

Využití biologické aktivity quercetinu v léčbě onkologických onemocnění

Barbora Novotná¹, Lenka Borská², Zdeněk Fiala¹, Jan Krejsek³

¹Ústav hygieny a preventivního lékařství, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

²Ústav patologické fyziologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

³Ústav klinické imunologie a alergologie, Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Quercetin je přírodní flavonoid s protizánětlivými a antioxidačními účinky. Studium působení quercetinu na normální a nádorově transformované buňky přináší v současnosti nové poznatky o možnostech využití quercetinu v terapii onkologických onemocnění. Studium účinků quercetinu při aplikaci na nádorové buňky přineslo poznatky o tom, že jeho aplikace vede v nádorových buňkách s přítomným regulačním proteinem p53 k významnému zvýšení procesů spojených s apoptózou. Zvýšení produkce proteinu p53 je přitom spojeno s aktivací AMPK (AMP-aktivovaná proteinová kináza, AMP-activated protein kinase). Dále bylo jasně prokázáno, že typ superoxid dismutázy s manganem v aktivním místě a geny BCL2 jsou hlavními cíli v molekulárním mechanismu, který aktivuje chemoterapii, jejíž součástí je také quercetin. Tento mechanismus indukuje apoptózu přímou aktivací kaspázové kaskády v mitochondriích nádorových buněk. Aplikace quercetinu snižuje v buňkách koncentraci proteinu Her-2/neu spojeného se špatnou prognózou pro nemocné s rakovinou prsu. Quercetin významně zvyšuje apoptózu, která je indukována TRAIL. To je spojeno se zvýšením exprese death receptoru 5 a inhibicí exprese survivinu a má mnoho dalších účinků, které uvádíme podle typu nádorových buněk, na kterých byly účinky quercetinu zkoumány. Přímé klinické využití mohou najít poznatky o tom, že quercetin zvyšuje účinnost terapie v kombinaci s doxorubicinem, tamoxifenem, vinkristinem, cisplatinou, 5-fluorouracilem a temozolomidem. V mnoha případech quercetin zvyšuje citlivost buněk k terapii nebo činí chemoterapii méně toxickou. Terapeutické aplikace quercetinu mohou být však limitovány z důvodu různorodosti a množství účinků v buňkách a potenciálně v celém organismu.

Klíčová slova: Quercetin, biologická aktivita, nádorové onemocnění, mechanismy účinku, citlivost k terapii.

The use of biological activity of quercetin in cancer therapy

This review deals with biological activity of quercetin with the use of newer data from PubMed database. Quercetin is a flavonoid of natural origin possessing antiinflammatory and antioxidative properties. Studies of quercetin effects on normal and tumor cells are resulting in a new information about possibilities of quercetin use in cancer therapy. These studies on quercetin cellular effects in cancer cells elucidated the fact that quercetin application leads in these cells to significant increase of apoptotic processes when these cells produce protein p53. Increased production of protein p53 is accompanied by an activation of AMPK (AMP-activated protein kinase). It was clearly demonstrated that a manganese-containing superoxid dismutase and BCL2 genes represent main targets in a molecular mechanism that activates quercetin-containing chemotherapy and which also induces apoptosis through a direct activation of caspase cascade in mitochondrias of cancer cells. Quercetin administration decreases cellular concentrations of Her-2/neu protein that indicates unfavorable prognosis for patients with breast cancer. Quercetin also significantly increases TRAIL-induced apoptosis. This is accompanied by an increase in death receptor 5 expression and by an inhibition of survivine expression and also by numerous other effects that are discussed according to the type of cancer cells, in which they were investigated. Data regarding the ability of quercetin to increase effectivity of therapies in combinations with doxorubicine, tamoxifen, vincristin, cisplatin, 5-fluorouracil and temozolomide are of direct clinical relevance. In many cases, quercetin increases cell sensitivity to the therapy or makes chemotherapy less toxic. However, therapeutic use of quercetin may be limited because of its various other effects in cells and potentially in a whole organism.

Key words: Quercetin, biological activity, tumor diseases, mechanism of action, sensitivity to therapy.

Onkologie 2013; 7(5): 248–251

Studium biologicky aktivních sloučenin přírodního původu prokázalo, že tyto látky jsou většinou sekundárními produkty metabolismu rostlin a že tyto sekundární metabolity mají velice různorodou chemickou strukturu. Dále bylo prokázáno, že sekundární metabolity sice nejsou nezbytně nutné pro existenci produkujícího organismu a pro průběh biologických procesů probíhajících na různých úrovních (od buňky až po celý organismus), ale přesto mohou být využity v terapeutických aplikacích při mnohých onemocněních.

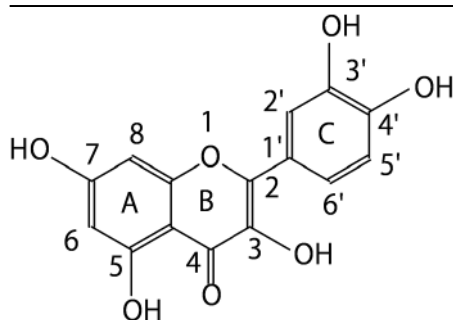
Velice zajímavou a rozsáhlou skupinou sekundárních metabolitů jsou flavonoidy, které mají velice specifickou chemickou strukturu a jsou přítomny ve všech vyšších rostlinách. Jedním z flavonoidů, na který je v současnosti upřena pozornost vědecké a lékařské komunity, je quercetin (1), který je pro svoji zajímavost předmětem tohoto přehledového článku. Vzhledem k tomu, že poznatky o quercetinu jsou velice rozsáhlé, protože tato látka může pozitivně ovlivňovat mnoho normálních a patologických procesů v lidském organismu, a také vzhledem na možnou roli quercetinu v proce-

sech spojených s maligní transformací normálních buněk, je tato práce věnována úloze quercetinu v ovlivnění nádorových buněk a jeho možnému využití v terapii nádorových onemocnění.

Cíl

Cílem této práce bylo vypracování souhrnu současných poznatků o možnostech využití účinků látky přírodního původu – quercetinu v onkologii a sumarizace závěrů o reálnosti využití quercetinu v terapii rakoviny různého typu na základě poznatků o mechanismech jeho působení.

Obrázek 1. Chemická struktura quercetinu – 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-onu



Metodika

Tato práce byla vypracována především s využitím databáze PubMed, U.S. National Library of Medicine, National Institutes of Health. V práci odkazujeme na publikace, které jsou věnovány problematice mechanismů působení a využití účinků quercetinu v onkologii. Neuvádíme práce, které informují o přítomnosti quercetinu v různých rostlinách nebo které byly věnovány testování biologické aktivity směsí látek rostlinného původu s prokázanou přítomností quercetinu.

Chemická struktura quercetinu

Quercetin je nejdůležitějším ze skupiny tzv. flavonolů, které obsahují hydroxylovou skupinu v poloze 3 heterocyklu B (obrázek 1). Chemicky se jedná o 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-chromen-4-on neboli, s využitím příslušnosti quercetinu mezi flavonoly, 5,7,3', 4'-tetrahydroxyflavonol (hydroxyl v poloze 3 vyplývá z použití termínu 'flavonol') (obrázek 1). Strukturně příbuznými jsou flavonoidy kemferol, myricetin, fisetin, isorhamnetin, pachypodol nebo rhamnazin. Glykozidací quercetinu zbytky různých cukrů vznikají quercetin-3-O-arabinozid, hyperosid (3-O-galaktozid), isoquercetin (3-O-glukozid) a spiraeosid (4'-O-glukozid) atd.

Základní mechanismy biologické aktivity quercetinu

Molekula quercetinu působí jako antioxidant s významným protizánětlivým, antikarcinogenním a kardioprotektivním účinkem (2–4). Má se za to, že antioxidační působení quercetinu je způsobeno přítomností katecholové struktury v molekule (viz heterocykl B, obr. 1), a také přítomností několika relativně lehce oxidovatelných hydroxylových skupin ve struktuře quercetinu (hydroxylové skupiny v poloze 3, 3' a 4') (4). Základem antioxidačního působení quercetinu je jeho přeměna na látky, které generují reaktivní formy kyslíku ROS, při zpětné přeměně na quercetin. Proto může mít quercetin pro-oxidační aktivitu, a to především při vysokých dávkách

(4). (Poznámka: V lidském organismu je quercetin přítomen většinou jako glykozid. Během intestinální absorpce je pak transformován na glukuronid nebo sulfát. V krvi se proto nachází jen v konjugovaných formách a nikoliv jako aglykon).

Protizánětlivé účinky quercetinu jsou pravděpodobně způsobeny inhibicí produkce a aktivity leukotrienů a prostaglandinů, a také inhibicí uvolňování histaminu (5). Studium buněčných kultur a studia prováděné na zvířatech prokázaly, že quercetin inhibuje cyklooxygenázu-2 (COX-2) a nukleární faktor kappa B (nuclear factor-kappa B), který kontroluje expresi genů kódujících pro zánětlivé cytokiny (6). Některé jiné práce (7) však nepotvrdily účinek na COX-2 in vivo.

Protinádorová aktivita quercetinu

Quercetin je pro lidský organismus látka, která se do něj dostává z vnějšího prostředí, hlavně jako součást diety. Přesto má quercetin schopnost zapojit se do mnoha biochemických reakcí, které v lidském organismu probíhají. V současné době je vysoce aktuální problematika interakce quercetinu s procesy, které probíhají v normálních a nádorových buňkách, a také v buňkách procházejících maligní transformací. Pochopení rozdílů v působení quercetinu na výše uvedené typy buněk na molekulární a celulórní úrovni je základem využití této přírodní sloučeniny v terapii nádorových onemocnění.

Potenciální využití quercetinu v léčbě kolorektálních nádorů

Kolorektální nádory patří mezi nejčastější malignity. Léčba pokročilých stadií tohoto typu rakoviny kombinací chemoterapie a radiační terapie se střetává se dvěma hlavními problémy, kterými jsou rezistence na terapii a nespecifická toxicita, která působí na normální tkáň (8).

Kombinace quercetinu a 5-fluorouracilu byla studována na kolorektálních nádorech, které prokazovaly rezistenci na chemoterapii s 5-fluorouracilem, který je pro terapii právě nádorů tohoto typu užíván (9, 10). Byly publikovány výsledky testování kombinace quercetinu a 5-fluorouracilu na dvou kolorektálních liniích (11), z nichž jedna byla divokého typu z hlediska přítomnosti proteinu p53, který potlačuje růst nádorů (tumor suppressor protein) a zabraňuje genomovým mutacím. Druhá linie měla mutovaný gen pro protein p53. Studium indukce apoptózy prokázalo, že buňky divokého typu s normálním p53 byly citlivější k 5-fluorouracilu než buňky se zmutovaným p53. Kombinace 5-fluorouracilu s quercetinem významně zvýšila indukci apoptózy v buňkách s nezmutovaným proteinem p53, přičemž přítomnost quercetinu

významně zvýšila expresi p53. V buňkách, kterých byla aktivita p53 eliminována však došlo k úplné eliminaci apoptózy, což prokázalo spojitost působení quercetinu přes protein p53. Tohoto poznatku je možno potenciálně využít ke zvýšení efektivity terapie kolorektálních nádorů s přítomným divokým, nezmutovaným proteinem p53.

Analýza genové exprese prokázala u genu bcl2, že terapie zahrnující quercetin vedou k zesílené tvorbě enzymu superoxid dismutasy 2 (přibližně 5,7násobně) (8). Druhým efektem je 3,3násobná snížená exprese genu bcl2 inhibicí aktivace nukleárního faktoru kappaB. Bylo jasné prokázáno, že typ superoxid dismutázy s manganem a genem bcl2 jsou hlavními cíli v molekulárním mechanismu, který je aktivován chemoterapií zahrnující quercetin (8).

Experimentální aplikace quercetinu signifikantně snižují životnost buněk v závislosti od aplikované dávky (12). Quercetin působí na buňky tak, že jsou zablokovány v G1 fázi buněčného cyklu, přičemž produkují proteiny související s apoptózou, např. proteiny AMPK (AMP-activated protein kinase). Tato molekula je považována za fyziologický senzor buněčné energie a souvisí s potlačením buněčné proliferace normálních i nádorových buněk. Přítomnost quercetinu vedla ke zvýšení syntézy i dalších proteinů, např. proteinů p53 a p21. K těmto změnám přitom dochází v relativně krátkém čase do 48 hodin (12). Výsledky získané v podmínkách in vitro ukázaly, že aplikace quercetinu v dávce 100 mg/kg tělesné váhy experimentálních zvířat vede k signifikantnímu zmenšení objemu nádorů během 6 týdnů a k produkci bílkovin spojených s indukci apoptózy přes aktivaci AMPK a produkci supresorového proteinu p53, který nádorové buňky stimuluje k buněčné smrti (12). Tato zjištění mají zásadní význam pro potenciální využití quercetinu v terapii kolorektálních nádorů.

Interakce quercetinu v buňkách rakoviny prsu

Rakovina prsu je nejčastějším nádorovým onemocněním žen, přičemž je toto onemocnění hormonálně závislé. Vliv polyfenolických sloučenin přítomných v dietě na snížení incidence rakoviny všeobecně a též rakoviny prsu je znám. Quercetin, který též patří mezi tyto polyfenoly (obsahuje celkem 4 fenolické hydroxyly v polohách 5, 7, 3' a 4', viz obrázek 1C), indukuje apoptózu v lidských nádorových buňkách, včetně buněk nádorů prsu. Podle dostupné literatury však metabolické signální cesty a jejich účast v indukci apoptózy nejsou dosud plně prozkoumány (13).

Typickou buněčnou linií užívanou ke studiu vlastností buněk nádoru prsu je linie MCF-7, která

je využívána in vitro i in vivo (14). Bylo prokázáno, že v podmínkách in vivo quercetin (5 mg/kg), spolu s dalšími flavonoidy, způsobuje snížení četnosti a velikosti nádorů tvořených implantovanými buňkami MCF-7. Vztah mezi AMPK a signálem přežívání Akt byl studován právě na buňkách MCF-7 s cílem zjistit, jaký je vztah mezi AMPK a Akt (15). Quercetin inhiboval Akt bez přítomnosti aktivované AMPK. Další výzkumy potlačení aktivity mezi Akt a AMPK quercetinem přinesou s velkou pravděpodobností užitečné informace pro racionální kontrolu růstu nádorů prsu (15).

Další práce zkoumala působení quercetinu na indukci apoptózy v lidských buňkách MCF-7 (13). Tyto buňky byly vystaveny působení quercetinu po dobu 24 a 48 hodin v různých dávkách (10–175 $\mu\text{mol/l}$), přičemž došlo ke snížení životnosti buněk o více než 90%. Bylo prokázáno, že quercetin způsoboval významné zablokování buněk v S fázi buněčného cyklu a také v sub-G1 fázi, přičemž tento efekt závisel na dávce quercetinu a na délce jeho působení na buňky MCF-7. Zablokování buněk MCF-7 v S fázi buněčného cyklu bylo způsobeno snížením exprese proteinů CDK2, cyclinů A a B a zvýšením koncentrace proteinů p53 a p57. Následně byla zaznamenána snížená koncentrace proteinu Bcl-2, a DeltaPsi (m) a zvýšená kaspázová aktivita. Tyto a další změny v aktivitách a expresi různých enzymů prokázaly, že quercetin indukuje apoptózu přímou aktivací kaspáz v mitochondriích buněk MCF-7 (13).

Transmembránová tyrozinová kináza Her-2/neu (ErbB2) působí v nádorových buňkách jako ko-receptor pro další kinázy typu EGFR. Je prokázáno (16), že zvýšená exprese Her-2/neu je asociována se špatnou prognózou pro nemocné s nádorem prsu, přičemž quercetin snižuje koncentraci proteinu Her-2/neu and inhibuje signální dráhu Akt, která je zesíleně vyjádřena v buňkách nádorů prsu (16). Kromě toho přítomnost quercetinu podporovala interakci mezi Her-2/neu and stresovým proteinem Hsp90, který slouží jako stabilizátor Her-2/neu. Autoři této práce jsou přesvědčeni, že quercetin sehrává významnou úlohu v nových terapeutických strategiích, které budou využity v terapii nádorů prsu se zesílenou expresí proteinu Her-2/neu. Možnost využití quercetinu v terapii nádorů prsu je podporována také poznatkem, že tato látka v kombinaci s doxorubicinem synergicky indukuje u myši rejekci nádorů prsu a vede k dlouhodobému přežívání myši bez známek nádorového onemocnění (17). Doxorubicin nebo quercetin podané v monoterapii nevedly k vyléčení experimentálních zvířat. Kombinace quercetinu a doxorubicinu také vedla ke zvýšení imunity experimentálních zvířat. Závěr vyvozený ze získaných výsledků je takový,

že kombinace doxorubicinu a quercetinu ukazuje směr k nové a také vysoce efektivní strategii využití imunologické odpovědi v terapii nádorů (17). Některé práce však také upozorňují na to, že terapeutické aplikace quercetinu mohou být limitovány vzhledem na množství účinků, které může quercetin po aplikaci mít (18). Stejná práce však předpokládá, že některé účinky quercetinu, specificky interakce na úrovni proteinu p53, mají potenciál být využity v terapii rakoviny (18). Dalším důležitým poznatkem pro možné využití quercetinu v terapii rakoviny jsou data publikovaná o jeho anti-invazivním potenciálu. Bylo zjištěno, že quercetin v podmínkách in vitro významně snižuje invazivitu rakovinných buněk v závislosti od koncentrace (19). Klinické využití v terapii rakoviny prsu by mohla najít také schopnost quercetinu inhibovat angiogenezi v buňkách, které jsou rezistentní na tamoxifen (20) a schopnost quercetinu synergicky ovlivňovat cytostatickou aktivitu vinkristinu. Bylo stanoveno, že optimální synergický molární poměr quercetin: vinkristin je 1:2. Tato kombinace zlepšuje terapii rakoviny nádorů prsu, které nemají vyjádřeny receptory pro estrogeny (21).

Quercetin a jeho potenciální využití v léčbě rakoviny plic

Rakovina plic se vyskytuje hlavně jako malobuněčný karcinom a nemalobuněčný karcinom plic, přičemž chemoterapie nachází využití v léčbě obou typů karcinomu. Problémem rakoviny plic je to, že mnoho pacientů je diagnostikováno relativně pozdě v čase, kdy chirurgická léčba není vhodná a alternativou zůstává chemoterapie a radiační terapie, případně jejich kombinace. (22). Právě proto je chemoterapie předmětem mnoha výzkumných prací. Některé z těchto prací studují možné využití účinků quercetinu v chemoterapii nádorů plic.

Bylo prokázáno, že quercetin významně zvyšuje apoptózu indukovanou prostřednictvím receptoru TRAIL u buněk nemalobuněčného karcinomu plic, což je spojeno se zvýšením exprese death receptoru 5 a inhibicí exprese survivinu. Nemá žádné další účinky na jiné komponenty tzv. 'death-inducing signaling' komplexu, který indukuje buněčnou smrt (22).

Bylo prokázáno, že quercetin má schopnost zvyšovat antiproliferativní aktivitu cis-diamminedichloroplatiny (II) neboli cisplatinu nejenom in vitro, ale také in vivo. Zajímavé výsledky přinesla experimentální kombinace quercetinu a cisplatinu v modelu využívajícím xenografty linie buněk LXFL 529 (23), což je nádorová linie nádoru plic. Buňky této linie byly implantovány podkožně nahým my-

ším. Když se vytvořily nádory velikosti asi 5 mm, byla zvířata léčena intraperitoneálně quercetinem (20 mg/kg z tělesné váhy), cisplatinou (3 mg/kg z tělesné váhy) anebo kombinací obou látek třikrát s třídními intervaly mezi jednotlivými dávkami. Quercetin aplikovaný v monoterapii neinhiboval růst nádorů v porovnání s kontrolou, ale cisplatinu v monoterapii vyvolala inhibici růstu nádorů v porovnání s kontrolou a v porovnání se skupinou léčenou quercetinem. Kombinovaná terapie s quercetinem a cisplatinou signifikantně více inhibovala růst nádorů než terapie se samotnou cisplatinou, přičemž toxicita této kombinované terapie byla relativně nízká. Nízká toxicita terapie byla určena pomocí záznamů tělesné váhy experimentálních myši (23). Další studie, která se snažila o objasnění mechanismu synergismu cisplatinu a quercetinu (24), zjistila, že quercetin zvyšoval indukci apoptózy cisplatinou o 30 %, přičemž docházelo ke snížení syntézy proteinů Bcl-XL a Bcl-2 a ke zvýšení syntézy proteinu Bax. Nebyla zaznamenána žádná změna transkripce a aktivity antioxidantních enzymů při apoptóze indukované quercetinem. Z provedených experimentů je možné vyvodit závěr, že quercetin může efektivně zvyšovat citlivost buněk nádorů plic k chemoterapii přes regulaci exprese různých genů majících vztah k apoptóze (24).

Možnosti využití mechanismů působení quercetinu v terapii nádorů prostaty

Nepočítaje rakovinu kůže, je rakovina prostaty nejčastěji diagnostikovaným nádorovým onemocněním mužů a druhým nejčastějším důvodem úmrtí na rakovinu v USA (25). Pouze v USA bylo v roce 2010 registrováno 217 730 nových případů rakoviny prostaty a 32 050 úmrtí na tento typ nádorového onemocnění (25). Histologicky je rakovina prostaty klasifikována jako adenokarcinom, přičemž chemoterapie není primární metodou léčby tohoto onkologického onemocnění. Protože se jedná o hormonálně podmíněné onemocnění, pouze léčiva blokující přeměnu testosteronu na dihydrotestosteron jsou použitelná pro chemoterapii tohoto onemocnění (26).

Studium vhodné chemoterapie pro rakovinu prostaty s využitím vlastností quercetinu zatím probíhá většinou na úrovni molekulárně biologických experimentů v podmínkách in vitro, případně s využitím modelů in vivo. Bylo například prokázáno, že quercetin snižuje přežívání nádorových buněk rakoviny prostaty, které nejsou závislé na androgenu, modulací exprese růstového faktoru podobného inzulinu (insulin-like growth factor, IGF), signálních molekul a také indukuje apoptózu (27), což by mohlo

najít uplatnění v léčbě případů rakoviny prostaty, kde není závislost na androgenu.

V léčbě rakoviny prostaty je též užívána hypertermie. Je prokázáno, že quercetin má schopnost blokovat termotoleranci buněk v závislosti na dávce v buňkách rakoviny prostaty, což se projevilo snížením akumulace stresového proteinu 70 mRNA a stresového proteinu 70, a také indukci apoptózy a aktivací kaspázy 3 v rakovinných buňkách (28). Také další práce (29) potvrzuje, že vystavení rakovinných buněk quercetinu má za následek snížení syntézy stresových proteinů, v tomto případě heat shock proteinu 90, což je doprovázeno sníženou proliferací a životností buněk. Byla dokumentována též indukce apoptózy. Quercetin v těchto experimentech neměl žádné z účinků, které byly pozorovány na buňkách adenokarcinomu prostaty, na normální epiteliální buňky prostaty (29).

Studium apoptotických procesů indukovaných quercetinem přineslo poznatky o tom, že quercetin vyvolává apoptózu indukovanou TRAIL v buňkách adenokarcinomu prostaty mechanismem zahrnujícím tzv. death receptor 5 (protein, který dělá nádorové buňky citlivějšími nebo náchylnějšími k apoptóze) v závislosti od koncentrace (30). Působení quercetinu vedlo též k aktivaci kaspáz 3 a 9. Zdá se, že kombinace quercetinu a TRAIL představuje novou strategii v chemoterapii rakoviny, přičemž tato chemoterapie by měla působit i na buňky rezistentní na apoptózu (30) také proto, že quercetin celkově inhibuje syntézu proteinů v nádorových buňkách, včetně buněk adenokarcinomu prostaty (31).

Mechanismy a potenciální využití quercetinu v terapii nádorů mozku

Chemoterapie nádorů mozku různého typu vyžaduje pro svoji nízkou účinnost kombinaci s radioterapií a chirurgickými zásahy. Právě pro její nízkou účinnost jsou hledány další možnosti jak účinnost chemoterapie zvýšit. Byly publikovány některé nové poznatky, které zkoumaly účinky quercetinu v různých typech těchto nádorů, avšak pouze v podmínkách in vitro.

V systému buněk gliomu, což je nejčastější zhoubný primární nádor mozkové tkáně se špatnou prognózou, snižoval quercetin počty buněk v kulturách čtyř gliomových buňkových linií (32). Nízké dávky quercetinu (25 $\mu\text{mol/l}$) neměly žádný efekt na indukci apoptózy. Když byl ale quercetin (25 $\mu\text{mol/l}$) aplikován společně s resveratrolem (10 $\mu\text{mol/l}$), docházelo k signifikantní aktivaci kaspáz 3 a 7 a ke snížení fosforylace Akt.

Další práce studovala efekt alkylujícího chemoterapeutika temozolomid aplikovaného společně

s quercetinem. Bylo tak poprvé prokázáno, že kombinace těchto dvou látek je velice účinná v indukci apoptózy v gliomových buňkách (33). Použití temozolomidu vedlo k odstranění toxických účinků quercetinu, přičemž byla aktivována kaspáza 3. Tyto výsledky prokázaly synergismus účinku quercetinu a temozolomidu v indukci apoptózy a tato kombinace se jeví jako slibná pro terapii gliomu (33), protože quercetin zvyšuje citlivost buněk k terapii temozolomidem pomocí mechanismu založeného na modulaci p53 proteinů (34).

Závěr

Studium literatury dostupné v databáze PubMed ukázalo, že mezi nejdůležitější aspekty a poznatky využití quercetinu ve vztahu k terapii rakoviny patří v poslední době následující výsledky:

- Aplikace quercetinu vede v nádorových buňkách, u kterých je přítomen specifický protein potlačující nádorový růst – p53, k významnému zvýšení apoptotických procesů. Zvýšení produkce proteinu p53 je přitom spojeno s aktivací AMPK.
- Bylo jasně prokázáno, že typ superoxid dismutázy s manganem a geny bcl2 jsou hlavními cíli v molekulárním mechanismu, který je aktivován chemoterapií, jejíž součástí je quercetin.
- Quercetin indukuje apoptózu přímou aktivací kaspáz v mitochondriích nádorových buněk.
- Quercetin snižuje koncentraci proteinu Her-2/neu, který je spojován se špatnou prognózou pro nemocné s rakovinou prsu.
- Quercetin v kombinaci s doxorubicinem synergicky indukuje u myši rejekci nádoru prsu a vede k dlouhodobému přežívání bez prokazatelné přítomnosti nádoru. Tato dvojkombinace léčiv ukazuje směr k nové a také vysoce efektivní strategii využití imunologické odpovědi v terapii nádorů.
- Quercetin v podmínkách in vitro významně snižuje invazivitu rakovinných buněk.
- Quercetin projevuje schopnost inhibovat angiogenezi v buňkách, které jsou rezistentní na tamoxifen.
- Quercetin synergicky ovlivňuje cytostatickou aktivitu vinkristinu v terapii rakoviny prsu s buňkami bez estrogenových receptorů.
- Bylo prokázáno, že quercetin u buněk nemalobuněčného karcinomu plic významně zvyšuje apoptózu indukovanou prostřednictvím receptoru závislém na TRAIL, což je spojeno se zvýšením exprese death receptoru 5 a s inhibicí exprese survivinu.
- Bylo prokázáno, že quercetin má schopnost zvyšovat antiproliferativní aktivitu cis-diaminedichloroplatiny (II) nejenom in vitro,

ale také in vivo, přičemž toxicita této kombinované terapie je nízká.

- Quercetin v kombinaci s cisplatinou způsobuje down-regulaci Bcl-Xl a Bcl-2 a k up-regulaci proteinu Bax.
- Quercetin snižuje přežívání androgen-nezávislých buněk rakoviny prostaty modulací exprese růstového faktoru podobného inzulinu (insulin-like growth factor, IGF), signálních molekul a také indukuje apoptózu.
- Quercetin blokuje termotoleranci buněk snížením akumulace heat shock protein 70 mRNA a heat shock proteinu 70, a také indukci apoptózy a aktivací kaspázy 3 v rakovinných buňkách.
- Quercetin vyvolává apoptózu v buňkách adenokarcinomu prostaty indukovanou prostřednictvím receptoru TRAIL mechanismem zahrnujícím death receptor 5.
- Quercetin potencoval pro-apoptotické působení 5-fluorouracilu inhibicí exprese specifických stresových proteinů.
- V buňkách gliomu byly při aplikaci quercetinu s resveratrolem aktivovány kaspázy 3 a 7 a docházelo ke snížení fosforylace Akt.
- Kombinace quercetinu a temozolomidu má vysoce synergický účinek v indukci apoptózy u gliomových buněk, přičemž aplikace temozolomidu vede k odstranění toxických účinků quercetinu a k aktivaci kaspázy 3. Quercetin zvyšuje citlivost buněk k terapii temozolomidem pomocí mechanismu založeného na modulaci proteinu p53.
- Terapeutické aplikace quercetinu mohou být limitovány vzhledem na množství účinků quercetinu v organismu.

Na závěr je však třeba zdůraznit, že interakce quercetinu v normálních a nádorových buňkách organismu vyžadují další intenzivní klinický a preklinický výzkum vzhledem k různorodosti jeho biologických aktivit.

Práce vznikla za podpory: PRVOUK P37/09.

Literatura

1. Middleton E, Kandaswami C. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: Implications for immunity, inflammation, and cancer. In: Harborne JB, ed. The Flavonoids, Advances in Research Since 1986. London: Chapman & Hall, 1994: 619–652.
2. Shoskes DA, Zeitlin SI, Shahed A, Rajfer J. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: A preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. Urol 1999; 54: 960–963.
3. Lean ME, Noroozi M, Kelly I. Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. Diabetes 1999; 48: 176–181.
4. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data rela-

ted to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic / carcinogenic properties. Food. Chem. Toxicol. 2007; 45: 2179–2205.

5. Quercetin. Alt Med Rev 1998;3:140–143.

6. Nieman DC, Henson DA, Davis JM et al. Quercetin's influence on exercise-induced changes in plasma cytokines and muscle and leukocyte cytokine mRNA J Appl Physiol 2007; 103: 1728–1735.

7. de Pascual-Teresa S, Johnston KL, DuPont MS et al. Quercetin metabolites downregulate cyclooxygenase-2 transcription in human lymphocytes ex vivo but not in vivo. J. Nutr. 2004; 134: 552–557.

8. Priego S, Feddi F, Ferrer P, et al. Natural polyphenols facilitate elimination of HT-29 colorectal cancer xenografts by chemoradiotherapy: a Bcl-2- and superoxide dismutase 2-dependent mechanism. Mol Cancer Ther 2008; 7: 3330–3342.

9. Bhushan S, McLeod H, Walko CM. Role of pharmacogenetics as predictive biomarkers of response and/or toxicity in the treatment of colorectal cancer. Clin Colorectal Cancer 2009; 8: 15–21.

10. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. N Engl J Med 2003;349:247–257.

11. Xavier CP, Lima CF, Rohde M, Pereira-Wilson C. Quercetin enhances induced apoptosis in MSI colorectal cancer cells through p53 modulation. Cancer Chemother Pharmacol 2011 Apr 11. (Epub ahead of print).

12. Kim HJ, Kim SK, Kim BS, et al. Apoptotic effect of quercetin on HT-29 colon cancer cells via the AMPK signaling pathway. J Agric Food Chem 2010; 58: 8643–8650.

13. Chou CC, Yang JS, Lu HF, et al. Quercetin-mediated cell cycle arrest and apoptosis involving activation of a caspase cascade through the mitochondrial pathway in human breast cancer MCF-7 cells. Arch Pharm Res 2010; 33: 1181–1191.

14. Moon YJ, Shin BS, An G, Morris ME. Biochanin A inhibits breast cancer tumor growth in a murine xenograft model. Pharm Res 2008; 25: 2158–2163.

15. Lee YK, Park OJ. Regulation of mutual inhibitory activities between AMPK and Akt with quercetin in MCF-7 breast cancer cells. Oncol Rep 2010; 24: 1493–1497.

16. Jeong JH, An JY, Kwon YT, Li LY, Lee YJ. Quercetin-induced ubiquitination and down-regulation of Her-2/neu. J Cell Biochem 2008; 105: 585–595.

17. Du G, Lin H, Yang Y, et al. Dietary quercetin combining intratumoral doxorubicin injection synergistically induces rejection of established breast cancer in mice. Int Immunopharmacol 2010; 10: 819–826.

18. Lee SJ, Jung YS, Lee SH, Chung HY, Park BJ. Isolation of a chemical inhibitor against K-Ras-induced p53 suppression through natural compound screening. Int. J. Oncol. 2009; 34: 1637–1643.

19. Phromnoi K, Yodkeeree S, Anuchapreeda S, Limtrakul P. Inhibition of MMP-3 activity and invasion of the MDA-MB-231 human invasive breast carcinoma cell line by bioflavonoids. Acta Pharmacol Sin 2009; 30: 1169–1176.

20. Oh SJ, Kim O, Lee JS et al. Inhibition of angiogenesis by quercetin in tamoxifen-resistant breast cancer cells. Food Chem Toxicol 2010; 48: 3227–3234.

21. Wong MY, Chiu GN. Simultaneous liposomal delivery of quercetin and vincristine for enhanced estrogen-receptor-negative breast cancer treatment. Anticancer Drugs 2010; 21: 401–410.

22. Chen W, Wang X, Zhuang J, Zhang L, Lin Y. Induction of death receptor 5 and suppression of survivin contribute to sensitization of TRAIL-induced cytotoxicity by quercetin in non-small cell lung cancer cells. Carcinogenesis. 2007; 28: 2114–2121.

23. Hofmann J, Fiebig HH, Winterhalter BR, Berger DP, Grunicke H. Enhancement of the antiproliferative activity of cis-diamminedichloroplatinum(II) by quercetin. Int. J. Cancer. 1990; 45: 536–539.

24. Kuhar M, Sen S, Singh N. Role of mitochondria in quercetin-enhanced chemotherapeutic response in human non-small cell lung carcinoma H-520 cells. Anticancer Res 2006; 26: 1297–1303.

25. American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2010. Atlanta, Ga: American Cancer Society, 2010. <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/acspc-024113.pdf>.

26. Thompson IM, Goodman PJ, Tangen CM et al. The influence of finasteride on the development of prostate cancer. N Engl J Med 2003; 349: 215–224.

27. Senthilkumar K, Elumalai P, Arunkumar R et al. Quercetin regulates insulin like growth factor signaling and induces intrinsic and extrinsic pathway mediated apoptosis in androgen independent prostate cancer cells (PC-3). Mol Cell Biochem 2010; 344: 173–184.

28. Sahin E, Sahin M, Sanlioğlu AD, Gümüşlü S. KNK437, a benzylidene lactam compound, sensitises prostate cancer cells to the apoptotic effect of hyperthermia. Int. J. Hyperthermia. 2011;27:63–73.

29. Aalinkel R, Bindukumar B, Reynolds JL et al. The dietary bioflavonoid, quercetin, selectively induces apoptosis of prostate cancer cells by down-regulating the expression of heat shock protein 90. Prostate 2008;68:1773–1789.

30. Jung YH, Heo J, Lee YJ, Kwon TK, Kim YH. Quercetin enhances TRAIL-induced apoptosis in prostate cancer cells via increased protein stability of death receptor 5. Life Sci 2010; 86: 351–357.

31. Lee DH, Lee YJ. Quercetin suppresses hypoxia-induced accumulation of hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) through inhibiting protein synthesis. J Cell Biochem 2008; 105: 546–553.

32. Zamin LL, Filippi-Chiela EC, Dillenburg-Pilla P, Horn F, Salbego C, Lenz G. Resveratrol and quercetin cooperate to induce senescence-like growth arrest in C6 rat glioma cells. Cancer Sci 2009; 100: 1655–1662.

33. Jakubowicz-Gil J, Langner E, Wertel I, Piersiak T, Rzeski W. Temozolomide, quercetin and cell death in the MOGGCCM astrocytoma cell line. Chem Biol Interact 2010; 188: 190–203.

34. Thangasamy T, Sittadjody S, Mitchell GC et al. Quercetin abrogates chemoresistance in melanoma cells by modulating deltaNp73. BMC Cancer 2010; 10: 282.

Článek přijat redakcí: 25. 11. 2012

Článek přijat k publikaci: 20. 6. 2013

doc. MUDr. Lenka Borská, Ph.D.

Ústav patologické fyziologie, Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové
borka@fnhk.cuni.cz