

## Witamina C jako modulator skuteczności terapii przeciwnowotworowej

### *Vitamin C as a modulator of the efficacy of anti-cancer therapy*

Aneta Mullak, Hanna Hołysz, Ewa Totoń, Błażej Rubiś

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Molekularnej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

#### Streszczenie

Obecnie można zaobserwować wzrost popularności stosowania witamin, co jest szczególnie istotne w definiowaniu diety pacjentów nowotworowych. Niektórym witaminom przypisuje się znaczenie terapeutyczne. Jednak, aby terapia skojarzona przyczyniła się do poprawy odpowiedzi pacjenta na leczenie musi być rzetelnie opracowana. Istnieją liczne pozytywne doniesienia dotyczące skuteczności np. działania witaminy C, zarówno w aspekcie komfortu życia pacjentów podczas leczenia chorób nowotworowych, jak i skuteczności zastosowanej terapii. Kombinacja ta może mieć zarówno pozytywne, jak i negatywne konsekwencje, które zostały przedstawione w niniejszej pracy. (*Farm Współ* 2018; 11: 245-253)

*Słowa kluczowe: witamina C, terapia przeciwnowotworowa*

#### Abstract

Nowadays, the popularity of vitamins can be observed, which is especially evident in cancer patients' cases. However, if a combined therapy is planned to improve patient's response, further thorough studies must be carried out. There are numerous reports on the positive influence of vitamin C, both in the context of patients' comfort life during the treatment and the effectiveness of cancer therapy. However, some adverse effects may also be observed. Both, positive as well as negative consequences of vitamin C application are discussed in this paper. (*Farm Współ* 2018; 11: 245-253)

*Keywords: vitamin C, anti-cancer therapy*

#### Wstęp

Jak wykazują liczne doniesienia naukowe, dieta opierająca się na spożywaniu dużej ilości owoców i warzyw jest powiązana ze zmniejszonym ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych, raka oraz udaru mózgu [1]. Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) schorzenia te stanowią główną przyczynę śmierci u osób dorosłych [2]. Wśród społeczeństwa krajów rozwiniętych zażywanie suplementów diety jest coraz bardziej popularne. Zjawisko to występuje częściej u kobiet, a także u osób starszych i w grupach o lepszym statusie społeczno-ekonomicznym, ale również u pacjentów z rozpoznaną ciężką chorobą zagrażającą życiu, taką jak nowotwór. Jest ono wynikiem obserwowanej w ciągu ostatniej dekady zwiększającej się świadomości pacjentów, ale również łatwiejszej dostępności do preparatów uzupełniają-

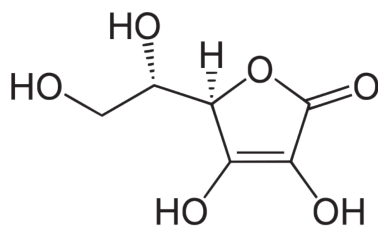
cych leczenia. Ostatnie badania dostarczyły dowodów wskazujących, że witaminy wpływają na lepszą reakcję pacjenta na leczenie, mniejszy odsetek działań niepożądanych, a także niższy wskaźnik zaprzestania stosowania terapii w przypadkach, gdy konkretne witaminy zostały odpowiednio dołączone do leczenia. W wielu przypadkach można zaobserwować poprawę odpowiedzi na leczenie raka u pacjentów, co z kolei wpłynęło na lepsze rokowanie, a także na polepszenie jakości życia pacjentów. Nie ulega wątpliwości jednak, że stosowane w onkologii witaminy muszą być właściwie dobrane co do dawki i czasu podania [3]. Aspekty te podlegają dalszym szczegółowym badaniom.

#### Witamina C

Kwas askorbinowy (witamina C) jest rozpuszczalnym w wodzie składnikiem odżywczym niezbędnym

nym do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Zwierzęta w większości posiadają zdolność syntezy kwasu askorbinowego z glukozy, a proces ten zachodzi w wątrobie. Jednak niektóre organizmy z powodu braku enzymu oksydazy L-gulonolaktonowej (GULO), który odgrywa kluczową rolę na szlaku jej biosyntezy, nie mogą same syntetyzować tej witaminy. Do takich należą m.in. człowiek i inne naczelnne. Dlatego też u ludzi kwas askorbinowy musi być dostarczany z pokarmem.

Cząsteczka kwasu askorbinowego ma dwa asymetryczne atomy węgla, z tego powodu posiada cztery stereoizomery: kwas L-askorbinowy, kwas D-askorbinowy, kwas D-izoaskorbinowy i kwas L-izoaskorbinowy. Spośród czterech wymienionych izomerów tylko kwas L-askorbinowy jest biologicznie aktywny, a pozostałe trzy formy są nieaktywne (rycyna 1.).



Rycina 1. Wzór strukturalny kwasu L-askorbinowego (witamina C)

Figure 1. Structure of L-ascorbic acid (Vitamin C)

### Występowanie witaminy C

Źródłem witaminy C są zarówno świeże owoce, jak i warzywa. Około 90% dziennego spożycia tej witaminy w populacji ogólnej pochodzi właśnie z tych źródeł. Produkty charakteryzujące się największym stężeniem witaminy C to owoce dzikiej róży, czarnej porzeczki, owoce cytrusowe, papryka i natka pietruszki.

### Zapotrzebowanie na witaminę C

Dzienne zapotrzebowanie na witaminę C jest największe spośród wszystkich witamin. Rekomendowana dzienna dawka witaminy C wynosi mniej niż 100 mg i jest wystarczająca dla większości ludzi. Dla dorosłego człowieka ważącego 70 kg stanowi to odpowiednik około 1 mg/kg/dzień.

### Znaczenie witaminy C dla organizmu

Biochemiczne funkcje witaminy C w dużej mierze przypisuje się właściwościom oksydoredukcyjnym kwasu L-askorbinowego, który jest kofaktorem hydroksylacji, a także aktywności monooksygenaz uczestniczących w syntezie kolagenu [5]. W biosyntezie kolagenu uczestniczy poprzez hydroksylację reszt proliny i lizyny odpowiednio do hydroksyproliny i hydroksylizyny. Jest donorem elektronów dla enzymów biorących udział w procesie hydroksylacji. Skutkiem tego jest przemiana prokolagenu w kolagen. Dodatkowo askorbinian przez indukcję transkrypcji kolagenu i stabilizowanie mRNA prokolagenu może w sposób bezpośredni pobudzać jego syntezę [4]. Regeneruje także glutation i witaminę E, czyli ważne przeciwutleniacze komórkowe i błonowe.

Dodatkowo witamina C pełni funkcje ochronne dla biomolekuł, chroniąc je przed uszkodzeniem wywołanym przez utleniacze powstałe podczas podstawowego metabolizmu komórki, ale również w wyniku ekspozycji na toksyny i zanieczyszczenia. W takich przypadkach ujawnia się jej działanie, jako wysoce skuteczny przeciwutleniacz mający zdolność do łatwego oddawania elektronów.

Witamina C odgrywa także istotną funkcję w układzie odpornościowym, odgrywa rolę w działaniu przeciwbakteryjnym, stymulując komórki NK (ang. *Natural Killer*) do proliferacji oraz różnicowania Th0 w Th1 (ang. *lymphocytes T helper*; pomocnicze limfocyty). Wzmacnia także chemotaksję i fagocytozę komórek żernych, i w ten sposób sprzyja usuwaniu drobnoustrojów z organizmu. Dodatkowo bierze udział w syntezie prozapalnych cytokin, a także uczestniczy w ekspresji cząsteczek adhezyjnych. Witamina C gromadzona w stężeniach milimolowych w neutrofilach, chroni komórki przed uszkodzeniem oksydacyjnym szczególnie po aktywacji w nich wybuchu tlenowego [5].

### Negatywne działania witaminy C

Askorbinian może również wywoływać efekty negatywne, ponieważ może zachowywać się, jako prooksydant w określonych stężeniach i/lub w obecności wolnych jonów metali aktywowanych redoks, takich jak miedź i żelazo. Jego zachowanie prooksydacyjne zostało uznane za niepożądane, ponieważ prowadzi do powstania ROS (ang. *reactive oxygen species*; reaktywne formy tlenu) lub białek glikozyłowanych. W obecności żelaza aktywowanego poprzez reakcję redoks może

przyczynić się do powstania rodnika hydroksylowego, który ostatecznie może prowadzić do utleniania lipidów, DNA lub białek [6].

Nadmiar askorbinianu, ze względu na dobrą rozpuszczalność w wodzie, jest wydalany wraz z moczem najczęściej w sposób bezpieczny dla organizmu. Jednakże wysokie stężenia askorbinianu mogą być szkodliwe z powodu tworzenia się szczawianu, dlatego też wysokich dawek witaminy C nie można stosować u osób chorujących na kamice szczawianową czy też hiperoksalurię. Z kolei w przypadku niewydolności nerek witamina C zostaje zatrzymywana i przekształcana również w szczawian, który jest nierozpuszczalny i może kumulować się w różnych narządach uszkadzając je. W związku z tym po transplantacji nerki zastosowanie witaminy C doprowadzić może do rozwoju niewydolności nerek z powodu osadzania się nierozpuszczalnych kryształów szczawianu wapnia. Dlatego też niewydolność nerek jest także przeciwwskazaniem do leczenia wysokimi dawkami witaminy C u pacjentów z uszkodzeniem nerek lub z ich niewydolnością oraz u pacjentów dializowanych [7] (tabela I).

## Znaczenie witaminy C w onkologii

### Korzystne działanie witaminy C

Stosowanie witaminy C może mieć korzystny wpływ na funkcjonowanie organizmu pacjentów z różnymi typami raka. Jest to m.in udział w produkcji kolagenu, a tym samym ochrona prawidłowej tkanki przed inwazyjnością i przerzutami nowotworowymi. Z uwagi na to, że pacjenci nowotworowi mają obniżony poziom kwasu askorbinowego, jego stosowanie powoduje uzupełnienie niedoborów tej witaminy. Dodatkowo ze względu na swoje szerokie właściwości wpływa także na poprawę funkcjonowania układu odpornościowego

oraz może przyczynić się do lepszego samopoczucia chorych onkologicznych. Chorzy leczeni za pomocą chemioterapii zwykle skarżą się na objawy zmęczenia, a większość pacjentów (75%) zgłasza uczucie wycieńczenia lub utraty energii. Zmęczenie podczas chemioterapii zwiększa się stopniowo wraz z kolejnymi cyklami leczenia i może utrzymywać się nawet przez wiele lat po zakończeniu terapii. Mimo, że ból związany z toczącym się procesem nowotworowym można opanować za pomocą silnych leków opioidowych, to do tej pory nie znaleziono skutecznej metody walki z objawami zmęczenia. Dlatego podejmuje się próby identyfikacji mechanizmu działania witaminy C w kontekście poprawy jakości życia pacjentów w trakcie i po chemioterapii. Przykładem tego jest przeprowadzone badanie u 60 pacjentów z zaawansowany rakiem (m.in. płuca, piersi, okrężnicy). Po zastosowaniu dożylniej terapii witaminą C, w dawce 0,8-3g/kg, 4 razy w tygodniu przez okres 1-4 tygodni, zaobserwowano poprawę jakości życia pacjentów – zmniejszenie zmęczenia i bezsenności, poprawę apetytu. Wystąpiło polepszenie ogólnego samopoczucia, funkcjonowania fizycznego oraz psychicznego chorych [8]. Doniesienia z kohortowego retrospektywnego badania epidemiologicznego, w którym Vollbracht i wsp. [9] ocenili dożylnie podawanie witaminy C w pierwszym roku po operacji kobiet z rakiem piersi wykazują, że witamina C powoduje znaczne zmniejszenie dolegliwości wywołanych chorobą, a także stosowanym leczeniem (chemio- lub radioterapią).

Suplementacja witaminą C u pacjentów z nowotworem korzystnie wpływa na poprawę komfortu życia, a dodatkowo Chen i wsp. [10] wykazali, że niektóre komórki nowotworowe charakteryzują się zwiększoną wrażliwością na cytotoksyczność indukowaną

Tabela I. Najważniejsze funkcje kwasu L-askorbinowego

Table I. The most important functions of L-ascorbic acid

Funkcje biologiczne witaminy C	
Pozytywne	Negatywne
<ul style="list-style-type: none"> <li>• synteza kolagenu, karnityny oraz neuroprzekaźników</li> <li>• zwiększenie poboru żelaza niehemowego</li> <li>• przemiana cholesterolu w kwasy żółciowe</li> <li>• regeneracja glutationu i witaminy E</li> <li>• utrzymanie bilansu redoks</li> <li>• zapobieganie utlenianiu frakcji LDL</li> <li>• hamowanie nadmiernej aktywacji układu odpornościowego</li> <li>• działanie przeciwbakteryjne</li> <li>• wzmacnianie chemotaksji i fagocytozy</li> <li>• synteza prozapalnych cytokin</li> <li>• udział w ekspresji cząsteczek adhezyjnych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• prooksydant (w określonych warunkach)</li> <li>• wpływa na powstanie ROS lub białek glikowanych</li> <li>• wpływa na powstanie rodnika hydroksylowego</li> <li>• wpływa na tworzenie się szczawianu</li> </ul>

askorbinianem w stosunku do komórek prawidłowych. Dowodem tego było także inne badanie, które wykazało, że komórki raka trzustki MIA PaCa-2 i AsPC-1 są bardziej wrażliwe na askorbinian w stężeniu 5 i 10 mM stosowany przez 1 godzinę, niż prawidłowe komórki trzustki [11]. Ta różnica we wrażliwości może wynikać z faktu, że komórki nowotworowe mają niski poziom enzymów antyoksydacyjnych i wysoki endogenny poziom ROS. Względnie niższa aktywność enzymów tj. katalazy w komórkach nowotworowych może potencjalnie przyczynić się do mniej skutecznego usuwania nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ) i w ten sposób zwiększyć wrażliwość na cytotoksyczność wywołaną askorbinianem. Obecność  $H_2O_2$  zmienia stosunek utlenionego glutationu do zredukowanego glutationu na stan bardziej utleniony, ponieważ następuje redukcja  $H_2O_2$  do wody przy udziale peroksydazy glutationowej [12].

Dane kliniczne pokazują, że doustne podawanie askorbinianu powoduje, że jego stężenie jest ściśle kontrolowane i osiąga  $< 100$  mM na czczo w osoczu. Jest to spowodowane tym, że gdy dawki doustne przekraczają 200 mg, zmniejsza się ich wchłanianie, a zwiększa wydalanie z moczem, tym samym obniżona jest biodostępność askorbinianu dla komórek organizmu. Wykazano natomiast, że doustny sposób podawania witaminy C może aż 70-krotnie zwiększać jego stężenie w osoczu w porównaniu ze stężeniem uzyskiwanym na drodze podania doustnego [13]. W takiej sytuacji możliwe jest osiągnięcie poziomu stężenia witaminy C w organizmie, które może wywoływać efekt terapeutyczny w kontekście eliminacji komórek nowotworowych. Z tego właśnie powodu podjęto próby leczenia stosując terapię witaminą C w postaci doustnej. Askorbinian w wysokich stężeniach wynoszących powyżej 100 mg/dl może przejawiać działanie hamujące angiogenezę nowotworu, co uważa się za przełomowe dla wzrostu guza i pojawiania się przerzutów nowotworowych [14]. Wysokie wewnątrzkomórkowe stężenia witaminy C hamują HIF-1 $\alpha$  (ang. *hypoxia-inducible factor 1*; czynnik indukowany hipoksją 1). Jest on degradowany dzięki hydroksylazom, które wymagają kwasu askorbinowego oraz żelaza, jako kofaktorów reakcji. W badaniach przeprowadzonych *in vitro* wykazano, że niedobór witaminy C przyczynił się do upośledzenia hydroksylacji HIF i podwyższenia poziomu HIF-1 $\alpha$ . Zwiększona ekspresja HIF-1 $\alpha$  promuje progresję nowotworu dzięki angiogenezie, dodatkowo powoduje wzrost oporności zarówno na

radioterapię, jak i chemioterapię oraz jest przyczyną złego rokowania dla pacjenta [15]. W swoim działaniu witamina C przyczynia się również do wyczerpania puli ATP (ang. *adenosine triphosphate*; adozynotrifosforan), z powodu zakłócania mechanizmów jego syntezy, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki nowotworowej [11], ponieważ komórki te charakteryzują się znacznym zapotrzebowaniem na energię z uwagi na ich liczne podziały. Niektóre badania opisują również inny przeciwnowotworowy mechanizm działania tej witaminy. Jest to wpływ na proliferację komórek NK nie powodując przy tym zmian w ich naturalnym funkcjonowaniu. Uważa się, że te komórki mają zdolność „zabijania” komórek nowotworowych bez potrzeby ich specjalnego ukierunkowania, a kwas askorbinowy ułatwia ich proliferację [16].

#### **Korzystne działanie witaminy C w modelu choroby nowotworowej *in vitro***

W badaniach na liniach komórkowych ludzkiego raka szyjki macicy – HeLa stwierdzono, że zastosowanie cisplatyny o stężeniu 2-10  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  przez 48 godzin w komórkach HeLa traktowanych witaminą C o stężeniu 1  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  przez 24 do 36 godzin spowodowało zwiększoną śmiertelność komórek tej linii. Podobny efekt osiągnięto przez zastosowanie 1  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  witaminy C przez 36 godzin, co spowodowało zwiększenie apoptozy w połączeniu z 0,1  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  adriamycyny oraz z 0,0004 U/ml bleomycyny [17]. W badaniach na 4 ludzkich liniach komórkowych szpiczaka mnogiego: 8226/S, U266, 8226/Dox40 oraz U266/Bcl-x<sub>L</sub> zaobserwowano, że witamina C powoduje wzrost cytotoksyczności spowodowanej przez trójtlenek arsenu ( $As_2O_3$ ). Eksperyment ten wykonano na komórkach traktowanych trójtlenkiem arsenu o stężeniu 2  $\mu\text{M}$  w obecności lub nieobecności kwasu askorbinowego o stężeniu 100  $\mu\text{M}$ . Linie komórkowe: 8226/S, U266 i 8226/Dox40 analizowano po przeprowadzeniu 48-godzinnej inkubacji, natomiast komórki U266/Bcl-x<sub>L</sub> badano po zastosowaniu 72-godzinnej inkubacji. Sam  $As_2O_3$  indukował apoptozę komórek na poziomie od 30% do 60% w każdej linii komórkowej. W tym przypadku znaczący wzrost apoptozy komórek spowodowało połączenie kwasu askorbinowego i trójtlenku arsenu w porównaniu z zastosowaniem jedynie  $As_2O_3$  [18]. W innym badaniu na liniach komórkowych raka sutka: MCF7 i MDA-MB-231 zastosowano witaminę C zarówno w stężeniu niecytotoksycznym – wynoszącym

1  $\mu\text{M}$ , jak i w wyższym, czyli umiarkowanie cytotoksycznym 100  $\mu\text{M}$ , co spowodowało znaczną poprawę działania doksorubicyny, cisplatyny i paklitakselu [19].

### **Korzystne działanie witaminy C w leczeniu onkologicznym *in vivo***

Badania kliniczne przeprowadzone u pacjentów z rakiem trzustki wykazały, że u 8 z 9 pacjentów stosujących połączenie witaminy C z gemcytabiną oraz erlotynibem spowodowało zmniejszenie wielkości guzów pierwotnych. Pacjenci otrzymywali 50 g, 75 g lub 100 g dożylnego askorbinianu podczas jednej infuzji. 8-tygodniowy cykl składał się z trzech wlewów tygodniowo, 100 g na infuzję stanowiło docelową dawkę, a jako wyjściową dawkę wybrano 50 g w oparciu o dostępne dane dotyczące bezpieczeństwa działania askorbinianu. Standardowy schemat dawkowania gemcytabiny był oparty na podawaniu jej dożylnie w dawce 1 g/m<sup>2</sup> przez 30 minut, raz na tydzień przez 7 tygodni, po tym następował 1 tydzień przerwy. Kolejne cykle składały się z zastrzyków wykonywanych raz w tygodniu przez 3 kolejne tygodnie i następował również jeden tydzień przerwy. Dawkowanie w zależności od konkretnego przypadku mogło zostać zmodyfikowane. Erlotynib podawany był doustnie w pojedynczej dawce 100 mg na dobę w pierwszym cyklu, a następnie dawka była modyfikowana przez lekarza onkologa [20]. Kolejnym przykładem pozytywnego działania askorbinianu jest kobieta z gruczolakorakiem brodawkowatym stopnia IIIC jajnika, która została poddana operacji, następnie otrzymała karboplatinę (AUC 6) i paklitaksel w dawce 175 mg/m<sup>2</sup>, łącznie sześć cykli chemioterapii. Dodatkowo podawano kobiecie paklitaksel. Po ukończeniu pierwszego cyklu chemioterapii, ale przed rozpoczęciem chemioterapii konsolidacyjnej rozpoczęto podawanie dożylnego kwasu askorbinowego. Początkowo wlewy askorbinianu wynosiły 15 g, następnie zwiększono je do 60 g w pojedynczej infuzji, którą wykonywano dwa razy w tygodniu. Dawka 60 g została dostosowana, aby utrzymać poziom askorbinianu w osoczu powyżej 200 mg/dl. Infuzje kwasu askorbinowego podawano dwa razy w tygodniu podczas sześciu cykli chemioterapii, a po tym czasie kontynuowano wlewy tej samej dawki raz w tygodniu. Przedstawiony schemat leczenia był stosowany przez rok, następnie częstotliwość została zmniejszona do wlewów co 10 do 14 dni. Po zastosowanym leczeniu wszystkie wyniki tomografii komputerowej oraz PET (pozytonowa tomografia emisyjna) były ujemne

dla wskaźników choroby, a wynik markera CA-125 (ang. *cancer antigen 125*; antygen nowotworowy 125) powrócił do prawidłowego poziomu [21]. Kolejnym przykładem jest pacjent z rakiem jelita grubego, który po operacji stosował cotygodniowo leczenie 5-fluorouracylem w dawce 1100 mg oraz leukoworyną w dawce 1300 mg. Pierwsza infuzja witaminy C wynosiła 15 g, następnie dawkę stopniowo zwiększano. Stężenie witaminy C w osoczu osiągnęło 355 mg/dl. Kolejnym krokiem było zwiększenie dawki witaminy C do 100 g, dwa razy w tygodniu. Poza wlewami witaminy C pacjent otrzymywał doustną suplementację witaminami, ze względu na ich niskie stężenie. Po około roku terapii rozpoczęto zmniejszanie dawki do 75 g tygodniowo przez 2 miesiące; po tym czasie 75 g jednorazowo co drugi tydzień przez 2 miesiące, później 75 g raz w miesiącu przez okres dwóch miesięcy i 50 g raz na miesiąc przez pół roku. W trakcie przeprowadzonej terapii CEA (ang. *carcino-embryonic antygen*; antygen rakowopłodowy) pozostawał na prawidłowym poziomie oraz leczenie spowodowało, że wyniki badań pacjenta nie wskazywały na obecność choroby przerzutowej [22].

Kolejne badania świadczą także o tym, że limfocyty T potrzebują witaminy C do rozwoju, proliferacji i prawidłowej funkcji wskazując jej istotną rolę w procesie leczenia lekami immunotoksycznymi [23]. Działanie samej witaminy C jako środka przeciwnowotworowego (ograniczenie progresji) zostało wykazane w przypadku raka trzustki a efekt terapeutyczny był znacznie bardziej skuteczny w połączeniu z chemioterapeutykami (gemcytabina oraz erlotynib). W tym przypadku wykazano skuteczność dawki w zakresie 75 do 125 g w układzie 2-3 krotnych iniekcji w tygodniu [24].

Co bardzo ciekawe, witamina C, poprzez zapewnienie dostępności zredukowanego żelaza, jest kluczowym czynnikiem indukującym demetylację DNA i histonów (efekt wpływu jonów żelaza na aktywność demetylaz) [25], co jest wskazywane jako główna przyczyna uwrażliwiania komórek nowotworowych na leki z grupy inhibitorów bromodomen [26].

Należy również podkreślić skuteczność witaminy C w połączeniu z lekami przeciwnowotworowymi (atowakwon, irynotekan, sorafenib, niclozamid, chlorochina oraz styrypentol) w eliminacji macierzystych komórek nowotworowych. Badania prowadzone na modelu mysim pokazały, że pochodna askorbinianu (palmitynian askorbylu) skutecznie



zwiększa efektywność paklitakselu na drodze wzmożonej apoptozy i indukcji ROS w modelu mysim [27]. Ten sam związek wykazał synergistyczne działanie w skojarzeniu z docetakselem w układzie *in vitro* [28] oraz z doksorubicyną w modelu mysim [29]. Z kolei u pacjentów poddanych leczeniu metylenodifosfonianem ( $^{99m}\text{Tc}$  MDP) uwidocznił się ochronny efekt doustnie podanej witaminy C na poziom uszkodzeń DNA jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej [30].

### Niekorzystne działanie witaminy C w modelu choroby nowotworowej *in vitro*

Mimo szerokiego, korzystnego znaczenia dla organizmu oraz wpływu na efektywność terapii przeciwnowotworowej, obserwuje się także niekorzystne efekty przyjmowania tej witaminy. Przykładem tego jest lek tamoksyfen (TAM), który stosuje się powszechnie u pacjentek z estrogenozależnym rakiem piersi. Badanie przeprowadzono na linii komórkowej MCF7 ludzkich komórek raka sutka. Komórki tej linii pobierały witaminę C przez 10 minut, a dawki wynosiły 50  $\mu\text{M}$  i 500  $\mu\text{M}$  kwasu dehydroaskorbinowego (DHA). Wewnątrzkomórkowe stężenia witaminy C były zależne od ilości pozakomórkowego DHA, który został dodany do pożywki hodowlanej i szybko osiągnęły poziom stabilizacji. Następnie dodano TAM i inkubowano przez 24 godziny. W badaniu zaobserwowano, że witamina C chroni komórki przed cytotoksycznym działaniem TAM [31].

### Niekorzystne działanie witaminy C w leczeniu onkologicznym *in vivo*

Inne badanie przeprowadzone *in vivo* wykazały, że stosowanie witaminy C w wysokich dawkach w połączeniu z trójtlenkiem arsenu podczas leczenia ostrej białaczki szpikowej, przerzutowym czerniaku oraz opornym na leczenie przerzutowym raku okrężnicy prowadzi do powstania poważnych skutków ubocznych, a nawet może doprowadzić do progresji choroby. W przypadku ostrej białaczki szpikowej oraz zespołu mielodysplastycznego pacjenci otrzymywali stałe dawki decytabiny wynoszące 20  $\text{mg}/\text{m}^2/\text{dzień}$ , które podawano dożylnie przez 5 dni co 28 dni oraz otrzymywali kwas askorbinowy, po zastosowaniu trójtlenku arsenu, w dawce wynoszącej 1000 mg. Trójtlenek arsenu był stosowany w trzech dawkach. Dawki wynosiły odpowiednio: 0,1  $\text{mg}/\text{kg}/\text{dzień}$  przez 5 dni, następnie 0,1  $\text{mg}/\text{kg}$  raz w tygodniu;

0,2  $\text{mg}/\text{kg}/\text{dzień}$  przez 5 dni, następnie 0,2  $\text{mg}/\text{kg}$  raz na tydzień; 0,3  $\text{mg}/\text{kg}/\text{dzień}$  przez 5 dni, a następnie 0,3  $\text{mg}/\text{kg}$  raz w tygodniu [32]. Pacjentom chorym na przerzutowego czerniaka podawano także trójtlenek arsenu wraz z zastosowaniem dożylnych wlewów witaminy C. Jako początkową dawkę stosowano trójtlenek arsenu w postaci 0,25  $\text{mg}/\text{kg}/\text{dzień}$  przez 5 dni podczas tygodnia zerowego, a następnie podawano dwa razy w tygodniu 0,35  $\text{mg}/\text{kg}$  przez okres trwania cyklu terapii, czyli przez 8 tygodni. Po każdej infuzji dokonywano wlewu 1000 mg kwasu askorbinowego. Dodatkowo podawano temozolomid w dawce 200  $\text{mg}/\text{ml}$  przez 5 dni, w 1 i 5 tygodniu każdego cyklu. Po zastosowaniu terapii nie zaobserwowano poprawy stanu zdrowia pacjentów, natomiast wystąpiły działania niepożądane [33]. Kolejnym przykładem niekorzystnego działania witaminy C jest 54 letni mężczyzna z przerzutowym rakiem okrężnicy. Po resekcji zmiany pierwotnej był poddany chemioterapii adjuwantowej, a następnie leczony za pomocą kilku różnych schematów chemioterapii, w tym irynotekaniem. U pacjenta nie zaobserwowano progresji nowotworu. Następnie zastosowano askorbinian w postaci dożylnej oraz irynotekan, 5-fluorouracyl, kwas folinowy i bewacyzumab w odstępach 2-tygodniowych. Dawka witaminy C była dobierana w zależności od masy ciała pacjenta i wynosiła 1,5  $\text{g}/\text{kg}$ , gdy wskaźnik masy ciała wynosił 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  lub mniej. Niestety po 6 tygodniach stosowania przedstawionej terapii wynik badań tomografii komputerowej wskazywał na progresję choroby.

Z kolei najczęściej występujące działania niepożądane wynikające ze zwiększonego stężenia witaminy C to objawy ze strony układu pokarmowego: biegunki i rozdęcie jelit. Dodatkowo przy stosowaniu tak wysokich dawek dochodzi do zwiększonego wydalania wapnia i manganu z moczem [34]. Podczas terapii zwiększa się wchłanianie żelaza, dlatego też nie zaleca się stosowania witaminy C u pacjentów cierpiących na hemochromatozę z uwagi na wzrost biodostępności żelaza. W dużych dawkach poprzez hamownie aktywności ceruloplazminy dochodzi do zmniejszenia wchłaniania miedzi. Dodatkowo zakwaszanie moczu może przyczynić się do powstawania kamieni nerkowych: moczanowych, cytrynianowych oraz wcześniej wspomnianych szczawianowych. Witamina C znosi także działanie dysmutazy ponadtlenkowej. W wyniku jej stosowania może dochodzić również do zmiany wielu parametrów laboratoryjnych np. poziomu witaminy B12 we krwi pacjenta, aminotransferaz,

bilirubiny, glukozy oraz wyników badań na krew utajoną w kale. U pacjentów z zaawansowanym rakiem odnotowano również rzadkie przypadki masywnego krwotoku z guza po podaniu dużej dawki askorbinianu w formie dożylniej [35]. Zauważyć należy również, że zaobserwowano przypadki ostrej hemolizy, w tym co najmniej jeden śmiertelny, u pacjentów z niedoborem glukozy-6-fosforanu w przypadku leczenia dużą dawką witaminy C. Z tego powodu przed rozpoczęciem terapii witaminą C wszyscy potencjalni pacjenci powinni być poddani badaniu przesiewowemu wykrywającemu niedobór glukozy-6-fosforanu [36] (tabela II).

Kolejnym dowodem występowania niepożądanego działania witaminy C są wyniki badań przeprowadzonych u 24 pacjentów z różnymi typami raka opornego na leczenie. Chorzy zostali wcześniej poddani badaniom przesiewowym w kierunku niewydolności nerek, obecności niedoboru dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej oraz możliwości tworzenia klinicznie cichych kamieni nerkowych. Zastosowane dawki witaminy C mieściły się w przedziale od 0,4 g/kg do 1,5 g/kg. Zastosowanie dawki 1,5 g/kg spowodowało wzrost stężenia askorbinianu w osoczu do poziomu powyżej 10 mM, które utrzymywało się przez 4 godziny od podania. Przez kolejne 4 godziny stężenie utrzymywało się na poziomie powyżej 5 mM. Większość odnotowywanych działań niepożądanych należała do łagodnych. Dodatkowo wyniki badań laboratoryjnych pacjentów nie uległy zmianie pod wpływem

zastosowanego leczenia. Wystąpił jedynie stosunkowo nieznaczny wzrost wydalania z moczem kwasu szczawowego (powyżej wartości referencyjnej) w grupie pacjentów, która otrzymywała askorbinian w dawce wynoszącej 1,5 g/kg [37]. W innym badaniu dziewięciu pacjentów z gruczolakorakiem przewodowym trzustki otrzymywało witaminę C wraz z chemioterapeutykami: gemcytabiną i erlotynibem (szczegółowy opis dawkowania powyżej). Podczas tego badania łącznie odnotowano 24 zdarzenia niepożądane, z których osiem było poważnych, jednak najprawdopodobniej wszystkie wynikały z działania chemioterapii lub z postępu choroby nowotworowej, a nie z działania samego askorbinianu [20]. Kolejne badanie potwierdzające występowanie skutków ubocznych podczas dożylnego stosowania askorbinianu zostało przeprowadzone u pacjentów z gruczolakorakiem trzustki stopnia IV, które miało na celu zbadanie toksyczności podawania witaminy C oraz zbadania jej wpływu na terapię w połączeniu z gemcytabiną. W tym eksperymencie można było ocenić wyniki uzyskane od dziewięciu pacjentów, ponieważ ukończyli oni co najmniej jeden 4-tygodniowy cykl leczenia. Podczas każdego cyklu pacjenci otrzymywali tygodniowo, dożylnie gemcytabinę w dawce 1000 mg/m<sup>2</sup> przez trzy tygodnie, a po tym następował jeden tydzień przerwy. Askorbinian podawano dwa razy w tygodniu przez cztery tygodnie. Natomiast jego dawkę dostosowywano do tego, aby uzyskać w osoczu pacjenta stężenie powyżej 20 mM. Leczenie askorbinianem kontynuowano

Tabela II. Rola witaminy C w chorobie nowotworowej

Table II. The role of vitamin C in cancer

Rola witaminy C w chorobie nowotworowej	
Pozytywna	Negatywna
<ul style="list-style-type: none"> <li>ochrona prawidłowej tkanki przed inwazyjnością i przerzutami nowotworowymi</li> <li>poprawa funkcjonowania układu odpornościowego</li> <li>zwiększona wrażliwość na cytotoksyczność indukowaną askorbinianem w stosunku do komórek prawidłowych</li> <li>blokowanie fosfodiesterazy</li> <li>zapobieganie powstawaniu toksycznych neuroprzekazników</li> <li>hamowanie HIF-1<math>\alpha</math></li> <li>zwiększona cytotoksyczność poprzez zmniejszenie puli ATP</li> <li>wpływ na proliferację NK, które usuwają komórki nowotworowe</li> <li>synergistyczne działanie witaminy C i konkretnych chemioterapeutyków w leczeniu chorób nowotworowych (rak trzustki, rak jajnika, rak płuca)</li> <li>poprawa jakości życia pacjentów</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>pojawienie się objawów ze strony układu pokarmowego</li> <li>zwiększenie wydalania wapnia i manganu z moczem</li> <li>zmniejszenie wchłaniania miedzi</li> <li>powstawanie kamieni nerkowych</li> <li>znoszenie działania dysmutazy ponadtlenkowej</li> <li>zmiana wyników podstawowych parametrów laboratoryjnych np. poziomu glukozy</li> <li>wystąpienie ostrej hemolizy i masywnego krwotoku z guza</li> <li>brak skuteczności w połączeniu z chemioterapią (rak okrężnicy, rak odbytnicy, rak piersi)</li> </ul>

aż do momentu pojawienia się u pacjenta progresji choroby. Podczas przeprowadzania badania nie zanotowano ciężkich działań niepożądanych, a te, które były przypisywane działaniu askorbinianu należały do łagodnych i obejmowały suchość w jamie ustnej, nudności oraz biegunkę [38]. Należy jednak zaznaczyć, że pacjenci stosujący askorbinian dożylnie rzadko zgłaszają skutki uboczne.

## Podsumowanie

Aktywności metabolicznej witaminy C w warunkach *in vivo* upatruje się głównie w jej zdolności do regulacji układu redox i uwrażliwiania komórek nowotworowych na leki. Istnieje też wiele dowodów na korzystne działanie witaminy C w przebiegu terapii przeciwnowotworowej – wiadomo m.in., że askorbinian wpływa na rozwój i funkcję limfocytów. Ma to ogromne znaczenie w kontekście walki z nowotworami biorąc pod uwagę fakt, że układ odpornościowy musi ulec regeneracji np. po chemioterapii lub transplantacji. Jak się okazuje, askorbinian wykazuje jednak bardzo szerokie działanie, choć jego mechanizm pozostaje nie do końca poznany.

Z powyższego opracowania wynika, że witamina C dzięki swojemu wielokierunkowemu działaniu może

wpłynąć na efektywność leczenia i lepsze samopoczucie pacjentów podczas stosowania chemioterapii w niektórych chorobach nowotworowych. Biorąc jednak pod uwagę fakt, że mechanizm działania askorbinianu jest wielokierunkowy i nie do końca poznany bez wskazania konkretnych celów molekularnych jeszcze przez pewien czas trudno będzie włączyć go do schematu standardowego leczenia.

Źródło finansowania / Source of funding

Prezentowana praca została sfinansowana w ramach badań statutowych UMP nr 502-01-03318432-08035.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji:

✉ Błażej Rubiś

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej

i Diagnostyki Molekularnej

UM im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Przybyszewskiego 49; 60-355 Poznań,

☎ (+48 61) 869 14 27

✉ blazejr@ump.edu.pl

## Piśmiennictwo/References

1. Boffetta P, Couto E. Fruit and vegetable intake and overall cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst.* 2010;102:529-37.
2. World Health Organization, <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>, data wejścia: 15.05.2018.
3. Block KI, Koch AC, Mead MN, et al. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic toxicity: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int J Cancer.* 2008;123:1227-39.
4. Libby P, Aikawa M. Vitamin C, collagen, and cracks in the plaque. *Circulation.* 2002; 105:1396-8.
5. Carr AC, Maggini S. Vitamin C and immune function. *Nutrients.* 2017;9:1211.
6. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, et al. Wybrane zagadnienia, *Biochemia Harpera Ilustrowana*, Smoleński RT. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2018. ss. 720.
7. McAllister CJ, Scowden EB, Dewberry FL, et al. Renal failure secondary to massive infusion of vitamin C. *JAMA.* 1984;252:1684.
8. Stephenson CM, Levin RD, Spector T, et al. Phase I clinical trial to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of high-dose intravenous ascorbic acid in patients with advanced cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013;72(1):139-46.
9. Vollbracht C, Schneider B, Leendert V, et al. Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemo-/radiotherapy and aftercare: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany. *In Vivo.* 2011;25(6):983-99.
10. Chen Q, Espey MG, Sun AY, et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105:11105-9.
11. Du J, Martin SM, Levine M, et al. Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16:509-20.
12. Buettner GR. Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011;11:341-6.
13. Chen, Q, Espey, MG, Cherukuri, MK, et al. Ascorbic acid at Pharmacologic concentrations selectively kill cancer cells: Ascorbic acid as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:13604-9.



14. Mikirova N, Ichim T, Riordan N. Anti-angiogenic effect of high doses of ascorbic acid. *J Transl Med.* 2008;6:50.
15. Sullivan R, Pare GC, Frederiksen LJ, et al. Hypoxia-induced resistance to anticancer drugs is associated with decreased senescence and requires hypoxia-inducible factor-1 activity. *Mol Cancer Ther.* 2008;7(7):1961-73.
16. Huijskens MJAJ, Walczak M, Sarkar S, et al. Ascorbic acid promotes proliferation of natural killer cell populations in culture systems applicable for natural killer cell therapy. *Cytotherapy.* 2015;17(5):613-20.
17. Reddy VG, Khanna N, Singh N. Vitamin C augments chemotherapeutic response of cervical carcinoma HeLa cells by stabilizing P53. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;282(2):409-15.
18. Grad JM, Bahlis NJ, Reis I, et al. Ascorbic acid enhances arsenic trioxide-induced cytotoxicity in multiple myeloma cells. *Blood.* 2001;98(3):805-13.
19. Kurbacher CM, Wagner U, Kolster B, et al. Ascorbic acid (vitamin C) improves the antineoplastic activity of doxorubicin, cisplatin, and paclitaxel in human breast carcinoma cells in vitro. *Cancer Lett.* 1996;103(2):183-9.
20. Monti DA, Mitchell E, Bazzan AJ, et al. Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *PLoS One.* 2012;7(1):e29794.
21. Drisko J, Chapman J, Hunter V. The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer. *Am J Coll Nutr.* 2003;22(2):118.
22. Riordan HD, Riordan NH. Intravenous vitamin C as a chemotherapy agent: a report on clinical cases. *P R Health Sci J.* 2004;23(2):115-8.
23. van Gorkom GNY, Klein Wolterink RGJ, Van Elssen CHMJ, et al. Influence of Vitamin C on Lymphocytes: An Overview. *Antioxidants (Basel).* 2018;7(3):41.
24. Drisko JA, Serrano OK, Spruce LR, et al. Treatment of pancreatic cancer with intravenous vitamin C: a case report. *Anticancer Drugs.* 2018;29(4):373-9.
25. Gillberg L, Ørskov AD, Liu M, et al. Vitamin C - A new player in regulation of the cancer epigenome. *Semin Cancer Biol.* 2017;S1044-579X(17)30189-X.
26. Mustafi S, Camarena V, Volmar, et al. Vitamin C Sensitizes Melanoma to BET Inhibitors. *Cancer Res.* 2018;78(2):572-83.
27. Shi S, Yang L, Yao Q, et al. Ascorbic Palmitate as a Bifunctional Drug and Nanocarrier of Paclitaxel for Synergistic Anti-Tumor Therapy. *J Biomed Nanotechnol.* 2018;14(9):1601-12.
28. Li J, Guo C, Feng F, et al. Co-delivery of docetaxel and palmitoyl ascorbate by liposome for enhanced synergistic antitumor efficacy. *Sci Rep.* 2016;6:38787.
29. Yang Y, Lu X, Liu Q, et al. Palmitoyl ascorbate and doxorubicin co-encapsulated liposome for synergistic anticancer therapy. *Eur J Pharm Sci.* 2017;105:219-29.
30. Velauthapillai N, Barfett J, Jaffer H, et al. Antioxidants Taken Orally prior to Diagnostic Radiation Exposure Can Prevent DNA Injury. *J Vasc Interv Radiol.* 2017;28(3):406-11.
31. Subramani T, Yeap SK, Ho WY, et al. Vitamin C suppresses cell death in MCF-7 human breast cancer cells induced by tamoxifen. *J Cell Mol Med.* 2014;18(2):305-13.
32. Welch JS, Klco JM, Gao F, et al. Combination decitabine, arsenic trioxide, and ascorbic acid for the treatment of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia: a phase I study. *Am J Hematol.* 2011;86(9):796-800.
33. Bael TE, Peterson BL, Gollob JA. Phase II trial of arsenic trioxide and ascorbic acid with temozolomide in patients with metastatic melanoma with or without central nervous system metastases. *Melanoma Res.* 2008;18(2):147-51.
34. Ohno S, Ohno Y, Suzuki N, et al. High-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy in the treatment of patients with advanced cancer. *Anticancer Res.* 2009;29(3):812.
35. Campbell A, Jack T. Acute reactions to mega ascorbic acid therapy in malignant disease. *Scott Med J.* 1979;24:151-3.
36. Campbell GD, Jr, Steinberg MH, Bower JD. Letter: ascorbic acid-induced hemolysis in G-6-PD deficiency. *Ann Intern Med.* 1975;82(6):810.
37. Hoffer LJ, Levine M, Assouline S, et al. Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy. *Ann Oncol.* 2008;19(11):1969-74.
38. Welsh JL, Wagner BA, Van't Erve TJ, et al. Pharmacological ascorbate with gemcitabine for the control of metastatic and node-positive pancreatic cancer (PACMAN): results from a phase I clinical trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2013;71(3):765-75.