

Vitamin C inhibuje metastázování karcinomu prsu ovlivněním genové exprese

Hlavní příčinou úmrtí pacientek s karcinomem prsu je metastázování do orgánů jako jsou plíce a kostní dřeň. Takzvaný hypoxií indukovatelný faktor 1 (HIF-1) je hlavním regulátorem metastázování maligních buněk. Proces hydroxylace HIF-1, která je klíčovým krokem k jeho degradaci, vyžaduje jako kofaktor HIF prolylhydroxylázy vitamin C. V časopise *Nutrients* byla publikována laboratorní studie vlivu vitaminu C na metastázování buněk karcinomu prsu.¹ Přinášíme referát o této studii.

Úvod

Vitamin C (VitC) vstupuje do epitelálních buněk prsu prostřednictvím transportérů závislých na sodíku (SVCT). Exprese SVCT2 je v buňkách karcinomu prsu snížena ve srovnání s epitelálními buňkami zdravých žen. Existuje proto možnost, že nedostatek VitC u karcinomu prsu brání degradaci hypoxií indukovatelného faktoru 1, což vede k metastázování maligních buněk, a suplementace VitC by mohla inhibovat metastázy snížením hladiny HIF-1. Přestože klinické studie stále chybí, in vivo modely potvrdily inhibici metastáz xenoimplantátu lidského triple negativního karcinomu prsu (TNBC) po perorálním podání VitC.

Triple negativní karcinomy prsu jsou zvláštní skupinou tohoto onemocnění, vyskytuje se asi u 15 % pacientek. Jako triple negativní se karcinomy označují proto, že u nich bývá nalezena negativita všech 3 důležitých receptorů (estrogenového, progesteronového a HER2 receptoru). Animální studie ukázaly, že vysoké dávky intraperitoneálního VitC inhibují metastázy xenoimplantátů lidského karcinomu prsu u myši. Vzhledem k omezeným možnostem cílené terapie je TNBC spojen s agresivním klinickým průběhem a krátkou dobou přežití. VitC potlačuje acetylaci histonů (H3ac a H4ac) v buňkách TNBC upregulací exprese histon-deacetylázy 1 (HDAC1). VitC je ovlivňuje transkriptom buněk TNBC prostřednictvím HIF-1, demethylace DNA, deacetylace histonů a dalších mechanismů. Ve snaze porozumět molekulárnímu mechanismu, kterým VitC inhibuje metastázy TNBC, zkoumali autoři studie uveřejněné v časopise *Nutrients*¹ expresi HIF-1 a dalších potenciálních genů v TNBC kultivovaných buňkách a xenograftech.

Nedostatečný příjem vitaminu C je spojován s rizikem vzniku karcinomu mammy, jeho metastázování a vyšší mortalitou.

Materiál a metody

K hodnocení byly použity buněčné linie TNBC MDA-MB-231 a BT-549. Test buněčné invaze byl proveden po aplikaci 0,5 nebo 100 mikromolů (μM) VitC po dobu 2 dnů nebo 50 μM nebo 100 μM VitC po dobu 5 dnů, a to sledováním vzdálenosti migrace buněk. V dalším testu (imunofluorescence) byly buňky inkubovány s primárními a sekundárními protilátkami a v reálném čase byla provedena kvantitativním PCR xenograftová imunohistochemie.

Výsledky

Vitamin C inhibuje invazi TNBC buněk

Perorální suplementace VitC neovlivňuje růst xenograftů MDA-MB-231, ale významně inhibuje metastázy do jater u myši s těžkou kombinovanou imunodeficiencí. TNBC buňky byly ošetřeny VitC (0, 50, 100 μM) po dobu 3 dnů a poté na-

sazeny do invazních komůrek s VitC po další 2 dny. Počet buněk byl významně snížen ($p < 0,001$) u obou linií s VitC, a to na dávce závislým způsobem. Test demethylace DNA zprostředkované enzymy TET po aplikaci VitC ukázal, že TET by mohly částečně zprostředkovat účinek VitC na metastázování TNBC. Další test ověřil, že léčba VitC inhibovala migraci buněk, i když významně nezměnila růst obou linií TNBC. VitC v koncentraci 100 μM (koncentrace dosažitelná v plazmě perorální suplementací) blokuje migraci a invazi buněk TNBC in vitro.

HIF-1 v TNBC není vitaminem C ovlivněn

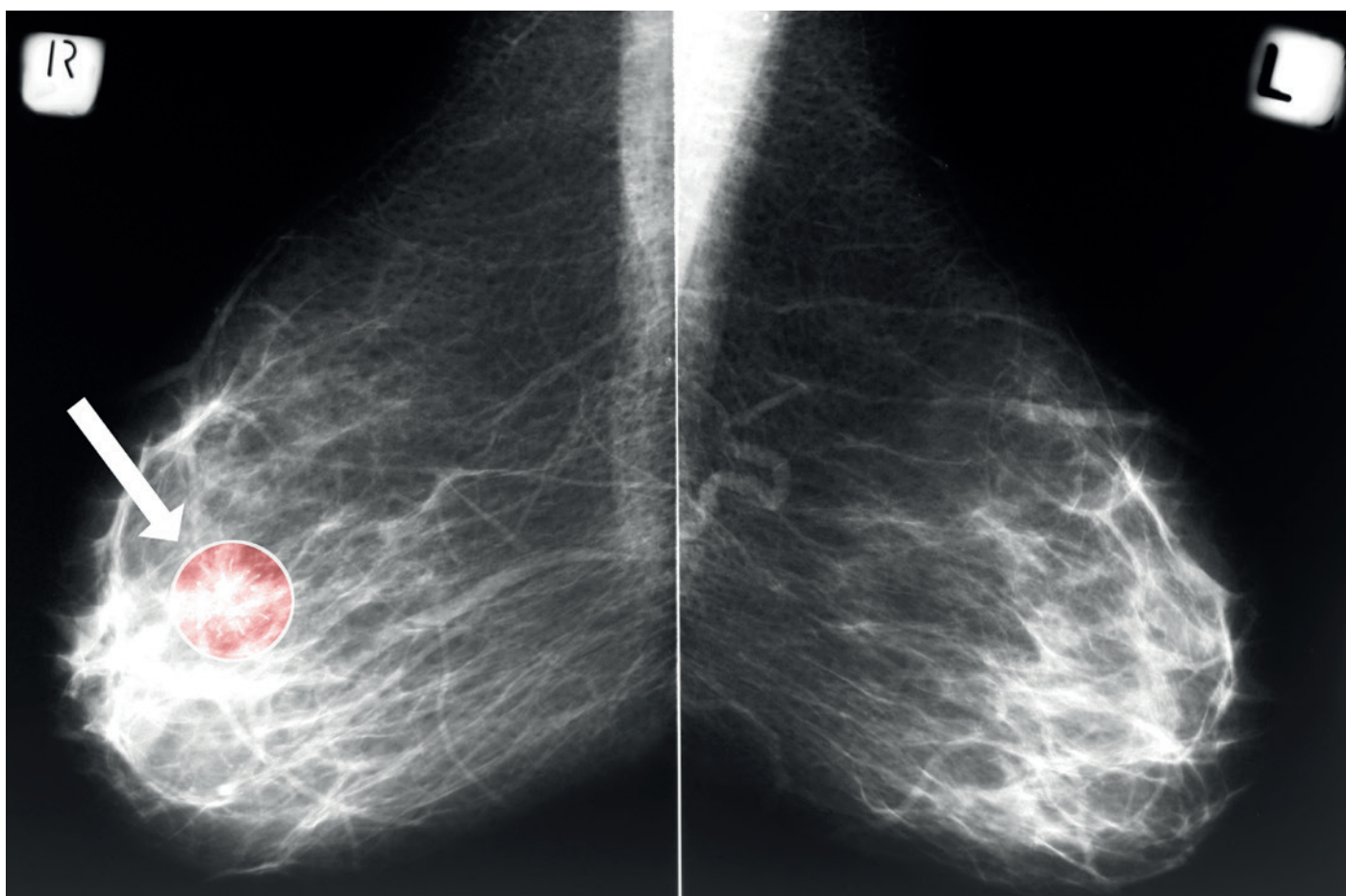
Imunobloty i imunofluorescence nede-tekaly žádné změny v hladině HIF-1 po aplikaci VitC. Imunologické obarvení HIF-1 zůstalo na podobné úrovni v xenoimplantátech MDA-MB-231 proti kontrole.

Vitamin C zvyšuje v buňkách TNBC expresi synaptopodinu²

Přezkoumáním známých genů spojených s metastázováním buněk karcinomu prsu autoři identifikovali bílkovinu synaptopodin 2 (SYNPO2). Data prokázala, že karcinom prsu má snížené hladiny SYNPO2, což je spojeno s metastázováním TNBC a nižším přežitím pacientek.² PCR i imunofluorescence v této studii ukázaly, že hladiny SYNPO2 byly u TNBC po aplikaci VitC zvýšeny.

Vitamin C snižuje v buňkách TNBC expresi YAP1

SYNPO2 potlačuje metastázy inhibicí aktivity transkripčního koaktivátoru YAP1. Jako klíčový regulátor podporuje YAP1 tvorbu fokálních adhezí a metastá-



Obr. 1. Pravostranný karcinom prsu (mamografie).

zy; v buňkách TNBC byl downregulován, což potvrdilo vyšetření PCR. Imunoblotty a imunofluorescence ukázaly, že hladina YAP1 byla v buňkách MDA-MB 231 po stejné dávce VitC snížena.

Vitamin C inhibuje v buňkách TNBC tvorbu lamelipodií

YAP1 podporuje metastázování regulací dynamiky aktinu, který vytváří vláknitý aktin (F-aktin) z monomerního aktinu za vzniku výběžků označovaných jako lamelipodia; ta pomáhají mobilitě buněk. Podání VitC redukovalo vznik lamelipodií a poměr F-/G-aktinu. Výsledky ukázaly, že VitC inhibuje tvorbu F-aktinu a lamelipodií, což koreluje s upregulací SYNPO2 a downregulací YAP1. Tím působí proti metastázování maligních buněk.

Diskuse

Nedostatečný příjem vitamínu C je spojován s rizikem vzniku karcinomu mammy, jeho metastázování a vyšší mortalitou. Metaanalýza u 17 696 pacientek ukázala významnou souvislost mezi

suplementací vitamínu C a sníženou mortalitou.³ Ačkoliv může být VitC podán v různých formách, perorální VitC je snadno dostupný a komfortně aplikovatelný. TNBC je spojena s časnými metastázami a krátkým celkovým přežitím. Na animálních modelech byla prokázána inhibice metastázování po perorální suplementaci VitC. Kromě demethylace DNA ovlivněním TET VitC moduluje transkripci v buňkách TNBC zvýšením deacetylase a demethylase histonů. Referovaná studie zkoumala SYNPO2 a YAP1, jejichž exprese v buňkách MDA MB-231 byla výrazně změněna aplikací VitC. Aktivace YAP1 podporuje sestavení F-aktinu a lamelipodií, které jsou nezbytné pro buněčnou mobilitu a expanzi. Výsledky ukazují, že VitC snižuje expresi YAP1 a zvyšuje SYNPO2. Podávání VitC tak inhibuje sestavení F-aktinu a tvorbu lamelipodií, což přispívá k omezení metastázování maligních buněk TNBC.

Závěr

Závěrem lze shrnout, že vitamin C inhibuje metastázování buněk triple negativní

ho karcinomu prsu nezávisle na HIF-1, a to pravděpodobně ovlivněním exprese dvou proteinů (YAP1 a SYNPO2), regulujících buněčnou mobilitu a metastázování maligních tumorů. Výsledky této studie naznačují potenciální roli perorální suplementace vitamínu C v prevenci a léčbě metastáz karcinomu prsu. ■

Literatura

1. Gan L, Camarena V, Mustafi S, et al. Vitamin C inhibits triple-negative breast cancer metastasis by affecting the expression of YAP1 and Synaptopodin 2. *Nutrients* 2019;11:2997.
2. Jing L, Liu L, Yu YP. Expression of myopodin induces suppression of tumor growth and metastasis. *Am J Pathol* 2004;164:1799-1806
3. Harris HR, Bergkvist L, Wolk A. Vitamin C intake and breast cancer mortality in a cohort of Swedish women. *Br J Cancer* 2013;109:257-264.

PharmDr. Marek Lapka,
MUDr. Pavel Kostiuk, CSc.