

Lavoro tratto da:

STUDIO DEL MECCANISMO D'AZIONE DI DOXORUBICINA E QUERCETINA IN CELLULE DI NEUROBLASTOMA

Dott.sa Giorgia Mandili, Università degli Studi di Torino, Dottorato di Ricerca in "Biochimica e Biotecnologia cellulare"

3. Quercetina

La quercetina (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) fa parte di un'ampia famiglia di composti, quella dei flavonoidipolifenolici. Spesso la quercetina si presenta come glicoside.

La sua attività antiossidante deriva dalla reattività propria di tutti i composti polifenolici con i radicali liberi che porta alla formazione di radicali considerevolmente meno reattivi. Inoltre un composto polifenolico è facilmente ossidabile alla forma chinoidica e può quindi partecipare alle reazioni redox.

Negli ultimi anni è emersa l'attività antitumorale della quercetina (Lamson D.W. and Brignall M.S., 2000). La quercetina ha infatti attività antiproliferativa in vitro ed inibisce alcuni bersagli della trasduzione del segnale come tirosin chinasi, protein chinasi C e PI-3K (phosphatidylinositol-3 kinase) (Ferry D.R. et al., 1996).

È stata dimostrata in vitro un'inibizione dose-dipendente sulla crescita cellulare di una linea di melanoma (Piantelli M. et al., 1995) e in cellule OVCA 433 (ovarian cancer cell line) (Scambia G. et al., 1990); in entrambi i casi come meccanismo è stato proposto il legame competitivo della quercetina al recettore per gli estrogeni di tipo II.

Al contrario, la quercetina non inibisce la crescita di cellule HTB43 (human squamous cell carcinoma cell line) (Kandaswami C. et al., 1991), né della linea cellulare di gliosarcoma 9L (Kandaswami C. et al., 1992).

Le proprietà antitumorali della quercetina sono state indagate anche nella linea cellulare di tumore mammario umano MCF7, osservando effetti sulla crescita, la morfologia e l'attività enzimatica di queste cellule. La quercetina inibisce la sintesi di DNA, RNA e proteine, aumenta il contenuto di lutazione ridotto e altera la morfologia cellulare (Rodgers E.H. et al., 1998).

La quercetina inibisce l'induzione delle HSPs in numerose linee cellulari: carcinoma del colon (COLO320DM, HT-29), HeLa, monociti/macrofagi, eritroleucemia (K562), cheratinociti (HaCaT) e tumore della mammella (MDA-MB-231) (Hansen R.K et al., 1997).

Si pensa che tale inibizione passi attraverso l'inibizione di HSF1 (heat shock factor-1), il fattore trascrizionale delle HSPs, attraverso meccanismi diversi. Infatti l'attivazione di questo fattore trascrizionale è un processo multistep e il sito d'azione della quercetina potrebbe dipendere dal tipo di stress usato (calore o chimico), dalle specifiche condizioni dello stress (durata e/o temperatura), dalla concentrazione di quercetina usata per il trattamento e /o dal tipo cellulare. Ad esempio la quercetina inibisce l'attività di legame al DNA di HSF in cellule COLO320DM e HeLa (Hosokawa N. et al., 1992), mentre in cellule K562, HT-29 e MDA-MB-231 HSF mantiene la sua capacità di legare il DNA in seguito a trattamento con quercetina (Hansen R.K et al., 1997). I siti candidati per la regolazione da parte della quercetina in cellule di tumore della mammella MDA-MB-231 includono l'attivazione di HSF e/o l'inizio della trascrizione delle HSPs. La quercetina in altri casi potrebbe bloccare le ulteriori modifiche necessarie per l'attivazione della competenza trascrizionale. Modifiche post-traduzionali attraverso la fosforilazione giocano un ruolo importante nell'attivazione di HSF1. ed è stato dimostrato un effetto della quercetina anche a questo livello in cellule HeLa, di eritroleucemia e di tumore della mammella. Le HSPs stesse sono candidate molecole regolatorie per l'attività di HSF e potrebbero essere targets della quercetina, sebbene sia generalmente accettato che siano necessari livelli crescenti di HSPs per disattivare HSF. Un'altra possibilità ancora è che la quercetina possa colpire cambi conformazionali di HSF, che

sono richiesti per l'attivazione. Oppure la quercetina potrebbe inibire l'interazione di HSF1 con altre proteine che legano il DNA nel promotore dei geni HSPs, che potrebbero essere necessarie per facilitare sia la formazione del legame HSF-HSE sia l'attivazione trascrizionale. Infine la quercetina potrebbe colpire l'interazione di HSF con piccoli ligandi o metaboliti non ancora identificati. (Hansen R.K et al., 1997).

L'inibizione delle HSPs da parte della quercetina potrebbe render conto anche della perdita della termotolleranza di cellule di carcinoma del colon umano COLO320DM. Queste cellule diventano resistenti a un trattamento a 45 °C quando sono pretrattate a 42 °C per 1.5 h e a 45 °C per 10 minuti.

Questa induzione della termotolleranza viene del tutto soppressa dal trattamento con quercetina 100 µM durante le due fasi di riscaldamento e nell'intervallo tra i due. Questo effetto di inibizione della termotolleranza da parte della quercetina potrebbe rivelarsi utile nei trattamenti clinici con ipertermia (Koishi M. et al., 1992).

I flavonoidi hanno la capacità di stimolare o inibire la fosforilazione di alcune proteine e questo potrebbe render conto anche di alcuni degli effetti della quercetina (Middleton E. jr, Kandaswami C., 1992). I flavonoidi sono inibitori competitivi per i siti di legame dell' ATP su diversi enzimi come PKC, una regione con considerevole omologia con altre chinasi. (Huang Y.T. et al., 1999).

La quercetina si comporta come pro-apoptotico inibendo PI-3K e la fosforilazione di Akt in una linea cellulare di carcinoma mammario (Gulati N. et al., 2006) e in cellule HNSCCs (human head and neck squamous cell carcinoma) (Sharma H., 2005). L'inibizione delle HSPs potrebbe essere un altro meccanismo dell'attività pro-apoptotica della quercetina (Sharma H., 2005).

La quercetina ha effetto inibitorio sulla fosforilazione della miosina e sull'attività Mg^{2+} -ATPasi Ca^{2+} -calmodulina dipendente della miosina fosforilata (Zhang H.L. et al., 2006). Le FAK (focal adhesion kinase) fanno parte della famiglia delle proteine tirosin chinasi e il loro aumento in cellule di carcinoma umano è correlato ad un'aumentata invasività: la quercetina inibisce le FAK e quindi la migrazione cellulare (Huang Y.T. et al., 2005). In linee cellulari di leucemia resistenti (HL60NCR) e non (HL60) il trattamento con quercetina e doxorubicina aumenta la fosforilazione di ERK (Duraj J. Et al., 2005); tuttavia sembra inibire le tirosin chinasi in cellule HL60 (Franck D.A., Sartorelli A.C., 1988). La quercetina inibisce la fosforilazione in tirosina 705 di STAT3 in cellule endoteliali stimulate con IL-6 (Wung B.S. et al., 2005).

La quercetina provoca l'arresto del ciclo cellulare in cellule PC-3 (androgen independent prostate cancer cells); si è osservata una diminuzione di Cdc2/Cdk-1, ciclina B1 e pRb fosforilata e ad un aumento di p21 (Vijayababu M.R. et al., 2005).

La somministrazione di LPS a animali e macrofagi induce la produzione di TNFα e l'aumento di NO attraverso iNOS. La quercetina inibisce la trascrizione di TNFα inibendo la fosforilazione di JNK/SAP e, forse, sopprimendo il legame al DNA di AP-1; essa inoltre inibisce la fosforilazione di ERK 1/2 e l'attività della MAPK p38, che sono importanti nella regolazione post-trascrizionale dell'mRNA di TNFα (Wadsworth T.L. et al., 2001) e per l'espressione di iNOS (Wadsworth T.L. et al., 2001). La quercetina inibisce l'espressione di iNOS anche in cellule BV-2 della microglia di topo attraverso l'inibizione della chinasi IκB, di NFκB e STAT1 (Chen J.C. et al., 2005).

La quercetina inibisce l'angiogenesi. Essa inibisce la fosforilazione di ERK 1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1/2) indotta da VEGF, necessaria per l'attivazione delle cellule endoteliali (Donnini S. et al., 2006). Inoltre sembra inibire l'angiogenesi attraverso un meccanismo che coinvolge la soppressione della fosforilazione di eNOS (endothelial nitric oxide synthase), importante perché NO viene considerato un effettore a valle di VEGF nella formazione di nuovi vasi sanguigni, attraverso l'inibizione di PI-3K (phosphoinositide 3-kinase) (Jackson S.J.T. and Venema R.C., 2006).

La quercetina inibisce la crescita cellulare, l'attività chinasi e la secrezione di MMP (metalloproteasi, importanti nel processo di metastatizzazione) in cellule A431 (Huang Y.T. et al., 1999); essa inibisce la crescita di queste cellule, probabilmente attraverso l'inibizione dell'attività tirosin chinasi di EGFR (Huang Y.T. et al., 1999).

Effect of pH on quercetin-induced suppression of heat shock gene expression and thermotolerance development in HT-29 cells.

[Lee YJ](#), [Curetty L](#), [Hou ZZ](#), [Kim SH](#), [Kim JH](#), [Corry PM](#).

Department of Radiation Oncology, William Beaumont Hospital, Royal Oak, Michigan 48073.

When cells were heated for 15 min at 45 degrees C, they became thermotolerant to a second heat exposure at 45 degrees C. Thermotolerance developed rapidly, reached its maximum 6 hr after heat shock, and then gradually decayed. The development of thermotolerance was partially suppressed by treatment with various concentrations of quercetin (0.05-0.2 mM) at pH 7.4 after the initial heat treatment. In contrast, the drug markedly inhibited thermotolerance development at pH 6.5. Furthermore, a combination of low pH and quercetin treatment distinctively altered the expression of HSP70 gene compared with that of HSP28 or HSP90 gene. These results demonstrate a good correlation between the amount of HSP70 gene expression and development of thermotolerance.

PMID: 1497645 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Quercetin, a bioflavonoid, inhibits the DNA synthesis of human leukemia cells.

[Uddin S](#), [Choudhry MA](#).

Division of Hematology-Oncology, Stritch School of Medicine, Loyola University of Chicago, Maywood, Illinois 60153, USA.

Quercetin, a flavonoid, is found in many plants, including edible fruits and vegetables. It has been proposed that flavonoids may have potential as anticancer agents. To test an aspect of this hypothesis, we examined the effects of the flavonoid, quercetin, on the DNA synthesis of the human leukemia cell, HL-60. Quercetin induced a dose-dependent inhibition of DNA synthesis in the test range of 1 microM to 1 mM. The inhibitory effect on DNA synthesis was evident as early as 24 h after the addition of quercetin. At the concentrations of 10 microM, 100 microM and 1 mM, 50, 82 and 85% of DNA synthesis, respectively, was inhibited by quercetin as compared to the control. After 48 and 72 h incubation of the cells with 100 microM and 1 mM quercetin, DNA synthesis was almost completely abolished. These results suggest that the inhibitory effects of quercetin on HL-60 cell DNA synthesis is not due to a non-specific cytotoxic effect, since following removal of quercetin, the treated cells regrew normally.

PMID: 7549953 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Quercetin and tamoxifen sensitize human melanoma cells to hyperthermia.

[Piantelli M](#), [Tatone D](#), [Castrilli G](#), [Savini F](#), [Maggiano N](#), [Larocca LM](#), [Ranelletti FO](#), [Natali PG](#).

Department of Oncology and Neurosciences, 'G. D'Annunzio' University, Chieti, Italy.

Hyperthermia produces regression of human cancer. Because hyperthermia has produced only limited results, attention has focused on searching for substances able to sensitize tumour cells to the effects of hyperthermia. The flavonoid quercetin has been reported to be a hyperthermic sensitizer in ovarian and uterine cervical tumours and in leukaemia. Quercetin and tamoxifen inhibit melanoma cell growth. We therefore investigated whether quercetin and tamoxifen can sensitize M10, M14 and MNT1 human melanoma cells to hyperthermia. We observed that both quercetin and tamoxifen synergize with hyperthermia (42.5 degrees C) in reducing the clonogenic activity of M14 and MNT1 and in inducing apoptotic cell death in all three cell lines. As revealed by flow cytometric and Northern blot analyses, quercetin and tamoxifen reduced heat shock protein-70 expression at both protein and mRNA levels. Our results suggest that quercetin and tamoxifen can be usefully combined with hyperthermia in the therapy of recurrent and/or metastatic melanoma.

PMID: 11595883 [PubMed - indexed for MEDLINE]