

Vysokodávkovaný parenterálně podávaný askorbát zvyšuje chemosenzitivitu karcinomu ovaria a redukuje toxicitu chemoterapie



MUDr. Marta Holíková
InPharm Clinic, oddělení
klinické onkologie



PharmDr. Lucie Kotlářová
Edukafarm



MUDr. Pavel Kostiuik, CSc.
Edukafarm



MUDr. Petra Garnolová
Institut onkologie a rehabilitace
Na Pleši

Výzkum možnosti využití vitamínu C v onkologii má letitou historii. Poprvé se toto téma objevilo v 70. letech 20. století a stalo se předmětem odborných diskusí. Nejnovějším příspěvkem o využití intravenózního vysokodávkovaného vitamínu C (IVC) u onkologických pacientů je článek publikovaný v únoru 2014 americkými autory v renomovaném časopise Science Translational Medicine.¹ Tento časopis se zaměřuje na tzv. translační medicínu, tedy obor propojující výsledky výzkumu v oblasti molekulární biologie s klinickou praxí (impakt faktor časopisu činí 10,75). Autoři studií – většinou z University of Kansas a prof. Mark Levine z National Institutes of Health v Bethesda – se zabývali účinky IVC u karcinomu ovaria a v článku referují o třech studiích, dvou laboratorních a jedné klinické.

Farmakologické plazmatické hladiny

Ještě než se článku začneme detailně věnovat, připomeňme některé skutečnosti. Relativně nedávné objevy v oblasti farmakokinetiky a farmakodynamiky vitamínu C ukázaly, že důležitým faktorem pro jeho účinnost je velikost podané dávky a způsob aplikace a že vitamin C v plazmatické koncentraci v řádu milimolů kromě antioxidačního, ochranného účinku na zdravé tkáně působí na některé linie nádorových buněk cytotoxicky (díky odlišnostem nádorových buněk od normálních, např. v oblasti buněčného metabolismu).

Na základě těchto poznatků se ukázalo, že k protinádorovému účinku je třeba relativně vysokých, tzv. farmakologických plazmatických hladin askorbátu (v řádu milimolů), jichž lze u člověka dosáhnout jen intravenózním podáním dávek v řádu gramů (perorální aplikací je kvůli omezenému transportu askorbátu ze střeva možno docílit plazmatických hladin pouze v řádu mikromolů).²

V současné době ve světě probíhá laboratorní výzkum zaměřený na upřesnění mechanismu cytotoxického působení farmakologických

koncentrací vitamínu C na jednotlivé typy nádorových buněk. Zároveň proběhlo již několik klinických studií fáze I zaměřených na bezpečnost intravenózního vysokodávkovaného vitamínu C, resp. na jeho účinky u pacientů s onkologickým onemocněním při současně probíhající základní protinádorové léčbě (chemoterapii, radioterapii).

Vysokodávkovaný askorbát a onkologická onemocnění

V úvodu článku autoři uvádějí některá zjištění dosavadního výzkumu využití IVC v onkologii. Upozorňují, že studie ukázaly bezpečnost intravenózně podávaných dávek vitamínu C v řádu i desítek gramů (např. až 1,5 g/kg tělesné hmotnosti) u pacientů splňujících podmínky podávání IVC (normální renální funkce a aktivita glukózo-6-fosfátdehydrogenázy).^{3,4} Poukazují na fakt známý z dřívějšího výzkumu, že jedním z mechanismů cytotoxického působení IVC na nádorové buňky je produkce peroxidu vodíku v okolí těchto bu-

něk,^{5,6,7} případně reaktivních sloučenin kyslíku, které působí jako efekto-ry tohoto účinku.^{8,9}

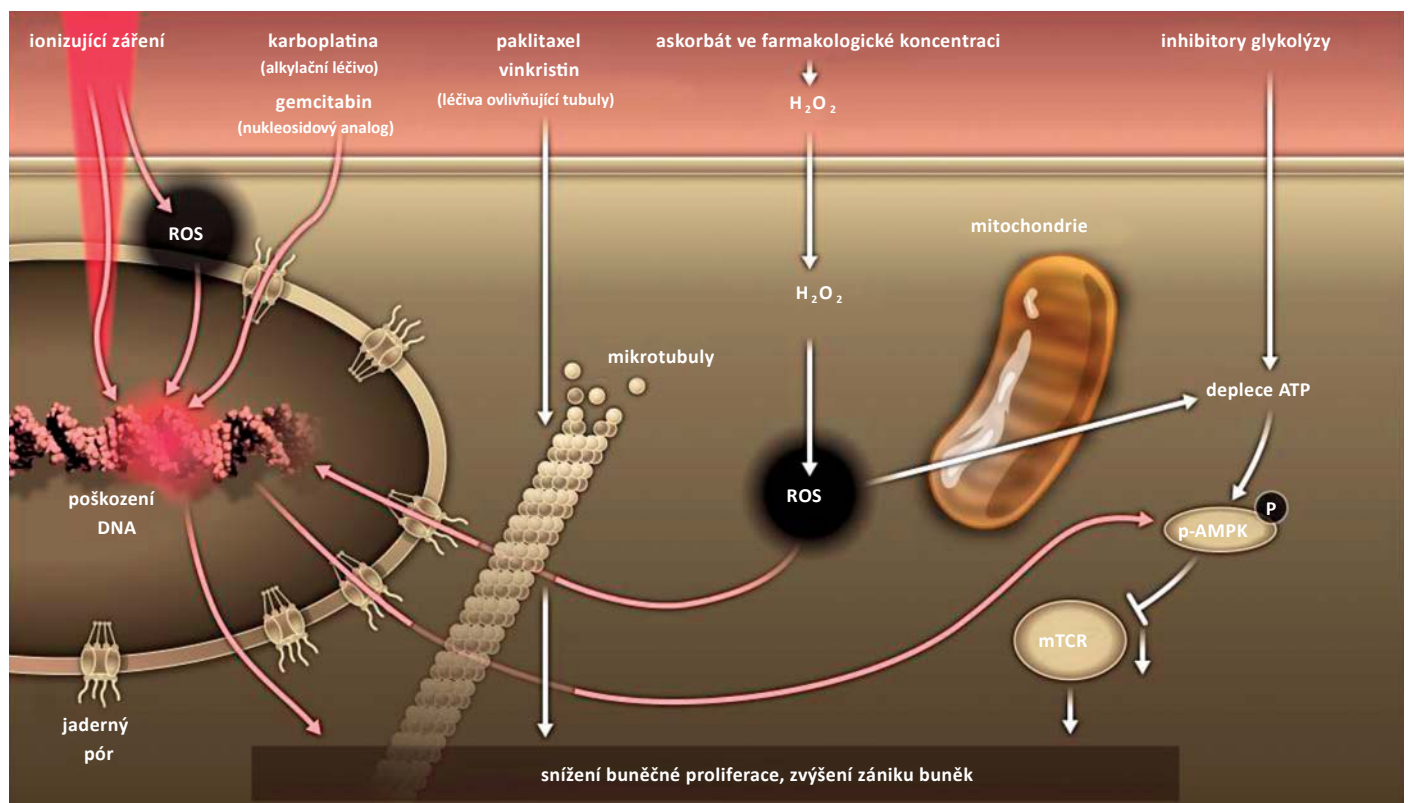
Cytotoxické působení farmakologických hladin askorbátu bylo prokázáno u řady linií nádorových buněk.^{5,8-10} Byly publikovány kauzistiky u onkologických pacientů^{11,12} a několik studií fáze I, v nichž byla prokázána jeho bezpečnost, případně vliv na zlepšení snášenlivosti chemoterapie u pacientů s určitými typy tumorů.^{13,14} Některé studie prokázaly i synergii IVC s chemoterapeutiky.¹⁷

Pro širší použití IVC v onkologii je dle autorů třeba, aby paralelně s klinickými studiemi byly detailněji osvětlovány mechanismy jeho účinku. Proto zkoumali v laboratorních podmínkách mechanismus cytotoxického působení vitamínu C ve farmakologické koncentraci na buňky karcinomu ovaria, dále zjišťovali, nakolik ovlivňuje askorbát působení chemoterapie na tyto buňky, a konečně v randomizované klinické studii zkoumali bezpečnost IVC v kombinaci s chemoterapií u pacientek s karcinomem ovaria.

Mechanismy cytotoxického působení askorbátu na nádorové buňky

V první studii (in vitro) se autoři zabývali mechanismem protinádorového účinku milimolárních hladin vitamínu C na buňky karcinomu ovaria. Zjistili, že askorbát v této koncentraci svou účastí na tvorbě peroxidu vodíku v okolí nádorových buněk poškozuje jejich DNA. Tento efekt byl ještě výraznější, pokud byl askorbát kombinován s alkylačním cytostatikem karboplatinou. Přidání katalázy, tedy scavengeru peroxidu vodíku, zcela zabránilo cytotoxicitě askorbátu, což je důkazem, že tato cytotoxicita vůči nádorovým buňkám je zprostředkována právě peroxidem vodíku.

Kromě toho askorbát v uvedené koncentraci způsoboval v nádorových buňkách depleci adenosintrifosfátu (ATP), který je pro ně vitálně důležitý, zatímco v normálních ovariálních buňkách askorbát tuto depleci nezpůsobil. Askorbát tedy selektivně poškozuje nádorové buňky metabolickým stresem. Dále v nádorových buňkách aktivoval metabolickou



Synergické působení askorbátu a chemoterapeutik na nádorovou buňku. Askorbát ve farmakologické koncentraci způsobuje produkci peroxidu vodíku (H_2O_2) v extracelulárním prostoru. Peroxid vodíku vstupuje difúzí do buněk, způsobuje dvouřetězcové zlomy DNA, tím aktivuje senzorový protein ATM a zároveň působí intracelulární depleci ATP. Snížená koncentrace ATP aktivuje proteinkinázu p-AMPK, což vede ke snížení aktivace proteinkinázy mTOR a potlačení přežívání a proliferace buněk. Mechanismy působení chemoterapeutik: Alkylační léčivo karboplatina obsahuje reaktivní platinové komplexy, které se napojují v molekule DNA na nukleofilní skupiny (např. oblasti bohaté na GC nukleotidy), způsobuje tím mezivláčkové příčné spoje (cross-links), což má za následek inhibici buněčné proliferace a buněčnou smrt. Inhibitory mitózy jako paklitaxel a vinkristin se napojují na jaderný tubulin a stabilizují jej, inhibují organizaci mikrotubulů a tvorbu mitotického vřeténka; to vede k zástavě buněčného cyklu v metafázi. Nukleosidový analog gemcitabin zasahuje do DNA během replikace a inhibuje ribonukleotid reduktázu, což vede k nedostatku bází pro syntézu DNA. Inhibitory glykolýzy způsobují depleci ATP. Ionizující záření představuje vysokoenergetickou radiaci, která způsobuje poškození DNA buď přímo ionizací, nebo častěji nepřímo tvorbou reaktivních sloučenin kyslíku. Převzato z: McConnell MJ, Herst PM. Ascorbate combination therapy: New tool in the anticancer toolbox? Sci Transl Med 2014;6:222fs6. Vysvětlivky zkratk: ATP: adenosintrifosfát; p-AMPK: proteinkináza AMPK (adenosine monophosphate-activated); mTOR: proteinkináza mTOR (mammalian target of rapamycin), ROS: reaktivní sloučeniny kyslíku.

cestu zprostředkovanou proteinkinázami ATM (ataxia-telangiectasia mutated) a AMPK (adenosine monophosphate-activated), a tím vedl k inhibici proteinkinázy označované jako mTOR (mammalian target of rapamycin), což je enzym důležitý pro růst a proliferaci buněk. Její inhibice má za následek zánik nádorových buněk.

Synergické působení askorbátu a karboplatiny v preklinickém modelu

Ve druhé studii se autoři zabývali in vitro u buněk karcinomu ovaria rozdílem mezi působením samotného chemoterapeutika (karboplatiny) a jeho kombinace s askorbátem ve farmakologické koncentraci. Jak již bylo uvedeno, autoři zjistili, že askorbát svým působením na DNA podporuje účinek karboplatiny, která je léčivem první linie pro terapii pacientek s ovariálním karcinomem. Pro kvantitativní upřesnění tohoto efektu použili tři různé poměry dávek askorbátu a karboplatiny a zjistili, že vyšší podíl askorbátu má za následek větší počet zaniklých nádorových buněk.

Jde o synergický účinek, který umožňuje přidáním askorbátu snížit dávku karboplatiny k dosažení stejného efektu, jakého by se dosáhlo vyšší dávkou samotné karboplatiny. Uvedená synergie byla dále testována in vivo v animálním modelu – na myších s inokulovaným ovariálním karcinomem. Již samotný askorbát snižoval hmotnost tumoru a navíc potencoval účinek karboplatiny a paklitaxelu, přičemž neúčinnější byla trojkombinace všech tří látek, která způsobila pokles hmotnosti tumoru o 94 %.

Snížení toxicity chemoterapie

Třetí ze studií byla klinická prospektivní randomizovaná studie fáze I/IIa, do níž bylo zařazeno 27 pacientek s nově diagnostikovaným karcinomem ovaria ve stadiu III nebo IV. Pacientky byly randomizovány na skupinu, ve které byla podávána pouze chemoterapie (paklitaxel a karboplatina), a na skupinu, v níž byl podáván kromě chemoterapie i IVC. Obě skupiny byly porovnávány, pokud jde o bezpečnost, resp. toxicitu léčby. Studii dokončilo 22 pacientek, 5 bylo z různých důvodů z hodnocení vyřazeno (např. 2 pacientky ze skupiny bez IVC si vyžádaly v průběhu studie podávání askorbátu, další 2 pacientky nedodržovaly režimová pravidla studie).

Chemoterapie byla podávána počátečních 6 měsíců a IVC celkem 12 měsíců. Účastnice studie byly sledovány celkem 5 let pro hodnocení přežití. Nežádoucí účinky terapie byly hodnoceny podle kritérií CTCAE v3 (National Cancer Institute (NCI) Common Terminology Criteria for Adverse Events verze 3). Intravenózní vitamin C byl podáván v infuzích ve stoupajících dávkách, zahájených dávkou 15 g. Nejvyšší podávané dávky byly 75 nebo 100 g a řídily se cílovou vrcholovou plazmatickou koncentrací askorbátu, která byla stanovena na 350 až 400 mg/dl (20 až 23 mmol/l).^{4,13} Infuze byly podávány rychlostí 0,5 g/min. Po dosažení cílové plazmatické hladiny askorbátu byly infuze vitaminu C podávány 2krát týdně po dobu 6 měsíců souběžně s chemoterapií a po jejím ukončení ještě dalších 6 měsíců.

Výsledky ukázaly, že výskyt nežádoucích účinků mírného a středního stupně (toxicita 1. a 2. stupně) byl ve skupině, kde byl aplikován IVC, signifikantně nižší než ve skupině, v které byla podávána pouze chemoterapie, což lze interpretovat tak, že aplikace IVC zlepšuje u pacientek snášenlivost chemoterapie. Pokud jde o jednotlivé kategorie toxicity, snižovalo přidání IVC toxické působení chemoterapie na nervovou tkáň, kostní dřeň, játra a žlučové cesty, pankreas, ledviny, urogenitální systém, snižovalo hepatobiliární, pankreatickou, renální/urogenitální, gastrointestinální, dermatologickou toxicitu a výskyt infekcí.

Trend k prodloužení celkové doby přežití

Přestože studie byla primárně zaměřena na hodnocení bezpečnosti, resp. ovlivnění toxicity chemoterapie askorbátem, přinesla ještě jeden pozoruhodný výsledek, pokud jde o vliv přidání IVC na efektivitu chemoterapie. Ve skupině pacientek, kde byl k chemoterapii přidán IVC, se projevil trend k prodloužení celkové doby přežití (podíl pacientek, které přežily více než 5 let, byl v této skupině vyšší než ve skupině bez askorbátu) a medián doby do progresu/relapsu byl v této skupině o 8,75 měsíců delší. Protože uvedené rozdíly nedosahovaly hranice statistické signifikance, lze je označit jako trend k vyšší účinnosti chemoterapie, pokud je k ní podáván intravenózní vitamin C. Podle autorů by k podpoře tohoto vlivu IVC mohlo přispět jeho častější podávání.¹³

Studie probíhala v letech 2002 až 2007 na dvou pracovištích: University of Kansas Medical Cancer Center /Cancer Center a Research Medical Center/ Resource Center–Gynecologic (obě v Kansas City, USA). Dohled nad průběhem studie zajišťovalo centrum pro hodnocení onkologických léčiv amerického Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv (FDA; Food and Drug Administration's Center for Drug Evaluation of Oncology Drug Products).

Diskuse

V laboratorní části studie se autoři zabývali upřesněním mechanismu protinádorového účinku askorbátu ve farmakologických koncentracích. Za základní se považuje produkce peroxidu vodíku v extracelulárním prostoru.⁵⁻⁷ V různých studiích byly postulovány různé mechanismy tohoto působení u různých typů nádorových buněk: např. apoptóza, blokáda buněčného cyklu,¹⁸ neapoptotické mechanismy,^{6,15} deplece ATP,¹⁶ autofagie.^{8,16} V uvedené studii autoři upřesnili mechanismus zprostředkovaný peroxidem vodíku – poškození DNA oxidativním stresem, dále prokázali depleci ATP a spuštění procesu zahrnujícího aktivaci ATM/AMPK a inhibici mTOR, tedy změny, které vedou k potlačení buněčné proliferace a zástavě buněčného cyklu, apoptóze, nekróze a autofagii. Tato zjištění vytvářejí racionální základ pro využití kombinace IVC s protinádorovými léčivy.

Vzhledem k často neuspokojivým výsledkům standardní chemoterapie u pacientek s karcinomem ovaria existuje podle autorů v léčbě těchto nemocných prostor pro adjuvantní podávání intravenózního vysokodávkovaného vitaminu C. Uvádějí, že toto pojetí podporují výsledky jejich dosavadního výzkumu, který ukázal potenciál IVC jako látky selektivně cytotoxické vůči nádorovým buňkám.^{2,13-14} Jak ukázal laboratorní výzkum in vitro i in vivo¹, askorbát působí synergicky s chemoterapeutiky jako karboplatina a paklitaxel a zvyšuje chemosenzitivitu nádoru. V klinické studii, o níž referujeme, u pacientek s ovariálním karcinomem snižoval toxicitu chemoterapie. Podíl pacientek, jež přežily 60 měsíců, byl vyšší ve skupině, která měla k chemoterapii přidán intravenózní vitamin C; v této skupině byl také delší medián doby do progresu/relapsu. Tyto rozdíly nedosahovaly hranice statistické signifikance, proto je autoři označují jako trend k vyšší účinnosti chemoterapie, pokud je k ní podáván IVC.

Autoři zdůrazňují, že výsledky této a dalších studií (proběhlo již několik studií fáze I prokazujících bezpečnost vysokodávkovaného vitaminu C v kombinaci s chemoterapií)^{4,13,14} vytvářejí základ pro rozsáhlejší klinická zkoumání, která budou vycházet z výsledků laboratorního výzkumu protinádorového působení vitaminu C ve farmakologických koncentracích a zaměřit se na účinnost intravenózního vysokodávkovaného vitaminu C u různých nádorových onemocnění a v kombinaci s různými typy chemoterapie.

Literatura:

1. Ma Y, Chapman J, Levine M, Polireddy K, Drisko J, Chen Q. High-dose parenteral ascorbate enhanced chemosensitivity of ovarian cancer and reduced toxicity of chemotherapy. *Sci Transl Med* 2014;6:222ra18.
2. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewitt S. M., Katz A., Wesley R. A., Levine M. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Ann Intern Med* 2004;140:533–537.
3. Padayatty SJ, Sun AY, Chen Q, Espey MG, Drisko J, Levine M. Vitamin C: intravenous use by complementary and alternative medicine practitioners and adverse effects. *PLOS One* 2010;5:e11414.
4. Hoffer LJ, Levine M, Assouline S, Melnychuk D, Padayatty SJ, Rosadiuk K, Rousseau C, Robitaille L, Miller WH Jr. Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy. *Ann Oncol* 2008;19:1969–1974.
5. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Pooput C, Kirk KL, Krishna MC, Khosh DB, Drisko J, Levine M. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2008;105:11105–11109.
6. 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 U.S.A.* 2005;102:13604–13609.
7. Chen Q, Espey MG, Sun AY, Lee JH, Krishna MC, Shacter E, Choyke PL, Pooput P, 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 U.S.A.* 2007;104, 8749–8754.
8. Du J, Martin SM, Levine M, Wagner BA, Buettner GR, Wang SH, Taghiyev AF, Du C, Knudson CM, Cullen JJ. Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2010;16:509–520.
9. Verrax J, Calderon PB. Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumoral effects. *Free Radic Biol Med* 2009;47:32–40.
10. Pollard HB, Levine MA, Eidelman O, Pollard M. Pharmacological ascorbic acid suppresses syngeneic tumor growth and metastases in hormone-refractory prostate cancer. *In Vivo* 2010;24:249–255.
11. Padayatty SJ, Riordan HD, Hewitt SM, Katz A, Hoffer LJ, Levine M. Intravenously administered vitamin C as cancer therapy: three cases. *CMAJ* 2006;174:937–942.
12. Drisko JA, Chapman J, Hunter VJ. The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer. *J Am Coll Nutr* 2003;22:118–123.
13. Monti DA, Mitchell E, Bazzan AJ, Littman S, Zabrecky G, Yeo CJ, Pillai MV, Newberg AB, Deshmukh S, Levine M. Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *PLOS One* 2012;7:e29794.
14. Welsh JL, Wagner BA, van't Erve TJ, Zehr PS, Berg DJ, Halfdanarson TR, Yee NS, Bodeker KL, Du J, Roberts II LJ, Drisko J, Levine M, Buettner GR, Cullen JJ. 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;71:765–775.
15. Verrax J, Delvaux M, Beghein N, Taper H, Gallez B, Buc Calderon P. Enhancement of quinone redox cycling by ascorbate induces a caspase-3 independent cell death in human leukaemia cells. An in vitro comparative study. *Free Radic Res* 2005;39, 649–657.
16. Chen P, Yu J, Chalmers B, Drisko J, Yang J, Li B, Chen Q. Pharmacological ascorbate induces cytotoxicity in prostate cancer cells through ATP depletion and induction of autophagy. *Anticancer Drugs* 2011;23:437–444.
17. Espey MG, Chen P, Chalmers B, Drisko J, Sun AY, Levine M, Chen Q. Pharmacologic ascorbate synergizes with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer. *Free Radic Biol Med* 2011;50:1610–1619.
18. Lin SY, Lai WW, Chou CC, Kuo HM, Li TM, Chung JG, Yang JH. Sodium ascorbate inhibits growth via the induction of cell cycle arrest and apoptosis in human malignant melanoma A375.S2 cells. *Melanoma Res* 2006;16:509–519.

Kdo je**MUDr. Marta Holíková**

*20. 4. 1969 v Liberci

V letech 1987–1993 absolvovala 2. lékařskou fakultu Univerzity Karlovy, v roce 1996 atestovala v oboru vnitřního lékařství, v roce 2001 v oboru klinické onkologie. Licenci ČLK pro obor klinická onkologie získala v roce 2003. Od roku 1993 pracuje v Krajské nemocnici Liberec, nejprve jako sekundární lékařka na interním oddělení, poté od roku 1996 na onkologickém oddělení, kde se v roce 2005 stala vedoucí lékařkou ambulancí a zástupkyní primáře oddělení klinické onkologie, které je součástí Komplexního onkologického centra Krajské nemocnice Liberec. Od roku 2013 působí také ve zdravotnickém zařízení Inpharm Clinic v Jesenici u Prahy.