

Úloha fytochemických látek v prevenci a léčení nádorových nemocí

doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc., MUDr. Pavel Sedláček

Ústav hygieny a preventivní medicíny, Lékařská fakulta UK, Plzeň

Již od nepaměti se lidové léčitelství zabývá snahou léčit nemoci včetně zhoubných nádorů různými částmi rostlin. Velmi početné epidemiologické studie prokazují, že je statisticky významná asociace mezi velikostí příjmu potravin rostlinného původu a incidencí nádorových chorob. Ve snaze zjistit příčinu jejich příznivého účinku byly z rostlin izolovány přírodní látky a jsou testovány jejich možné účinky v různých fázích karcinogeneze. Mnohé z nich v pokusech in vitro skutečně ovlivňují nebo zastavují vývoj nádoru a jsou zjišťovány molekulární mechanismy těchto interakcí. V současné době se mnohé z těchto tzv. chemoprotektivních přírodních látek uplatňují jako prostředky primární a sekundární prevence nádorů, nikoli jako zaručené léky na rakovinu.

Klíčová slova: nádorové nemoci, fytochemické látky, chemopreventivní látky.

The role of phytochemical substances in the prevention and treatment of tumors

Since time immemorial, the folk medicine tries to cure diseases including tumors using various parts of plants. Numerous epidemiological studies have shown that there is a statistically significant association between the frequency of consumption of foods of plant origin and incidence of cancer. In an effort to determine the cause of their favourable effect, many natural substances have been isolated from plants and their potential effects on different stages of carcinogenesis has been tested. Indeed, many from these substances hinder or stop, in vitro, tumor development. The molecular mechanisms of these interactions have been elucidated. Nowadays, a lot of these chemoprotective natural substances has been applied as means of primary and secondary prevention of tumors but not as remedies for cancer.

Key words: phytochemicals, cancer, chemopreventive substance.

Interní Med. 2012; 14(5): 224–226

Příznivý efekt potravin rostlinného původu (včetně čajů, léčivých bylin nebo některých koření) v prevenci zhoubných nádorů a do jisté míry i při léčení nádorových nemocí odpovídá dávné zkušenosti lidí a objektivně byl potvrzen v mnoha epidemiologických studiích provedených v posledních zhruba 40 letech. Přibližně 30 % zhoubných novotvarů je preventabilních, a to žádoucím usměrňováním životního stylu člověka; asi 20 % těchto onemocnění lze zabránit vhodným a důsledně dodržovaným způsobem stravování, zejména dostatečně velkým příjmem ovoce, zeleniny, cereálií apod. Takto praktikovaný „stravovací vzorec“ se významně uplatňuje i v sekundární prevenci nádorových nemocí, např. u osob s výskytem polypů v tlustém střevu, u mužů se zvýšenou hodnotou prostatického antigenu v plazmě, při Barrettově syndromu a také u pacientů, kteří už prodělávají standardní léčbu časných stadií nádorového bujení (1).

Ochranný účinek zeleniny, ovoce, zeleného čaje, luštěnin a některých dalších potravin rostlinného původu je z velké části založen na jejich obsahu a biologické aktivitě přírodních látek. Ty mají zčásti povahu živin (vitaminy, esenciální minerální látky), ale mnohé z nich představují tzv. sekundární metabolické produkty, které plní v rostlinách určité specifické funkce a v lidském

organizmu se po požití chovají jako xenobiotika. Tyto látky a také jejich metabolity přicházejí do kontaktu s různými cílovými tkáněmi a jejich buňkami včetně buněk nádorových a ovlivňují v nich mnohé biologické procesy, mimo jiné pochody probíhající v různých fázích karcinogeneze. Je přirozené naším zájmem, aby tyto nežádoucí pochody byly potlačovány nebo aby nádorové buňky byly přivedeny ke svému zániku. Pro tento druh přírodních látek přítomných v potravě (fytochemické látky) se vžil obecné označení „chemopreventivní“ látky nebo „botanicals“. Na podobném molekulárním principu působí některá syntetická chemoterapeutika a nověji se v prevenci a terapii nádorů uplatňují strukturně modifikovaná analoga přírodních látek (2).

Studium nádorových onemocnění je v dnešní době zaměřeno nejen na výzkum molekulárních mechanismů vzniku a rozvoje nemoci ve všech jejích fázích (iniciace, promoce, progres, invaze a metastázování), ale také na studium možností cíleného zásahu do některých z těchto etap ve snaze blokovat je nebo potlačit; v této souvislosti se provádí rozsáhlý skríning rostlinných přírodních látek založený na jejich systematickém testování na schopnost ovlivňovat vývoj zhoubného nádoru (3). Tento výzkum už dospěl k významným výsledkům, takže v jeho dalším

stadiu jsou vytipované aktivní fytochemické látky zkoušeny v celoživotních experimentech se zvířaty, u kterých bylo pokusně vyvoláno nádorové onemocnění. V případech prokázané léčebné účinnosti a po vyloučení nežádoucího toxického účinku jsou takové preparáty aplikovány ve výzkumu klinickém. Zjišťuje se jejich účinek u osob v rané fázi vývoje onkologického onemocnění, popř. se využívají jako doplňkový nebo podpůrný prostředek při standardní terapii.

Vyhledávání a testování přírodních látek s potenciální protinádorovou aktivitou

Vyhledávání přírodních potenciálně chemoprotektivních látek se provádí velmi systematicky. Uvádí se, že dosud bylo shromážděno a zpracováno přes 70 tisíc různých rostlinných vzorků, jejich zbytky jsou uloženy k dalšímu možnému použití. Hrubě předčištěné extrakty různých částí rostlin nebo plodů jsou v první fázi testů obvykle vyšetřeny metodami, jejichž výsledky mohou naznačit možnou aktivitu látky v iniciační fázi karcinogeneze. Zpravidla se aplikují testy (4):

- na schopnost indukovat NAD (P) H oxidoreduktázu (in vitro na buněčných kulturách)
- na antimutagenní aktivitu

- na celkovou antioxidační aktivitu
- na schopnost stimulovat postreplikační opravy DNA

Jsou-li výsledky těchto vstupních testů pozitivní, přikročí se k frakcionaci extraktu a k vyčištění jednotlivých izolovaných látek (jejich množství obvykle nepřekračuje několik mg). Následují další vyšetření zaměřená na přesnější rozlišení povahy protinádorové aktivity. Podle fáze karcinogeneze, která je přírodní látkou zasažena, může být typu **blokujičho** (zabránění iniciace procesu – např. indukci biotransformačních enzymů I. a II. typu, které znemožňují přeměnu prokarcinogenů na karcinogeny v organismu), nebo typu **potlačujíccho**, jehož důsledkem je zastavení promoční a progresní fáze nádorového růstu.

Biologická aktivita vzorků přírodních látek v pokročilejším stadiu karcinogeneze je ověřována a vyhodnocována celou řadou laboratorních metod, z nichž velká část se uskutečňuje s využitím tkáňových kultur připravených např. z myších mléčných žláz a z myší kůže. Používá se také nádorových buněk lidských, např. z nádoru úst (CAL-27), prsu (MCF-7), tlustého střeva (HT-29, HCT-116), prostaty (DU-145) aj. Mezi standardní vyšetřovací postupy patří (5):

- testy na inhibici aktivity ornitindekarboxylázy
- testy na aktivitu enzymů cyklooxygenázy – 1 a 2
- test na inhibici transformace myších epidermálních buněk JB6
- stanovení míry diferenciace HL-lidských promyelocytických leukemických buněk
- stanovení inhibičního vlivu na enzymy aroamatázu
- stanovení estrogenní, estrosulfatázové a antiestrogenní aktivity

Bioaktivní, pozitivně reagující vzorky přírodních látek se zpravidla strukturně identifikují a jejich perspektivnost z hlediska možného využití jako chemopreventivních nebo protinádorových léků se ověřuje v další sérii testů na tkáňových kulturách. Ty jsou zaměřeny na:

- vyhodnocení schopnosti inhibovat vazbu forboldibutyátu na receptor
- vyvolání zastavení buněčného cyklu nebo indukování apoptózy (nádorových) buněk
- schopnost inhibovat jinými cestami proliferaci nádorových buněk
- schopnost brzditi regulaci matricových metaloproteináz
- schopnost zabránit rozvoji krevního zásobení v nádorových buňkách (5)

Vzorky přírodních látek, které se i v těchto testech osvědčily, a také další látky, pokud jsou v tomto směru předmětem zájmu, jsou v další etapě výzkumu podrobeny zkouškám na protinádorovou aktivitu v celoživotních pokusech se zvířaty. Pokusný nádor se u zvířat zpravidla vyvolává účinkem 7,12-dimethylbenz (a) antracenu jako iniciátoru neoplázie a 12-O-tetradekanoylforbol 13-acetátu, který působí jako promotor nádoru.

Z přísně kritického vyhodnocení všech relevantních údajů, které byly získány v rozsáhlých, materiálově, instrumentálně a rovněž časově velmi náročných vyšetřeních, se vybírají přírodní látky pro preklinické a klinické studie u lidí. Každý takový preparát je navíc prověřován z hlediska možné toxicity pro člověka (včetně nežádoucích interakcí s cytostatiky a s jinými léky) a z hlediska svých farmakokinetických parametrů, zejm. vztahu mezi velikostí dávky a velikostí žádoucí odezvy organismu. V některých případech jsou vyselektované přírodní látky různě strukturně modifikovány; cílem je získání derivátů s výhodnějšími chemoprotektivními účinky nebo látky s menším vedlejším toxickým efektem.

Předpokládané molekulární mechanismy účinků přírodních látek v prevenci vzniku nádorů a při jejich léčbě

Výzkum zaměřený na objasnění vzájemných interakcí mezi chemopreventivními látkami a různými biostrukturami (např. receptory) a biomolekulami (např. úseky na DNA nebo enzymy) je neobyčejně rozsáhlý a dosud shromážděné poznatky jsou velmi početné a jen obtížně přehledné. Uvádíme proto úžeji vymezený výběr podstatných a typických mechanismů, které se týkají fytochemických látek, jež se už uplatňují v preklinické praxi nebo jsou velkou nadějí protinádorové terapie (6).

Některé chemoprotektivní látky **aktivují expresi genů kódujících biotransformační enzymy** I. fáze (tj. enzymů skupiny CYP 450, např. hydroxylací) a II. fáze (tj. enzymů konjugací, např. glutathion-S-transferázy). Efektem je detoxikace, snížení karcinogenního potenciálu cizorodých látek aj. prekarcinogenů. Zprostředkujícím faktorem je protein ARE, „antioxidant/electrophil element“. Tento typ aktivity byl zjištěn u kumarinů (fenolové kyseliny), diterpenů, u sulforafanu, indolu a isothiokyanátů (v křížatě zelenině), u kurkuminu (v čeledi zázvorovitých) a u epigallocatechingallátů (EGCG, v zeleném čaji).

Přírodní látky typu kurkuminu, resveratrolu (stilbeny přítomné např. v červeném vínu), lyko-

penu (karotenoid v rajčatech), EGCG (epigallocatechingallátů (v zeleném čaji) nebo genisteinu (isoflavonoid přítomný v sóji) **potlačují aktivitu transkripčních faktorů NF-κB**, který reguluje expresi několika set genů, **a STA 3** (signal transducers and activators of transcription). Tím se omezují přeměny normálních buněk na nádorové, zastavuje se invaze nádorových buněk do jiných tkání, potlačuje se angiogeneze v nádorech a zvyšuje se citlivost nádorových buněk k ozáření a k chemoterapii. Uvedený příklad je typickou ukázkou chemopreventivních látek, které ovlivňují žádoucím způsobem větší počet genů. Pouze tzv. mnohacílová chemoprevence je účinná, protože různými signálními drahami je ovlivňováno přibližně 3 tisíce lidských genů, mezi nimiž mají významné zastoupení interakce gen – signály v nádorových buňkách.

Některé fytochemické látky **potlačují zánětlivé procesy v nádorech** způsobené mikrořady/lymfocyty, které po infiltraci do nádorů produkují cytokiny se silným prozánětlivým účinkem (TNF, tumor nekrotizující faktor, IL-8, interleukin aj.). Cytokiny podporují růst nádoru a jeho invazi do jiných tkání. Rovněž inhibují opravné procesy na molekulách DNA a způsobují jejich oxidační poškození volnými radikály (7, 8).

Některé fytochemické látky mohou, aniž by ovlivňovaly přímo nádorovou buňku, přispět ke **zvýšení aktivity buněčné imunity** např. zvýšením počtu NK buněk, fagocytujících buněk či T-zabíjáčských lymfocytů a dendritických buněk. Signifikantně tak přispívají k úspěšnosti onkologické léčby. Jako příklad můžeme uvést AHCC (Active Hexose Correlated Compound), obsahující beta-glukany a acetylované alfa-glukany používané již v klinické praxi (9) i v prevenci (1, 10).

Dalším možným a předpokládaným cílem chemoprotektivních látek jsou **apoptóza** (plánovaná a řízená smrt buněk) a **zastavení buněčného dělení**. Apoptóza je pravděpodobně zprostředkována stimulací tvorby pro-apoptotických a snížením syntézy anti-apoptotických bílkovin (Bcl-2, Bcl-x, resp. Bax, Bak) účinkem některých přírodních látek. Důsledkem je uvolnění cytochromu c, jednoho z článků dýchacího řetězce, a zánik mitochondrie. Na tomto principu působí např. sulforafan, kurkumin, EGCG, flavonoidy apigenin a kvercetin, silymarin (polyfenol z ostropestřce mariánského), resveratrol aj. a také kyselina retinová.

Zastavení buněčného cyklu nádorových buněk účinkem chemoprotektivních látek je způsobeno jejich zásahem do interakcí mezi cykliny, na cyklinech závislými kinázami (CDK)

a CDK inhibitory. V konečném důsledku tak může být zablokováni kontinuální proliferace buněk. Do tohoto značně komplikovaného procesu pravděpodobně neúčinněji zasahují mnohé přírodní fenolové sloučeniny, jako genistein, EGCG, silymarin, resveratrol a kurkumin a dále fenyletylisokyanát a sulforafan (oba v křížaté zelenině).

Testy biologických aktivit fytochemických látek se provádějí nejčastěji na tkáňových kulturách. Je zřejmé, že při interpretaci získaných výsledků se opomíjejí závažné metodologické nedostatky, např. nereálné velké dávky resp. koncentrace, které se v testech aplikují, a skutečnost, že se fytochemické látky po absorpci v tenkém střevě (a část z nich v tlustém střevě) složitě štěpí a strukturně transformují na metabolity, které působí v intracelulárním prostředí, ale jejich strukturní povaha není zdaleka objasněna (11).

Z uvedeného krátkého přehledu je zřejmé, že antikarcinogenní strategie s využitím chemoprotektivních látek zahrnuje dva zásadně odlišné přístupy: indukci detoxikačních (biotransformačních) enzymů a stimulaci antiproliferativních pochodů. První uvedený princip (blokuje) se považuje za vhodný jako primárně preventivní metoda u zdravých lidí, kteří jsou exponováni environmentálním karcinogenům (např. kuřáci); druhý postup (potlačující) je sekundárně preventivní a je vhodný u pacientů s prekarcinózními lézemi nebo s benigními tumory. V současné době je aplikován ve studiích Národního ústavu pro rakovinu (USA), a to u pacientů s intraepiteliální neoplázií (2).

Stav praktického využívání fytochemických látek v prevenci a terapii nádorových nemocí

Nabídka různých přírodních preparátů obsahujících fytochemické látky je velká a odpovídá jí velký zájem veřejnosti o ně. Mezi ně patří přípravky jednosložkové i vícenosložkové obsahující esenciální a semiesenciální nutriety, kterým se rovněž přisuzuje ochranný protinádorový účinek, zpravidla na antioxidačním podkladu (vitaminy C a E, betakaroten, Se, Zn, ubichinon Q aj.). V dotazníkových šetřeních v USA bylo zjištěno, že až 90 % pacientů s rakovinou užívá jako komplementární způsob terapie komerční fytochemické preparáty, často bez vědomí svého lékaře. Bez ohledu na skutečný efekt na vývoj nemoci vzniká v těchto případech vážné riziko nežádoucí interakce fytochemických látek s chemoterapeutiky. Mezi zdravou populací

v USA užívá tyto preparáty až 40 % dospělých a 12 % dětí.

Bylo prokázáno, že fytoprotektivní složky doplňků potravy, které jsou častou formou komerční nabídky chemoprotektivních látek, jsou nejen léčebně neúčinné, ale mohou mít nepříznivý účinek na zdraví. Kromě zmíněné interakce s léky jsou často nedostatečně čisté, pro spotřebitele se poskytují zavádějící informace, a mohou vykazovat hepato- nebo neurotoxické vedlejší účinky (12).

Mezi známé, často užívané, avšak pro onkologické pacienty ne vždy vhodné rostlinné přípravky se např. řadí slovo svatého Jana (kontraindikováno u mnoha léků), ginkgo biloba (riziko snížené krevní srážlivosti), výtažky z česneku, z červeného jetele a ženšen (7).

Podrobné informace o „bylinné medicíně“ lze získat na www.naturalstandard.com.

V současné době neexistuje látka přírodního původu, která by prokazatelně léčila rakovinu. Pripouští se ale užívání některých látek v primární prevenci (pravidelným zařazováním do jídelníčku) a také v sekundární prevenci nádorů (ve formě doplňků stravy), kde mohou být vhodným adjuvans při standardní terapii.

Mezi příznivě působící a relativně neškodné chemoprotektivní přírodní látky, které se nejčastěji užívají, se řadí:

- výtažky ze zázvoru včetně kurkuminu
- zelený čaj – doporučuje se zejména při maligních orálních lézích, při rakovině GIT a prsu
- lykopen – převažující karotenoid v rajčatech
- mléko z pcháče – účinnou látkou je flavonoid silibinin
- jmelí
- resveratrol (stilbeny, přítomný např. v červeném vínu)
- sója – jako pokrm a zdroj isoflavonoidů, nikoli koncentráty
- kurkumin – všeobecně k sekundární prevenci
- bruceantin – přírodní látka z tropického stromu, užíván v lidovém léčitelství
- deguelin – derivát flavonoidu rotenonu (2)

V sekundárně preventivní péči o pacienty s rizikem nádorového onemocnění se nověji používá syntetických preparátů, jejichž předností je příznivější farmakokinetický profil ve srovnání s přírodními látkami (lepší absorpce, pomalejší metabolismus, menší clearance). Je to např. preparát Tamoxifen pro prevenci rakoviny prsu a Sulindac v prevenci rakoviny tlustého střeva. Kromě nich jsou v praxi zavedena syntetická analoga přírodních látek, která mají všestranně výhodnější vlastnosti nežli původní látky, od

kterých jsou odvozena. Je to např. sulforafan, analog sulforafanu mající lepší využitelnost v organismu a menší cytotoxicitu nežli sulforafan, a dále liposolubilní forma katechinu, která má účinnější antioxidační vlastnosti (13).

Závěr

Preklinické a klinické studie protinádorových účinků fytochemických látek jsou zatím úspěšné pouze v rámci sekundární prevence rakoviny. Je však reálný předpoklad, že výzkum dospěje k objevu přírodních látek nebo jejich analogů, které se úspěšně uplatní také v terapii nádorů.

Literatura

1. Abe S, Ishibashi H, Ikeda T, et al. AHCC in prevention of opportunistic infections. AHCC: Research and Commentary, 2009.
2. Ulbricht CE, Wendy C. Phytochemicals in the oncology setting. Curr Treat Opt Oncol 2010; 11: 95–106.
3. Kinghorn AD, Su BN, Jang DS, et al. Natural inhibitors of carcinogenesis. Planta Med 2004; 70: 691–705.
4. Holst B, Williamson G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. Curr Opin Biotechnol 2008; 19: 73–82.
5. Nathani R, Huma LC, Moriarty RM, et al. Comprehensive review of cancer chemopreventive agents evaluated in experimental carcinogenesis models and clinical trials. Curr Med Chem 2008; 15: 1044–1071.
6. Amin AMRM, Kucuk O, Khuri FR, Shin DM. Perspectives for cancer prevention with natural compounds. J Clin Oncol 2009; 27(16): 2712–2723.
7. Gibellini L, Pinti M, Naší M, et al. Quercetin and cancer chemoprevention. Evid-Bas compl Alter Med 2011, ID 591356: 1–15.
8. Manson MM, Forman BE, Howells LM, Miseeva A. Determining the efficacy of dietary phytochemicals in cancer prevention. Biochem Soc Transact 2007; 35(5): 1358–1263.
9. Matsui Y, Uhara J, Sato S, et al. Improved prognosis of postoperative hepatocellular carcinoma patients when treated with functional foods: a prospective cohort study. J Hepatol 2002; 37(1): 78–86.
10. Terakawa N, Matsui Y, Sato S, et al. Immunological effect of active hexose correlated compound (AHCC) in healthy volunteers: a double-blind placebo-controlled trial. Nutr Canc 2008; 5: 643–651.
11. Gullett NP, Amin AMRM, Bayraktar S, et al. Cancer prevention with natural compounds. Sem Oncol 2010; 37: 258–281.
12. Dai J, Mumley RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molec 2010; 15: 7313–7352.
13. Zhang HY, Chen LL, Li XJ, Zhang J. Evolutionary inspirations for drug discovery. TRENDS Pharmacol Sci 2010; 31: 443–448.

Článek přijat redakcí: 2. 2. 2012
Článek přijat k publikaci: 24. 2. 2012

doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc.

Ústav hygieny a preventivní medicíny,
Lékařská fakulta UK, Plzeň
Lidická 4, 301 66 Plzeň
zloch@lfp.cuni.cz