

Toxicidad celular de la quercetina y su efecto sobre la movilización celular de glucosa

Cellular toxicity of quercetin and its effect on glucose mobilization.

Josefina Gómez Garduño, Raquel García Álvarez, Juan Luis Chávez Pacheco, Liliana Rivera Espinosa, Radamés Alemón Medina

Resumen

INTRODUCCIÓN: La quercetina (QT) es un flavonoide vegetal con propiedades antioxidantes y antidiabéticas que podría mejorar el tratamiento de niños y adolescentes con obesidad y diabetes. Recientemente se comercializa en suplementos alimenticios, por sus efectos benéficos en la salud. Sin embargo, no se han determinado la toxicidad y las dosis seguras de QT en humanos.

OBJETIVO: Determinar la toxicidad de QT en cultivos de células humanas sanas y evaluar su efecto sobre la movilización de glucosa extracelular.

MATERIALES Y MÉTODOS: Las células HA19 se cultivaron a confluencia en medio DMEM-F12 suplementado con 10% de SFB, antibiótico y antimicótico al 1%, a 37°C con atmósfera de CO₂ al 5%. Se expusieron a concentraciones de QT de 0.3 a 30 µg/mL por 24 horas. Se emplearon tres presentaciones de quercetina: estándar puro (QTS), suplemento alimenticio (QTC) y extracto acuoso de moringa (Mor). Se evaluó la toxicidad de la QT por tinción de las células sobrevivientes con violeta de cristal, y la concentración extracelular de glucosa por la actividad de glucosa oxidasa.

RESULTADOS: La QTS provocó muerte celular proporcional al aumento de su concentración. La QTC fue más tóxica a bajas concentraciones. La QT en el extracto vegetal (Mor) tuvo efecto citoprotector a las concentraciones más altas. La QT indujo el transporte de glucosa desde el medio hacia las células en las tres presentaciones.

CONCLUSIONES: La QT en forma comercial (QTC) fue más citotóxica que el extracto vegetal, por lo que el flavonoide de fuente natural podría ser más seguro de consumir.

PALABRAS CLAVE: quercetina, muerte celular, movilización de glucosa, nutraceuticos, cuidado de la diabetes

Abstract

INTRODUCTION: Quercetin (QT) is a plant flavonoid with antioxidant and antidiabetic properties that could improve the treatment of children and adolescents with obesity and diabetes. It has recently been marketed as food supplements; however, the toxicity and safe doses of QT in humans have not been concluded.

AIM: To determine the toxicity of QT in cultured healthy human cells and assess its effect on extracellular glucose mobilization.

MATERIALS AND METHODS: HA19 cells were grown to confluence in DMEM-F12 medium supplemented with 10% FBS, 1% antibiotic and antifungal, at 37°C with 5% CO₂ atmosphere. They were exposed to QT concentrations of 0.3 to 30 µg/mL for 24 hours. Three presentations of quercetin were used: pure standard (QTS), food supplement (QTC) and aqueous extract of moringa (Mor). QT toxicity was assessed by staining of surviving cells with crystal violet, and extracellular glucose concentration by glucose oxidase activity.

RESULTS: QTS caused cell death proportional to the increase in its concentration. QTC was more toxic at low concentrations. The QT in the plant extract (Mor) had a cytoprotective effect at the highest concentrations. QT induced glucose transport from the medium to the cells in all three presentations.

Laboratorio de Farmacología, Instituto Nacional de Pediatría, SSA, Ciudad de México, México.

Recibido: 13 de julio de 2023

Aceptado: 27 de junio de 2024

Correspondencia

Radamés Alemón Medina
ranapez@hotmail.com

Este artículo debe citarse como: Gómez Garduño J, García Álvarez R, Chávez Pacheco JL, Rivera Espinosa L, Alemón Medina R. Toxicidad celular de la quercetina y su efecto sobre la movilización celular de glucosa. Acta Pediatr Mex 2025; 46 (1): 3-12

CONCLUSIONS: QT in commercial form (QTC) was more cytotoxic than the plant extract, so the flavonoid from a natural source could be safer to consume.

KEYWORDS: quercetin, cell death, glucose mobilization, nutraceuticals, diabetes care.

INTRODUCCIÓN

El uso de biguanidas para el tratamiento farmacológico y el control de la diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes es una de las estrategias que se llevan a cabo en endocrinología pediátrica en nuestra institución, debido al aumento de casos en los últimos diez años de esta condición que antes afectaba sólo a los adultos.¹ La quercetina es un compuesto de origen vegetal que tiene propiedades antidiabéticas parecidas a la metformina,² y está presente en alimentos muy comunes. Por lo tanto, nosotros suponemos que los pacientes que toman metformina podrían necesitar menor dosis de este medicamento para el control de su diabetes si incluyeran en su dieta mayor cantidad de alimentos con altas concentraciones de quercetina, como la cebolla, manzana, arándano, espinaca y cilantro. El presente es un primer acercamiento *in vitro* que pone en evidencia el empleo seguro de quercetina en un sistema de células humanas en cultivo, a una concentración con la que se logra la entrada de glucosa a las células.

La quercetina es un nutrimento

La quercetina (QT), 2-(3,4-Dihidroxifenil)-3,5,7-trihidroxi-4H-1-benzopirano-4-1 dihidrato, 3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona dihidrato es un compuesto de origen vegetal (flavonoide), presente en una gran cantidad de frutos y plantas comestibles.³ Se ha recomendado como complemento alimenticio natural para ayudar a bajar

de peso y controlar la glucosa en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, por su efecto como inhibidor competitivo en la actividad de los transportadores de glucosa en la célula.⁴⁻⁷ Esta inhibición puede ser tan rápida que su efecto se ve reflejado en la disminución de la glucosa postprandial.⁷ Además, la quercetina también es transportada por la misma proteína que transporta la glucosa desde el intestino hacia la sangre, que es el transportador GLUT1. Es por esto que la QT inhibe el transporte de glucosa desde los alimentos.⁸

La QT es abundante en la cebolla, cilantro, kiwi, apio y en la moringa.⁹ Esta última, es una planta que contiene hasta 100 mg de QT por cada 100 g en sus hojas,^{10,6} y su consumo se ha incluido recientemente en la dieta de muchas poblaciones en todo el mundo, y ha mejorado la calidad de vida y el bienestar en pacientes adultos con diabetes, en forma complementaria a su tratamiento con medicamentos.^{6,11} La QT se ha clasificado recientemente como un “nutracéutico”, por sus propiedades nutricionales y farmacéuticas, que son principalmente antioxidantes y antiinflamatorias,¹² y sus efectos benéficos en condiciones neurológicas como el trastorno del espectro autista están comenzando a vislumbrarse en estudios preclínicos.¹³

Demostración de la actividad biológica de la QT

En este trabajo se determinó si la QT promueve el transporte de glucosa al interior de células

humanas no cancerosas en cultivo, para lo que se eligieron fibroblastos HA19, de rápida proliferación. Asimismo, se evaluó si la QT contribuye a inhibir el crecimiento y multiplicación de estas células a diferentes concentraciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo forma parte del protocolo 065/2019, aprobado por los comités de Bioseguridad e Investigación del INP y fue desarrollado con presupuesto federal 2021 y 2022.

Sistema biológico de experimentación

Para estimar el grado de citotoxicidad de la QT y su efecto sobre el transporte de glucosa, se emplearon células humanas no cancerosas en cultivo, que fueron fibroblastos sanos de la línea celular HA19. Estas células se pusieron a proliferar en botellas de cultivo de 75 cm² de superficie, con 15 mL de medio mínimo esencial modificado de Dulbecco (DMEM-F12, de Sigma-Aldrich) enriquecido con 10% de suero fetal bovino (SFB) y 1% de antibiótico y antimicótico que contiene todos los elementos nutritivos adecuados para el metabolismo de las células que están en proliferación. Las células se incubaron a 37°C con atmósfera de CO₂ al 5%, y se les cambió el medio cada 48 horas, hasta alcanzar una confluencia de 80 a 100%. Las células se cosecharon incubándolas con 3 mL de una solución de tripsina-EDTA a 37°C, por 3 minutos. Se les agregaron 7 mL de medio DMEM-F12 y se centrifugaron a 2500 rpm.

Citotoxicidad de la QT

Se determinó la concentración de QT que inhibió el crecimiento y reproducción de las células en cultivo. Después de cosechadas, las células HA19 se sembraron a razón de 5×10^5 células en placas de 6 pozos con 2 mL de medio de cultivo en cada pozo, y se incubaron con atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire, durante 24 horas. Se

les dio tratamiento con QT a diferentes concentraciones y se incubaron a 37°C por 24 horas. El control de células vivas, fueron células que no recibieron ningún tratamiento. El testigo de muerte celular (MC) consistió en células tratadas con ácido ascórbico 300 mM y sulfato de cobre 30 mM, y se incubaron durante 60 minutos para inducirles muerte por daño oxidativo. Concluida esta incubación, se retiró el medio, se les agregó medio nuevo y se incubaron 24 horas, esto con el fin de evaluar la capacidad proliferativa de las células después de estar expuestas a daño. Los tratamientos consistieron en QT como estándar puro (QTS), como suplemento alimenticio de marca comercial (QTC) y como extracto de moringa en solución acuosa (Mor), a diferentes concentraciones y se incubaron por 24 horas. Se les retiró el medio de cultivo para cuantificar la glucosa y se tomó 1 mL de medio y se le añadieron 100 µL de ácido ascórbico 10 mM, para estabilizar la QT y se almacenó a -80°C hasta su cuantificación. Posteriormente las células se lavaron tres veces con solución salina amortiguada de fosfatos (PBS, "phosphate-buffered saline") a 37°C, para retirar los restos de medio de cultivo y de QT. Posteriormente, a cada pozo se le agregó 1 mL de una solución de formaldehído 10% amortiguado con PBS pH=7.4, y se dejaron reposar 15 minutos a temperatura ambiente. Se enjuagaron tres veces con PBS. Las células se tiñeron con el colorante violeta de cristal. Se les añadieron 950 µL de PBS y 50 µL de violeta de cristal (0.4g/100 mL de metanol), se incubaron 30 minutos a temperatura ambiente. Se enjuagaron tres veces con PBS y se dejaron secar hasta el día siguiente. Se les añadió 1 mL de metanol, se incubaron 10 minutos; se les añadió 1 mL de etanol. Se incubaron 30 minutos. Se midió la absorbancia de los pozos a una longitud de onda de 590 nm en un lector de placas de ELISA (Epoch™, BioTek Instruments).

Los valores de absorbancia de las muestras se transformaron matemáticamente a porcentajes de proliferación, a partir de los testigos. Al

control de células sin tratamiento se le asignó el 100% de proliferación, y al testigo de células con daño inducido, se le asignó el 0%.

Transporte celular de glucosa por efecto de QT

Se determinó la concentración de glucosa en el medio de cultivo con el método de glucosa oxidasa, para estimar la cantidad de este monosacárido después de tratar las células con QT. Al control se le asignó un valor de glucosa extracelular de 1, es decir, el valor basal y, de ahí se calcularon los cambios de concentración de glucosa en cada tratamiento y se expresaron como incrementos o decrementos de glucosa extracelular. La técnica enzimática de glucosa oxidasa se validó comparándola con el procedimiento de determinación clínica de glucosa en suero, en el Laboratorio de Química Clínica de nuestra institución.

Presentaciones de QT evaluadas

Para determinar la citotoxicidad de la QT en fibroblastos HA19, y su efecto sobre la glucosa extracelular, así como para la validación del método analítico para cuantificar QT, se empleó el estándar puro de QT (QTS): grado reactivo, Sigma-Aldrich, Lote # SLCC971. Asimismo, se comparó el efecto citotóxico de QT en otras dos presentaciones: quercetina como suplemento alimenticio de marca comercial (QTC), y quercetina en extracto acuoso de moringa (Mor).

La razón por la que se comparó el estándar puro de QT, con las otras dos presentaciones, es debido a que la población suele consumir este flavonoide en vegetales y en suplementos alimenticios que se expenden en tiendas naturistas y en farmacias, por lo que fue necesario demostrar que la QTS, efectivamente, tuvo un efecto distinto que en las cápsulas o en los extractos.

Se pesaron 10 mg de QT estándar en una balanza analítica. Se disolvió en 1 mL de dimetilsulfóxido

(DMSO) y se añadieron 4 mL de metanol. Esta solución se diluyó para obtener las soluciones de trabajo, empleando etanol al 70%. En un lote de células aparte, se colocó un volumen con esta mezcla de disolventes, como testigo, para asegurarnos de que no tuvieran un efecto citotóxico adicional al de la QT. El contenido de las cápsulas comerciales de QT, marca aSquared Nutrition, se disolvió de la misma forma que la QT estándar.

Para la obtención del extracto acuoso de moringa, se pesaron 28 gramos de polvo de las cápsulas de moringa, marca VidaMorin®, se les añadieron 150 mL de agua bebibible. En condiciones asépticas, se dejó hervir por 10 minutos y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se centrifugó por 10 minutos, a 12,000 rpm, en un tubo de centrifuga tapado y sellado con Parafilm. Se filtró con membrana de 0.22 µm de tamaño de poro y se almacenó a -80°C, por un período no mayor a 14 días, que fue tiempo en el que la QT mostró ser estable.

Cuantificación de QT en el medio de cultivo

La concentración de QT en el medio de cultivo se determinó por cromatografía líquida de alto desempeño acoplada a detección por absorbancia de luz ultravioleta (HPLC-UV), mediante un método analítico implementado y validado en nuestro laboratorio, con estricto apego a la NOM-177-SSA1-2013¹⁴ y mediante técnicas de extracción y cuantificación ya reportadas.^{15,16}

RESULTADOS

Inhibición de la proliferación celular

Inhibición de la proliferación de HA19 por QTS

Se determinó la citotoxicidad de QT a diferentes concentraciones, mediante un ensayo de inhibición de la proliferación celular. Los resultados de cada una de las concentraciones evaluadas están

expresados como el promedio y la desviación estándar de cuatro réplicas por experimento, y de tres experimentos independientes, es decir, doce resultados por cada concentración de QT. En la Figura 1, Panel A, se muestran los porcentajes de proliferación celular originados por QTS en fibroblastos HA19. El crecimiento y multiplicación de estas células se inhibió en forma proporcional al aumento de concentración de QT. A la concentración de 8.39 $\mu\text{g/mL}$, se obtuvo una proliferación de sólo el 51.28% de la normal, es decir, comparada con el 100% de proliferación que se obtuvo con el testigo sin tratamiento; de modo que 8.39 $\mu\text{g/mL}$ fue la concentración inhibitoria 50 (IC_{50}). A la concentración de 33.56 $\mu\text{g/mL}$, la QTS originó que las células proliferaran sólo al 28.2% de lo normal. La proliferación de estos fibroblastos disminuyó a menos del 10% a las concentraciones más altas, ya que fue de sólo 8.4% a la concentración de 101.43 $\mu\text{g/mL}$ y de 6.9 % a la concentración de 167.8 $\mu\text{g/mL}$. A ninguna concentración de QT evaluada se observó que se promoviera la proliferación celular por encima del testigo sin daño.

Inhibición de la proliferación de HA19 por QTC

La citotoxicidad causada por QT en su presentación de suplemento alimenticio (QTC), se evaluó a concentraciones en un intervalo desde 0.075 hasta 30.23 mg/mL y no se observó que la proliferación celular disminuyera conforme al aumento de la concentración (datos no mostrados). Al contrario, a las concentraciones de 0.075, 0.15, 0.30 y 3.023 mg/mL, originó prácticamente el mismo porcentaje de citotoxicidad, que fue de 34.6, 37.9, 36.9 y 29.5%, es decir, prácticamente el mismo efecto a todas las concentraciones. Por otro lado, las células tratadas con QTC proliferaron a menos del 50%.

Inhibición de la proliferación HA19 por Mor

Con respecto a las células que se expusieron a Mor, a bajas concentraciones (0.56, 2.8 y 5.6

mg/mL) provocó una inhibición de la proliferación celular muy cercana al 50%, pero la proliferación aumentó cuando se evaluó a la concentración de 15 mg/mL, pues originó que las células proliferaran al 93.1%, casi igual que el control. Este comportamiento de las células tratadas con Mor parece indicar que, a bajas concentraciones origina citotoxicidad, pero al aumentar la concentración, podría ser protectora.

Como se ha descrito, la tendencia de la QT para inhibir la proliferación de los fibroblastos HA19, fue muy distinta cuando se administró en extracto acuoso (Mor). Este efecto era de esperarse, ya que los otros compuestos presentes en el extracto acuoso de moringa, podrían contribuir en su efecto protector. Por lo tanto, en estudios posteriores será necesario evaluar concentraciones mucho menores de QTC y de Mor, para lograr determinar la IC_{50} . Para fines del presente estudio, sólo se pudo determinar la concentración inhibitoria 50 de QTS en fibroblastos humanos en cultivo.

Inhibición de la proliferación por QT en sus tres presentaciones

Las células HA19 se expusieron a la misma concentración de QT, 8 $\mu\text{g/mL}$, por 24 horas. Lo diferente fue la presentación, a fin de evaluar en qué medida los componentes de QTC y Mor, interfieren en la citotoxicidad. La QT en estándar puro, originó 51.17% de proliferación; mientras que las células expuestas a Mor proliferaron 83.6%, es decir, en forma de extracto acuoso, la QT originó mucho menos citotoxicidad (**Figura 1, Panel A**). Las células se expusieron a QTC disuelta con dos procedimientos diferentes, ya que se observó un precipitado inusual cuando se disolvió siguiendo el protocolo recomendado y se decidió modificarlo para obtener una mejor disolución. De este modo, expusimos las células a QTC, disuelta parcialmente, y QTCp, disuelta y filtrada por procedimiento adicional.

QTC originó la muerte de casi todas las células, pues sólo proliferaron el 4.7% (Fig. 1, Panel A); mientras que QTCp indujo una proliferación del 62.77% (**Fig. 1, Panel A**), lo que sugiere que los componentes del precipitado en este suplemento alimenticio fueron los causantes de la citotoxicidad y no la quercetina.

Glucosa extracelular

Se determinó la concentración de glucosa extracelular, es decir, en el medio de cultivo, para estimar la glucosa que se introdujo a las células por acción de la QT. Este flavonoide originó disminuciones en la concentración extracelular de glucosa, con respecto del control, en todas las presentaciones a concentración de 8 µg/mL (**Fig. 1, Panel B**). La concentración de glucosa en el medio sin células (432 mg/dL) se consideró como el basal (100%). Los aumentos o disminuciones a este valor, por acción del metabolismo celular o los tratamientos, se expresaron como porcentajes respecto del basal. Los resultados se expresaron finalmente como incrementos o disminuciones en el porcentaje de glucosa basal. En la **figura**

1, Panel B se observa: QTS disminuyó 17.2% la glucosa extracelular; QTC la disminuyó 14% y QTCp 10.1%. Mor fue el tratamiento que más disminuyó la glucosa extracelular (20.7%). Estos hallazgos sugieren que la QT promovió el transporte de glucosa al interior de las células.

Validez del método analítico para cuantificar QT

El método analítico mostró ser lineal en el rango de concentración de 0.1 a 12 µg/mL con coeficientes de correlación $r = 0.9992$

La recuperación absoluta se determinó mediante el porcentaje de QT recuperada después del procedimiento de extracción, comparando la concentración de la QT extraído con las mismas concentraciones de QT en solución. La recuperación fue mayor del 96%, para las tres concentraciones problema. El límite de cuantificación para la quercetina fue de 0.04 µg/mL y el límite de detección fue de 0.01 µg/mL.

La quercetina en el medio de cultivo DMEM conteniendo 10mM de ácido ascórbico es estable

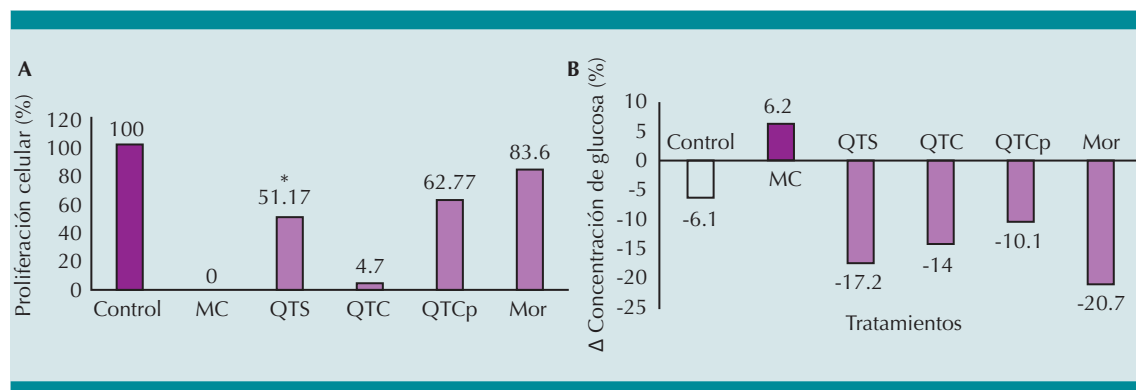


Figura 1. Porcentaje de proliferación (**Panel A**) y cambio en la concentración de glucosa extracelular (**Panel B**), de fibroblastos HA19 expuestos a 8 µg/mL de QT en sus tres presentaciones: estándar puro (QTS), suplemento alimenticio (QTC) y extracto de moringa (Mor). Tratamientos: Control, células sin tratamiento; MC, muerte celular por daño oxidativo; QTS, quercetina pura; QTC, quercetina en suplemento alimenticio; QTCp, quercetina en suplemento alimenticio procesada; Mor, quercetina en extracto de moringa. (*) Concentración inhibitoria 50 (IC50) de QTS: 8.39 µg/mL. La QT inhibió la multiplicación celular de forma proporcional al aumento de su concentración. Las diferencias de citotoxicidad y transporte de glucosa fueron más significativas con Mor que con QTS y QTC, mostrando valores de $p < 0.001$ y 0.003 , 0.005 y 0.006 , comparados con los controles.

en refrigeración (4°C) por 7 días, a -80°C hasta por 90 días y se pueden congelar y descongelar hasta seis veces

Cantidad real de quercetina en la presentación de suplemento naturista (QTC) y en extracto de moringa (Mor)

Se determinó la concentración de QT en la forma comercial y en el extracto herbal, mediante un método analítico por HPLC, implementado y validado en nuestro laboratorio **Cuadro 1**. Las concentraciones de QTC y Mor están en el orden de miligramos por mililitro y se muestran sus correspondientes concentraciones reales de QT en microgramos por mililitro.

Análisis estadístico

Se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía en el programa SPSS, y se compararon cada uno de los tratamientos con el control y con el testigo de células muertas, así como entre todos los tratamientos por separado. Se consideró como significativo un valor de $p < 0.05$. Las diferencias en citotoxicidad fueron todas significativas, así como las diferencias en concentración de glucosa extracelular; de modo que estos efectos se deben al tratamiento con quercetina y no al azar. Las diferencias de citotoxicidad y transporte de glucosa fueron

más significativas con Mor que con QTS y QTC, mostrando valores de $p < 0.001$ y 0.003 , 0.005 y 0.006 , comparados con los controles.

DISCUSIÓN

Los compuestos naturales de origen vegetal, se espera que sean benéficos para la salud tan solo por el hecho de ser naturales; sin embargo, como lo afirmó sabiamente el médico renacentista Paracelso: “toda sustancia es un veneno, la dosis puede hacer la diferencia.”¹⁷ Por lo tanto, es de gran importancia evaluar en qué medida los fitoquímicos, provenientes de frutas y verduras, pueden ser benéficos y qué tanto pueden ser tóxicos.

En las últimas décadas la suplementación alimenticia se ha convertido en una estrategia común para mejorar la salud a manera de prevención. Lo que ha incrementado el consumo de los suplementos alimenticios de origen vegetal en presentaciones como las plantas pulverizadas o las fitomoléculas de origen natural como la quercetina. La quercetina se ha utilizado como suplemento alimenticio para promover la salud, con un efecto antidiabético. Se ha reportado en modelos animales que la quercetina promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4, disminuye el efecto antioxidante promoviendo la protección y regeneración de los

Cuadro 1. Concentración real de QT en las cápsulas comerciales del suplemento alimenticio (QTC) y en el extracto de moringa (Mor)

[QTC] (mg/mL)	[QT real] (µg/mL)	[Mor] (mg/mL)	[QT real] (µg/mL)
0.005	0.07	0.56	0.3
0.01	0.06	2.6	1.9
0.05	0.1	5	3.4
0.075	0.4	5.6	2.9
0.15	0.9	8.8	6
0.3	2.4	10	5.5
0.81	6.4	15	8.8
3	25.2	30	14.4

islotes pancreáticos, inhibe la amilasa, disminuye la concentración de glucosa, colesterol y triglicéridos en roedores diabéticos, además la peroxidación de lípidos disminuye significativamente en ratas diabéticas. En ensayos clínicos se ha observado,^{18,19} que en pacientes con DM2 una dosis de (400 mg) de quercetina inhibió la actividad de la α -glucosidasa y disminuyó la hiperglucemia postprandial. Motivo por el cual, el objetivo del presente estudio fue determinar si la quercetina promueve el transporte de glucosa al interior de la célula, en fibroblastos sanos cultivados *in vitro*, así como la concentración inhibitoria 50; a fin de extrapolar las concentraciones de quercetina que serían efectivas en el control de la glucosa sin que originen citotoxicidad en el organismo.

Las formas generales de nutraceuticos consisten en productos que complementan la dieta y sustancias herbales en cualquier composición.^{20,21} El uso de nutraceuticos en el manejo del autismo puede crear un modelo integrador exitoso con el tratamiento actual para lograr los resultados deseados. (Defeat Autism Now (DAN) Project, 2002).

En el presente estudio, se determinó la concentración de QT con la que sobrevive la mitad de la población de células expuestas a este compuesto, es decir, se estableció la concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) de QTS, que fue de 8 µg/mL.

Se encontró variación estadísticamente significativa en la viabilidad y en la concentración de glucosa extracelular. En la gráfica (viabilidad de fibroblastos HA19). Las células tratadas con Mor sobrevivieron más y también transportaron más glucosa al interior de la célula comparado con la QTC, resultados que concuerdan con Balakrishnan BB, 2018, quien reporta el efecto antidiabético de la Moringa. Mor tiene una mezcla de gran cantidad de fitomoléculas que podrían estar interfiriendo con la QT para dar el efecto hipoglucemiante y citoprotector. Además, los azúcares unidos a la molécula de QT da ori-

gen a una alta concentración de glucósidos de quercetina, probablemente estos azúcares unidos a la molécula de QT, le confieren un mayor efecto protector, antioxidante y genoprotector, retrasando la citotoxicidad.^{22,24,25}

Aunque falta realizar más estudios, con estos primeros resultados se proporciona evidencia de que la QTS es más citotóxica a concentraciones altas, tal como lo reportan diversos autores.²²⁻²⁴ Sin embargo, en la presentación del extracto acuoso que contiene una alta concentración de glucósidos de quercetina, se observa un efecto citoprotector mucho mayor.

Este efecto citotóxico de la quercetina pura podría deberse a que se forman más especies reactivas ROS y aductos de sus metabolitos o-quinone/quinone a diferencia de Mor, que contiene una alta concentración de glucósidos de quercetina, probablemente los azúcares protegen a la QT del metabolismo celular prolongando el efecto antioxidante y genoprotector de la QT.^{22,24,25}

Es posible que Mor tiene un efecto paradójico, ya que a bajas concentraciones es tóxica y no promueve el transporte de glucosa al interior de las células, pues la glucosa del medio aumenta, casi a la misma magnitud que el testigo de muerte celular por daño oxidativo. Por lo que muy probablemente, promueva este mismo tipo de daño a esas concentraciones.

Parece ser que hay una concentración "ideal" de Mor, de 15 mg/mL (=8.8 µg/mL de QT) en la que se tiene muy baja citotoxicidad y un transporte importante de glucosa al interior de las células.

Las células se expusieron a QTC disuelta con dos procedimientos diferentes, ya que se observó un precipitado inusual cuando se disolvió siguiendo el protocolo recomendado y se decidió modificarlo para obtener una mejor disolución. Esta modificación en la disolución

del suplemento, disminuyó su citotoxicidad que, al parecer, se debió al excipiente de dicho suplemento y no a la quercetina. Lo que sugiere que puede ser más conveniente consumir la quercetina de alimentos de origen vegetal y no de suplementos.

En QTS y QTC, va disminuyendo la concentración de QT con respecto al tiempo y ya no se cuantifican a las 24 horas. Mor mantiene su concentración de QT conforme al tiempo, incluso a las 24 horas todavía está presente en el medio; probablemente por la unión a azúcares que la protegen de la degradación.

Desde las seis horas de incubación de QT en medio DMEM sin células, ya hay muy poca cantidad, muy probablemente porque se va descomponiendo. Al principio, pensábamos que era porque entraba a las células, pero esto quedó descartado al establecer la cinética de disminución de concentración de QT en medio libre de células.

Por lo tanto, es muy probable que el efecto observado de QT, tanto en viabilidad como en glucosa, se lleve a cabo desde las primeras 3 horas de incubación.

CONCLUSIONES

La QT es un compuesto de origen vegetal que es tóxico de manera proporcional a su concentración en células humanas normales en cultivo. Promueve el transporte de glucosa al interior de las células. La QTC es más citotóxica que la QTS. Mor originó una muerte celular más baja y mayor movilización de glucosa que QTS y QTC.

Este estudio es un primer acercamiento a determinar el efecto y la toxicidad de la quercetina en suplementos alimenticios, en un sistema de cultivo celular. Lo siguiente es determinar la uniformidad de contenido y la estabilidad a dis-

tintas condiciones de almacenamiento, así como evaluar su farmacocinética en voluntarios sanos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la valiosa colaboración de la QFB Christian Alemán López, quien determinó la concentración de glucosa en el medio de cultivo. Asimismo, al Dr. Higinio Arzate, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Odontología, UNAM, quien amablemente nos donó la línea celular HA19 de fibroblastos humanos.

REFERENCIAS

1. Vaidyanathan J, Choe S, Sahajwalla CG. Type 2 Diabetes in pediatrics and adults: thoughts from a clinical pharmacology perspective. *J Pharm Sci.* 2012. 101(5): 1659-1671.
2. Mehta V, Verma P, Sharma N, Sharma A, Thakur A, Malairaman U. Quercetin, ascorbic acid, caffeine and ellagic acid are more efficient than rosiglitazone, metformin and glimepiride in interfering with pathways leading to the development of neurological complications associated with diabetes: A comparative in-vitro study. *Bull Fac Pharm Cairo Univ.* 2017. 55(1): 115-121.
3. Rajesh UR, Dhanaraj S. A critical review on quercetin bioflavonoid and its derivatives: Scope, synthesis, and biological applications with future prospects. *Arab J Chem.* 2023. 16: 104881.
4. Hamilton KE, Rekman JF, Gunnink LK, Busscher BM, Scott JL, Tidball AM, Stehouwer NR, Johnnecheck GN, Looyenga BD, Louters LL. Quercetin inhibits glucose transport by binding to an exofacial site on GLUT1. *Biochim.* 2018. 151: 107-114.
5. Ebrahimpour S, Shahidi SB, Abbasi M, Tavakoli Z, Esmaeili A. Quercetin-conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticles (QCSPIONs) increase Nrf2 expression via miR-27a mediation to prevent memory dysfunction in diabetic rats. *Sci Rep.* 2020.18:15957.
6. Mbikay M. Therapeutic Potential of Moringa oleifera Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review. *Front Pharmacol.* 2012. 3 (24).
7. Wang H, Fowler MI, Messenger DJ, Terry LA, Gu X, Zhou L, Liu R, Su J, Shi S, Ordaz-Ortiz JJ, Lian G, Berry MJ, Wang S. Homoisoflavonoids are potent glucose transporter 2 (GLUT2) inhibitors – a potential mechanism for the glucose-lowering properties of Polygonatum odoratum. *J Agric Food Chem.* 2018. 66 (12): 3137-3145.
8. Gauer JS, Tumova S, Lippiat JD, Kerimi A, Williamson G. Differential patterns of inhibition of the sugar transporters GLUT2, GLUT5 and GLUT7 by flavonoids. *Biochem Pharmacol.* 2018. 152: 11-20.

9. Liu S, Loo YT, Li Z, Ng K. Alginate-inulin-chitosan based microspheres alter metabolic fate of encapsulated quercetin, promote short chain fatty acid production, and modulate pig gut microbiota. *Food Chem.* 2023;418:135802.
10. Lako J, Trenerry VC, Wahlqvist M, Wattanapenpaiboon N, Sotheeswaran S, Premier R. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chem.* 2007. 101 (4): 1727-1741.
11. Gupta S, Gupta R. Detection and quantification of quercetin in roots, leaves and flowers of *Clerodendrum infortunatum* L. *Asian Pac J Trop Dis.* 2012. 2 (2): S940-S943.
12. Qi W, Qi W, Xiong D, Long M. Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy. *Molecules.* 2022. 27 (19): 6545.
13. Saad, H. A., Magdy, R., & Metwally, F. M. (2020). Effects of quercetin on behavioral and biochemical parameters in a mouse model of autism. *BMC Complementary Medicine and Therapies.* 20(1), 152. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03057-0>
14. Biasutto L, Marotta E, Garbisa S, Zoratti M, Paradisi C. Determination of Quercetin and Resveratrol in Whole Blood—Implications for Bioavailability Studies. *Molecules.* 2010. 15(9): 6570–6579.
15. Zhang L, Angst E, Park JL, Moro A, Dawson DW, Reber HA, Eibl G, Hines OJ, Go VLW, Lu QY. Quercetin Aglycone Is Bioavailable in Murine Pancreas and Pancreatic Xenografts. *J Agric Food Chem.* 2010. 58 (12): 7252-7257.
16. Michaleas SN, Laios K, Tsoucalas G, Androutsos G. Theophrastus Bombastus Von Hohenheim (Paracelsus) (1493–1541): The eminent physician and pioneer of toxicology. *Toxicol Rep.* 2021. 8: 411-414.
17. Brower V. Nutraceuticals: Poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nat Biotechnol.* 1998. 16: 728-731.
18. Alissa EM, Ferns GA. Functional Foods and Nutraceuticals in the Primary Prevention of Cardiovascular Diseases. *J Nutr Metab.* 2012. 569486.
19. Kalra EK. Nutraceutical-Definition and Introduction. *J Am Assoc Sci.* 2003. 5: 27-28.
20. Pandey M, Verma RK, Saraf SA. Nutraceuticals: new era of medicine and health. *A J Pharm Clin Res.* 2010;3 (1):11-15.
21. Maiyo FC, Moodley R, Singh M. Cytotoxicity, Antioxidant and Apoptosis Studies of Quercetin-3-O Glucoside and 4-(β-D-Glucopyranosyl-1→4-α-L-Rhamnopyranosyloxy)-Benzyl Isothiocyanate from *Moringa oleifera*. *Anticancer Agents Med Chem.* 2016;16(5): 648-656.
22. Aliyu A, Shaari MR, Sayuti NSA, Reduan FH, Sithambaram S, Mustapha NM, Shaari K, Hamzah HB. *Moringa oleifera* hydorethanolic leaf extract induced acute and sub-acute hepato-nephrotoxicity in female ICR-mice. *Sci Progr.* 2021;104 (4): 368504211004272.
23. Sreelatha S, Jeyachitra A, Padma PR. Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells. *Food Chem Toxicol.* 2011;49 (6):1270-1275.
24. Awad HM, Boersma MG, Boeren S, van der Woude H, van Zanden J, van Bladeren PJ, Vervoort J, Rietjens IMCM. Identification of o-quinone/quinone methide metabolites of quercetin in a cellular in vitro system. *FEBS Lett.* 2002;520:30-34.