

# VÝZNAM A MOŽNOSTI VYUŽITÍ PŘÍRODNÍCH LÁTEK V PREVENCI A LÉČENÍ NÁDOROVÝCH CHOROB

## THE SIGNIFICANCE AND USE OF NATURAL SUBSTANCES IN CANCER THERAPY

ZDENĚK ZLOCH, PAVEL SEDLÁČEK

*Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Plzni, Ústav hygieny a preventivní medicíny, Plzeň*

### SOUHRN

Tradiční lidové léčitelství je zdrojem empirických poznatků o příznivém účinku některých rostlinných výtažků a preparátů při prevenci nádorových chorob. Moderní farmakologický výzkum fytochemických látek je v současné době velmi intenzivní, je založen na znalosti molekulárních mechanismů vzniku a rozvoje zhoubných nádorů a směřuje k vytipování fytochemických látek, které zasahují do složitých dějů karcinogeneze a zpomalují je nebo zastavují. Bylo již získáno několik tisíc vzorků čistých preparátů přírodních látek z různých rostlinných zdrojů, které byly z hlediska prevence a terapie rakoviny testovány. Dosud shromážděné výsledky potvrzují oprávněnost a potřebu dalšího rozvoje takto koncipovaného výzkumu. Určitých druhů fytochemických látek (epigallokatechigalláty, resveratroly, kurkumin, sulforafan, isoflavonoidy, lykopen, AHCC aj.) se s určitým úspěchem využívá v prevenci některých nádorů a jako adjuvans při standardní terapii. Na objev přírodní látky skutečně úspěšné jako lék proti rakovině se zatím čeká.

*Klíčová slova:* onkologická onemocnění, prevence nemocí, přírodní látky

### SUMMARY

Traditional folk medicine offers a wealth of knowledge concerning the favourable effects of certain plant extracts in the prevention of cancer, tumours and as adjuvants to therapy. Current pharmacological research is intensively concerned with evaluation of phytochemical substances, as related to known molecular mechanisms, selection of incipient and evolved tumours and with focus on those natural substances that influence complex changes in the process of carcinogenesis. Several thousand samples of plant substances were selected, stored and tested for their possible use in cancer therapy. Existing results confirm the advancement of this research concept. Certain phytochemicals such as epigallocatechingallates, resveratrols, curcumins, sulforaphan, isoflavonoids, lycopene, AHCC have been successfully applied in the prevention of cancer and as an adjuvant during standard therapy. The isolation of a remedial agent of plant origin is expected in future.

*Key words:* oncological diseases, disease prevention, natural substances

### Úvod

Česká republika se řadí v úmrtnosti na nádorové choroby (přibl. 26 %) mezi nejvíce postižené země v Evropě. Předpokládá se, že tyto nemoci jsou minimálně z jedné třetiny preventabilní (např. nádory způsobené rizikovým chováním a nemoci způsobené karcinogeny), u další skupiny nádorů je reálná možnost jejich včasné diagnostiky a zastavení jejich vývoje v rané, ještě neinvazivní fázi karcinogeneze. Velmi početné observační epidemiologické studie ukazují, že prevalence některých zhoubných novotvarů v populaci je negativně a statisticky významně asociována s velikostí spotřeby potravin rostlinného původu.

U potravin typu ovoce, zeleniny, cereálií aj. je důvodné předpokládat, že obsahují faktory, které působí antikarcinogenně. Např. ve vztahu ke GIT je na mechanickém nebo na metabolickém podkladu ochranným přírodním faktorem vláknina potravy, na antioxidačním principu působí aktivně některé vitaminy a provitaminy, mine-

rální látky a řada přírodních látek fenolové a polyfenolové povahy. V potravě rostlinného původu a v dalším rostlinném materiálu je zároveň přítomno více než 10 tisíc dosud poznáných a strukturně identifikovaných přírodních látek (v bankách fytochemických látek je jich uloženo na 70 tisíc). Lidové léčitelství založené na terapii bylinami a jinými rostlinnými přípravky už od starověku užívá při nádorových a jiných onemocněních nepřehledné množství různých rostlinných preparátů, často se jedná o prostředky získávané z exotických a relativně vzácných a těžko dostupných zdrojů. Je proto přirozené, že v posledních desetiletích se mimořádně intenzivně rozvíjí výzkum takových biologických účinků fytochemických látek, které by byly využitelné v primární nebo sekundární prevenci nebo v terapii zhoubných novotvarů (1). Předpokladem tohoto výzkumu je využívání nových molekulárněbiologických metod, které umožňují studium molekulárního mechanismu účinků testovaných látek v různých fázích karcinogeneze (iniciace, promoce, progresse). Patří sem také testování biotransformačních

přeměn pre- a prokarcinogenů na ultimativní karcinogeny in vivo a sledování procesu invaze nádorových buněk a tvorby metastáz. Zároveň se s tímto výzkumem věnuje pozornost případné toxicitě nebo nežádoucím vedlejším účinkům testovaných látek včetně nebezpečných interakcí s léky (2, 3).

V tomto sdělení podáváme stručný přehled metod výběru a testování fytochemických látek z hlediska jejich potenciální aktivity v procesu vzniku a vývoje neoplázie a uvádíme příklady přírodních látek, které se v těchto testech příznivě osvědčily a mohou být aplikovány v preklinických a klinických studiích jako sekundárně preventivní a terapeutické prostředky.

### Molekulární mechanismy účinků přírodních látek v prevenci vzniku a rozvoje nádorů

V několika uplynulých desetiletích bylo shromážděno mnoho poznatků ohledně výskytu přírodních látek (tzv. sekundárních fyziologických metabolitů) v různých částech rostlin a jejich plodů. Je objasňována jejich chemická struktura, biologické funkce v rostlinném organismu a po jejich konzumu vliv na zdraví člověka. Z tohoto hlediska je velký zájem výzkumných pracovníků také věnován objasňování antioxidačních vlastností rostlinných přírodních látek a u perspektivních vzorků se studuje způsob jejich trávení a metabolismu. Fytochemické látky ze skupiny fenolových kyselin a polyfenolů (je jich převažující množství, dosud bylo zpracováno přibližně osm tisíc různých chemických individuů tohoto typu) i látky s odlišnou chemickou strukturou, jako jsou terpeny, isothiokyanáty, alkylsulfidy aj., se chovají in vivo jako xenobiotika a podléhají biotransformacím I. i II. typu, zejména hydroxylacím s následnými glukuronidacemi. Poznání těchto přeměn je významné, protože právě metabolické produkty fytochemických látek mohou být jejich významnými biologicky aktivními formami.

Fytochemické látky, které aktivně zasahují do procesu karcinogeneze, mohou tento sled molekulárněbiologických událostí ovlivňovat již v jeho úvodní fázi, při metabolické aktivaci různých prekurzorů karcinogenů. Takové přírodní látky se označují jako chemoprotektivní blokuje, kdežto látky působící inhibičně na průběh proliferace nádorových buněk, na tvorbu krevního řečiště v nich a na jejich invazi do jiných tkání nebo naopak stimulačně na apoptotickou degradaci nádorových buněk se zahrnují do skupiny chemopreventivních činidel potlačujících (4).

Řada přírodních látek např. aktivuje v pokusech s buněčnými kulturami expresi genů kódujících strukturu isoenzymů skupiny CYP 450 (I. fáze biotransformace xenobiotik, v některých případech jejich účinkem vznikají přechodně intermediáty s větším karcinogenním potenciálem) a často vyvolávají expresi konjugčních enzymů (II. fáze), např. glutathion-S-transferasy. Konečným efektem tak může být eliminace prekarcinogenů a karcinogenů pocházejících ze zevního prostředí. Tento typ chemoprotektivních aktivit byl zjištěn např. u fenolových kyselin typu kumarinů, u sulforafanu, indolů a isothiokyanátů z křížaté zeleniny, u epigalloepikatechingallátu (EGCG) ze zeleného čaje a u kurkuminu ze zázvoru.

Přírodní látky typu lykopenu (převažující karotenoid v rajčatech), EGCG, daidzeinu (isoflavonoid v luštěninách), resveratrolů (stilbeny v červeném vínu) aj. prokazatelně inaktivují in vivo transkripční faktory, které odpovídají za expresi nebo transkripci velkého počtu

genů, např. transkripčního faktoru NF-kB. Důsledkem je potlačení proliferace a invaze maligních buněk, omezení angiogeneze v nádorové tkáni a zvýšení citlivosti těchto buněk k chemoterapii nebo k ozáření. Vhodnou volbou druhu přírodní látky nebo jejich směsi je možné v kulturách nádorových buněk narušit žádoucím způsobem celou síť signálních drah a jejich prostřednictvím lze ovlivnit velký počet genů, které mají rozhodující význam pro přežívání a množení nebo naopak pro zničení rakovinných buněk.

Jiným místem zásahu chemoprotektivních látek do zhoubného nádoru jsou zánětlivé pochody. Jejich původcem jsou makrofágy produkující v nádorech cytokiny se silným prozánětlivým účinkem a s proinvazní aktivitou (např. tumor nekrotizující faktor, TNF).

Hormonálně podmíněné nádory, jako je rakovina prsu nebo prostaty, je možné – zatím jen v pokusech na tkáňových kulturách – potlačovat přírodními látkami, které ruší vazbu hormonu na receptor. Ve stadiu preklinických zkoušek jsou aplikace extraktu ze zeleného čaje polyfenonu E u žen s rizikem rakoviny prsu, event. u mužů s vysokou hodnotou prostatického antigenu (PSA) (5).

Dalším předpokládaným a reálně využitelným cílem chemoprotektivních látek s protinádorovou aktivitou je buněčná imunita, jejíž posílení může mít podpůrný účinek při terapii nádorové choroby (zájímavé práce o využití alkylglycerových lipidů z tuků některých druhů žraloků, celkem výjimečně se zde jedná o látku živočišného původu) (6). Podobným imunitním mechanismem, spočívajícím v signifikantním zvýšení počtu zástupců buněčné imunitní řady (7), působí látka AHCC (Active Hexose Correlated Compound), získávaná z mycelií japonských hub *Lentinula edodes*, klinicky použitelná jako součást sekundární prevence (8).

Jiným procesem, který podstatně chrání organismus před rozvinutým nádorovým bujením, je apoptóza a jiné mechanismy regulace buněčného dělení. Byly vytipovány a jsou testovány chemoprotektivní látky, které stimulují tvorbu proapoptotických bílkovin nebo naopak snižují syntézu antiapoptotických proteinů. Složité pochody, které se těmito zásahy spouštějí, vedou mj. k uvolnění cytochromu c z dýchacích řetězců a k zániku mitochondrií v nádorových buňkách. Tento účinek byl prokázán např. u flavonoidů apigeninu a kvercetinu, u resveratrolů a u polyfenolu silymarinu. Dělení nádorových buněk se podařilo in vitro ovlivnit isoflavonoidem genisteinem, EGCG a sulforafanem. Tyto přírodní látky zasahují do interakcí mezi cykliny (nebo na cyklinech závislými kinázami) a jejich inhibitory. Výsledkem jsou poruchy buněčných cyklů a zastavení množení nádorových buněk (9).

Příznivých dílčích výsledků testů, při kterých přírodní látky izolované z rostlin specificky ovlivňují jednotlivá stadia rozvoje karcinomu a způsobují zastavení nebo zpomalení jeho růstu, již bylo shromážděno poměrně značné množství. Jedná se skoro výhradně o práce prováděné s tkáňovými kulturami izolovanými ze zvířecích (myších) nebo i z lidských nádorů, v menším rozsahu se tyto látky aplikují u lidských pacientů. V tomto případě se jedná o osoby s preklinickými fázemi choroby (polypy a divertikly v tlustém střevu, Barrettův jícn apod.). Důležitou podmínkou pro nasazení chemoprotektivních preparátů z rostlin u pacientů je ověřený relevantní vztah mezi velikostí dávky a významností pozitivní

odpovědi organismu a také prokázaná neškodnost aplikované látky.

### Selekce a testování přírodních látek perspektivně využitelných při protinádorové prevenci

V posledním desetiletí se ve vyspělých výzkumných pracovištích zaměřených na léčení rakoviny provádí systematické vyhledávání a testování přírodních látek s potenciálními protinádorovými vlastnostmi. K tomu účelu se připravují extrakty z rostlinného materiálu (často se jedná o exotické byliny, listy či kůry stromů a keřů aj.), které se po homogenizaci zbavují balastních látek, případně se z nich chromatografickou separací oddělují skupiny přírodních látek. Tyto vzorky se pak podrobují jednoduchým screeningovým testům, jimiž se ověřuje jejich eventuální biologická aktivita; ta se následně přesněji hodnotí specifickými biochemickými, cytotoxickými nebo genotoxickými testy (10).

V první fázi orientačního posuzování biologické aktivity rostlinných přípravků se zpravidla užívají testy na celkovou antioxidační aktivitu, na antimutagenní aktivitu a na schopnost ovlivňovat postreplicační opravy DNA.

Rostlinné přípravky, které prokázaly jednoznačně příznivé výsledky ověřovacích testů, jsou čištěny a jsou z nich izolovány jednotlivé přírodní látky. V dalších testech, které následují, se přesněji určuje povaha jejich protinádorové účinnosti, zejména zda se jedná o bloku- jící, nebo potlačující typ chemoprevence, a to enzyma- tickými testy na aktivitu biotransformačních enzymů, resp. testy na normálních nebo nádorových buněčných kulturách zvířecích i lidských (např. na buňkách z nádoru prsu MCF-7, tlustého střeva HT-29, HCT-116, prostaty DU-145 apod.). Standardně se zde určuje:

- velikost inhibice aktivity ornitindekarboxylasy,
- aktivita enzymů cyklooxygenasy -1 a -2,
- inhibice komplexu enzymů aromatasu,
- velikost estrogenní, estrosulfatasové a antiestrogenní aktivity aj.

Vzorky, které v těchto testech vykazují významně pozitivní výsledky, se přesně strukturně identifikují a podstupují další sérii zkoušek na tkáňových kulturách, při kterých se hodnotí jejich schopnost:

- inhibovat vazbu forboldibutyátu na receptor,
- způsobit zastavení buněčného cyklu nebo indukovat apoptosu nádorových buněk,
- inhibovat na jiném principu proliferaci nádorových buněk,
- brzdí regulaci matricových metaloproteináz,
- inhibovat angiogenezi (tvorbu krevního zásobení v nádorových tkáních) (11).

Vzorky, které se také v těchto testech osvědčily (jedná se vždy o malou část z původní skupiny vzorků zahrnuté do systematických vyšetřování), se v závěrečné fázi experimentálního zkoumání protinádorové aktivity aplikují pokusně zvířatům současně s karcinogeny a s vhodnými promotory vyvolávajícími spolehlivě specifický typ neoplázie.

Tato vyšetření jsou velmi rozsáhlá, materiálově, instrumentálně a časově náročná a nezdírká se opakují. Z přísně kritického vyhodnocení všech získaných výsledků se vybírají nejperspektivnější přírodní látky pro preklinické a klinické studie u lidí. U každého preparátu se předem určuje možná toxicita pro lidi, rizika nežádou-

cích interakcí s léky včetně cytostatik z hlediska farmakokinetických parametrů, zejména vztahu mezi velikostí dávky a velikostí žádoucí odezvy organismu. Některé z těchto látek jsou strukturně modifikovány ve snaze získat deriváty s výhodnějšími chemoprotektivními účinky nebo látky s menším vedlejším toxickým efektem.

### Současný stav praktického využívání fytochemických látek v protinádorové prevenci a terapii

V laické veřejnosti se udržuje dosti poučené po- vědomí o všeobecných zásadách stravování, které může účinně podporovat ochranu organismu před vznikem a rozvojem nádorových nemocí. Mezi nimi se vyskytuje odkaz na význam vlákniny a na po- traviny rostlinného původu obsahující antioxidační vitaminy a minerální látky, avšak nejsou zmiňovány konkrétní zdroje fytochemických látek, u kterých se protinádorový účinek předpokládá. Na trhu u nás a zejména v zahraničí se ale vyskytuje mnoho do- plňků potravy a jedno- i vícesložkových preparátů s významným obsahem chemoprotektivních látek, které jsou deklarovány jako prostředky účinné před nemocí nebo podporující standardní léčení. Uvádí se, že např. v USA více než 85 % pacientů nemocných rakovinou a standardně na tuto nemoc léčených užívá komerční fytochemické preparáty a často se tak děje bez vědomí jejich odborných terapeutů. S cílem podpořit imunitu a zabránit vzniku choroby užívá těchto přípravků v USA až 40 % dospělých a více než 10 % dětí.

Přes velmi intenzivní a systematické výzkumné úsilí věnované vyhledávání a ověřování protinádorových přírodních přípravků, které jsme v předchozích od- stavcích stručně charakterizovali, nebyl dosud objeven ani vyvinut žádný přírodní nebo syntetický prostře- dek na spolehlivé léčení jakéhokoli typu rakoviny. Je ale respektována možnost a oprávněnost aplikovat některé fytochemické látky jako součást jak primární, tak sekundární prevence choroby, např. při závažném geneticky podmíněném riziku rakoviny nebo u prekar- cinózních stavů, u kterých lze nástup a vývoj choroby oddálit. Chemopreventivní přírodní látky se již také uplatňují jako adjuvans při standardní onkologické te- rapii, ovšem s podmínkou přísného výběru a kontroly jejich účinku.

Látek a přípravků, které se v primární i sekundární prevenci a v terapii uplatňují, je poměrně velké množství, počet jednotlivých strukturně definovaných individuů je omezenější. Je zde možné uvést zejména:

- výtažky ze zázvoru včetně kurkuminu,
- zelený čaj a z něho izolovaný epigallokatechingallát,
- lykopen (např. z rajčat),
- mléko z pcháče (flavonoid silibinin),
- jmelí,
- resveratroly (přítomné např. v červeném vínu),
- sója jako zdroj isoflavonoidů, nikoli ve formě koncentrátů,
- bruceantin – přírodní látka z tropického stromu,
- deguelin – derivát flavonoidu rotenonu (12),
- AHCC (Active Hexose Correlated Compound) – β-glukan a acetylovaný α-glukan.

V praxi je rovněž zavedeno užívání syntetických analogů přírodních látek, která mají výhodnější farmako- kinetické vlastnosti a jejich pozitivní účinek v prevenci byl prokázán.

Lidové léčitelství a poznatky získávané po staletí o léčivém účinku různých rostlinných výtažků poskytují i v moderní době podněty k hledání a uplatnění přírodních látek (nebo jejich derivátů) k prevenci a podpůrné léčbě rakoviny. V současné době se využívají moderní metody izolace a strukturní identifikace těchto látek a zároveň jejich testování ve všech fázích karcinogeneze. Dosavadní výsledky umožňují s určitým úspěchem aplikovat vybrané fytochemické látky jako prostředky ochrany osob s vysokým rizikem nádorového onemocnění nebo jako adjuvans při terapii. Zůstává reálná naděje, že bude objevena látka, která se uplatní také jako protinádorový lék v určitém stadiu vývoje nádoru.

## LITERATURA

1. Amin AR, Kucuk O, Khuri FR, Shin DM. Perspectives for cancer prevention with natural compounds. *J Clin Oncol*. 2009 Jun 1;27(16):2712-25.
2. Zhang HY, Chen LL, Li XJ, Zhang J. Evolutionary inspirations for drug discovery. *Trends Pharmacol Sci*. 2010 Oct;31(10):443-8.
3. Manson MM, Foreman BE, Howells LM, Moiseeva EP. Determining the efficacy of dietary phytochemicals in cancer prevention. *Biochem Soc Trans*. 2007 Nov;35(Pt 5):1358-63.
4. Kinghorn AD, Su BN, Jang DS, Chang LC, Lee D, Gu JQ, et al. Natural inhibitors of carcinogenesis. *Planta Med*. 2004 Aug;70(8):691-705.
5. Neergheen VS, Bahorun T, Taylor EW, Jen LS, Aruoma OI. Targeting specific cell signaling transduction pathways by dietary and medicinal phytochemicals in cancer chemoprevention. *Toxicology*. 2010 Dec 5;278(2):229-41.
6. Iannitti T, Palmieri B. An update on the therapeutic role of alkylglycerols. *Mar Drugs*. 2010 Aug 5;8(8):2267-300.
7. Terakawa N, Matsui Y, Sato S, Yanagimoto H, Takahashi K, Yamamoto T, et al. Immunological effect of active hexose correlated compound (AHCC) in healthy volunteers: a double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr Cancer*. 2008;60(5):643-51.
8. Matsui Y, Uhara J, Sato S, Kaibori M, Yamada H, Kitade H, et al. Improved prognosis of postoperative hepatocellular carcinoma patients when treated with functional foods: a prospective cohort study. *J Hepatol*. 2002 Jul;37(1):78-86.
9. Shu L, Cheung KL, Khor TO, Chen C, Kong AN. Phytochemicals: cancer chemoprevention and suppression of tumor onset and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2010 Sep;29(3):483-502.
10. Chen C, Kong AN. Dietary cancer-chemopreventive compounds: from signaling and gene expression to pharmacological effects. *Trends Pharmacol Sci*. 2005 Jun;26(6):318-26.
11. Gullett NP, Rahul Amin AR, Bayraktar S, Pezzuto JM, Shin DM, Khuri FR, et al. Cancer prevention with natural compounds. *Semin Oncol*. 2010 Jun;37(3):258-81.
12. Gibellini L, Pinti M, Nasi M, Montagna JP, De Biasi S, Roat E, et al. Quercetin and cancer chemoprevention. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011;2011:591356.

*Došlo do redakce: 14. 2. 2012  
Přijato k tisku: 17. 10. 2012*

*Doc. Ing. Zdeněk Zloch, CSc.  
Ústav hygieny a preventivní medicíny LFP UK  
Lidická 4  
301 00 Plzeň  
E-mail: zloch@lfp.cuni.cz*