

Vitamin C i maligne bolesti

Rajić, Zrinka; Perković, Ivana; Batinić-Haberle, Ines

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2011, 67, 303 - 310**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:408734>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Vitamin C i maligne bolesti

ZRINKA RAJIĆ¹, IVANA PERKOVIĆ¹, INES BATINIĆ-HABERLE²

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska

²Duke University Medical Center, Durham, SAD

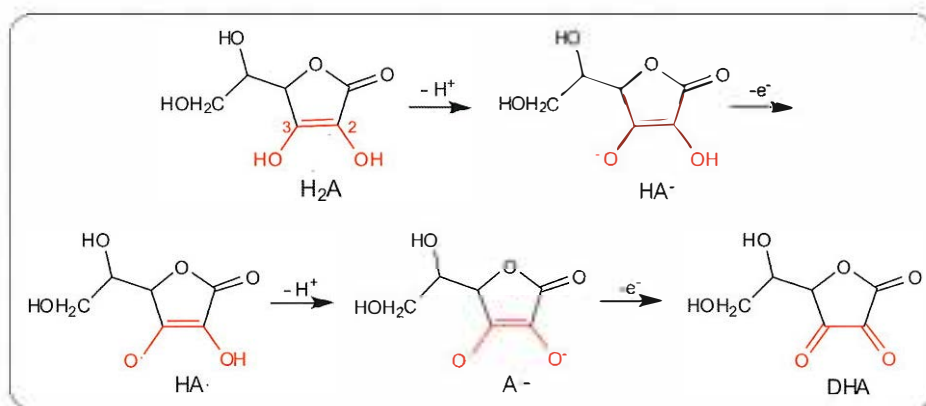
UVOD

Vitamin C ili L-askorbinska kiselina (H_2A), kemijskog imena lakton L-3-keto-treo-heksuronske kiseline, vitamin je topljiv u vodi. Ljudi, kao i ostali primati, zamorci i šišmiši ne mogu ga sintetizirati, jer su tijekom evolucije izgubili enzim koji je nužan za posljednji biosintetski korak, L-gulonolakton oksidazu (1, 2). Izvor vitamina C brojni su i lako dostupni: jetra, svježe voće (citrusi, jagode) i povrće (zeleni papar, špinat, lisnato povrće, paprika, peršin, kelj) (3). Nedovoljan unos vitamina C može dovesti do hipovitaminoze i skorbuta (3, 4).

Struktura vitamina C – razlog njegovog biološkog djelovanja

U strukturi L-askorbinske kiseline prisutna je endiolna skupina, koja joj omogućava snažno antioksidativno djelovanje. Pri tome se L-askorbinska kiselina oksidira te preko askorbil radikala (A^\cdot) prelazi u dehidroaskorbinsku kiselinu (DHA, slika 1.) (5).

Disocijacija L-askorbinske kiseline ovisi o pH mediju i zbiva se u dva koraka: (1) deprotonacija hidroksilne skupine u položaju 3, $pK_{a1} = 4,17$ i (2) deprotonacija hidroksilne skupine u položaju 2, $pK_{a2} = 11,5$ (6, 7). Pri pH stanica ($\sim 7,0$), odnosno tjelesnih tekućina



Slika 1. L-askorbinska kiselina (H_2A) i njezina oksidacija preko askorbil radikala (A^\cdot) u dehidroaskorbinsku kiselinu (DHA).

(~7,4), L-askorbinska kiselina uglavnom je prisutna kao monovalentni anion, askorbat (HA^-). Unutar stanica askorbat je prisutan u milimolarnim, a u plazmi i ekstracelularnoj tekućini u mikromolarnim koncentracijama (5, 8, 9). Najviše su razine vitamina C u mozgu, nadbubrežnoj žlijezdi, leukocitima i skeletnim mišićima (5).

Fiziološke su uloge L-askorbinske kiseline brojne; djeluje kao kofaktor enzima u reakcijama hidrosiliranja i amidiranja, što je osobito važno u biosintezi kolagena (pretvorba lizina i prolina u hidrosilizin i hidrosiprolin), karnitina, kateholamina, pretvorbi folne kiseline u folinsku. Vitamin C također sudjeluje u metaboličkim reakcijama nekih lijekova te pospješuje apsorpciju željeza iz gastrointestinalnog trakta (1–3).

Vitamin C u stanicama

Unutarstanična koncentracija vitamina C je milimolarna, što upućuje na djelotvorne mehanizme koji osiguravaju ulaz negativno nabijenog askorbata u stanice. Postoje dvije mogućnosti: (1) pasivni transport, u obliku dehidroaskorbinske kiseline, te (2) aktivni transport, u obliku askorbata.

Dehidroaskorbinska kiselina ulazi u stanice olakšanom difuzijom pomoću transportera za glukozu (GLUT1, GLUT3 i GLUT4). Unutar stanice reducira se u askorbat, koji je kao nabijena čestica «zatočen» u stanici (2, 5). No, glavni put ulaska vitamina C u stanice ipak je aktivni transport askorbata pomoću dva Na^+ -ovisna transportera, SVCT1 i SVCT2. SVCT1 je odgovoran za intestinalnu apsorpciju i tubularnu reapsorpciju, a SVCT2 za ulazak askorbata u stanice većine ostalih tkiva u organizmu. Osobito je važan za transport vitamina C u mozak (2, 5, 10).

Nađeno je da stanice mogu mijenjati ekspresiju oba SVCT transportera pod utjecajem citokina, steroida i posttranslacijskih modifikacija proteina. Sama askorbinska kiselina može utjecati na ekspresiju SVCT transportera. Kao primjer možemo navesti promjenu ekspresije SVCT2 u trombocitima i SVCT1 u renalnim epitelnim stanicama zbog povišenja ili sniženja koncentracije vitamina C. To sugerira postojanje mehanizma povratne sprege koji regulira količinu transportera na površini stanica, što za posljedicu ima utjecaj na apsorpciju iz GIT-a, reapsorpciju u bubrezima i ulaz u sve stanice organizma (2, 11).

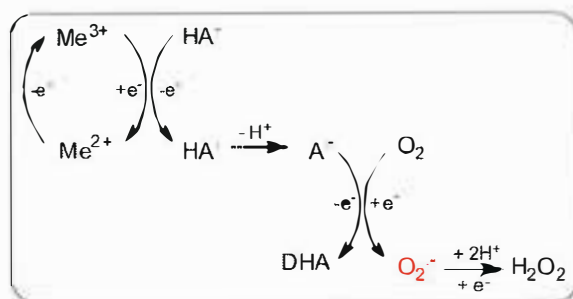
Bioraspoloživost vitamina C: oralna i intravenska primjena

Krajem dvadesetoga stoljeća skupina znanstvenika u SAD-u proučavala je farmakokinetiku vitamina C radi potrebe za reevaluacijom preporučene dnevne doze (*Recommended daily allowance*, RDA) (12). Detaljna studija karakterizacije fiziologije i farmakokinetike vitamina C kod mladih zdravih odraslih osoba (13, 14) pokazala je da je koncentracija vitamina C u plazmi i u stanicama pod snažnom kontrolom mehanizama koji utječu na njegovu intestinalnu apsorpciju, akumulaciju u tkivima te tubularnu reapsorpciju i izlučivanje. Praćenje farmakokinetike u ljudi pri različitim dozama vitamina C pokazalo je da svaka doza veća od 200 mg dnevno, primijenjena oralnim putem, ne povisuje proporcionalno njegovu koncentraciju u plazmi i tkivima. Drugim riječima, povećavanjem oralne doze vitamina C, relativni udio apsorbiranog vitamina je manji. No, intravenskom primjenom vitamina C opisani kontrolni mehanizmi su zaobiđeni te je njegova koncentracija

u plazmi bila 70–100 puta viša, nego nakon primjene maksimalno tolerirane oralne doze (15, 16). Kao što će biti objašnjeno, samo tako visoke koncentracije vitamina C u plazmi imaju kliničko značenje u terapiji tumora.

Vitamin C i tumorske stanice

Više nezavisnih skupina znanstvenika dokazalo je da visoke koncentracije askorbata, koje se *in vivo* mogu postići samo intravenskom primjenom, djeluju citotoksično na stanice tumora (17–22). Chen i suradnici prvi su pokazali da milimolarne koncentracije askorbata u izvanstaničnoj tekućini djeluju selektivno na stanice tumora, ubijajući ih pomoću vodikovog peroksida, koji nastaje u reakciji molekuskog kisika i askorbil radikala (slika 2.) (17, 18). Pretpostavili su da je reakcija katalizirana endogenim metalnim kompleksima, primjerice željeznim porfirinima koji su aktivna mjesta citokroma P450, ciklooksigenaza, oksidaza, sintaza dušikovog oksida (17).



Slika 2. Askorbat (HA^-) preko askorbil radikala (A^-) u reakciji s kisikom proizvodi vodikov peroksid u izvanstaničnoj tekućini. Reakcija je katalizirana endogenim metalnim kompleksima ($\text{Me}^{3+/2+}$).

Do stvaranja toksičnih količina vodikovog peroksida ne može doći u krvi nakon intravenske primjene L-askorbinske kiseline, jer su u eritrocitima prisutne katalaza i glutation peroksidaza, koje uklanjaju sav proizvedeni vodikov peroksid (17, 18). *In vivo* pokusi na miševima pokazali su da intravenska primjena vitamina C smanjuje rast tumora gušterače, jajnika i mozga (19, 21).

Selektivnost djelovanja vodikovog peroksida na stanice tumora u odnosu na normalne stanice vrlo je važna. Stanice tumora su pod stalnim oksidativnim stresom te je povišena razina kisikovih i dušikovih slobodnih radikala pokretačka sila njihovih brzih i brojnih dioba. Međutim, ono što tumorskim stanicama omogućava besmrtnost, može ih u povećanoj dozi i ubiti. Zbog povišene razine internog oksidativnog stresa, povećana je njihova osjetljivost prema dodatnom vanjskom izvoru stresa. Osim toga, tumorske stanice imaju niže razine antioksidansa (male molekulske mase, kao što su askorbinska kiselina, tokoferol, glutation) i antioksidativnih enzima i ne mogu se boriti protiv nagloga povećanja koncentracije kisikovih i dušikovih slobodnih radikala, koji nastaju nakon izlaganja

stanice vodikovom peroksidu. Nasuprot tome, visoka koncentracija antioksidansa u normalnim stanicama osigurava njihovu zaštitu i preživljavanje. Batinić-Haberle i suradnici detaljno su opisali mehanizam antitumorskoga djelovanja askorbinske kiseline u kombinaciji s metalom, u ovom slučaju manganovim porfirinom, na primjeru bakterije *E. coli* (23).

Vitamin C i tumori: kliničke studije

Prve hipoteze o antitumorskom djelovanju vitamina C govore su o oslabljenoj strukturi kolagena, zbog koje dolazi do širenja metastaza (24, 25). Na temelju njih, sedamdesetih godina prošloga stoljeća Cameron i Campbell počeli su terapiju terminalno bolesnih pacijenata oboljelih od različitih vrsta tumora visokim dozama vitamina C, 10 g dnevno (26). Nešto kasnije je Cameron, uz pomoć Linusa Paulinga, objavio dvije retrospektivne studije u kojima je pokazao da visoke doze askorbinske kiseline povećavaju kvalitetu života i produljuju život oboljelih od raka (27, 28).

Zbog brojnih prigovora na način provođenja studija, između ostalog mogućnost placebo učinka i nedostatak histopatološke potvrde dijagnoze, nastavljene su kliničke studije. Posebno poznate su studije provedene u klinici Mayo u SAD, krajem sedamdesetih i početkom osamdesetih godina, koje nisu potvrdile korisnost primjene visokih doza vitamina C u oboljelih od raka (29, 30).

Analizom studija utvrđeno je da je glavna razlika između njih bila u načinu primjene vitamina C, dok je primjenjena doza bila jednaka (10 g dnevno). Cameron i Pauling primjenjivali su vitamin C 10 dana intravenski, nakon toga peroralno, dok je u klinici Mayo vitamin C primijenjen isključivo oralno. Istraživanja Levina i suradnika (13, 14), opisana ranije u tekstu, konačno su, više od 20 godina nakon prvih kliničkih studija, objasnile razlike u rezultatima provedenih kliničkih studija te omogućile ponovno razmatranje vitamina C kao antitumorskoga lijeka.

Također je pokazano da i oralna primjena vitamina C smanjuje rizik od raka želuca u oboljelih od gastritisa uzrokovanog bakterijom *Helicobacter pylori* (31, 32).

Osim intravenske primjene, poznate su i druge metode kojima se može zaobići peroralna primjena lijekova – supkutana, transdermalna i intramuskularna primjena. No, hidrofilitnost vitamina C prevelika je da bi se mogao učinkovito apsorbirati nakon supkutane ili transdermalne primjene te se današnja klinička istraživanja uporabe vitamina C u terapiji tumora zasnivaju na njegovoj intravenskoj primjeni.

ZAKLJUČAK

Nekoliko činjenica upućuje na moguće veliko značenje i korisnost vitamina C u terapiji tumora. Međutim, mora se imati na umu da je oralnom primjenom nemoguće postići visoke koncentracije u plazmi, koje imaju antitumorsko djelovanje.

Laskorbinska kiselina, za razliku od poznatih citostatika, gotovo uopće nije toksična, a njezina je proizvodnja usvojena i jeftina. *In vivo*, neki će kompleksirani metali u ekstracelularnoj tekućini katalizirati reakciju oksidacije Laskorbinske kiseline, pri čemu nastaje

vodikov peroksid. Opasnosti od sistemske toksičnosti nakon intravenske primjene su niske, jer u krvi postoje enzimski sustavi za uklanjanje vodikovog peroksida. Konačno, razlika u bazalnim razinama oksidativnoga stresa kod tumorskih i normalnih stanica osigurava selektivno citotoksično djelovanje vodikovog peroksida na stanice tumora. Isto tako, više skupina znanstvenika pokazalo je da postoji sinergističko djelovanje vitamina C i nekih citostatika, primjerice 5-fluorouracila, doksorubicina, paklitaksela, cisplatinine i vinkristina (20, 22, 33 - 39).

Vitamin C and neoplastic diseases

by Z. Rajić, I. Perković, Ines Batinić-Haberle

A b s t r a c t

Ascorbic acid, the infamous antioxidant and cofactor of many enzymes, is present in the cell in millimolar, while in plasma and extracellular fluid in micromolar concentrations, as monovalent ascorbate anion. The highest levels of ascorbate are found in the brain, adrenal glands, white blood cells and skeletal muscles. Ascorbate is transported into the cell via two sodium-dependent transporters - SVCT1 and SVCT2 or as dehydroascorbic acid via glucose transporters of the GLUT family.

Almost 40 years have passed since the first cancer clinical trials with vitamin C, which showed that patients with ascorbate treatment benefited with enhanced quality and prolongation of life. Further studies led to controversy since they have not corroborated these findings and medical community concluded that vitamin C has no place in the cancer therapy. Finally, evidences from the human physiology, which showed that only intravenously, and not orally, administered ascorbate could be used as anticancer drug, gave new prospective for the role of vitamin C in the cancer treatment.

Literatura - References

1. Bánhegyi G, Braun L, Csala M, Puskás F, Mandl J. Ascorbate metabolism and its regulation in animals. *Free Radic Biol Med.* 1997; 23:793-803.
2. Corti A, Casini AF, Pompella A. Cellular pathways for transport and efflux of ascorbate and dehydroascorbate. *Arch Biochem Biophys.* 2010; 500:107-115.
3. Foye WO, Lemke TL, Williams DA. Principles of medicinal chemistry, 4. ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 1995.
4. MedićŠarić M, Buhač I, Bradamante V. Vitamini i minerali - istine i predrasude. Zagreb: F. Hoffman - La Roche, predstavništvo Zagreb, 2000.
5. Harrison FR, May JM. Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2. *Free Radic Biol Med.* 2009; 46:719-730.
6. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 4. ed. New York: Oxford University Press, 2007.
7. Williams NH, Yandell JK. Outer-sphere electron-transfer reactions of ascorbate anions. *Austr J Chem.* 1982; 35:1133-1144.

8. Veraxx J, Buc Calderon P. The controversial place of vitamin C in cancer treatment. *Biochem Pharmacol.* 2008; 76:1644-1652.
9. Padayatty SJ, Levine M. New insights into the physiology and pharmacology of vitamin C. *Can Med Assoc J.* 2001; 164:353-355.
10. Tsakaguchi H, Tokui T, Mackenzie B, Berger UV, Chen XZ, Wang Y, Brubaker RF, Hediger MA. A family of mammalian Na⁺ dependent Lascorbic acid transporters. *Nature.* 1999; 399:70-75.
11. Wilson JX. Regulation of vitamin C transport. *Annu Rev Nutr.* 2005; 25:105-125.
12. Levine M, Dhariwal KR, Washko PW, Butler JD, Welch RW, Wang YH, Bergsten P. Ascorbic acid and in situ kinetics: a new approach to vitamin requirements. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54:1157S-1162S.
13. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena LR. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93:3704-3709.
14. Levine M, Wang Y, Padayatty SJ, Morrow J. A new recommended dietary allowance of vitamin C for healthy young women. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98: 9842-9846.
15. Padayatty SJ, Levine M. Reevaluation of ascorbate in cancer treatment: emerging evidence, open minds and serendipity. *J Am Coll Nutr.* 2000; 19:423-425.
16. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewitt SM, Katz A, Wesley RA, Levine M. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Ann Intern Med.* 2004;140; 533-537.
17. Chen Q, Espey MG, Krishna MC, Mitchell JB, Corpe CP, Buettner GR, Shacter E, Levine M. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102:13604-13609.
18. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Lee JH, Krishna MC, Shacter E, Choyke PL, Pooput C, Kirk KL, Buettner GR, Levine M. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104:8749-8754.
19. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Pooput C, Kirk KL, Krishna MC, Khosh DB, Drisko J, Levine M. Pharmacologic doses of ascorbate act as prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105:11105-11109.
20. Veraxx J, Buc Calderon P. Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumoral effects. *Free Radic Biol Med.* 2009; 47:32-40.
21. Du J, Martin SM, Levine M, Wagner BA, Buettner GR, Wang S, Taghiyev AF, Du C, Knudson CM, Cullen JJ. Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2010; 16:509-520.
22. Frömberg A, Gutsch D, Schilze D, Vollbracht C, Weiss G, Czubayko F, Aigner A. Ascorbate exerts anti-proliferative effects through cell cycle inhibition and sensitizes

- tumor cells towards cytostatic drugs. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2010; in press. DOI: 10.1007/s00280010-1418-6.
23. Batinić-Haberle I, Rajić Z, Benov L. A combination of two antioxidants (an SOD mimic and ascorbate) produces a pro-oxidative effect forcing *Escherichia coli* to adapt via induction of *oxyR* regulon. *Anticancer Agents Med Chem.* 2011; in press.
 24. McCormik WJ. Cancer: the preconditioning factor in pathogenesis. *Arch Pediatr.* 1954; 71:313-322.
 25. Cameron E, Rotman D. Ascorbic acid, cell proliferation, and cancer. *Lancet.* 1972; 1:542.
 26. Cameron E, Campbell A, Jack T. The orthomolecular treatment of cancer. III. Recticulum cell carcinoma: double complete regression induced by high-dose ascorbic acid therapy. *Clin Biol Interact.* 1975; 11:387-393.
 27. Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1976; 73:3685-3689.
 28. Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1978; 75:4538-4542.
 29. Creagan ET, Moertel CG, O'Fallon JR, Schutt AJ, O'Connell MJ, Rubin J, Frytak S. Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer: a controlled trial. *N Engl J Med.* 1979; 301:687-690.
 30. Moertel CG, Fleming TR, Creagan ET, Rubin J, O'Connell MJ, Ames MM. High dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy: a randomized double-blind comparison. *N Engl J Med.* 1985; 312:137-141.
 31. Schorah CJ, Sobala GM, Sanderson M, Collis N, Primrose JN. Gastric juice ascorbic acid: effects of disease and implications for gastric carcinogenesis. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53:287S-293S.
 32. Drake IM, Davies MJ, Mapstone NP, Dixon MF, Schorah CJ, White KLM, Chalmers DM, Axon ATR. Ascorbic acid may protect against human gastric cancer by scavenging mucosal oxygen radicals. *Carcinogenesis.* 1996; 17:559-562.
 33. Verrax J, Curi Pedrosa R, Beck R, Dejeans N, Taper H, Buc Calderon P. In situ modulation of oxidative stress: a novel and efficient strategy to kill cancer cells. *Curr Med Chem.* 2009; 16:1821-1830.
 34. Bahlis N, McCafferty-Grad J, Jordan-McMurry I, Neil J, Reis I, Kharfan-Dabaja M, Eckman J, Goodman M, Fernandez H, Boise L, Lee K. Feasibility and correlates of arsenic trioxide combined with ascorbic acid-mediated depletion of intracellular glutathione for the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2002; 8:3658-3668.
 35. Berenson J, Boccia R, Siegel D, Bozdech M, Bessudo A, Stadtmauer E, Talisman Pomeroy J, Steis R, Flam M, Lutzky J, Jilani S, Volk J, Wong S, Moss R, Patel R, Ferretti D, Russell K, Louie R, Yeh H, Swift R. Efficacy and safety of melphalan, arsenic trioxide and ascorbic acid combination therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: a prospective, multicentre, phase II, singlearm study. *Br J Haematol.* 2006; 135:174-183.

36. Berenson J, Matous J, Swift R, Mapes R, Morrison B, Yeh H. A phase I/II study of arsenic trioxide/bortezomib/ascorbic acid combination therapy for the treatment of relapsed or refractory multiple myeloma. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 1762-1768.
37. Kurbacher CM, Wagner U, Kolster B, Andreotti PE, Krebs D, Bruckner HW. Ascorbic acid (vitamin C) improves the antineoplastic activity of doxorubicin, cisplatin, and paclitaxel in human breast carcinoma cells in vitro. *Cancer Lett.* 1996; 103:183-189.
38. Song EJ, Yang VC, Chiang CD, Chao CC. Potentiation of growth inhibition due to vincristine by ascorbic acid in a resistant human non-small cell lung cancer cell line. *Eur J Pharmacol.* 1995; 292:119-125.
39. Nagy B, Mucsi I, Molnar J, Varga A, Thurzo L. Chemosensitizing effect of vitamin C in combination with 5-fluorouracil in vitro. *In vivo.* 2003; 17:289-292.

Priljeno 25. veljače 2011.