



Перспективы применения кверцетина в онкогинекологии

Существует достаточное количество исследований на животных *in vitro* и *in vivo*, в которых предпринимались попытки изучить роль кверцетина в химиотерапии онкологических заболеваний. Опыт *in vitro* наглядно показывает, что кверцетин обладает выраженной активностью в отношении опухолевых клеток, которая реализуется с помощью различных механизмов, обеспечивающих его антипролиферативный, антиоксидантный, проапоптотический эффекты, подавление фактора роста опухоли, а также его синергичное действие с некоторыми химиотерапевтическими агентами [9]. В исследованиях на животных *in vivo* кверцетин также продемонстрировал противоопухолевое действие, хотя для определенных видов рака не отмечено превентивное влияние кверцетина на канцерогенез [10].

Наиболее изучены эффекты кверцетина в онкогинекологии, где уже на протяжении 20 лет проводятся экспериментальные и доклинические исследования эффективности данного флавоноида как у животных, так и у людей (в единичных испытаниях) при раке молочной железы (РМЖ), раке эндометрия (РЭ), раке яичников *in vitro* и *in vivo* [1]. Накопленный опыт позволяет сделать определенные выводы об эффективности кверцетина в терапии онкологической патологии женской репродуктивной системы.

Механизмы противоопухолевого действия кверцетина

Особенности противоопухолевого действия кверцетина обусловлены его влиянием на различные звенья клеточного цикла опухолевых клеток.

Регуляция мутаций белка p53

Мутации белка p53 являются одной из наиболее распространенных генетических аномалий у людей с онкологическими заболеваниями и отмечаются в 50% случаев злокачественных опухолей. Столь высокие цифры объясняют второе название данного белка – «страж» генома, поскольку считается, что он обладает способностью тормозить образование злокачественных клеток [24]. В ходе исследования было установлено, что кверцетин в дозе 248 мкМ регулирует биосинтез мутантного белка p53, практически прекращая его в клетках РМЖ [21]. Более низкие концентрации кверцетина приводили к меньшему сокращению биосинтеза данного белка. Нисходящая регуляция была гораздо слабее в клетках без мутаций гена p53 [23].

Прекращение клеточного цикла в фазе G1

Фаза клеточного цикла G1, контролируемая геном p53, является основным этапом контроля клеточной пролиферации [21]. Эксперимент, который проводили на человеческих Т-клетках лейкемии, показал, что на фоне действия кверцетина в конце фазы G1 клеточного цикла происходит апоптоз. Под действием кверцетина в концентрации 70 мкМ в разных фазах клеточного цикла развивался апоптоз у 50–64% лейкозных клеток. Прекращение клеточного цикла в фазе G1 наблюдалось также в человеческих клетках карциномы желудка при воздействии кверцетином. Специалистами было установлено, что при концентрации кверцетина 70 мкМ репликация ДНК уменьшалась на 14%, что приводило к задержке клеточного деления. Этот эффект был обратимым – после удаления кверцетина деление опухолевых клеток возобновлялось [25]. Исследователи пришли к выводу, что в концентрации 70 мкМ кверцетин приводит к 10% снижению роста опухолевых клеток [21].

Ингибирование тирозинкиназ

Тирозинкиназы представляют собой семейство белков, расположенных в пределах клеточной мембраны и участвующих в передаче сигналов в клетке. У пациентов с прогрессирующим раком внутривенное введение кверцетина (дозы 60–1700 мг/м²) в девяти случаях из одиннадцати привело к торможению активности тирозинкиназ лимфоцитов. Продолжительность этого эффекта наблюдалась в течение часа. Это торможение было замечено также и через 16 ч после введения кверцетина [21]. В ходе лабораторных экспериментов были подтверждены эти результаты для клеток как доброкачественных, так и злокачественных опухолей.

Считается, что тирозинкиназы участвуют в онкогенезе путем перераспределения контроля регуляции клеточного роста [26]. Поэтому препараты, избирательно воздействующие на тирозинкиназы, применяются при определенных видах рака в качестве потенциальных химиотерапевтических агентов, без цитотоксических побочных эффектов, наблюдаемых при обычной химиотерапии. Кверцетин был первым таким препаратом, прошедшим I фазу клинических испытаний [26].

Способность связывать рецепторы эстрогенов

Рецепторы эстрогенов второго типа (ER II) присутствуют как в нормальной ткани, так и во многих



типах опухолей, включая РМЖ, рак яичников, толстой кишки, меланому и лейкемию. Активность ER II не зависит от статуса рецепторов эстрогенов I типа [21]. Роль ER II *in vivo* не ясна до конца. Способность кверцетина связывать рецепторы может объясняться тем, что они предназначены для флавоноидов, способных ингибировать клеточный рост.

Кверцетин индуцирует экспрессию рецепторов ER II во всех типах человеческих клеток эстроген-положительного (ER+) РМЖ. Подобное действие (аналогичное тамоксифену и диэтилстильбэстролу) кверцетин оказывает в клетках меланомы. Концентрация, необходимая для ингибирования роста на 50% одного клона клеток, для кверцетина была ниже (7 нМ), чем для тамоксифена (9 нМ) [28].

Ингибирование белков теплового шока

Исследователями было установлено, что кверцетин ингибирует синтез белков теплового шока в клетках нескольких злокачественных опухолей, в т.ч. при РМЖ, лейкемии и раке толстой кишки. Белки теплового шока образуют комплекс с мутантным p53, который помогает опухолевым клеткам «обойти» обычные механизмы клеточного цикла. Белки теплового шока также позволяют улучшить выживаемость опухолевых клеток при различных нарушениях жизнедеятельности (плохое кровообращение, температура и др.) и связаны с сокращением выживания пациентов и рефрактерностью опухоли к стандартным химиотерапевтическим препаратам, используемым при РМЖ [21].

Ингибирование экспрессии Ras-белков

Мутации в протоонкогенах Ras обнаружены в более чем 50% случаев при раке толстой кишки и при других типах опухолей. Было выявлено, что кверцетин (10 мкМ) ингибирует экспрессию p21-RAS онкогена в культивируемых клеточных линиях рака толстой кишки [21].

Кверцетин и рак молочной железы

Исследование J. Jeong et al. [2] является одним из фундаментальных в отношении воздействия кверцетина на клетки РМЖ, проведенных в 2009 г. Человеческие клетки карциномы МЖ линии SK-Br3, контрольных линий MDA-MB-453 и MDA-MB-231 были инкубированы в специальной среде Игла в модификации Дульбекко (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM) с 10% фетальной сыворотки производства корпорации NuClone. Клетки эпителия МЖ MCF-10A инкубировали в DMEM и среде Ham's F12 (1:1) с 5% лошадиной сыворотки, 20 нг/мл эпидермального фактора роста, 10 мг/мл инсулина, 500 нг/мл гидрокортизона и 100 нг/мл эндотоксина холеры [11]. В диметилсульфоксиде были растворены кверцетин и ингибитор киназы контрольной точки клеточного цикла Chk2, после чего данный раствор добавили в среду, в которую были погружены опухолевые клетки. Для того чтобы определить, имеет ли кверцетин в клинических дозах химиопрофилактические эффекты в отношении РМЖ, к клеткам карциномы МЖ SK-Br3 каждые 24 ч добавляли

новую порцию кверцетина — до достижения клинически эффективной дозы. Исследователи пришли к выводу, что кверцетин обладает дозозависимым эффектом ингибирования пролиферации клеток карциномы МЖ (SK-Br3) [2].

Потенциальный эффект угнетения кверцетином другой культуры клеток карциномы МЖ (MDA-MB-453) также подтвердился. Интересной находкой оказался тот факт, что кверцетин в концентрации 10 мг/мл не оказывал влияния на пролиферацию здоровых клеток эпителия МЖ (MCF-10A). Эти результаты продемонстрировали избирательную антипролиферативную активность кверцетина в отношении клеток РМЖ. Исследователи задались целью определить механизмы такой активности, и оказалось, что причиной ее является не только цитотоксичность кверцетина. Подтвердилась гипотеза о том, что кверцетин ингибирует клеточный цикл опухолевой клетки. Клетки карциномы МЖ (SK-Br3) подвергались воздействию кверцетина в дозе 0-10 мкМ в течение 2-4 дней, после чего было проведено определение дистрибуции фаз клеточного цикла путем измерения содержания ДНК с помощью маркировки соединением йода. В результате наблюдался значительный прирост популяции клеток карциномы МЖ (SK-Br3) в фазе G0/G1 и значительное уменьшение их количества в фазе S. После 4 дней воздействия кверцетина популяция в фазе G0/G1 выросла с 61,8 до 70,7% (5 мкМ) и 75,9% (10 мкМ), а популяция в фазе S уменьшилась с 30,2 до 21,4% (5 мкМ) и 18,2% (10 мкМ). Популяция опухолевых клеток в фазе G2/M не претерпела существенных изменений под влиянием кверцетина. Субпопуляция G1 выросла до 6,4 и 9,2% после двух- и четырехдневного воздействия кверцетина соответственно (в дозе 10 мкМ), что демонстрирует тот же уровень цитотоксичности. Исследователи пришли к выводу, что мощнейший потенциал антипролиферативной активности кверцетина в отношении РМЖ обеспечивается не только за счет цитотоксического эффекта, но главным образом за счет прекращения цикла опухолевых клеток в фазе G1 [2].

Кверцетин и рак яичников

Фаза I клинического исследования эффективности кверцетина *in vivo* при раке яичников у людей продемонстрировала существенное снижение уровня онкомаркера яичников CA-125 (с 295 до 55 Ед/мл) у пациентки с раком яичников, рефрактерным к стандартной химиотерапии цисплатином [1]. Ей было проведено два курса внутривенной терапии кверцетином, цель которых состояла также в определении эффективной клинической дозы кверцетина для внутривенного введения [12]. Концентрация кверцетина 420 мг/м² оказалась эффективной в лечении этого вида рака. Терапия была продолжена в течение 6 мес с менее частым назначением и добавлением карбоплатина. Далее было зафиксировано постоянное снижение опухолевого маркера CA-125 (без упоминания о динамике в размерах опухоли) [21].



Кверцетин и рак эндометрия

Роль кверцетина в терапии этого вида рака изучена менее всего. Вместе с тем японские исследователи вплотную занимались изучением антипролиферативного эффекта кверцетина в отношении клеток РЭ на протяжении последних 10 лет. Результаты их исследований показывают, что активность кверцетина в отношении клеток РЭ обусловлена как влиянием на жизненный цикл опухолевых клеток, так и ингибированием генов – факторов роста опухолевой клетки. При воздействии кверцетина в концентрации 1; 10 и 100 мкМ на клетки Исикавы (клетки РЭ) подробно изучались механизмы пролиферации этих клеток, экспрессия сигнальных генов роста – эпидермального фактора роста (EGF), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующего фактора роста α (TGF- α) и генов-регуляторов апоптоза (bcl-2 или bax), а также генов-регуляторов клеточного цикла (p53, p21, p73 и циклин D1) [1, 8]. После 7-дневного воздействия указанных доз кверцетина на клетки РЭ отмечалось торможение роста данных клеток на 3; 51 и 87% соответственно. Данные экспрессии генов и протеинов продемонстрировали, что кверцетин в дозе 100 мкМ существенно снижал уровни сигнальных генов роста – EGF и циклина D1, при этом отмечалась активация VEGF. На экспрессию других генов, а именно TGF- α , p53, p21, p73, bcl-2 и bax в опухолевых клетках РЭ кверцетин существенно не повлиял. На основании этого и ряда других испытаний японские исследователи сделали заключение, что кверцетин в клинических дозах 10-100 мкМ способен угнетать пролиферацию клеток РЭ за счет снижения экспрессии EGF и циклина D1 [8].

Комбинированная терапия с другими химиотерапевтическими агентами

Многочисленные данные исследований *in vitro* свидетельствуют, что кверцетин снижает резистентность опухолевых клеток к некоторым стандартным химиотерапевтическим комбинациям [13-19]. Кроме того, кверцетин обладает синергическим действием с некоторыми химиотерапевтическими агентами [20]. Данный препарат повышает цитотоксическую активность цисплатина *in vivo* и *in vitro*. Интраперитонеальное введение кверцетина в дозе 20 мг/кг массы тела вместе с цисплатином в дозе 3 мг/кг массы тела приводило к существенному снижению роста опухолей у мышей по сравнению с монотерапией цисплатином или кверцетином [4]. Исследование *in vitro* на культурах человеческих клеток рака яичника и РЭ показало, что добавление 0,01-10 мкМ кверцетина к монотерапии цисплатином обуславливало 1,5-30-кратное повышение эффекта от терапии цисплатином [5], а добавление тех же доз кверцетина к стандартному режиму терапии адриамицином [7] – дозозависимое увеличение цитотоксичности при РМЖ, резистентном к другим линиям терапии. Кроме того, кверцетин в дозах от 10 до 100 мкМ *in vitro* обеспечивал протективный эффект в отношении нефротоксичности цисплатина [6].

В исследованиях 2013 г. было показано синергическое действие кверцетина (QT) и тамоксифена (Tmx) в виде капсул для комбинированной пероральной терапии. Данные капсулы содержали полимерные наночастицы (NPs) тамоксифена и кверцетина в соотношении 1:2, с размерами частиц $185,3 \pm 1,20$ нм, индексом дисперсности (PDI) $0,184 \pm 0,004$, эффективностью включения $67,16 \pm 1,24\%$ для тамоксифена, $68,60 \pm 1,58\%$ для кверцетина [3]. Комбинация продемонстрировала большую эффективность, чем монотерапия любым из препаратов, за счет увеличения клеточного захвата, цитотоксичности и обеспечения локализации комбинации Tmx-QT-NPs в ядрах клеток РМЖ линии MCF-7, а также 3-5-кратное увеличение биодоступности обоих препаратов. Следовательно, комбинированная терапия тамоксифен + кверцетин, согласно выводам исследователей, обеспечивает существенно более высокую супрессию опухолевых клеток, чем монотерапия. Помимо исследования *in vitro*, эффективность данной комбинации была подтверждена в экспериментальных моделях РМЖ у самок мышей. Комбинированная терапия обеспечивала эффективный контроль ангиогенеза опухолей, что подтверждалось нормализацией уровня маркеров MMP-2 и MMP-9. Было доказано, что комбинация тамоксифен + кверцетин обладает абсолютной безопасностью, не имея выраженной гепатотоксичности или прооксидантных свойств по сравнению с монотерапией любым из данных препаратов. Исследователи пришли к выводу, что комбинированная терапия тамоксифеном и кверцетином может являться очень перспективным клиническим направлением в лечении РМЖ.

Безопасность кверцетина как химиотерапевтического агента

Еще в 1999 г. Международным агентством по исследованию рака (IARC) опубликовано заключение о том, что кверцетин не имеет канцерогенного потенциала и не может быть классифицирован как канцероген для человека [22]. Однако в начале XXI в. на основании единичных исследований высказывались предположения о потенциальной канцерогенности кверцетина [21]. В рамках Национальной токсикологической программы США (НТП) были проведены исследования канцерогенности флавоноида в течение 728 дней путем добавления 4% (1900 мг/кг) кверцетина в рацион крыс F344/N. Исследователи сообщили о росте аденом почек у мужской половины особей, получавших 4% кверцетин по сравнению с контрольной группой (8/50 по сравнению с 1/50). У женских особей эти изменения не были отмечены. Однако эти данные были подвергнуты критике на том основании, что рост доброкачественных опухолей был отмечен только на последующих этапах эксперимента, что повлияло на чистоту результатов. Эти исследования также продемонстрировали снижение роста фибroadеном МЖ у подопытных животных (9/50 в высоких дозах по сравнению с 29/50) [21]. Кроме данного наблюдения, не было отмечено



никаких других эпизодов роста опухолей, связанных с кверцетином. В настоящее время кверцетин не классифицируется в докладе НТП как канцероген. Кроме того, в исследованиях с участием людей кверцетин также продемонстрировал высокий профиль безопасности. У здоровых добровольцев прием кверцетина в дозе до 1000 мг/сут не приводил ни к каким побочным эффектам; показатели биохимии крови, гомеостаза и содержание электролитов оставались в норме. По выводам исследователей, кверцетин в дозе до 1000 мг/сут хорошо переносится и не вызывает побочных эффектов [21].

Выводы

Предварительные исследования показали, что кверцетин действительно обладает терапевтической активностью при РМЖ, раке яичников и РЭ. Кверцетин имеет перспективы в химиотерапии у пациентов с данными видами рака как безопасный и эффективный агент. Несмотря на то что кверцетин в низких дозах обладает цитотоксической активностью, его антипролиферативный эффект обуславливается преимущественно ингибированием клеточного цикла на переходе от фазы G1 к фазе S. Это приводит к повреждению ДНК опухолевых клеток с последующей активацией киназы Chk2, снижением фосфорилирования отдельных протеинов, вовлеченных в синтез мембран опухолевых клеток, и в итоге – к прекращению клеточного цикла и апоптозу опухолевых клеток в фазе G1 [2]. Эти данные свидетельствуют о высоком потенциале кверцетина как эффективного препарата в области онкогинекологии, синергичного с многими агентами, применяемыми в стандартных протоколах химиотерапии онкологических заболеваний женской репродуктивной системы. Все это делает кверцетин перспективным кандидатом для проведения широкомасштабных клинических исследований у пациенток с РМЖ, РЭ и раком яичников.

Список использованной литературы

1. Gregory S. Kelly ND. Quercetin. *AMR* 2011; 16:2: 172-94.
2. J. Jeong, Jee Young An, Yong Tae Kwon, Juong G. Rhee, Yong J. Lee2 Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression. *J Cell Biochem.* 2009 January 1; 106(1): 73-82.
3. Jain A.K., Thanki K., Jain S. Co-encapsulation of Tamoxifen and Quercetin in Polymeric Nanoparticles: Implications on Oral Bioavailability, Antitumor Efficacy, and Drug-Induced Toxicity. *Mol Pharm.* 2013 Sep 3; 10(9): 3459-74. doi: 10.1021/mp400311j. Epub 2013 Aug 8.
4. Hofmann J., Fiebig H.H., Winterhalter B.R. et al. Enhancement of the antiproliferative activity of cisdiaminedichloroplatinum (II) by quercetin. *Int J Cancer* 1990; 45: 536-539.
5. Scambia G., Ranalletti F.O., Benedetti Panici P. et al. Inhibitory effect of quercetin on primary ovarian and endometrial cancers and synergistic activity with cis-diaminedichloroplatinum (II). *Gynecol Oncol.* 1992 Apr; 45(1): 13-9.
6. Kuhlmann M.K., Horsch E., Burkhardt G. et al. Reduction of cisplatin toxicity in cultured renal tubular cells by the bioflavonoid quercetin. *Arch Toxicol.* 1998 Jul-Aug; 72(8): 536-40.
7. Hofmann J., Doppler W., Jakob A. et al. Enhancement of the antiproliferative effect of cisdiaminedichloroplatinum(II) and nitrogen mustard by inhibitors of protein kinase C. *Int J Cancer* 1988; 42: 382-388.
8. Kaneuchi M., Sasaki M., Tanaka Y. et al. Quercetin regulates growth of Ishikawa cells through the suppression of EGF and cyclin D1. *Int J Oncol.* 2003 Jan; 22(1): 159-64.
9. Zhou W., Kallifatidis G., Baumann B. et al. Dietary polyphenol quercetin targets pancreatic cancer stem cells. *Int J Oncol* 2010; 37: 551-561.
10. Steerenberg P.A., Garssen J., Dortant P.M. et al. The effect of oral quercetin on UVB-induced tumor growth and local immunosuppression in SKH-1. *Cancer Lett* 1997; 114: 187-189.
11. Soule H.D., Maloney T.M., Wolman S.R. Isolation and characterization of a spontaneously immortalized human breast epithelial cell line, MCF-10. *Cancer Res.* 1990; 50: 6075-86.
12. Ferry D.R., Smith A., Malkhandi J. et al. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 659-668.
- Chen C., Zhou J., Ji C. Quercetin: a potential drug to reverse multidrug resistance. *Life Sci* 2010; 87: 333-338.
- Borska S., Sopol M., Chmielewska M. et al. Quercetin as a potential modulator of P-glycoprotein expression and function in cells of human pancreatic carcinoma line resistant to daunorubicin. *Molecules* 2010; 15: 857-870.
- Kim S.H., Yeo G.S., Lim Y.S. et al. Suppression of multidrug resistance via inhibition of heat shock factor by quercetin in MDR cells. *Exp Mol Med* 1998; 30: 87-92.
- Oh SJ, Kim O., Lee J.S., et al. Inhibition of angiogenesis by quercetin in tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 3227-3234.
- Shen J., Zhang W., Wu J., Zhu Y. The synergistic reversal effect of multidrug resistance by quercetin and hyperthermia in doxorubicin-resistant human myelogenous leukemia cells. *Int J Hyperthermia* 2008; 24: 151-159.
- Sliutz G., Karlseder J., Tempfer C. et al. Drug resistance against gemcitabine and topotecan mediated by constitutive hsp70 overexpression in vitro: implication of quercetin as sensitizer in chemotherapy. *Br J Cancer* 1996; 74: 172-177.
- Thangasamy T., Sittadjody S., Mitchell G.C. et al. Quercetin abrogates chemoresistance in melanoma cells by modulating deltaNp73. *BMC Cancer* 2010; 10: 282.
- Scambia G., Ranalletti F.O., Panici P.B. et al. Synergistic antiproliferative activity of quercetin and cisplatin on ovarian cancer cell growth. *Anticancer Drugs* 1990; 1: 45-48.
21. Davis W. Lamson M.S. et al. Antioxidants and Cancer III: Quercetin. *Altern Med Rev* 2000; 5(3): 196-208.
22. Okamoto T. Safety of quercetin for clinical application (Review). *Int J Mol Med* 2005; 16: 275-278.
23. Avila M.A., Velasco J.A., Harter K.W. et al. Quercetin as a modulator of the cellular neoplastic phenotype. *Adv Expl Med Biol* 1996; 401: 101-110.
24. Nigro J.M., Baker S.J., Preisinger A.C. et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989; 342: 705-708.
25. Yoshida M., Sakai T., Hosokawa N. et al. The effect of quercetin on cell cycle progression and growth of human gastric cancer cells. *FEBS Lett* 1990; 260: 10-13.
26. Ferry D.R., Smith A., Malkhandi J. et al. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 659-668.
27. Markaverich B.M., Roberts R.R., Alejandro M.A. et al. Bioflavonoid interaction with rat uterine type II binding sites and growth inhibition. *J Steroid Biochem* 1988; 30: 71-78.
28. Piantelli M., Maggiano N., Ricci R. et al. Tamoxifen and quercetin interact with type II estrogen binding sites and inhibit the growth of human melanoma cells. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 248-253.

□