



Revista Portuguesa
de

irurgia

II Série • N.º 25 • Junho 2013

ISSN 1646-6918

Órgão Oficial da Sociedade Portuguesa de Cirurgia

Acção anti-cancerígena da Quercetina no Carcinoma Hepatocelular: o papel do GLUT-1

Anticancer effect of Quercetin in Hepatocellular Carcinoma: the role of GLUT-1

*Brito AF^{1,2}; Ribeiro M^{1,3}; Abrantes AM^{1,2}; Gonçalves AC^{1,4};
Sarmiento-Ribeiro AB^{1,4}; Tralhão JG^{1,2,5}; Botelho MF^{1,2}*

¹ Unidade de Biofísica, IBILI, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; ² Centro de Investigação em Meio Ambiente, Genética e Oncobiologia (CIMAGO), Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;

³ Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra; ⁴ Biologia Molecular Aplicada, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra ⁵ Serviço de Cirurgia, Cirurgia A, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

SUMÁRIO

O Carcinoma Hepatocelular (CHC) é um dos cancros mais letais, com uma crescente incidência em diversas regiões por todo o mundo. Sem tratamento específico, o prognóstico é muito pobre e a sobrevida diminuta. A terapia mais eficaz consiste no transplante hepático e na ressecção cirúrgica, no entanto, e uma vez que apenas 15% dos doentes são candidatos a tratamento cirúrgico, torna-se urgente a procura de novas opções terapêuticas para este tipo de tumor.

Alguns estudos demonstraram que a expressão do transportador de glucose-1 (GLUT-1) pode estar alterada neste tipo de tumor. Um estudo recente demonstrou que a supressão da expressão de GLUT-1, recorrendo a siRNA (*small interfering RNA*) conseguiu reduzir significativamente a tumorigénese em culturas celulares de CHC, sugerindo que o GLUT-1 pode ser um alvo terapêutico para este tipo de tumor altamente agressivo.

Assim, o objectivo deste trabalho experimental foi avaliar o efeito anti-cancerígeno da quercetina, um possível inibidor do GLUT-1, numa linha celular humana de CHC (HepG2, ATCC), assim como avaliar o seu efeito na captação de ¹⁸F-FDG, um análogo da glucose radiomarcado com Flúor-18.

Com os resultados obtidos verificou-se que a quercetina possui a capacidade de inibir a proliferação da linha celular em estudo e, para além disso, parece ter influência na captação de ¹⁸F-FDG já que conseguiu diminuir a percentagem de captação do radiofármaco nesta linha celular. No entanto, através da técnica de citometria de fluxo verificou-se que as células permanecem viáveis, e que este composto não inibe a expressão proteica do GLUT-1. Estes resultados indicam que a quercetina inibe este transportador de glucose quanto à função, mas não quanto à expressão.

Palavras-chave: *Quercetina, Carcinoma Hepatocelular, GLUT-1*

ABSTRACT

Hepatocellular Carcinoma (HCC) is one of the most fatal cancers, with rising incidence. Without specific treatment, the prognosis is very poor and diminished survival. The most effective therapy is liver transplantation and complete surgical resection, however, since



only 15% of patients are candidates for such therapies, a wide range of patients are subjected to treatment with conventional therapies, and the rate success is greatly diminished.

It is thought that the expression of glucose transporter 1 (GLUT-1) may be altered in HCC. A recent study showed that suppression of GLUT-1 expression, using siRNA (*small interfering RNA*) could significantly reduce tumorigenesis in HCC cell lines, suggesting that GLUT-1 may be a therapeutic target for this highly aggressive tumor.

Thus, this project aims to evaluate the anticancer effect of quercetin, a possible inhibitor of GLUT-1, in a human HCC cell line HepG2, as well as check the effect of this compound on ^{18}F -FDG (a glucose radiolabelled analogue) uptake in this cell line.

These results shown that quercetin have anti-proliferative effect on HCC cell line studied. This compound also have shown ability to decrease the ^{18}F -FDG uptake.

However, using flow cytometry it was found that HepG2 cells remain viable after treatment with quercetin, and this compound doesn't inhibit the GLUT-1 protein expression. These results indicate that quercetin inhibits the GLUT-1 function, but doesn't inhibit the expression of this transporter.

Keywords: *Quercetin, Hepatocellular Carcinoma, GLUT-1*

INTRODUÇÃO

O carcinoma hepatocelular (CHC) é um dos tipos de cancro mais letais em todo o mundo. A principal causa da carcinogénese hepática é atribuída à doença hepática crónica secundária associada à ingestão crónica de álcool como com a infecção pelo vírus da Hepatite B (HBV) ou pelo vírus da Hepatite C (HCV), estando estes normalmente relacionados com a doença hepática crónica [1,2]. Existem ainda outros factores que contribuem para a génese do CHC, como a obesidade, a diabetes e a esteatose hepática não-alcoólica [3,4].

O CHC não possui tratamento específico, o prognóstico é muito pobre e a sobrevida diminuta, o que o torna a terceira maior causa de morte por cancro a nível mundial. Entre as opções terapêuticas, o transplante hepático e a ressecção cirúrgica são as terapias mais eficazes, contudo apenas 15% a 20% dos doentes podem beneficiar do tratamento cirúrgico [4-6].

O CHC é classificado como um tumor com elevada quimiorresistência; deste modo, a eficácia da quimioterapia sistémica convencional para este tipo de cancro é reduzida. Embora, a doxorubicina sistémica, seja o agente mais utilizado na prática clínica, permite uma resposta parcial apenas em cerca de 10% dos doentes sem melhorar de forma significativa a sobrevida global [7-12].

A radioterapia também pode ser usada no tratamento do CHC. No entanto, alguns estudos tem demonstrado que a ineficácia da acção da radioterapia deve-se à heterogeneidade dos carcinomas hepatocelulares, nomeadamente na expressão da proteína p53, o que poderá estar na base da resistência/sensibilidade associada à radio e à quimioterapia [6,13-14].

Neste sentido, torna-se necessário investigar novas opções terapêuticas no combate ao CHC. A terapia génica tem vindo a ser estudada exaustivamente como uma nova abordagem para o tratamento do CHC surgindo, o transportador de glucose 1 (GLUT-1) como possível alvo terapêutico para este tipo de tumor extremamente agressivo [15,16]. A sobreexpressão de GLUT-1 associado ao aumento do metabolismo de glucose estão presentes numa ampla variedade de tumores sólidos conferindo-lhes, na maioria das vezes, um mau prognóstico [16-20]. Alguns estudos indicam que o GLUT-1 se encontra sobreexpresso no CHC, promovendo a carcinogénese [16,17]. Para além disso, um estudo de 2009 [17] demonstrou que suprimindo a expressão de GLUT-1, recorrendo a siRNA (*small interfering RNA*) se conseguiu reduzir significativamente a tumorigénese em culturas celulares de CHC; estes resultados sugerem que o GLUT-1 desempenha um papel directo na oncogénese desta neoplasia, podendo ser um novo alvo terapêutico para este tipo de tumor [15-17].



A tomografia por emissão de positrões (PET) com recurso ao análogo radiomarcado da glucose ^{18}F -FDG permite a detecção de processos de glicólise aumentados. O ^{18}F -FDG entra nas células através de transportadores de glucose (GLUTs), principalmente através do GLUT-1 e do GLUT-3. No entanto, ao mesmo tipo histológico de tumor poderão corresponder diferentes captações de ^{18}F -FDG [16,21]. Desta forma, diferentes tumores possuem diferentes captações do radiofármaco, o que poderá estar intimamente relacionado com as diferenças existentes na expressão de GLUT's de cada tumor e com o perfil genético dos mesmos [16, 21].

O efeito anti-tumoral dos flavonóides tem sido estudado, com o intuito de induzir a inibição do crescimento celular e indução de apoptose numa variedade de células oncológicas [22]. Os flavonóides e os isoflavonóides são potentes inibidores do fluxo de glucose [23-25]. Neste sentido, tem vindo a ser estudada a acção destas substâncias como inibidores do GLUT-1. Este transportador de glucose possui três domínios de ligação de ATP, que são essenciais para a sua conformação e afinidade. Deste modo, estes locais de ligação de ATP parecem ser um alvo possível para estratégias farmacológicas, que resultam no bloqueio do GLUT-1. Actualmente, tem-se demonstrado que as flavonas, como a genistéina e a quercetina, inibem as tirosinas cinases da ligação de ATP, sendo capazes também de inibir o GLUT-1 através deste mecanismo [16].

A quercetina é um flavonóide bioactivo ubíquo que inibe a proliferação de células oncológicas. Estudos realizados em culturas celulares mostraram que a quercetina possui actividade contra alguns tipos de células cancerosas [26,27]. Outros estudos recentes sugeriram que a quercetina pode retardar o crescimento destas células e pode ajudar a promover a apoptose [23-25]. Deste modo, a quercetina pode ser considerada um potencial agente terapêutico para células tumorais.

O objectivo deste trabalho consiste na avaliação do efeito anti-cancerígeno da quercetina, verificando o seu efeito como possível inibidor do GLUT-1.

MATERIAIS E MÉTODOS

Culturas celulares

A linha celular de carcinoma hepatocelular (HepG2), obtida na *American Type Culture Collection* (ATCC), foi descongelada e propagada após recepção. A propagação foi feita em culturas aderentes a 37°C em atmosfera com 5% de CO_2 , utilizando para tal o meio *Dulbecco's Modified Eagle's Medium High Glucose* (DMEM) (Sigma) suplementado com $100\mu\text{M}$ de piruvato de sódio (Gibco), 10% de soro bovino fetal (Sigma) e 1% de antibiótico (100U/mL de penicilina e $10\mu\text{g/mL}$ estreptomicina) (Gibco). Para os estudos de captação as células foram cultivadas quer em meio com elevado teor de glucose (25mM) quer em baixo teor de glucose (5mM) (Gibco).

Avaliação da proliferação celular

Para este estudo foi necessária uma suspensão celular com 5×10^4 células/mL em meio de cultura distribuída por placas de 24 poços, contendo cada poço $500\mu\text{L}$ da suspensão. Após 24 horas, as células foram incubadas com diferentes concentrações de quercetina que variaram entre 0,1 e 25mM . Depois de 24, 48, 72 e 96 horas a proliferação celular foi avaliada recorrendo ao teste do MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium) como descrito em [28]. Os resultados obtidos foram analisados e processados no programa OriginPro 8.0, de modo a calcular a concentração que inibe 50% da proliferação celular (IC_{50}).

Estudos de captação de ^{18}F -FDG

Através dos estudos de captação estudou-se o perfil de captação de ^{18}F -FDG ao longo do tempo, na linha celular HepG2 e na mesma linha incubada previamente com $37,67\mu\text{M}$ de quercetina durante 24 horas. Para a realização dos estudos de captação foi necessário preparar uma suspensão celular com 2×10^6 células/mL. Após a preparação da suspensão celular foi adicionado o ^{18}F -FDG numa actividade igual a $25\mu\text{Ci}$ por cada mL de suspensão celular. Após 5, 30, 60, 90 e 120 minutos de incubação com o radiofár-



maco, foram retiradas amostras de 200µL da suspensão celular para tubos de *eppendorf* que continham solução de tampão fosfato salino (PBS) gelado, de modo a reduzir o metabolismo celular. De seguida, as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm durante 60 segundos para completa separação entre o *pellet* e o sobrenadante, tendo este sido recolhido para um tubo devidamente identificado. Seguiu-se uma lavagem do *pellet* com 500µL de PBS gelado, repetindo-se o procedimento de separação do sobrenadante por centrifugação. Deste modo, foi possível calcular a captação do ¹⁸F-FDG por parte das células para cada tempo. Assim, através da contagem de ambas as fracções (*pellets* e sobrenadantes) no contador de poço em contagens por minuto (CPM), quantificou-se a percentagem de captação do ¹⁸F-FDG pelas células e traçou-se uma curva de captação ao longo do tempo de acordo com [28].

Citometria de fluxo

De modo a caracterizar a viabilidade celular, os tipos de morte celular e a expressão membranar e citoplasmática de GLUT-1 recorreu-se à técnica de citometria de fluxo. A análise foi feita utilizando um citómetro FSCSCalibur com seis parâmetros e quatro cores, equipado com um laser de argon de 15nW. Para cada ensaio foram necessários um milhão de células, sendo contabilizados 10000 eventos utilizando o Software Cell Quest (Becton Dickinson) e analisados utilizando o software Paint-a-gate (Becton Dickinson).

a) Viabilidade celular

De modo a avaliar a viabilidade celular e tipos de morte, recorreu-se à dupla marcação com anexina-V/iodeto de propídeo (AV/IP). Uma das principais características da morte celular por apoptose é o facto da fosfatidilserina (que nas células viáveis se encontra no folheto interno da membrana plasmática) translocar do folheto interno para o folheto externo da membrana plasmática e ligar-se à anexina-V. Por outro lado, o iodeto de propídeo que não penetra nas células viáveis, liga-se ao ácido desoxirribonucleico

(ADN) das células em apoptose tardia e em necrose. Neste ensaio, 1×10^6 de células foram incubadas com tampão de ligação, 1µL de anexina-V (KIT Immnotech) e 5µL de iodeto de propídeo (KIT Immnotech). De seguida as células foram excitadas com uma luz de comprimento de onda de 525nm para a anexina-V e 640 nm para o iodeto de propídeo. Deste modo é possível determinar a percentagem de células em apoptose, em apoptose tardia/necrose, em necrose assim como as células viáveis.

Esta marcação foi igualmente realizada com células controlo e com células incubadas durante 48 horas com 5µM, 37,67µM e 100µM de quercetina.

b) Expressão de GLUT-1

De modo a caracterizar a expressão membranar e intracelular de GLUT-1 recorreu-se à citometria de fluxo.

Para cada experiência foram utilizadas um milhão de células. Para a detecção membranar de GLUT-1 as células foram centrifugadas a 300G (Heraeus Multifuge 1 L-R) e posteriormente incubadas durante 15 minutos à temperatura ambiente com 10µL do anticorpo monoclonal anti-human GLUT-1 (ficoeritrina (PE) mouse anti-human GLUT-1, R&D Systems).

Para a detecção intracelular de GLUT-1, as células foram previamente fixadas com o reagente A (Intracell Kit, Immunostep) durante 15 minutos à temperatura ambiente, e após uma lavagem com PBS a 300G durante 5 minutos, as células foram permeabilizadas com o reagente B (Intracell Kit Immunostep) e incubadas com 10µL do anticorpo anteriormente referido.

Estas marcações foram feitas para células controlo e para células incubadas durante 48 horas com 37,67µM de quercetina.

RESULTADOS

Verificou-se que a acção da quercetina na proliferação celular das células HepG2 é dependente do tempo, ou seja, a proliferação celular diminui à me-



didada que se aumenta o tempo de incubação de acordo com a Figura 1 e a Tabela 1.

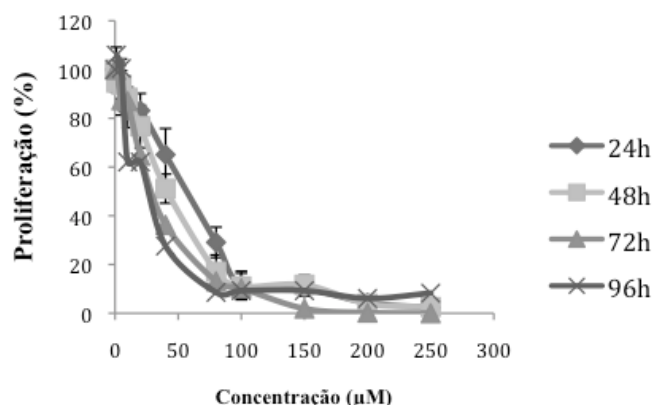


Figura 1 – Curvas dose-resposta da acção da quercetina na proliferação celular da linha celular HepG2 ao longo do tempo. Estudos efectuados após 24, 48, 72 e 96 horas de exposição com diferentes concentrações de quercetina. Os resultados expressam a média \pm desvios-padrão de seis experiências independentes (n=6).

Tempos	IC ₅₀ (µM)	R ²
24h	47,64	0,977
48h	37,67	0,980
72h	32,98	0,989
96h	30,74	0,986

Tabela 1 – Concentração inibitória média (IC₅₀) da quercetina em células HepG2 a diferentes tempos de incubação e respectivos R².

Nas figuras 2 e 3 é possível verificar o perfil de captação de ¹⁸F-FDG pelas células HepG2 ao longo do tempo (células controlo e células incubadas com 37,67µM de quercetina durante 24h). A figura 2 representa os resultados obtidos em células incubadas em meio com elevado teor de glucose (25mM), enquanto a figura 3 representa os resultados obtidos quando as células são incubadas em meio com baixo teor de glucose (5mM). Em ambas as situações, verifica-se que quando as células são incubadas com quercetina a percentagem de captação do radiofármaco é inferior à das células controlo.

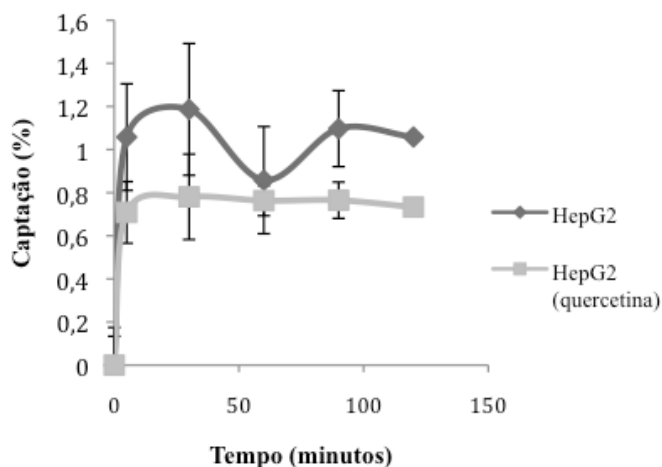


Figura 2 – Gráfico representativo da percentagem de captação de ¹⁸F-FDG em função do tempo, na linha celular HepG2 e na mesma linha celular incubada previamente com 37,67µM de quercetina durante 24 horas. Estudos efectuados em meio de cultura com elevado teor de glucose (25mM). Média \pm desvio-padrão de quatro experiências independentes realizadas em triplicado (n=12).

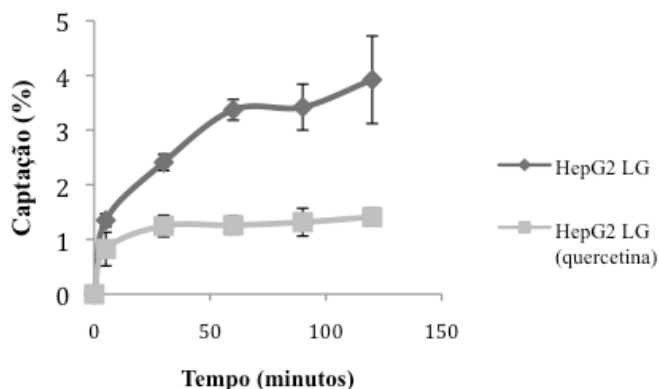


Figura 3 – Gráfico representativo da percentagem de captação de ¹⁸F-FDG em função do tempo, na linha celular HepG2 e na mesma linha incubada previamente com 37,67µM de quercetina durante 24 horas. Estudos efectuados em meio de cultura com baixo teor de glucose (5mM). Média \pm desvio padrão de quatro experiências independentes realizadas em triplicado (n=12).

Na figura 4 podemos observar a expressão membranar e citoplasmática do GLUT-1, em células HepG2 (controlo) e em células HepG2 incubadas previamente com 37,67µM de quercetina, durante 48 horas. Verifica-se que a quercetina não inibe a expressão proteica do GLUT-1, tanto membranar como citoplasmática.



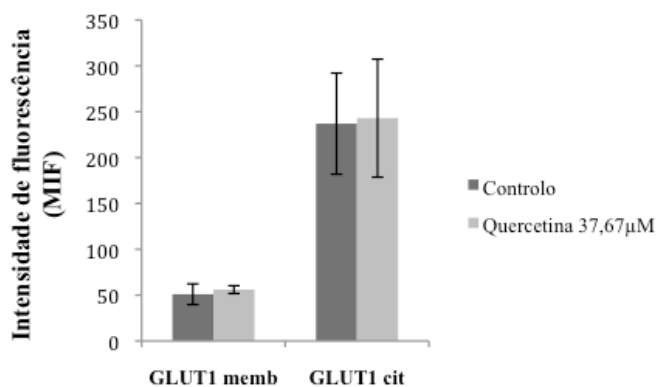


Figura 4 – Gráfico representativo da expressão membranar e citoplasmática de GLUT-1 em células HepG2 (controlo) e em células HepG2 incubadas com 37,67µM de quercetina durante 48 horas. Média ± desvio padrão de três experiências independentes (n=3).

Na figura 5, verifica-se que a quercetina possui um efeito de inibição da proliferação celular, mas não efeito citotóxico, uma vez que mesmo quando se incubam as células com uma concentração bastante superior à do IC₅₀, não se observa morte celular para além dos 50%.

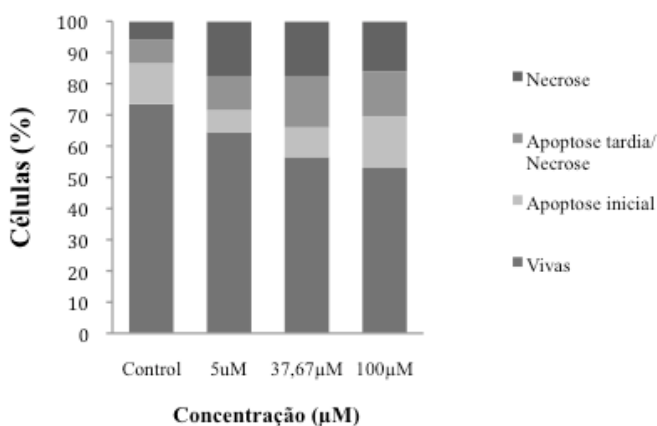


Figura 5 – Gráfico representativo do tipo de morte celular induzida em células HepG2 (controlo) e em células HepG2 incubadas durante 48 horas com 5µM, 37,67µM e 100µM de quercetina. Média de três experiências independentes (n=3).

DISCUSSÃO

Os flavonóides, entre eles a quercetina têm vindo a ser sugeridos como potentes agentes anti-cancerígenos [17,26,27]. Um dos mecanismos de ação que é

actualmente atribuído aos flavonóides é a inibição do GLUT-1, que se sabe que no CHC possui um papel directo na oncogénese e não apenas no transporte de glucose [16,17].

Através deste estudo, verificou-se que a quercetina possui um efeito anti-proliferativo na linha celular de CHC HepG2, possuindo este efeito uma dependência temporal. O efeito anti-proliferativo observado por parte da quercetina pode dever-se, em parte, à inibição do GLUT-1 [16,17], existindo porém outros factores que devem ser tidos em conta, nomeadamente a expressão do gene supressor tumoral (TP53), uma vez que se sabe que este gene tem um papel crucial na indução da apoptose e na paragem do ciclo celular [29,30].

No entanto, e apesar de ocorrer uma diminuição da proliferação celular, através dos resultados obtidos por citometria de fluxo, verifica-se que a quercetina não tem um efeito citotóxico, apenas de inibição da proliferação celular. Tal resultado pode estar relacionado com o facto das células HepG2 expressarem uma forma normal da proteína 53 e a quercetina estar deste modo impedir a progressão do ciclo celular [30,31].

A quercetina possui um efeito inibitório na captação de ¹⁸F-FDG, sendo esse efeito mais notório quando as células são propagadas em meio com baixo teor de glucose. Estes resultados estão de acordo com a bibliografia, uma vez que a quercetina é tida como um inibidor competitivo do GLUT-1, afectando deste modo a captação de glucose e seus análogos [17,32].

Ao nível da expressão membranar e citoplasmática do GLUT-1, verifica-se que não existe inibição do GLUT-1 quando incubado com quercetina, o que nos leva a crer que apenas existe inibição da função deste transportador membranar, pois inibe a captação de ¹⁸F-FDG, e não da expressão. Este resultado prende-se com o facto da quercetina ser um inibidor competitivo da glucose, não induzindo deste modo alterações na expressão deste transportador [17,32].



CONCLUSÃO

Com este estudo foi possível observar que a quercetina possui um efeito anti-proliferativo na linha celular de CHC HepG2, não tendo porém efeito citotóxico. Conclui-se também que o composto em estudo é capaz de inibir a captação de ¹⁸F-FDG, sendo este efeito mais notório quando as células são cultivadas em meio com baixo teor de glicose. Verificou-se também que não existe uma inibição do GLUT-1 por parte da quercetina. No entanto, mais estudos são

necessários para esclarecer o efeito deste composto na função do GLUT-1.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Fundação Calouste Gulbenkian pelo apoio financeiro (projecto 96442).

Um agradecimento também à Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) pela atribuição de uma bolsa de Doutoramento Individual a Brito AF (SFRH/BD/61378/2009).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Venook AP, Papandreou C, Furuse J, de Guevara LL: The incidence and epidemiology of hepatocellular carcinoma: a global and regional perspective. *Oncologist*. 2010;15 Suppl 4:5-13.
2. Yang JD, Roberts LR: Hepatocellular carcinoma: A global view. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2010;7(8):448-58.
3. Schütte K, Bornschein J, Malfertheiner P: Hepatocellular carcinoma--epidemiological trends and risk factors. *Dig Dis* 2009;27(2):80-92.
4. Wörns MA, Weinmann A, Schuchmann M, Galle PR: Systemic Therapies in Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis* 2009;27:175-188.
5. Bruix J, Sherman M: Management of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* 2005;42(5):1208-36.
6. Wörns MA, Galle PR: Future perspectives in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2010;42Suppl 3:S302-9.
7. Cheung TT, Ng KK, Chok KS, Chan SC, Poon RT, Lo CM, Fan ST: Combined resection and radiofrequency ablation for multifocal hepatocellular carcinoma: prognosis and outcomes. *World J Gastroenterol* 2010, 16(24):3056-62.
8. Giglia JL, Antonia SJ, Berk LB, Bruno S, Dessureault S, Finkelstein SE: Systemic therapy for advanced hepatocellular carcinoma: past, present, and future. *Cancer Control* 2010;17(2):120-9.
9. Johnson PJ: Systemic chemotherapy of liver tumors. *Semin Surg Oncol* 2000;19(2):116-24.
10. Forbes A, Williams R: Chemotherapy and radiotherapy of malignant hepatic tumours. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1987;1(1):151-69.
11. Yeo W, Mok TS, Zee B, Leung TW, Lai PB, Lau WY, Koh J, Mo FK, Yu SC, Chan AT, Hui P, Ma B, Lam KC, Ho WM, Wong HT, Tang A, Johnson PJ: A randomized phase III study of doxorubicin versus cisplatin/interferon alpha-2b/doxorubicin/fluorouracil (PIAF) combination chemotherapy for unresectable hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(20):1532-8.
12. Fabregat I: Dysregulation of apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2009;15(5):513-20.
13. Hussain SP, Schwank J, Staib F, Wang XW, Harris CC: TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer. *Oncogene* 2007;26(15):2166-76.
14. Ma S, Jiao B, Liu X, Yi H, Kong D, Gao L, Zhao G, Yang Y, Liu X: Approach to radiation therapy in hepatocellular carcinoma. *Cancer Treat Rev* 2010;36(2):157-63.
15. Cao Y, Fu YL, Yu M, Yue PB, Ge CH, Xu WX, Zhan YQ, Li CY, Li W, Wang XH, Wang ZD, Li YH, Yang XM: Human augments of liver regeneration is important for hepatoma cell viability and resistance to radiation-induced oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2009;47(7):1057-66.
16. Amann T, Maegdefrau U, Hartmann A, Agaimy A, Marienhagen J, Weiss TS, Stoeltzing O, Warnecke C, Schölmerich J, Oefner PJ, Kreuzt M, Bosserhoff AK, Hellerbrand C: GLUT1 expression is increased in hepatocellular carcinoma and promotes tumorigenesis. *Am J Pathol*. 2009 Apr;174(4):1544-52. Epub 2009 Mar 12.
17. Amann T, Hellerbrand C: GLUT1 as a therapeutic target in hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Ther Targets*. 2009 Dec;13(12):1411-27.
18. Hao LS, Ni Q, Jia GQ, Wang G, Qian K, Liu YJ, Zhang Y, Wu XT: Expression of glucose transporter 1 in human breast carcinoma and its clinical significance. *Sichuan Da XueXueBao Yi Xue Ban* 2009;40:44-7.
19. Rudlowski C, Becker AJ, Schroder W, Rath W, Büttner R, Moser M: GLUT1 messenger RNA and protein induction relates to the malignant transformation of cervical cancer. *Am J ClinPathol* 2003;120:691-8.
20. Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Misawa K, Araki K, Misawa Y, Ueda Y: Prognostic value of glucose transporter 1 expression in patients with hypopharyngeal carcinoma. *Anticancer Res* 2002;22:3489-94.
21. Evans A, Bates V, Troy H, Hewitt S, Holbeck S, Chung YL, Phillips R, Stubbs M, Griffiths J, Airley R. Glut-1 as a therapeutic target: increased chemoresistance and HIF-1-independent link with cell turnover is revealed through COMPARE analysis and metabolomic studies. *Cancer ChemotherPharmacol* 2008;61:377-93.



22. Jadvar H, Alavi A, Gambhir SS: 18F-FDG uptake in lung, breast, and colon cancers: molecular biology correlates and disease characterization. *J Nucl Med.* 2009 Nov;50(11):1820-7. Epub 2009 Oct 16.
23. Seufi AM, Ibrahim SS, Elmaghraby TK, Hafez EE: Preventive effect of the flavonoid, quercetin, on hepatic cancer in rats via oxidant/antioxidant activity: molecular and histological evidences. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009 Jun 11;28:80.
24. Nomura M, Takahashi T, Nagata N, Tsutsumi K, Kobayashi S, Akiba T, Yokogawa K, Moritani S, Miyamoto K: Inhibitory Mechanisms of Flavonoids on Insulin-Stimulated Glucose Uptake in MC3T3-G2/PA6 Adipose Cells. *Biol. Pharm. Bull.* July 2008. 31(7) 1403-1409.
25. Martin, Hans-Jorg, Kornmann, Frank, Fuhrmann, Gunter Fred: The inhibitory effects of flavonoids and antistrogens on the Glut1 glucose transporter in human erythrocytes; *Chemico-Biological Interactions* 146 (2003): 225-235.
26. Kim YH, Lee DH, Jeong JH, Guo ZS, Lee YJ: Quercetin augments TRAIL-induced apoptotic death: involvement of the ERK signal transduction pathway. *Biochem Pharmacol.*; 75 (10): 1946-1958 (2008).
27. Nöthlings U, Murphy SP, Wilkens LR, Henderson BE, Kolonel LN: Flavonols and Pancreatic Cancer Risk. *Am J Epidemiol.* 2007 Oct 15;166(8):924-31.
28. Casalta-Lopes J, Abrantes AM, Laranjo M, Rio J, Gonçalves AC, Oliveiros B, Sarmiento-Ribeiro AB, Botelho MF: Efflux Pumps Modulation in Colorectal Adenocarcinoma Cell Lines: The Role of Nuclear Medicine. *Journal of Cancer Therapy*, 2011, 2, 408-417
29. Vargas AJ, Sittadjody S, Thangasamy T, Mendoza EE, Limesand KH, Burd R: Exploiting tyrosinase expression and activity in melanocytic tumors: quercetin and the central role of p53. *Integr Cancer Ther.* 2011 Dec;10(4):328-40.
30. Reinhardt HC, Schumacher B: The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer. *Trends Genet.* 2012 Mar;28(3):128-36.
31. Kaino M: Alterations in the tumor suppressor genes p53, RB, p16/MTS1, and p15/MTS2 in human pancreatic cancer and hepatoma cell lines. *J Gastroenterol.* 1997 Feb;32(1):40-6.
32. Vera JC, Reyes AM, Velásquez FV, Rivas CI, Zhang RH, Strobel P, Slebe JC, Núñez-Alarcón J, Golde DW: Direct inhibition of the hexose transporter GLUT1 by tyrosine kinase inhibitors. *Biochemistry.* 2001 Jan 23;40(3):777-90.

Correspondência:
GUILHERME TRALHÃO
e-mail: jglrt@hotmail.com

Data de recepção do artigo:
19-10-2012

Data de aceitação do artigo:
30-5-2013



