Witamina C w terapii przeciwnowotworowej? – przegląd danych klinicznych i przedklinicznych

Katarzyna Regulska¹, Maria Litwiniuk^{2,3}

¹ Wielkopolskie Centrum Onkologii, Poznań, Polska

² Oddział Chemioterapii, Wielkopolskie Centrum Onkologii, Poznań, Polska

³ Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Use of vitamin C in anticancer therapy? – preclinical and clinical data overview

The use of intravenous, high-dose vitamin C in cancer therapy has remained controversial for a long time. Despite this, it has been commonly administered for decades by complementary health care practitioners. This article reviews the existing clinical and pre-clinical data on the efficacy and safety of L-ascorbic acid in oncological diseases, with the emphasis on the following issues: 1) Does vitamin C demonstrate therapeutic efficacy? In which clinical situations? 2) What is the mechanism of vitamin C action? 3) Is the use of vitamin C in oncology safe? 4) What is the effect of vitamin C on other therapies used simultaneously? Based on the analysis of available literature, it has been concluded that although L-ascorbic acid exhibits a possible anticancer effect, as shown mainly by preclinical studies, the reliable clinical data justifying the introduction of vitamin C into conventional oncology has been lacking so far. In fact, the following issues still remain unknown: types of cancer that could be sensitive to high-dose vitamin C therapy, groups of patients that could benefit from such management, doses, routes of administration and pharmaceutical forms that could provide an optimal anticancer effect, the molecular mechanism of vitamin C anticancer action, the impact of vitamin C on the concurrently used therapies, including chemotherapy, impact of vitamin C on the quality of life of oncological patients. So far, the available clinical trials have not confirmed the positive reports from experimental studies. Therefore, it is suggested that patients intending to undergo such treatment should be informed that there is no evidence to justify the anticancer efficacy of vitamin C infusions and that in certain populations (i.e. patients with deficiency of glucose 6-phosphate dehydrogenase, renal dysfunction or haemochromatosis) vitamin C infusions may cause serious adverse effects. However, there seems to be sufficient evidence to continue research on the role of vitamin C in cancer treatment.

Keywords: L-ascorbic acid, intravenous infusion, alternative therapy, chemotherapy.

Adres do korespondencji

Katarzyna Regulska, Wielkopolskie Centrum Onkologii, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań, e-mail: katarzyna.regulska@wco.pl

Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

Konflikt interesów:

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.05.31

Zaakceptowano: 2020.06.04

Opublikowano on-line: 2020.06.12

DOI

10.32383/farmopol/123816

ORCID

Katarzyna Regulska (ORCID iD: 0000-0002-9584-3128)

Maria Litwiniuk (ORCID iD: 0000-0001-8428-3877)

Copyright

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie, na licencji CC BY NC <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Wstęp

Witamina C (kwas L-askorbinowy) jest związkiem organicznym niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu, wykazującym bardzo dużą aktywność biologiczną oraz działanie plejotropowe. W odróżnieniu od większości zwierząt, człowiek oraz pozostałe ssaki rzędu naczelnych w toku ewolucji utraciły zdolność jej endogennej syntezy, stąd muszą wyrównywać jej naturalny niedobór drogą suplementacji [1]. Zalecane dzienne spożycie witaminy C wg rozporządzenia MZ z 18.01.2016 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego (Dz.U. 16, poz. 89) wynosi 80 mg. Zapasy witaminy C w organizmie są niewielkie i oscylują w granicach 300 mg do około 2000 mg [2]. Witamina C łatwo wchłania się z przewodu pokarmowego, ale jej dostępność biologiczna po podaniu doustnym jest zależna od

dawki i podlega wielokierunkowej regulacji m.in. przez proces wchłaniania jelitowego, resorpcję oraz wydalanie nerkowe. Dla dawki *p.o.* poniżej 200 mg biodostępność wynosi 100% natomiast dla dawek wyższych stopniowo spada, osiągając wartość stałą – 33% dla dawki przekraczającej 1250 mg [3]. Stan ten wynika z aktywacji endogennych mechanizmów obronnych, tj.: ograniczenia wchłaniania za sprawą wysycenia błonowych nośników transportu aktywnego oraz nasilenia wydalania nerkowego. Wchłanianie witaminy C z przewodu pokarmowego do tkanek odbywa się z udziałem Na^+ -zależnych transporterów specyficznych dla witaminy C (ang. *sodium-dependent vitamin C transporter*, SVCT). Po wchłonięciu, witamina C ulega procesowi utlenienia do kwasu dehydroaskorbinowego (DHA), który w procesie dyfuzji ułatwionej jest przenoszony do komórek przez transportery glukozy (GLUT). DHA w komórkach zostaje zredukowany z powrotem do kwasu

Rycina 1. Mechanizm transportu dokomórkowego kwasu L-askorbinowego oraz mechanizm działania prooksydacyjnego. DHA – kwas dehydroaskorbinowy, GLUT1 – transporter glukozy 1, GSH – glutation, SVCT – Na^+ -zależny transporter specyficzny dla witaminy C.

Figure 1. Intracellular transport of L-ascorbic acid and mechanism of its prooxidative action. DHA – dehydroascorbic acid, GLUT1 – glucose transporter 1, GSH – glutathione, SVCT – sodium-dependent vitamin C transporter.

Rycina 2. Metabolizm kwasu L-askorbinowego w organizmie człowieka oraz mechanizm działania antyoksydacyjnego.

RFT – reaktywne formy tlenu.

Figure 2. Metabolic pathways of ascorbic acid and mechanism of its anti-oxidative action.

RFT – reactive oxygen species.

L-askorbinowego przy udziale glutationu (GSH) oraz NADPH i wywiera swoje działanie pleiotropowe (**rycina 1**).

Część puli endogennego DHA ulega hydrolizie do nieaktywnego kwasu 2,3-diketogulonowego, a ten metabolizowany jest dalej do kwasu szczawowego, który podlega procesowi eliminacji nerkowej (**rycina 2**).

Okres biologicznego półtrwania witaminy C jest krótki i wynosi 30–120 min [4]. W osoczu zdrowego człowieka średnie stężenie witaminy C oscyluje wokół 50 μM , podczas gdy w tkankach jest ono dużo wyższe i dochodzi do 0,5–4,0 mM. Fizjologicznie, będąc donorem dwóch elektronów, kwas L-askorbinowy bierze udział w wielu reakcjach enzymatycznych jako kofaktor, uczestnicząc między innymi w biosyntezie kolagenu, katecholamin, hormonów steroidowych i L-karnityny. Oprócz tego kwas L-askorbinowy zwiększa przyswajanie żelaza niehemowego oraz wapnia, a także bierze udział w metabolizmie cholesterolu i tyrozyny, w aktywacji cytochromu P450 oraz regulacji odpowiedzi na hipoksję. Ponadto, dzięki zdolnościom do tworzenia układów redoks, kwas L-askorbinowy chroni komórki organizmu przed stresem oksydacyjnym i w ten sposób zabezpiecza je przed uszkodzeniem (**rycina 2**) [5]. Historia odkrycia witaminy C jest związana z działaniami mającymi na celu poznanie etiologii szkorbutu, czyli choroby wielonarządowej spowodowanej nieprawidłowym stanem tkanki łącznej wskutek zaburzeń biosyntezy kolagenu. Głównymi objawami szkorbutu są uszkodzenia naczyń włosowatych, samostne krwawienia, zapalny przerost dziąseł oraz rozchwianie zębów. W okresie wielkich odkryć geograficznych, na przełomie XV i XVI w., szkorbut był główną przyczyną śmierci i inwalidztwa żeglarzy, którzy podczas długotrwałych rejsów nie mieli dostępu do zbilansowanej diety, uzupełniającej niedobory witaminy C. Związek pomiędzy spożyciem owoców cytrusowych, bogatych w witaminę C a redukcją objawów szkorbutu zidentyfikował szkocki lekarz James Lindt w 1753 r.

Jednakże dopiero w 1928 r. węgierskiemu biochemikowi, Albertowi Szent-Györgyi, udało się po raz pierwszy wyizolować witaminę C z bydłej kory nadnerczy i soku pomarańczowego oraz udowodnić jej właściwości przeciwskorbutowe. Następnie, w 1933 r. Szent-Györgyi i brytyjski profesor sir Walter Norman Haworth ustalili strukturę chemiczną kwasu L-askorbinowego, a w roku 1937 za badania nad tym związkiem obydwaj otrzymali Nagrodę Nobla [1, 6].

Znajomość mechanizmów biosyntezy kolagenu zależnej od witaminy C bezpośrednio przyczyniła się do powstania w latach 50. XX wieku koncepcji wykorzystania tego związku w leczeniu chorób nowotworowych. Twórcą tej do dziś kontrowersyjnej teorii był kanadyjski lekarz William James McCormick (1880–1968), który jako pierwszy wysnuł hipotezę, że niedobór kwasu L-askorbinowego powoduje osłabienie struktur kolagenowych i pogorszenie stanu tkanki łącznej u pacjentów onkologicznych, co w konsekwencji miało ułatwiać inwazję guza i tworzenie przerzutów. McCormick prowadził prywatną praktykę lekarską w Toronto i do roku 1964 realizował badania w zakresie skuteczności przeciwnowotworowej witaminy C [7–9]. Kontynuacją myśli McCormicka stały się badania szkockiego chirurga Ewana Camerona i Allana Campbella nad wpływem wysokich dawek witaminy C, podawanych doustnie i dożylnie, na przebieg choroby nowotworowej. Badacze sądzili wówczas, że potencjalny efekt przeciwnowotworowy kwasu L-askorbinowego wynika z blokowania enzymu hialuronidazy, co miało ograniczać rozsiew nowotworowy [10]. W latach 70. XX w. badaniami tymi zainteresował się wybitny amerykański fizyk i chemik, dwukrotny laureat Nagrody Nobla, Linus Pauling, który został wielkim zwolennikiem codziennego stosowania wysokich, kilkugramowych dawek witaminy C [11, 12]. Najśłynniejszym wyrazem jego głębokiego przekonania o przeciwnowotworowych właściwościach tego związku jest artykuł z 1979 r. opublikowany na łamach czasopisma „Cancer Research”, w którym

wraz z Cameronem i Leibovitzem dokonał przeglądu danych naukowych na temat zastosowania witaminy C w onkologii wraz z próbą naukowego uzasadnienia takiego postępowania. Sam uczony również poddawał się podobnej kuracji i wierzył w to, że to właśnie dzięki niej dożył 93 lat [13]. Zaangażowanie Paulinga, uważanego przez niektórych za najbardziej wpływowego naukowca XX w., w badania nad przeciwnowotworowymi właściwościami kwasu L-askorbinowego spowodowało, że koncepcja ta upowszechniła się i funkcjonuje do dziś, głównie w kręgach medycyny alternatywnej, prawdopodobnie jako jedna z najbardziej popularnych metod uzdrawiających.

Brak jest jednak danych obrazujących wiarygodnie skalę zjawiska, jakim jest stosowanie witaminy C w postaci wlewów wysokodawkowych wśród pacjentów onkologicznych w Polsce. Dostępne są natomiast wyniki badań sondażowych z roku 2006 i 2008 przeprowadzonych podczas konferencji medycyny komplementarnej i alternatywnej w Stanach Zjednoczonych, które wykazały, że podawanie witaminy C w wysokich dawkach jest często proponowane pacjentom cierpiącym z powodu stanów zapalnych, zmęczenia oraz nowotworów. Ze 199 respondentów – praktyków medycyny alternatywnej, 172 przyznało, że w 2006 r. przetaczało kwas L-askorbinowy łącznie 11 233 pacjentom, a w 2008 r. – 8 867 pacjentom, średnio 22 dawki po 28 g na osobę [14]. Dane te wydają się niedoszacowane z uwagi na fakultatywny charakter udziału w ankiecie, tym niemniej już na ich podstawie można uznać tę niekonwencjonalną metodę terapeutyczną za popularną, co zdecydowanie uzasadnia podjęcie tematu jej rzeczywistej skuteczności i bezpieczeństwa w onkologii. Przedstawiona problematyka wydaje się szczególnie istotna również w świetle ostatnich badań naukowców z Yale School of Medicine w Connecticut z 2018 r., którzy wykazali, że stosowanie alternatywnych metod leczenia nowotworów zamiast leczenia konwencjonalnego przyczynia się średnio do ponad 2,5-krotnego wzrostu ryzyka śmierci z powodu choroby nowotworowej, w szczególności w przypadku raka piersi i raka jelita grubego [15]. W związku z powyższym w kontekście celowości zastosowania witaminy C w terapii onkologicznej, należy zastanowić się nad następującymi kwestiami: 1) Czy u pacjentów onkologicznych istnieje potrzeba wyrównania niedoboru witaminy C? 2) Jaki jest mechanizm działania witaminy C? 3) Czy witamina C wykazuje skuteczność terapeutyczną, na podstawie jakich dowodów i w jakich sytuacjach klinicznych? 4) Jaki jest wpływ witaminy C na inne, jednocześnie stosowane terapie? 5) Czy stosowanie witaminy C w onkologii jest bezpieczne? W dalszej części niniejszego

artykułu przedstawiona zostanie analiza dostępnego piśmiennictwa w przedmiotowym zakresie.

Niedobór witaminy C u pacjentów onkologicznych

Niedobór witaminy C jest stanem często występującym w przebiegu chorób przewlekłych u pacjentów hospitalizowanych, po przebytym zabiegu operacyjnym oraz u palaczy. Objawia się on zmęczeniem, bólem mięśni, słabym gojeniem się ran, obrzękami kończyn dolnych, obrzękami dziąseł, bólami pleców i stawów, krwotokami w tkankach miękkich oraz omdleniami. Również u pacjentów onkologicznych odnotowywano istotne niedobory witaminy C, które prawdopodobnie były związane z zapalnym podłożem choroby podstawowej oraz współtowarzyszącym jej stresem oksydacyjnym, powodującym zwiększoną mobilizację askorbinianu. Stan niedoboru witaminy C prawdopodobnie pogłębia leczenie chirurgiczne, radio- i chemioterapię. Stopień niedoboru witaminy C w przebiegu choroby nowotworowej wydaje się być uzależniony od rozpoznania – typu oraz stadium nowotworu, co zobrazowano w tabeli 1 [16].

W związku z powyższym można zastanowić się nad tym, czy uzupełnienie niedoboru witaminy C u pacjentów onkologicznych może wywierać korzystny efekt przeciwzapalny. Co ciekawe, w badaniu klinicznym (n = 45 pacjentów) z różnymi typami nowotworów wykazano spadek poziomu markerów zapalnych CRP, IL-1 α , IL-2, IL-8, TNF- α po podaniu witaminy C i.v. (7,5–50 g) u 75% badanych, co korelowało z obniżonym poziomem markerów nowotworowych PSA, CEA, CA27.29 i CA15-3. Nie oceniono natomiast

Tabela 1. Poziom witaminy C u pacjentów onkologicznych w zależności od lokalizacji nowotworu i stadium zaawansowania [16].

Table 1. The concentration of vitamin C in cancer patients correlated to cancer site and stadium [16].

Lokalizacja nowotworu	Liczba pacjentów	Poziom witaminy C [μ M]
Żołądek	30	26,0 $\pm$ 0,5
Głowa i szyja	22	18,5 $\pm$ 10,5
Różne, zaawansowane	193	5,5 $\pm$ 1,0
Pierś stadium I	20	50,0 $\pm$ 15,0
Pierś stadium II	30	40,0 $\pm$ 10,0
Pierś stadium III	40	20,0 $\pm$ 5,0
Pierś stadium IV	10	15,0 $\pm$ 5,0
Szyjka macicy I	20	30,5 $\pm$ 10,0
Szyjka macicy II	30	25,0 $\pm$ 11,5
Szyjka macicy III	40	22,0 $\pm$ 12,0
Szyjka macicy IV	10	18,5 $\pm$ 6,5

Rycina 3.

Potencjalne mechanizmy działania przeciwnowotworowego kwasu L-askorbinowego.

Figure 3.

Potential mechanisms of anticancer activity of L-ascorbic acid.

wpływu takiego postępowania na wskaźniki przeżycia [17].

Potencjalny mechanizm działania przeciwnowotworowego witaminy C – przegląd danych przedklinicznych

Pierwotnie potencjalne przeciwnowotworowe działanie witaminy C tłumaczono jej wpływem na biosyntezę kolagenu (McCormick) oraz blokowanie enzymu hialuronidazy (Cameron i Campbell). Hipotezy te stanowiły w latach 70. jedyną przesłankę do prowadzenia prób klinicznych w tym zakresie, jednakże jak dotąd nie znalazły one potwierdzenia w badaniach z udziałem pacjentów onkologicznych.

Późniejsze badania przedkliniczne *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowych raka prostaty, trzustki, jelita grubego, piersi, raka wątrobowokomórkowego oraz nerwiaka płodowego wykazały antyproliferacyjne działanie kwasu L-askorbinowego w stężeniach milimolowych 0,1–100 mM [18–23]. Jak do tej pory nie uzasadniono jednak jednoznacznie na czym polega mechanizm odpowiedzialny za obserwowane efekty. Istnieje kilka hipotez w tym zakresie, które sugerują wpływ witaminy C na procesy redoks

w komórce oraz na aktywność enzymów z grupy dioksygenaz (rycina 3) [4].

Zgodnie z teorią ingerencji w mechanizmy oksydoredukcyjne działanie antyproliferacyjne witaminy C może mieć związek z jej właściwościami utleniającymi. Uważa się, że witamina C w stężeniach milimolowych (farmakologicznych) ulega autooksydacji w mikrośrodkowisku guza bądź też wchodzi w reakcje redoks z labilną formą metali przejściowych, takich jak żelazo i miedź, a reakcji tej towarzyszy wytwarzanie nadtlenu wodoru oraz rodnika hydroksylowego (rycina 1). Kumulacja witaminy C w komórkach nowotworowych wynika prawdopodobnie z nadekspresji białka GLUT, które jest dokomórkowym transporterem utlenionej formy witaminy C, a także glukozy, która jest niezbędna do pokrycia zapotrzebowania metabolicznego komórki. Jednocześnie w komórkach nowotworowych stwierdza się deficyt katalazy – enzymu rozkładającego nadtlenek wodoru do tlenu i wody. Deficyt katalazy jest jednym z mechanizmów, który umożliwia guzom szybki wzrost. Stężenie nadtlenu wodoru wewnątrz komórek raka utrzymujące się poniżej 1 mM jest bowiem czynnikiem sygnalizacyjnym, stymulującym proliferację i zwiększającym przeżywalność. Jednak stężenia H_2O_2 generowane

przez farmakologiczne dawki witaminy C są o wiele większe. W konsekwencji reaktywny H_2O_2 powoduje wybiórcze uszkodzenie komórek nowotworowych, prawdopodobnie poprzez modyfikację ich DNA, a także poprzez pozbawianie ich rezerw ATP, co w konsekwencji może prowadzić do zahamowania proliferacji i śmierci na drodze apoptozy lub nekrozy [1, 4, 23]. Efekt prooksydacyjny kwasu L-askorbinowego może nasilać również fakt, że wewnątrzkomórkowa reaktywacja witaminy C z jej formy utlenionej (DHA), czyli tej, która podlega transportowi zależnemu od GLUT, zmniejsza rezerwy endogenne GSH i NADPH. Warto w tym miejscu podkreślić, że na liniach komórkowych raka piersi oraz chłoniaka Burkitta wyjaśniono, że ostateczny efekt pro- lub antyoksydacyjny askorbinianu jest uzależniony od jego aktualnego stężenia w osoczu, przy czym działanie antyoksydacyjne dominuje w stężeniach fizjologicznych (60–100 μM), podczas gdy w stężeniach farmakologicznych rzędu 0,3–20 mM ujawniają się opisane powyżej właściwości prooksydacyjne [23]. W badaniach na zwierzętach doświadczalnych – myszach z przeszczepionymi liniami komórek niedrobnokomórkowego raka płuca i glejaka wielopostaciowego, prooksydacyjne, toksyczne

działanie witaminy C podawanej dootrzewnowo w dawce 4 g/kg/dzień, związane było z produkcją H_2O_2 oraz reakcjami redoks zależnymi od metali przejściowych i było ono selektywne wobec komórek nowotworowych [24]. Podobny efekt, wiążący się ze zmniejszonym wzrostem guzów pierwotnych i wtórnych, obserwowano w badaniach *in vivo* z wykorzystaniem modeli: raka trzustki [19], wątroby [25], prostaty [26] i jajnika [27, 28]. Na przykładzie komórek raka jajnika, bardziej szczegółowa analiza ścieżek transdukcji sygnału wykazała, że w środowisku prooksydacyjnych stężeń kwasu L-askorbinowego dochodziło do obniżenia wewnątrzkomórkowego stężenia ATP, aktywacji szlaku związanego z kinazą ATM (ang. *ataxia telangiectasia mutated*) i kinazą aktywowaną 5'AMP (ang. *5'AMP-activated protein kinase*, AMPK) oraz do zahamowania kinazy mTOR, (ang. *mammalian target of rapamycin kinase*), co powodowało śmierć komórek nowotworowych [29]. Na podstawie tych danych przedklinicznych sugerowano wykorzystanie witaminy C jako proleku dla nadtlenu wodoru [23]. Realizacja tej koncepcji wymagałaby jednak opracowania odpowiedniej postaci farmaceutycznej, która zapewni dostarczenie leku w odpowiednim stężeniu do

Rycina 4. Regulacja aktywności HIF-1 przez kwas L-askorbinowy. αKG – alfa-ketoglutaran, DHA – kwas dehydroaskorbinowy, HIF – czynnik indukowany hipoksją.

Figure 4. L-ascorbic acid-dependent regulation of HIF-1 activity. αKG – alpha-ketoglutaric acid, DHA – dehydroascorbic acid, HIF – hypoxia-inducible factor

miejsca działania wewnątrz komórki nowotworowej. W świetle dostępnych danych literaturowych obecnie takie badania nie są prowadzone. Ponadto, jak dotąd brak ostatecznych dowodów na to, że efekt prooksydacyjny witaminy C ujawnia się u ludzi z chorobą nowotworową.

Alternatywnym mechanizmem przeciwnowotworowego działania witaminy C może być regulacja aktywności hydroksylaz, które uczestniczą w procesach degradacji czynnika indukowanego hipoksją (HIF-1) (**rycina 4**). HIF-1 jest czynnikiem transkrypcyjnym, odpowiedzialnym za ekspresję genów umożliwiających adaptację komórki do stanu hipoksji, między innymi regulujących funkcję układu naczyniowego, proliferację, żywotność komórek oraz aktywację enzymów cyklu glikolitycznego. Nadmiar HIF-1 w mikrośrodkowisku guza przyczynia się do stymulacji angiogenezy oraz zwiększonej przeżywalności komórek nowotworowych w warunkach stresu. Unieczynnienie HIF-1 wymaga enzymatycznej hydroksylacji, a kofaktorami tej reakcji są żelazo i askorbinian. W wyniku hydroksylacji dochodzi do zależnej od ubikwityny proteasomowej degradacji HIF-1. W komórkach z niedoborem witaminy C działanie hydroksylazy jest osłabione, a aktywność transkrypcyjna HIF-1 wzmożona, co może się przyczyniać do progresji choroby nowotworowej. Stąd uzupełnienie puli askorbinianu drogą wlewu dożylnego może indukować działanie hydroksylaz powodujących degradację HIF-1 i w konsekwencji działanie przeciwnowotworowe [4]. Dostępne są badania *in vitro* i badania na zwierzętach, które wstępnie potwierdzają tę hipotezę. Wykazano między innymi odwrotnie proporcjonalną zależność pomiędzy stężeniem witaminy C a ekspresją HIF-1 w guzach tarczycy, a także zależną od dawki zmniejszoną ekspresję HIF-1 i GLUT w komórkach raka tarczycy [30]. Również w mysim modelu raka płuca ekspozycja zwierząt na wysokie dawki witaminy C powodowała redukcję ekspresji HIF-1, VEGF oraz zmniejszoną gęstość mikro naczyń w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt eksponowanych na niskie dawki witaminy C [31, 32]. Ponadto, retrospektywna analiza próbek tkanek ludzkich nowotworów endometrium, jelita grubego i tarczycy wykazała odwrotną zależność pomiędzy stężeniem witaminy C w tkance a obecnością markerów aktywacji HIF. Wyższe stężenie kwasu askorbinowego korelowało ponadto z dłuższym wskaźnikiem przeżycia wolnego od choroby w raku jelita grubego [33].

Do tej samej rodziny enzymów co hydroksylazy HIF-1 należą demetylazy histonów takich jak dioksygenazy TET (ang. *ten-eleven translocation dioxygenase*). Wykazano eksperymentalnie, że witamina C odgrywa rolę kofaktora dla

białek TET, które są odpowiedzialne za aktywną demetylację DNA i histonów poprzez hydroksylację metylowanych reszt cytozyny. Białka TET1, TET2 i TET3 utleniają 5-metylocytozynę (5-mC) do 5-hydroksymetylocytozyny (5-hmC), która może być dalej utleniana do 5-formylocytozyny (5-fC) i 5-karboksycytozyny (5-caC). Następnie dochodzi do usunięcia 5-fC oraz 5-caC i zastąpienia ich cytozyną, skutkiem czego jest demetylowany DNA. Zatem witamina C, współuczestnicząc w aktywacji białek TET, bierze udział w reprogramowaniu i regulacji epigenomu (**rycina 5**). W stanie fizjologicznym mechanizmy epigenetyczne wykorzystywane są między innymi do wyciszania ekspresji genów uszkodzonych lub niepotrzebnych na przykład drogą metylacji DNA, co umożliwia powstanie stałych wzorców ekspresji genów dla danej komórki [4]. Interesującą obserwacją jest jednocześnie fakt obniżonego poziomu 5-hmC w większości ludzkich nowotworów, a to z kolei, jak wykazano w badaniach na liniach komórkowych raka piersi i raka stercza, może mieć związek z progresją nowotworu [34]. Stąd hipoteza, że znaczny niedobór witaminy C u chorych na nowotwory może wpływać na dynamikę procesów metylacji i demetylacji DNA i dalej przedkładać się na ich niski poziom modyfikacji epigenetycznych. Co ciekawe, obecność kwasu L-askorbinowego w stężeniach rzędu 100 μ M w hodowlach komórek czerniaka powodowała przywrócenie w nich normalnego poziomu 5-hmC oraz hamowanie migracji i wzrostu komórek złośliwych [35]. W związku z powyższym przypuszcza się, że suplementacja witaminy C, stanowiąca uzupełnienie terapii przeciwnowotworowej, może doprowadzić do przywrócenia wyjściowego poziomu epigenetycznych modyfikacji DNA w komórkach nowotworowych oraz do zahamowania kancerogenezy. Najwięcej danych eksperymentalnych oceniających prawdopodobieństwo takiego mechanizmu działania pochodzi z badań wykorzystujących model ostrej białaczki szpikowej (AML). Wykazano bowiem, że u około 10% pacjentów z AML występuje mutacja w genie TET2 [34, 36]. W badaniu wykorzystującym myszy model białaczki podaż witaminy C powodowała wzrost 5-hmC u zwierząt doświadczalnych typu knock-out z wyłączonym genem TET2, ogólną hipometylację DNA oraz supresję choroby [37]. Z kolei w randomizowanym badaniu I fazy w grupie pacjentów z nowotworami układu krwiotwórczego, leczonych 5-azacytydyną (n = 20), doustna suplementacja witaminy C w dawce 500 mg dziennie spowodowała wyrównanie istniejącego niedoboru tego związku w organizmie oraz wzrost stężenia 5-hmC/5-mC w grupie badanej w porównaniu z grupą placebo

[38] Jednakże również w przypadku tej hipotezy, jak na razie, brak wystarczająco przekonujących badań klinicznych potwierdzających jej słuszność.

Istnieją również pewne doniesienia wskazujące, że podaż witaminy C może nasilać działanie hydroksylaz odpowiedzialnych za stabilizację czwartorzędowej struktury kolagenu w środowisku guza. Działanie to może przyczyniać się do wzmożenia produkcji zewnątrzkomórkowego kolagenu oraz do wzmocnienia struktury macierzy zewnątrzkomórkowej. W badaniu wykorzystującym zwierzęcy model raka trzustki suplementacja witaminy C powodowała zwiększenie stężenia kolagenu w środowisku guza, co korelowało ze zmniejszoną inwazją nowotworu [39]. Podobnie, w mysim modelu czerniaka i raka piersi podaż witaminy C powodowała zwiększoną produkcję kolagenu wokół guza, zmniejszenie stężenia cytokin prozapalnych (IL-6) raz zmniejszoną liczbę ognisk przerzutowych [40].

Witamina C w skojarzeniu z chemio- i radioterapią w badaniach przedklinicznych

Wiadomym jest, że kwas L-askorbinowy nie należy do substancji obojętnych farmakologicznie. Z tego powodu istotnym z klinicznego punktu widzenia wydaje się podjęcie tematyki oddziaływania tego związku na inne leki jednocześnie stosowane w ramach standardowej chemio- i radioterapii. Jest to szczególnie ważne w kontekście dość dużej skali praktyk uzdrawiających obejmujących dożylne podawanie wysokich dawek witaminy C. Pamiętać należy bowiem o tym, że efekt interakcji kwasu L-askorbinowego z innymi, konwencjonalnie stosowanymi substancjami leczniczymi może być wielokierunkowy, zarówno pozytywny, jak i negatywny, co wykazano w badaniach przedklinicznych, których skrótowy przegląd przedstawiono w tabeli 2.

Rycina 5. Regulacja epigenomu przez kwas L-askorbinowy. 5C – cytozyna, 5-caC – 5-karboksycytozyna, 5-fC – 5-formylocytozyna, 5-hmC – 5-hydroksymetylocytozyna, 5-mC – 5-metylocytozyna, DHA – kwas dehydroaskorbinowy, DNMT – DNA-metylotransferaza, TET – TET metylocytozyna dioksygenaza.

Figure 5. L-ascorbic acid-dependent regulation of epigenome. 5C – cytosine, 5-caC – 5-carboxycytosine, 5-fC – 5-formylcytosine, 5-hmC – 5-hydroxymethylcytosine, 5-mC – 5-methylcytosine, DHA – dehydroascorbic acid, DNMT – DNA-methyltransferase, TET – ten-eleven translocation dioxygenase.

Tabela 2. Podsumowanie danych z badań przedklinicznych dotyczących skuteczności witaminy C w terapii onkologicznej.

Table 2. The summary of preclinical data on the efficiency of vitamin C in cancer therapy.

Rodzaj nowotworu	Efekt	Piśmiennictwo
Pozytywne działanie		
Rak jajnika	<i>In vitro</i> – nasilenie cytotoksycznego efektu trójtlenku arsenu, <i>in vivo</i> – nasilenie działania paklitakselu i karboplatyny	27, 28
Rak trzustki	<i>In vitro, in vivo</i> – nasilenie cytotoksycznego efektu gemcytabiny, działanie prooksydacyjne, <i>in vivo</i> – nasiloną produkcją H ₂ O ₂ , spowolnienie wzrostu guza i przedłużenie przeżycia zwierząt	19, 41, 42
Rak wątrobowokomórkowy	<i>In vitro, in vivo</i> – zahamowanie wzrostu guza po podaniu <i>i.v.</i> , nasiloną nekrotyczną śmierć komórek, działanie prooksydacyjne	25, 29
Rak prostaty	<i>In vivo</i> – zahamowanie wzrostu guza pierwotnego i przerzutów	27
Rak piersi	<i>In vivo</i> – nasilenie efektu terapii fotodynamicznej, nasilenie działania dokсорubicyny, paklitakselu i cisplatyny. Nasilenie działania erybuliny, trastuzumabu, tamoksifenu, fulwestrantu	43–45
Niedrobnokomórkowy rak płuca	<i>In vivo</i> – nasilenie działania karboplatyny.	24
Glejak wielopostaciowy	<i>In vitro, in vivo</i> – nasilenie radiowrażliwości komórek oraz wzmocnienie cytotoksyczności temozolomidu	24, 46
Białaczka	Zmniejszona kardiotoksyczność adriamycyny.	47
Rak prostaty, piersi, pęcherza moczowego	<i>In vitro</i> – brak niekorzystnych interakcji farmakodynamicznych z 5-fluorouracylem, etopozydem, cisplatyną, dokсорubicyną i paklitakselem, nasilenie ich działania cytotoksycznego	25
Rak piersi, potrójnie ujemny	<i>In vitro</i> – Indukcja działania metotreksatu, wzrost stężenia H ₂ O ₂ , aktywacja szlaków śmierci komórki zależnych od kaspazy-3 i p38	48
Rak jelita grubego, żołądka	<i>In vivo</i> – nasiloną śmierć komórek nowotworowych z mutacją KRAS i BRAF Nasilenie działania oksaliplatyny i irinotekanu <i>in vitro</i> na liniach CRS	49, 50
Negatywne działanie		
Białaczka i chłoniak	Oslabienie działania dokсорubicyny, metotreksatu, cisplatyny, imatynibu	51
Szpiczak mnogi	<i>In vivo</i> – osłabienie działania bortezomibu	52

W badaniach na modelach zwierzęcych wykazano między innymi zmniejszoną kardiotoksyczność adriamycyny przy jednoczesnym stosowaniu witaminy C, bez jednoczesnego wpływu na skuteczność przeciwnowotworową cytostatyku, co ostatecznie przełożyło się na wydłużenie przeżycia zwierząt eksperymentalnych z wszczepionymi komórkami białaczkowymi [47]. Ponadto, w badaniach na liniach komórkowych raka piersi, witamina C w stężeniach 0,1 mM i 1 mM nasilała efekt cytotoksyczny dokсорubicyny, paklitakselu i cisplatyny, jednak autorzy nie wskazali, na drodze jakiego mechanizmu powyższa reakcja miała miejsce [44]. Podobnie, w badaniu na liniach komórkowych raka prostaty, raka piersi i raka pęcherza moczowego nie obserwowano negatywnych interakcji farmakodynamicznych pomiędzy witaminą C a 5-fluorouracylem, etopozydem, cisplatyną, dokсорubicyną i paklitakselem w stężeniach farmakologicznych [25]. Synergizm działania kwasu askorbinowego i standardowej chemioterapii pierwszego rzutu na bazie karboplatyny i paklitakselu oraz zmniejszona toksyczność leczenia systemowego widoczne były w badaniu wykorzystującym myszy model raka jajnika [28] oraz w niedrobnokomórkowym raku płuca [24]. Analogicznie, w badaniu na modelu mysim raka trzustki obserwowano nasilenie działania cytotoksycznego gemcytabiny (30 lub 60 mg/kg co 4 dni)

w skojarzeniu z witaminą C (4 g/kg dziennie) [41], a w glejaku wielopostaciowym odnotowano zwiększoną radiowrażliwość komórek nowotworowych poprzez nasilenie uszkodzenia DNA i zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M pod wpływem farmakologicznych (5 mM) stężeń witaminy C [46]. Kwas L-askorbinowy uwrażliwiał również komórki glejaka wielopostaciowego na leczenie standardowe temozolomidem i radioterapią [24] oraz nasilał efekt terapii fotodynamicznej u myszy, którym wszczepiono komórki raka piersi [43]. Co więcej, w doświadczeniach przeprowadzonych na liniach komórkowych raka piersi stwierdzono, że skojarzenie wysokich dawek witaminy C z erybuliną w liniach MDA-MB-231 i MCF7, tamoksyfenu lub fulwestrantem w liniach MCF-7 i z trastuzumabem w liniach SK-BR3 powodowało większe zahamowanie żywotności komórek niż zastosowanie tych leków bez witaminy C [45]. Wreszcie, interesujące obserwacje dotyczą działania witaminy C w liniach komórkowych raka jelita grubego. Obserwowano między innymi nasiloną śmierć komórek nowotworowych z mutacją KRAS i BRAF pod wpływem witaminy C, a także nasilenie działania irinotekanu i oksaliplatyny [49, 50].

W tym miejscu należy jednak podkreślić, że nawet 99% związków, które wykazują efekt w badaniach *in vitro*, nie potwierdza swojej skuteczności i bezpieczeństwa w kolejnych fazach

badan klinicznych, dlatego wyżej przedstawione dane nie mogą stanowić jedyne uzasadnienia dla zastosowania witaminy C w postaci wlewu dożylnego w terapii onkologicznej. Ponadto, nie wszystkie dostępne badania przedkliniczne wykazały korzystny wpływ witaminy C na skuteczność leczenia standardowego. W komórkach białaczkowych i komórkach chłoniaka stwierdzono bowiem zmniejszoną cytotoksyczność dokсорubicyny, winkrystyny, metotreksatu, cisplatyny oraz imatynibu o 30–70% w obecności kwasu dehydroaskorbinowego [51]. W innym badaniu natomiast wykazano, że witamina C w stężeniach osiąganych po podaniu doustnym dawek farmakologicznych powoduje zahamowanie cytotoksyczności bortezomibu w stosunku do komórek szpiczaka mnogiego [52].

Przegląd badań klinicznych

W świetle obowiązujących światowych regulacji dotyczących wprowadzania nowych terapii do codziennej praktyki klinicznej przedstawione w poprzednim rozdziale dane przedkliniczne, choć niekiedy obiecujące, mogą stanowić jedynie przesłankę do dalszych badań eksperymentalnych oraz do ewentualnego podjęcia prób klinicznych. Dziś już nie ulega żadnej wątpliwości, że to właśnie badania kliniczne są jedynym wiarygodnym źródłem informacji o skuteczności i bezpieczeństwie metod terapeutycznych. Niemniej jednak, mając na uwadze powszechność praktyk związanych z alternatywną terapią nowotworów, obejmującą dożylną podaż wysokich dawek witaminy C, zaskakująca jest znikoma wręcz liczba rzetelnych dowodów pochodzących z dobrze zaprojektowanych badań z udziałem ludzi. Dziwi fakt, że dostępne informacje, którymi podpierają się współcześni zwolennicy i praktycy dożylnego stosowania kwasu L-askorbinowego u pacjentów onkologicznych, pochodzi przede wszystkim z małych, nierandomizowanych, niezaślepiionych, niekontrolowanych badań I/II fazy, badań obserwacyjnych i opisów przypadków oraz zaledwie pięciu niedużych randomizowanych, kontrolowanych badań klinicznych. Godnym uwagi jest również fakt, że uzyskane w toku tych badań wyniki są niejednoznaczne i nastrożają trudności interpretacyjnych. Co więcej, heterogenność dostępnych protokołów, pod względem formy dawkowania (*i.v.*, *p.o.*), charakterystyki pacjentów, kryteriów włączenia i wyłączenia, typu nowotworu, terapii współistniejących czy punktów końcowych uniemożliwia ich proste porównanie. Innym, poważnym ograniczeniem większości zastosowanych protokołów badawczych jest przyjęty schemat dawkowania witaminy C jako terapii skojarzonej ze standardową chemioterapią, często bez grupy kontrolnej, co uniemożliwia

wyciągnięcie wniosków o ewentualnej skuteczności i bezpieczeństwie kwasu L-askorbinowego u ludzi. Pomimo to, wydaje się jasne, że nie wszyscy pacjenci onkologiczni i w nie we wszystkich typach nowotworów (o ile w ogóle) mogą odnieść jakkolwiek korzyść terapeutyczną związaną z podawaniem witaminy C [1, 53]. Nie można zatem tej metody traktować jako terapii uniwersalnej.

Z przeglądu literatury w zakresie stosowania witaminy C w formie doustnej dostępne są dwa randomizowane, kontrolowane grupą placebo, badania kliniczne z roku 1979 i 1985 [54, 55], wskazujące na brak wpływu tego związku podawanego w dawce 2,5 g *p.o.* cztery razy dziennie do momentu progresji choroby na jakość życia czy ogólne przeżycie zarówno w ogólnej populacji pacjentów z zaawansowanym nowotworem [54], jak i w wąskiej grupie pacjentów z nowotworem jelita grubego [55]. Podobnie w badaniu z 1995 r. u pacjentów z rakiem piersi ($n = 30$), doustna suplementacja witaminy C (dawka 5 g dwa razy dziennie przez 84 dni) w skojarzeniu z chemioterapią wg schematu CMF (cyklofosfamid, metotreksat, 5-fluorouracyl) nie spowodowała istotnych statystycznie różnic w średnicy guza, choć zaobserwowano tendencję w kierunku korzystniejszych parametrów w grupie przyjmującej kwas L-askorbinowy z chemioterapią w porównaniu z grupą otrzymującą tylko chemioterapię [56]. Z kolei, w retrospektywnym badaniu obserwacyjnym przeprowadzonym przez badaczy ze Sztokholmu wykazano, że wysokie spożycie witaminy C przed rozpoznaniem raka piersi zmniejsza śmiertelność z powodu późniejszej choroby (HR 0,75 (0,57–0,99)). Nie odnotowano natomiast takiej korelacji w okresie już po postawieniu diagnozy [57]. Bardzo ciekawe wnioski pochodzą także z ostatniego badania obserwacyjnego przeprowadzonego w populacji 1134 pacjentek z rakiem piersi leczonych cyklofosfamidem, dokсорubicyną i paklitaksem. Stwierdzono bowiem, że w podgrupie pacjentek przyjmujących antyoksydanty (w tym witaminę C, A, E, koenzym Q10) i chemioterapię istnieje zwiększone ryzyko nawrotu choroby (HR, 1.41; 95% CI, 0.98–2.04; $p=0.06$). Jednocześnie ryzyko to nie istniało w podgrupie stosującej preparaty wielowitaminowe [58]. Bardzo ważnym aspektem farmakokinetycznym, wymagającym podkreślenia jest fakt, że po podaniu doustnym kwas L-askorbinowy osiąga dużo niższe stężenia we krwi (około 0,3 mM) niż po podaniu dożylnym (20 mM), co potwierdzono w badaniach na zdrowych ochotnikach i na pacjentach onkologicznych [1]. Dlatego zależność ta mogła w istotnym stopniu wpłynąć na negatywny wynik przedstawionych wyżej badań klinicznych. Należy zwrócić bowiem uwagę na to, że działanie przeciwnowotworowe witaminy C,

zgodnie z danymi pochodzącymi z prób przedklinicznych, pojawia się w stężeniach, które są nieosiągalne po podaniu doustnym.

W kontekście dożylnego stosowania witaminy C wczesne próby kliniczne pochodzące z lat 70. XX w., prowadzone zgodnie z protokołem analizy serii przypadków przez badaczy skupionych wokół Linusa Paulinga, dotyczyły pacjentów z zaawansowaną chorobą nowotworową ($n = 50$) [10,59] lub pacjentów w stanie terminalnym ($n = 100$) [11, 60], którym podawano kwas L-askorbinowy w dawce 10 g lub więcej przez 10 dni drogą dożylną, doustną lub dożylną i doustną. Obserwowane rezultaty były bardzo heterogenne, gdyż odnotowywano przypadki zarówno braku odpowiedzi na leczenie, jak również odpowiedź częściową czy poprawę jakości życia. W badaniu z 1974 r. [10] nie uwzględniono grupy kontrolnej, co nawet zdaniem samych autorów uniemożliwiło prawidłową interpretację danych. Z kolei w badaniu z 1976 i 1978 r. [11, 60] historyczną grupę kontrolną stanowiła populacja 1000 pacjentów z tego samego ośrodka, a średnie przeżycie pacjentów otrzymujących wysokie dawki witaminy C było wg autorów dłuższe w grupie badanej i wynosiło 300 vs 38 dni w grupie kontrolnej. Niestety, badania te były w późniejszym czasie bardzo krytykowane. Zarzucano im między innymi nieobiektywny dobór chorych do grupy kontrolnej oraz brak zaślepienia, co znacznie zmniejszyło ich wiarygodność [1].

Z nowszych danych, w randomizowanym badaniu z 2014 r. wśród pacjentek z rakiem jajnika ($n = 25$) w stopniu 3. i 4. wykazano tendencję w kierunku wydłużenia przeżycia w grupie otrzymującej karboplatinę, paklitaksel i witaminę C *i.v.* (wg protokołu wzrastających dawek z dawką maksymalną 100 g/infuzję) w porównaniu do grupy otrzymującej tylko chemioterapię (25,5 miesiąca vs 16,7 miesiąca), ale nie była to różnica istotna statystycznie. Postulowano także zmniejszoną toksyczność chemioterapii w grupie z witaminą C [28]. Podobnie, w retrospektywnym, wieloośrodkowym, otwartym badaniu kohortowym z 2011 r. obserwowano poprawę jakości życia oraz złagodzenie działań niepożądanych standardowej radio- i chemioterapii (w tym redukcję nudności, utraty apetytu, zmęczenia, depresji, zaburzeń snu i zawrotów głowy) u pacjentów z rakiem piersi, którym jednocześnie podawano dożylnie witaminę C w dawce 7,5 g raz w tygodniu przez minimum 4 tygodnie w porównaniu do grupy kontrolnej [61]. Jednakże obydwa badania nie były zaślepienie, a w związku z tym obciążone ryzykiem subiektywności oceny. Ponadto w badaniu z 2014 r. [28] zmniejszenie toksyczności terapii dotyczyło tylko działań niepożądanych stopnia 1. i 2. (wg klasyfikacji CTCAE), natomiast

nie obserwowano różnic pomiędzy grupami w częstości działań niepożądanych w stopniu 3. i 4. (wg klasyfikacji CTCAE), a to one stanowią największy problem chemioterapii i prowadzą do zaprzestania lub zmiany leczenia. Z kolei w badaniu II fazy, w grupie pacjentów z nowotworami układu chłonnego ($n = 17$), leczenie skojarzone witaminą C *i.v.* (1000 mg dziennie przez 5 dni co dwa tygodnie) z trójtlenkiem arsenu okazało się nie wykazywać skuteczności terapeutycznej i z tego powodu badanie zostało przedwcześnie zakończone po pierwszej analizie danych [62]. Podobne skojarzenie leków (trójtlenku arsenu i kwasu L-askorbinowego) okazało się szkodliwe dla pacjentów z przerzutowym rakiem jelita grubego (dawka witaminy C 1000 mg *i.v.* na dobę przez 5 dni w ciągu 5 tygodni) oraz z czerniakiem (1000 mg *i.v.* na dobę w skojarzeniu z temozolomidem), gdyż skutkowało ciężkimi działaniami niepożądanymi, progresją choroby i brakiem działania przeciwnowotworowego [63, 64]. Natomiast w innym badaniu I fazy z 2013 r. stosowanie monoterapii na bazie witaminy C *i.v.* (wg protokołu wzrastających dawek z dawką początkową 30 g/m² przez 4 kolejne dni w tygodniu w ciągu 4 tygodni) u pacjentów z zaawansowanym guzem litym spowodowało, że w 19% przypadków uzyskano stabilizację choroby a u 81% chorych doszło do progresji. Ponadto, żaden z zrekrutowanych 16 pacjentów nie uzyskał obiektywnej odpowiedzi na leczenie [65]. Tak samo w dwóch kolejnych badaniach fazy I w grupie pacjentów z zaawansowanym rakiem trzustki ($n = 14$ i $n = 11$) określono, że podawanie kwasu L-askorbinowego (wg protokołu wzrastających dawek: 50–100 g/infuzję lub 15–125 g/infuzję) w skojarzeniu z chemioterapią na bazie gemcytabiny i erlotynibu, pomimo zadowalającej tolerancji, nie przyczynia się do uzyskania ani częściowej, ani całkowitej odpowiedzi na leczenie [66, 67]. Z drugiej strony, dostępne są opisy przypadków, w których obserwowano wydłużone w stosunku do oczekiwanego przeżycie pacjentów z chorobą nowotworową, którym podawano dożylnie 15–65 g witaminy C raz lub dwa razy w tygodniu przez kilka miesięcy [68]. Oprócz tego istnieją pewne dowody kliniczne na to, że witamina C w postaci dożylnej wpływa na poprawę jakości życia i zmniejsza odczucie zmęczenia [69]. Dane te pochodzą jednak z małych badań, które wykazują błędy metodologiczne, takie jak brak grupy porównawczej przyjmującej placebo, niezwalidowane protokoły pomiaru jakości życia oraz niejednolite grupy pacjentów, co znacznie obniża ich jakość.

Wreszcie, w 2015 r. ukazał się systematyczny przegląd danych klinicznych, obejmujących 61 artykułów z okresu od 1947 do 2014 r., dotyczących stosowania witaminy C w onkologii.

Na podstawie rzetelnej analizy zebranych danych autorzy jednoznacznie stwierdzili, że w świecie dostępnych informacji klinicznych brak jest przekonujących dowodów potwierdzających skuteczność przeciwnowotworową witaminy C zarówno w postaci doustnej, jak i dożylniej. Brak jest także silnych dowodów z badań porównawczych wskazujących, że stosowanie witaminy C przyczynia się do poprawy jakości życia oraz funkcji życiowych pacjentów onkologicznych. Pozytywne efekty, odnotowywane jedynie w mniej wiarygodnych, nierandomizowanych, niekontrolowanych, niezaslepionych badaniach oraz opisach przypadków, z uwagi na ograniczenia tego typu protokołów, nie wykluczają efektu placebo [53].

Tematyka możliwości zastosowania witaminy C w onkologii wciąż nie została jednak wyczerpana. Aktualnie toczą się badania II i III fazy oceniające skuteczność tego związku w kilku typach nowotworów w tym w: raku trzustki (NCT03410030, II faza), glejaka wielopostaciowym (NCT02344355, II faza), niedrobnokomórkowym raku płuca (NCT02905591, II faza), raku jelita grubego z mutacją KRAS i BRAF (NCT03146962, II faza), raku gruczołu krokowego (NCT02516670, II faza), raku nerwowokomórkowym (NCT03334409, II faza), raku jelita grubego (w dawce 1,5 g/kg/dobę, D1-3, co 2 tygodnie) w połączeniu z chemioterapią FOLFOX + bewacyzumab (NCT02969681, III faza) oraz raku żołądka w dawce 20 g/dobę, D1-3, co 2 tygodnie (NCT03015675, III faza). Być może wyniki wymienionych badań rzucają nowe światło na to kontrowersyjne od lat zagadnienie i pozwolą w sposób bardziej jednoznaczny i uzasadniony naukowo odpowiedzieć na pytanie, czy we współczesnej onkologii jest miejsce dla terapeutycznego zastosowania witaminy C.

Bezpieczeństwo stosowania witaminy C u pacjentów onkologicznych

W tabeli 3 przedstawiono przegląd piśmiennictwa, dotyczącego bezpieczeństwa dożylnego stosowania witaminy C u pacjentów onkologicznych.

Choć dane te są skąpe, to jednak dostarczają pewnych informacji, które należy wziąć pod uwagę w kontakcie z chorym, który poddaje się takiej kuracji. Wiadomo, że jednoczesne stosowanie kwasu L-askorbinowego, gemcytabiny i erlotynibu w raku trzustki 4. stopnia jest dobrze tolerowane [66, 67]. Tak samo brak toksyczności leczenia skojarzonego witaminą C i trójtlenkiem arsenu w szpiczaku mnogim [70,71]. Ponadto w raku jajnika i w raku piersi witamina C mogła zredukować toksyczność radio- i chemioterapii, jednak nie wiadomo, w jaki sposób wpływała na skuteczność leczenia [28, 61]. Z kolei w przerzutowym raku jelita grubego oraz w czerniaku (w połączeniu z temozolomidem), skojarzenie witaminy C z trójtlenkiem arsenu skutkowało ciężkimi działaniami niepożądanymi, progresją choroby i brakiem działania przeciwnowotworowego [63, 64].

Bezpieczeństwo stosowania wysokich dawek witaminy C (1,5 g/kg masy ciała 2 lub 3 razy w tygodniu) u chorych leczonych cytostatykami oceniano także w przeprowadzonym w Montrealu dedykowanym badaniu I/II fazy. Witamina C w dawce 90 g i mniejszej podawana była we wlewie trwającym 90 minut, a w dawce powyżej 90 g we wlewie 120-minutowym. Badanie przeprowadzono w niejednorodnej i nielicznej grupie chorych (14 osób z rakiem płuca, jelita grubego, piersi i innymi). Stwierdzono, że wlewy witaminy C nie powodowały poważnych działań ubocznych. U trzech chorych w trakcie infuzji wystąpiły przemijające objawy: nudności, wymioty i uczucie trzępotania w nadbrzuszu. Często obserwowaną reakcją na wlew było uczucie pragnienia. Autorzy pracy zwracali jednak uwagę na możliwość nieprawidłowych pomiarów glikemii za pomocą glukometrów u pacjentów otrzymujących witaminę C dożylnie. W glukometrach, w których wykorzystywane są metody enzymatyczne, wysokie stężenie witaminy C w osoczu powoduje interferencje, które zakłócają oznaczenia poziomu glukozy metodą oksydazową. Dlatego nie należy oznaczać glikemii w trakcie wlewu witaminy C i przez 12 godzin po wlewie za pomocą glukometru.

Tabela 3. Bezpieczeństwo stosowania witaminy C i.v. u pacjentów onkologicznych – przegląd piśmiennictwa.

Table 3. Safety of vitamin C i.v. in cancer patients.

Rodzaj nowotworu	Schemat terapii skojarzonej	Wpływ na bezpieczeństwo	Piśmiennictwo
Rak trzustki	Gemcytabina, erlotynib, witamina C	Dobra tolerancja, brak danych o skuteczności	66, 67
Szpiczak mnogi	Trójtlenek arsenu, witamina C, deksametazon	Dobra tolerancja, brak danych o skuteczności	70
Rak jelita grubego	Witamina C, trójtlenek arsenu	Ciężkie działania niepożądane, progresja, brak efektu przeciwnowotworowego	63
Czerniak	Witamina C, trójtlenek arsenu, temozolomid	j.w.	64
Rak jajnika	Witamina C, karboplatyna, paklitaksel	Możliwe złagodzenie działań niepożądanych chemioterapii	28
Rak piersi	Standardowa radio- i chemioterapia	Potencjalnie zmniejszenie toksyczności, brak danych o skuteczności	61

Jeżeli konieczne jest oznaczenie poziomu glukozy, należy zastosować metodę z heksokinazą [72]. Podobnie w badaniach sondażowych wśród praktyków medycyny komplementarnej i alternatywnej w Stanach Zjednoczonych wykazano, że działania niepożądane związane z samym wlewem wysokich dawek witaminy C są na ogół nieznaczne i obejmują przede wszystkim takie objawy jak: zmęczenie, senność, miejscowe podrażnienie żył, zapalenie żył, skurcze mięśni, hiperglikemię, bóle głowy, zmiany stanu psychicznego, nudności, wymioty, objawy grypopodobne, hemolizę oraz pojawienie się kamieni nerkowych. Niezależnie od tego, dostępne są także raporty opisujące poważniejsze przypadki działań niepożądanych spowodowanych przyjmowaniem wysokich dawek witaminy C w formie dożylniej, mianowicie wystąpienia niewydolności nerek u pacjentów z istniejącymi już zaburzeniami czynności tego narządu [14] oraz ostrej nefropatii moczanowej wymagającej hemodializy [73]. Wiadomym jest, że kwas L-askorbinowy wydalaný jest z organizmu drogą nerkową, również w postaci kwasu szczawowego i dlatego niewydolność nerek prowadzi z jednej strony do endogennej kumulacji kwasu L-askorbinowego, a z drugiej może być przyczyną odkładania się szczawianów w kanalikach nerkowych, prowadząc do utworzenia kamieni. Zjawisko to dotyczy głównie mężczyzn, w mniejszym stopniu kobiet [74].

Oprócz tego witamina C, będąc związkami chemicznymi o charakterze kwasowym, powoduje zmianę odczynu moczu, skutkującą zwiększonym ryzykiem interakcji farmakokinetycznych na etapie wydalania z innymi jednocześnie stosowanymi lekami. Jest to związane ze zmniejszeniem jonizacji leków o charakterze słabych kwasów (takich jak kwas acetylosalicylowy, sulfonamidy, fenylobutazon, kwas barbiturowy) w kwasowym środowisku moczu, co w konsekwencji wzmacnia ich resorpcję, hamuje wydalanie i przedłuża czas działania, prowadząc niekiedy do toksyczności [75]. Ponadto, zakwaszenie moczu może spowodować skrócenie czasu działania leków o charakterze słabych zasad, takich jak: morfina, oksykodon, kodeina, imipramina, a także antybiotyki – amikacyna, gentamycyna, linezolid, klindamycyna, kloksystyna i klarytromycyna. W niektórych przypadkach konieczne może okazać się dostosowanie schematu dawkowania leków wchodzących w tego typu interakcje z witaminą C.

Ponadto, z uwagi na wpływ witaminy C na zwiększenie wchłaniania żelaza, jej stosowanie powinno być przeciwwskazane u osób z hemochromatozą, talasemią i niedokrwistością syndromową, gdyż może to spowodować zaostrzenie objawów chorobowych [76]. Wreszcie, dożylnych

wlewów witaminy C nie powinni otrzymywać pacjenci z dziedzicznym niedoborem dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (fawizm), gdyż kwas L-askorbinowy jako czynnik oksydoredukcyjny indukuje u nich hemolizę i może doprowadzić do szybkiego obniżenia wartości hemoglobiny, dając nawet objawy wstrząsu [77].

Podsumowanie

Badania ostatnich lat w zakresie oceny skuteczności i bezpieczeństwa kwasu L-askorbinowego w terapii onkologicznej pozwalają stwierdzić, że choć pewien efekt przeciwnowotworowy tego związku jest możliwy, na co wskazują głównie badania przedkliniczne, to jednak współczesna medycyna wciąż nie dysponuje wiarygodnymi danymi klinicznymi odnośnie: (1) typów nowotworów, które mogłyby być wrażliwe na taką terapię, (2) grup pacjentów, które mogłyby odnieść korzyść terapeutyczną z takiego postępowania, (3) dawek, dróg podania i postaci farmaceutycznych, zapewniających optymalny efekt przeciwnowotworowy, (4) mechanizmu działania przeciwnowotworowego u ludzi, (5) wpływu na jednocześnie stosowane inne terapie w tym terapię przeciwnowotworową, (6) wpływu na jakość życia pacjentów onkologicznych. Jak dotąd dostępne badania kliniczne nie potwierdzają pozytywnych doniesień z badań eksperymentalnych. Należy więc informować pacjentów, że nie ma dowodów uzasadniających przeciwnowotworową skuteczność wlewów witaminy C i że w pewnych grupach chorych (niedobór dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej, zaburzenia funkcji nerek, hemochromatoza) wlewy witaminy C mogą powodować poważne działania niepożądane. Wydaje się jednak, że istnieją wystarczające przesłanki, by kontynuować badania nad rolą witaminy C w leczeniu nowotworów.

Piśmiennictwo

1. Unlu A, Kirca O, Ozdogan M, Naylor E. High-dose vitamin C and cancer. *J Oncol Sci.* 2016; 1: 10–12.
2. Jacob RA, Sotoudeh G. Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutr Clin Care* 2002; 5: 66–74.
3. Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Park JB, Lazarev A, Graumlich JF, King J, Cantilena RC. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996; 93(8): 37043–709.
4. Ngo B, Van Riper J, Cantley LC, Yun J. Targeting cancer vulnerabilities with high-dose vitamin C. *Nat Rev Cancer.* 2019; 19: 271–282.
5. Guz J, Oliński R. Rola witaminy C w regulacji epigenetycznej. *Postępy Hig Med Dosw.* 2017; 71: 747–760.
6. Carpenter KJ. The discovery of vitamin C. *Ann Nutr Metab.* 2012; 61(3): 259–264.
7. McCormick WJ. Ascorbic acid as a chemotherapeutic agent. *Arch Pediatr.* 1952; 69(4): 151–155.
8. McCormick WJ. Cancer: a collagen disease, secondary to a nutritional deficiency. *Arch Pediatr.* 1959; 76(4): 166–171.

9. McCormick WJ. Is cancer a collagen disease attributable to vitamin C deficiency. *Union Med Can.* 1959; 88(6): 700–704.
10. Cameron E, Campbell A. The orthomolecular treatment of cancer. II. Clinical trial of high-dose ascorbic acid supplements in advanced human cancer. *Chem Biol Interact.* 1974; 9 (4): 285–315. DOI: 10.1016/0009-2797(74)90019-2.
11. Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1976; 73(10): 3685–3689.
12. 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 U S A.* 1978; 75(9): 4538–4542.
13. Cameron E, Pauling L, Leibovitz B. Ascorbic Acid and Cancer: A Review. *Cancer Res.* 1979; 39(3): 663–681.
14. 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(7): e11414.
15. Johnson SB, Park HS, Gross CP, Yu JB. Use of alternative medicine for cancer and its impact on survival. *J Natl Cancer Inst.* 2018; 110(1): 121–124.
16. Klimant E, Wright H, Rubin D, Seely D, Markman M. Intravenous vitamin C in the supportive care of cancer patients: a review and rational approach. *Curr Oncol.* 2018; 25(2): 139–148.
17. Mikirova N, Casciari J, Rogers A, Taylor P. Effect of high-dose intravenous vitamin C on inflammation in cancer patients. *J Transl Med.* 2012; 10: 189.
18. 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.* 2012; 23(4): 437–444.
19. 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(2): 509–520.
20. Lin ZY, Chuang WL. Pharmacologic concentrations of ascorbic acid cause diverse influence on differential expressions of angiogenic chemokine genes in different hepatocellular carcinoma cell lines. *Biomed Pharmacother.* 2010; 64(5): 348–351.
21. Pathi SS, Lei P, Sreevalsan S, Chadalapaka G, Jutooru I, Safe S. Pharmacologic doses of ascorbic acid repress specificity protein (Sp) transcription factors and Sp-regulated genes in colon cancer cells. *Nutr Cancer.* 2011; 63(7): 1133–1142.
22. Hardaway CM, Badisa RB, Soliman KF. Effect of ascorbic acid and hydrogen peroxide on mouse neuroblastoma cells. *Mol Med Report.* 2012; 5(6): 1449–1452.
23. 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(38): 13604–13609.
24. Schoenfeld JD, Sibenaller ZA, Mapuskar KA, Wagner BA, Cramer-Morales KL, Furqan M, Sandhu S, Carlisle TL, Smith MC, Hejle TA, Berg DJ, Zhang J, Keech J, Parekh KR, Bhatia S, Monga V, Bodeker KL, Ahmann L, Vollstedt S, Brown H, Kauffman EPS, Schall ME, Hohl RJ, Clamon GH, Greenlee JD, Howard MA, Schultz MK, Smith BJ, Riley DP, Domann FE, Cullen JJ, Buettner GR, Buatti JM, Spitz DR, Allen BG. O₂ – and H₂O₂-mediated disruption of Fe metabolism causes the differential susceptibility of NSCLC and GBM cancer cells to pharmacological ascorbate. *Cancer Cell.* 2017; 31(4): 487–500.e8.
25. Verrax J, Calderon PB. Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumoral effects. *Free Radic Biol Med.* 2009; 47(1): 32–40.
26. 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(3): 249–255.
27. 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(32): 11105–11109.
28. 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(222): 222ra18.
29. Gao P, Zhang H, Dinavahi R, Li F, Xiang Y, Raman V, Bhujwala ZM, Felsner DW, Cheng L, Pevsner J, Lee LA, Semenza GL, Dang CV. HIF-dependent antitumorigenic effect of antioxidants in vivo. *Cancer Cell.* 2007; 12(3): 230–238.
30. Józwiak P, Ciesielski P, Zaczek A, Lipińska A, Pomorski L, Wiczorek M, Bryś M, Forma E, Krześlak A. Expression of hypoxia inducible factor 1 and 2 and its association with vitamin C level in thyroid lesions. *J Biomed Sci.* 2017; 24(1): 83.
31. Campbell EJ, Vissers MC, Bozonet S, Dyer A, Robinson BA, Dachs GU. Restoring physiological levels of ascorbate slows tumor growth and moderates HIF-1 pathway activity in Gulo(–/–) mice. *Cancer Med.* 2015; 4(2): 303–314.
32. Campbell EJ, Vissers MC, Dachs GU. Ascorbate availability affects tumor implantation-take rate and increases tumor rejection in Gulo(–/–) mice. *Hypoxia (Auckl).* 2016; 4: 41–52. eCollection 2016.
33. Kuiper C, Molenaar IG, Dachs GU, Currie MJ, Sykes PH, Vissers MCM. Low ascorbate levels are associated with increased hypoxia-inducible factor-1 activity and an aggressive tumor phenotype in endometrial cancer. *Cancer Res.* 2010; 70(14): 5749–5758.
34. Lee Chong T, Ahearn EL, Cimmino L. Reprogramming the Epigenome With Vitamin C. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7: 128.
35. Gustafson CB, Yang C, Dickson KM, Shao H, Van Booven D, Harbour JD, Liu Z-J, Wang W. Epigenetic reprogramming of melanoma cells by vitamin C treatment. *Clin Epigenetics.* 2015; 7: 51. eCollection 2015.
36. Mastrangelo D, Pelosi E, Castelli G, Lo-Coco F, Testa U. Mechanisms of anti-cancer effects of ascorbate: Cytotoxic activity and epigenetic modulation. *Blood Cells Mol Dis.* 2018; 69: 57–64.
37. Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, Yoshimi A, Martin GH, Wang J, Ng V, Xia B, Witkowski MT, Mitchell-Flack M, Grillo I, Bakogianni S, Ndiaye-Lobry D, Martin MT, Guillaumot M, Banh RS, Xu M, Figueroa ME, Dickins RA, Abdel-Wahab O, Park CY, Tsiganos A, Neel BG, Aifantis I. Restoration of TET2 function blocks aberrant self-renewal and leukemia progression. *Cell.* 2017; 170(6): 1079–1095.
38. Gillberg L, Ørskov AD, Nasif A, Ohtani H, Madaj Z, Hansen JW, Rapin N, Mogensen JB, Liu M, Dufva IH, Lykkesfeldt J, Hajkova P, Jones PA, Grønbaek K. Oral vitamin C supplementation to patients with myeloid cancer on azacitidine treatment: Normalization of plasma vitamin C induces epigenetic changes. *Clin Epigenetics.* 2019; 11(1): 143.
39. Polireddy K, Dong R, Reed G, Yu J, Chen P, Williamson S, Violet P-C, Pessetto Z, Godwin AK, Fan F, Levine M, Drisko JA, Chen Q. High dose parenteral ascorbate inhibited pancreatic cancer growth and metastasis: mechanisms and a Phase I/IIa study. *Sci Rep.* 2017; 7: 17188.
40. Cha J, Roomi MW, Ivanov V, Kalinovskiy T, Niedzwiecki A, Rath M. Ascorbate supplementation inhibits growth and metastasis of B16FO melanoma and 4T1 breast cancer cells in vitamin C-deficient mice. *Int J Oncol.* 2013; 42: 55–64.
41. 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(11): 1610–1619.
42. Chen P, Stone J, Sullivan G, Drisko JA, Chen Q. Anti-cancer effect of pharmacologic ascorbate and its interaction with supplementary parenteral glutathione in preclinical cancer models. *Free Radic Biol Med.* 2011; 51(3): 681–687.
43. Wei Y, Song J, Chen Q, Xing D. Enhancement of photodynamic anti-tumor effect with pro-oxidant ascorbate. *Lasers Surg Med.* 2012; 44(1): 69–75.
44. 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(2): 183–189.
45. Lee SJ, Jeong JH, Lee IH, Lee J, Jung JH, Park HY, Lee HD, Chae YS. Effect of high-dose vitamin c combined with anti-cancer treatment on breast cancer cells. *Anticancer Res.* 2019; 39(2): 751–758.
46. Herst PM, Broadley KW, Harper JL, McConnell MJ. Pharmacological concentrations of ascorbate radiosensitize glioblastoma multiforme primary cells by increasing oxidative DNA damage and inhibiting G2/M arrest. *Free Radic Biol Med.* 2012; 52(8): 1486–1493.
47. Shimp K, Nagatsu T, Yamada K, Sato T, Niimi H, Shamoto M, Takeuchi T, Umezawa H, Fujita K. Ascorbic acid and adriamycin toxicity. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54(6 Suppl): 1298S–1301S.
48. Wu CW, Liu HC, Yu YL, Hung Y-T, Wei C-W, Yang G-T. Combined treatment with vitamin C and methotrexate inhibits triple-negative breast cancer cell growth by increasing H₂O₂ accumulation and activating caspase-3 and p38 pathways. *Oncol Rep.* 2017; 37(4): 2177–2184.
49. Pires AS, Marques CR, Encarnação JC, Abrantes AM, Marques IA, Laranjo M, Oliveira R, Casalta-Lopes JE, Gonçalves AC, Sarmento-Ribeiro AB, Botelho MF. Ascorbic acid chemosensitizes colorectal cancer cells and synergistically inhibits tumor growth. *Front Physiol.* 2018; 9: 911.
50. Yun J, Mullarky E, Lu C, Bosch KN, Kavalier A, Rivera K, Roper J, Chio IIC, Giannopoulos EG, Rago C, Muley A, Asara JM, Paik J, Elemento O, Chen Z, Pappin DJ, Dow LE, Papadopoulos N, Gross SS, Cantley LC. Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF

- mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH. *Science*. 2015; 350(6266): 1391–1396.
51. Heaney ML, Gardner JR, Karasavvas N, Golde DW, Scheinberg DA, Smith EA, O'Connor OA. Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. *Cancer Res*. 2008; 68(19): 8031–8038.
52. Perrone G, Hideshima T, Ikeda H, Okawa Y, Calabrese E, Gorgun G, Santo L, Cirstea D, Raje N, Chauhan DS, Baccarani M, Cavo M, Anderson KC. Ascorbic acid inhibits antitumor activity of bortezomib in vivo. *Leukemia*. 2009; 23(9): 1679–1686.
53. Jacobs C, Hutton B, Ng T, Shorr R, Clemons M. Is there a role for oral or intravenous ascorbate (vitamin C) in treating patients with cancer? A systematic review. *Oncologist*. 2015; 20(2): 210–223.
54. 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(13): 687–690.
55. 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(3): 137–141.
56. Goel SAS, Mandal A, Singhal K, Agarwal T. Emerging role of ascorbic acid in the management of advanced breast carcinoma as a chemosensitizer. *Asian J Surg*. 1999; 22: 333–336.
57. Harris HR, Bergkvist L, Wolk A. Vitamin C intake and breast cancer mortality in a cohort of Swedish women. *Br J Cancer*. 2013; 109(1): 257–264.
58. Ambrosone CB, Zirpoli GR, Hutson AD, McCann WE, McCann SE, Barlow WE, Kelly KM, Cannioto R, Sucheston-Campbell LE, Hershman DL, Unger JM, Moore HCF, Stewart JA, Isaacs C, Hobday TJ, Salim M, Hortobagyi GN, Gralow JR, Budd GT, Albain KS. Dietary supplement use during chemotherapy and survival outcomes of patients with breast cancer enrolled in a cooperative group clinical trial (SWOG S0221). *J Clin Oncol*. 2020; 38(8): 804–814.
59. Cameron E, Campbell A, Jack T. The orthomolecular treatment of cancer. III. Reticulum cell sarcoma: double complete regression induced by high-dose ascorbic acid therapy. *Chem Biol Interact*. 1975; 11(5): 387–393, 1975.
60. 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 U S A*. 1978; 75(9): 4538–4542.
61. Vollbracht C, Schneider B, Leendert V, Weiss G, Auerbach L, Beuth J. Intravenous vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemo-/radiotherapy and after-care: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany. *In Vivo*. 2011; 25(6): 983–990.
62. Chang JE, Voorhees PM, Kolesar JM, Ahuja HG, Sanchez FA, Rodriguez GA, Kim K, Werndli J, Bailey HH, Kahl BS. Phase II study of arsenic trioxide and ascorbic acid for relapsed or refractory lymphoid malignancies: A Wisconsin Oncology Network study. *Hematol Oncol* 2009; 27: 11–16.
63. Subbarayan PR, Lima M, Ardalán B. Arsenic trioxide/ascorbic acid therapy in patients with refractory metastatic colorectal carcinoma: a clinical experience. *Acta Oncol*. 2007; 46(4): 557–561.
64. 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): 147–151.
65. Stephenson CM, Levin RD, Spector T, Lis CG. 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: 139–146.
66. 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.
67. Welsh JL, Wagner BA, van't Erve TJ, Zehr PS, Berg DJ, Halfdanarson TR, Yee NS, Bodeker KL, Du J, Roberts 2nd 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.
68. Padayatty SJ, Riordan HD, Hewitt SM, Katz A, Hoffer LJ, Levine M. Intravenously administered vitamin C as cancer therapy: three cases. *CMAJ*. 2006; 174(7): 937–942.
69. Carr, CA, Vissers MCM, Cook JS. The effect of intravenous vitamin C on cancer- and chemotherapy-related fatigue and quality of life. *Front Oncol*. 2014; 4: 283.
70. Abou-Jawde RM, Reed J, Kelly M, Walker E, Andresen S, Baz R, Karam MA, Hussein M. Efficacy and safety results with the combination therapy of arsenic trioxide, dexamethasone, and ascorbic acid in multiple myeloma patients: a phase 2 trial. *Med Oncol*. 2006; 23(2): 263–272.
71. Qazilbash MH, Saliba RM, Nieto Y, Parikh G, Pelosini M, Khan FB, Jones RB, Hosing C, Mendoza F, Weber DM, Wang M, Popat U, Alo-usi A, Anderlini P, Champlin RE, Giralt S. Arsenic trioxide with ascorbic acid and high-dose melphalan: results of a phase II randomized trial. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008; 14(12): 1401–1407.
72. Hoffer LJ, Robitaille L, Zakarian R, Melnychuk D, Kavan P, Agulnik J, Cohen V, Small D, Miller Jr WH. High-dose intravenous vitamin C combined with cytotoxic chemotherapy in patients with advanced cancer: a phase I–II clinical trial. *PLoS One*. 2015; 10(4): e0120228.
73. Nangia SVM. Acute oxalate nephropathy from intravenous vitamin C therapy. *Am J Kidney Dis*. 2011; 57: B71.
74. Ferraro PM, Curhan GC, Gambaro G, Taylor EN. Total, dietary, and supplemental vitamin C intake and risk of incident kidney stones. *Am J Kidney Dis*. 2016; 67(3): 400–407.
75. Farmakologia kliniczna Znaczenie w praktyce medycznej red. Krystyna Orzechowska–Juzwenko Wydawnictwo: Górnicki Wydawnictwo Medyczne, 2006.
76. Barton JC, McDonnell SM, Adams PC, Brissot P, Powell LW, Edwards CQ, Cook JD, Kowdley KV. Management of hemochromatosis. Hemochromatosis management working group. *Ann Intern Med*. 1998; 129(11): 932–939.
77. Rees DC, Kelsey H, Richards JD. Acute haemolysis induced by high dose ascorbic acid in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *BMJ*. 1993; 306(6881): 841–842.