki değişimler gösterilmiştir. \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\* $p<0,001$ . SF: serum içermeyen besiyeri, DMSO: dimetilsülfoksit



**Şekil 3.** HCT-116 kolon kanseri hücrelerinin 50 µM ve 100 µM quercetin maruziyeti sonrasında RIPK1 ve MLKL genlerinin ekspresyon seviyelerindeki değişimler gösterilmiştir. \* $p<0,05$ , \*\*\* $p<0,001$ . SF: serum içermeyen besiyeri, DMSO: dimetilsülfoksit

## Tartışma

Nekroptoz, apoptozdan farklı programlanmış bir enflamatuvar hücre ölümü şeklindedir. Bu programlı hücre ölümü çeşidi, doku onarımını ve patojenlerin tespitini

desteklemek için gelişmiştir.<sup>23</sup> RIPK1-RIPK3-MLKL'den oluşan kanonik ölüm reseptörü aracılı nekroptotik yolak, TNFR gibi ölüm alanı reseptörlerinin ve Toll benzeri reseptörlerin aşağı akışında tetiklenir.<sup>11</sup>

Doğal ürünler, özellikle flavonoidler düşük toksisite ve çoklu hedefleme teknikleri nedeniyle kanser tedavisi için önemli moleküllerdir. Antioksidan, anti-bakteriyel ve anti-inflamatuar etkileri gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip bir flavonoid olarak quercetin sebze ve meyvelerde bol miktarda bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda quercetin farklı kanser türlerinde apoptoza etkisi gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, otofaji, hücre yaşlanma, mitotik felaket, ferroptoz, piroptoz ve nekroptoz gibi apoptoz dışı hücre ölümlerini de etkilediği gösterilmiştir.<sup>24</sup> Az sayıdaki çalışma kanser hücrelerinde quercetin nekroptozu uyardığını göstermektedir. Estrada-Villaseñor ve arkadaşları, dev hücreli kemik tümöründe quercetin maruziyetinin otofajiye ek olarak RIPK1 ekspresyonunu artırarak nekroptozu uyarıldığını göstermişlerdir.<sup>25</sup> Buna ek olarak, MCF7 meme kanseri hücrelerinin quercetin ile ZVAD (apoptoz inhibitörü) maruziyetine kıyasla Necrostatin-1 ile maruz bırakıldığında hücre çoğalmasının artmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, Necrostatin-1 varlığında quercetin Necrostatin-1 yokluğuna kıyasla BAX geninin ekspresyonunu azaltarak apoptozu baskıladı ve hücre proliferasyonunu arttırdığı gösterilmiştir.<sup>26</sup> Ayrıca, quercetin sıçanlarda omurilik yaralanmasından sonra RIPK3/MLKL aracılı oligodendrosit nekroptozunu hafiflettiği bildirilmiştir.<sup>27</sup> Bir diğer çalışmada ise, quercetin tavuk beyninde nekroptoz insidansını önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir.<sup>28</sup>

Bu çalışmada ise quercetin kolon kanseri hücrelerinde RIPK1, RIPK3 ve MLKL genlerinin ekspresyonunu düzenleyerek nekroptozu gösterilmiştir. Özellikle HT-29 hücrelerinde quercetin maruziyetinin hücrelerde RIPK1, RIPK3 ve MLKL ekspresyonunu uyararak nekroptozu uyardığı gösterilmiştir. RIPK3 ekspresyonunu HCT-116 hücrelerinde<sup>20,22</sup> ise yalnızca RIPK1 geninin ekspresyon seviyesinde bir artış

olduğu gösterilmiştir. Bu hücrelerde RIPK3 ekspresyonunun olmaması alt sinyal yolağındaki MLKL geninin ekspresyon seviyesinin değişmemesine neden olabilir. Bu durumun açıklanması için, RIPK1 ve RIPK3 proteinlerinin seviyesi ve MLKL fosforilasyonunun gösterilmesi gibi ileriki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Dolayısıyla, nekroptoz ilişkili genlerin protein seviyelerinin belirlenmemesi çalışmamızın sınırlılıkları arasındadır. Buna ek olarak, elektron mikroskopu görüntüleriyle nekroptoz morfolojisinin gösterilmesi quercetin nekroptoz yolağındaki rolünün daha net olarak ortaya konmasında büyük önem arz etmektedir. Ayrıca, *in vivo* fare modellerinde quercetin nekroptoz üzerine etkisinin belirlenmemiş olması da sınırlılıklarımız arasında yer almaktadır.

### Araştırmanın Etik Boyutu

Bu çalışma için etik kurul onayı etik kurul izni alınmamıştır.

### Yazar Katkıları

**ACT:** Fikir/Kavram, Tasarım ve Dizayn, Kaynaklar, Veri Toplama ve/veya İşleme, Literatür Taraması, Yazı. **SH:** Tasarım ve Dizayn, Kaynaklar, Veri Toplama ve/veya İşleme. **HB:** Literatür Taraması, Kaynaklar, Eleştirel İnceleme. **EB:** Fikir/Kavram, Denetleme/Danışmanlık, Kaynaklar, Malzemeler, Veri Toplama ve/veya İşleme, Analiz ve/veya Yorum, Literatür Taraması, Yazı, Eleştirel İnceleme

### Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir. Makalenin içeriğinden ve yazımından yalnızca yazarlar sorumludur.

### Araştırma Desteği

Bu çalışma, 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında Adıyaman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı öğrencisi Alp Can TUNCER'in 1919B012202294 numaralı projesi ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir.

### Hakem Değerlendirmesi

## Dış bağımsız

## Kaynaklar

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-249.
- Darband SG, Kaviani M, Yousefi B, et al. Quercetin: A functional dietary flavonoid with potential chemo-preventive properties in colorectal cancer. *J Cell Physiol*. Sep 2018;233(9):6544-6560. doi:10.1002/jcp.26595
- Aoyama N, Kawado M, Yamada H, et al. Low intake of vegetables and fruits and risk of colorectal cancer: the Japan Collaborative Cohort Study. *Journal of epidemiology*. 2014;24(5):353-360.
- Turati F, Rossi M, Pelucchi C, Levi F, La Vecchia C. Fruit and vegetables and cancer risk: a review of southern European studies. *British Journal of Nutrition*. 2015;113(S2):S102-S110.
- Sak K. Site-specific anticancer effects of dietary flavonoid quercetin. *Nutrition cancer*. 2014;66(2):177-193.
- van Erk MJ, Roepman P, van der Lende TR, et al. Integrated assessment by multiple gene expression analysis of quercetin bioactivity on anticancer-related mechanisms in colon cancer cells in vitro. *European journal of nutrition*. 2005;44(3):143-156.
- Kim H-J, Kim S-K, Kim B-S, et al. Apoptotic effect of quercetin on HT-29 colon cancer cells via the AMPK signaling pathway. *Journal of agricultural food chemistry*. 2010;58(15):8643-8650.
- Wenzel U, Herzog A, Kuntz S, Daniel H. Protein expression profiling identifies molecular targets of quercetin as a major dietary flavonoid in human colon cancer cells. *Proteomics*. 2004;4(7):2160-2174.
- Kim H-S, Wannatung T, Lee S, et al. Quercetin enhances hypoxia-mediated apoptosis via direct inhibition of AMPK activity in HCT116 colon cancer. *Apoptosis*. 2012;17(9):938-949.
- Zhang H, Zhang M, Yu L, Zhao Y, He N, Yang X. Antitumor activities of quercetin and quercetin-5', 8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. *Food Chemical Toxicology*. 2012;50(5):1589-1599.
- He S, Wang L, Miao L, et al. Receptor interacting protein kinase-3 determines cellular necrotic response to TNF- $\alpha$ . *Cell*. 2009;137(6):1100-1111.
- Holler N, Zaru R, Micheau O, et al. Fas triggers an alternative, caspase-8-independent cell death pathway using the kinase RIP as effector molecule. *Nature immunology*. 2000;1(6):489-495.
- Murphy JM, Czabotar PE, Hildebrand JM, et al. The pseudokinase MLKL mediates necroptosis via a molecular switch mechanism. *J Immunity*. 2013;39(3):443-453.
- Sun L, Wang H, Wang Z, et al. Mixed lineage kinase domain-like protein mediates necrosis signaling downstream of RIP3 kinase. *Cell*. 2012;148(1-2):213-227.
- Zhang D-W, Shao J, Lin J, et al. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science*. 2009;325(5938):332-336.
- Petrie EJ, Hildebrand JM, Murphy JM. Insane in the membrane: a structural perspective of MLKL function in necroptosis. *Immunology cell biology*. 2017;95(2):152-159.
- Li Y, Wang Z, Jin J, et al. Quercetin pretreatment enhances the radiosensitivity of colon cancer cells by targeting Notch-1 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. Mar 19 2020;523(4):947-953. doi:10.1016/j.bbrc.2020.01.048
- Kim GT, Lee SH, Kim YM. Quercetin Regulates Sestrin 2-AMPK-mTOR Signaling Pathway and Induces Apoptosis via Increased Intracellular ROS in HCT116 Colon Cancer Cells. *J Cancer Prev*. Sep 2013;18(3):264-70. doi:10.15430/jcp.2013.18.3.264
- Yüksel TN, Bozgeyik E, Yayla M. The effect of quercetin and quercetin-3-d-xyloside on breast cancer proliferation and migration. *Journal of Basic Clinical Health Sciences*. 2022;6(2):569-578.
- Bozgeyik E, Bagis H, Bozgeyik I, Kocahan S. The roles of long non-coding RNAs in the necroptotic signaling of colon cancer cells. *Molecular biology reports*. Apr 25 2023;doi:10.1007/s11033-023-08441-1
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *methods*. 2001;25(4):402-408.
- Moriwaki K, Bertin J, Gough P, Orlowski G, Chan FKJd, disease. Differential roles of RIPK1 and RIPK3 in TNF-induced necroptosis and chemotherapeutic agent-induced cell death. 2015;6(2):e1636-e1636.
- Yan J, Wan P, Choksi S, Liu ZG. Necroptosis and tumor progression. *Trends in cancer*. Jan 2022;8(1):21-27. doi:10.1016/j.trecan.2021.09.003
- Yang H, Xu S, Tang L, et al. Targeting of non-apoptotic cancer cell death mechanisms by quercetin: Implications in cancer therapy. *Frontiers in pharmacology*. 2022;13:1043056. doi:10.3389/fphar.2022.1043056
- Estrada-Villaseñor E, Delgado-Cedillo A, Hernández-Pérez A, et al. Ultrastructural changes in giant cell tumor of bone cultured cells exposed to quercetin. *Ultrastructural pathology*. Nov 2021;45(6):335-345. doi:10.1080/01913123.2021.1979704
- Khorsandi L, Orazizadeh M, Niazvand F, Abbaspour MR, Mansouri E, Khodadadi A. Quercetin induces apoptosis and necroptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Bratislavské lekárske listy*. 2017;118(2):123-128. doi:10.4149/bl\_2017\_025
- Fan H, Tang H-B, Shan L-Q, et al. Quercetin prevents necroptosis of oligodendrocytes by inhibiting macrophages/microglia polarization to M1 phenotype after spinal cord injury in rats. 2019;16(1):1-15.
- Liu L, Liu Y, Cheng X, Qiao X. The Alleviative Effects of Quercetin on Cadmium-Induced Necroptosis via Inhibition ROS/iNOS/NF- $\kappa$ B Pathway in the Chicken Brain. *Biol Trace Elem Res*. Apr 2021;199(4):1584-1594. doi:10.1007/s12011-020-02563-4