

Titolo: Vitamina C nella riprogrammazione delle cellule staminali e nel cancro - Vitamin C in stem cell reprogramming and cancer

Codice: ASC009

Autore: Cimmino et al.

Data: 2018

Rivista: *Trends in Cell Biology* 28(9): 698-708

Argomento: acido ascorbico

Accesso libero: si

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.04.001>

URL: [https://www.cell.com/trends/cell-biology/Cimmino et al 2018](https://www.cell.com/trends/cell-biology/Cimmino%20et%20al%202018)

BLOG: <https://www.metododibellaevidenzescientifiche.com/2024/09/15/asc009-cimmino-et-al-2018/>

Parole chiave: vitamina C, epigenetica, cellule staminali, proteine TET, metilazione, cancro

Tumore: n/a

Traduzione: totale e fedele

Punti di interesse: La vitamina C è un requisito alimentare essenziale per gli esseri umani, noto soprattutto per il suo ruolo nella protezione contro lo scorbuto. Il ripristino della vitamina C nella dieta inverte i sintomi dello scorbuto per il ripristino dell'attività delle prolilidrossilasi del collagene che necessita della vitamina C come cofattore. Le prolilidrossilasi sono una famiglia di enzimi diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato (Fe^{2+}/α -KGDD; vedere Glossario) che necessitano della vitamina C come cofattore per mantenere la loro attività enzimatica. Altri enzimi di questo tipo sono fondamentali per la vita cellulare organizzata, in quanto sono regolatori epigenetici che controllano l'espressione genica e hanno un ruolo fondamentale nella programmazione cellulare, nelle cellule sane e nel cancro. Queste diossigenasi necessitano della vitamina C per svolgere correttamente la loro funzione. Si stima che la carenza di vitamina C sia ampiamente diffusa nella popolazione. Il modo in cui la carenza di vitamina C influenza la progressione delle malattie, dato il suo ruolo come regolatore epigenetico, necessita ancora molte indagini.

Il ruolo antiossidante della vitamina C

La vitamina C svolge un ruolo importante nella protezione delle cellule dallo stress ossidativo mantenendo l'equilibrio redox intracellulare. Agendo come donatore di elettroni, la vitamina C può ridurre le specie reattive dell'ossigeno (ROS) generati durante le normali funzioni cellulari. Estinguendo i radicali liberi, la vitamina C protegge dal danno ossidativo al DNA, dalla perossidazione lipidica e dall'ossidazione dei residui di amminoacidi in modo da mantenere l'integrità proteica.

La vitamina C è un cofattore chiave per Fe^{2+}/α -KGDD ed è coinvolta nella programmazione cellulare

Oltre al ruolo antiossidante, la capacità di agire come donatore di elettroni per ridurre il ferro ferrico (Fe^{3+}) in ferro ferroso (Fe^{2+}) è il meccanismo chiave mediante il quale la vitamina C agisce come cofattore per le diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato. Importanti regolatori epigenetici sono diossigenasi regolate dalla vitamina C e sono:

- 1) le istone demetilasi contenenti il dominio chiamato Jumonji C: agiscono sulla metilazione degli istoni, le proteine che compattano il DNA nella cromatina, compattando o scompartando il DNA e rendendolo idoneo o meno alla trascrizione;
- 2) demetilasi del DNA e dell'RNA della famiglia ALKBH: demetilano direttamente molecole di DNA o RNA attivando la trascrizione genica di sequenze specifiche;

3) la famiglia delle DNA idrossilasi di traslocazione dieci-undici (TET): agenti ipometilanti il DNA. (Box 2 e 3 e vedi glossario)

Attraverso la modulazione dell'attività dei fattori epigenetici, la vitamina C è in grado di svolgere una funzione di controllo della trascrizione del DNA attraverso reazioni di demetilazione, sia degli istoni, sia direttamente del DNA attivando o disattivando così la trascrizione genica. In studi indipendenti è stato dimostrato che la vitamina C potenzia l'attività delle diossigenasi dipendenti da ferro e α -chetoglutarato e può promuovere la demetilazione del DNA nelle cellule staminali embrionali e migliorare la riprogrammazione delle cellule somatiche in cellule staminali pluripotenti indotte.

Regolazione epigenetica della vitamina C delle cellule staminali emopoietiche (HSC)

Sulla base delle precedenti osservazioni, il ruolo della vitamina C nel mantenimento ottimale dell'attività degli enzimi diossigenasi TET nelle cellule staminali ematopoietiche (HSC) durante i processi di differenziamento nelle diverse linee cellulari del sangue, ha recentemente attirato l'attenzione dei ricercatori. Le mutazioni inattivanti enzimi TET sono le più diffuse in pazienti con tumori del sangue. La perdita di funzione di TET causa cambiamenti di stati di metilazione nel genoma delle cellule staminali ematopoietiche con cambiamenti dell'espressione genica specifica, instabilità genomica e cambiamenti del regolare sviluppo delle cellule ematopoietiche. Ne conseguono crescita alterate e aberranti delle varie linee cellulari. Visto che la vitamina C è necessaria per il mantenimento di un sistema immunitario sano, ed è importante nel regolare l'attività degli enzimi TET, il potenziale della vitamina C nel modulare la differenziazione delle cellule staminali ematopoietiche attraverso la regolazione dell'epigenoma è stato sorprendentemente trascurato. Carenze di vitamina C possono alterare la funzionalità degli enzimi TET nei processi di differenziazione delle cellule ematopoietiche, che possono essere invertite con l'assunzione di vitamina C nella dieta.

L'ipermetilazione del DNA è un segno distintivo delle cellule staminali embrionali umane aberranti provenienti da pazienti con tumori del sangue con una mutazione per gli enzimi TET. Farmaci ipometilanti del DNA provocano un tasso di risposta più elevato nei pazienti con mutazioni TET2. È stato dimostrato che la vitamina C agisce in sinergia con la decitabina (agente ipometilante) per migliorare l'ipometilazione del DNA. L'integrazione di vitamina C nella dieta potrebbe migliorare le risposte terapeutiche nei pazienti trattati con agenti ipometilanti del DNA.

Vitamina C come adiuvante per la terapia del cancro

I pazienti con neoplasie ematopoietiche o altri tumori sono spesso marcatamente carenti di vitamina C e il ripristino o il mantenimento di livelli fisiologici ha dimostrato di rallentare la crescita delle cellule maligne in molteplici contesti. A basse dosi, la vitamina C agisce come antiossidante e mantiene livelli sufficienti di ferro nello stato ferroso per promuovere l'attività delle diossigenasi. A dosi più elevate la vitamina C può comportarsi come un pro-ossidante, causando stress ossidativo e deplezione del GSH che porta all'accumulo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) (Box 4).

L'aumento del ferro labile e della deplezione del GSH sono effettori distintivi della ferroptosi, una forma di morte cellulare non apoptotica causata dalla perossidazione lipidica letale. Questo potrebbe essere un meccanismo aggiuntivo attraverso il quale la vitamina C esercita la sua funzione di terapia antitumorale.

Osservazioni conclusive e direzioni future

La vitamina C è recentemente emersa come un importante regolatore della biologia delle cellule staminali e della progressione del cancro attraverso la sua capacità di modulare l'epigenoma. Mantenere una dieta ricca di vitamina C potrebbe aiutare a prevenire o sopprimere la progressione

del cancro e le dosi farmacologiche potrebbero agire in sinergia con le terapie ipometilanti o dannose per il DNA. Inoltre, migliorare la biodisponibilità della vitamina C e comprendere la base strutturale con cui la vitamina C può agire come cofattore specifico per $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ può aiutare nello sviluppo di terapie mirate per trattare pazienti con carenze di regolatori epigenetici. La perdita di funzione nei regolatori epigenetici è un segno distintivo del cancro e, nel caso della malignità ematopoietica, è un fattore determinante nella progressione della malattia. La potenzialità della vitamina C di modulare l'epigenoma come terapia epigenetica naturale e non tossica per la prevenzione e il trattamento del cancro ha ulteriormente ampliato il ruolo di questa vitamina essenziale nella biologia umana.

Traduzione articolo

Riassunto

La vitamina C è un requisito dietetico essenziale per gli esseri umani. Oltre al suo noto ruolo di antiossidante, la vitamina C è un cofattore per le diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato ($\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$) che comprendono un gran numero di enzimi diversi, tra cui la collagene proli idrossilasi e regolatori epigenetici della metilazione degli istoni e del DNA. La vitamina C può modulare la funzione delle cellule staminali embrionali (ESC), migliorare la riprogrammazione dei fibroblasti in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) e ostacolare l'auto-rinnovamento aberrante delle cellule staminali ematopoietiche (HSC) attraverso la sua capacità di migliorare l'attività delle demetilasi istoniche contenenti il dominio Jumonji C (JmJc) o delle proteine idrossilasi di traslocazione dieci-undici del DNA (TET). Dato che la disregolazione epigenetica è un noto fattore scatenante della malignità, la vitamina C può svolgere un nuovo ruolo come agente antitumorale epigenetico.

In evidenza

La vitamina C è essenziale per gli esseri umani e i livelli plasmatici sono strettamente controllati dai trasportatori di vitamina C dipendenti dal sodio che sono responsabili dell'assorbimento alimentare e dell'assorbimento nell'intero corpo.

La vitamina C è un antiossidante e un cofattore per $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$.

La vitamina C migliora la riprogrammazione epigenetica dei fibroblasti in iPSC e mantiene la pluripotenza delle ESC, regolando l'attività delle istone demetilasi contenenti il dominio JmJc e delle idrossilasi TET.

La carenza di vitamina C può promuovere un auto-rinnovamento anomalo nelle HSC e accelerare la progressione della leucemia riducendo l'attività delle idrossilasi TET.

Dosi farmacologiche di vitamina C possono ripristinare la funzione TET nelle HSC e possono rappresentare un promettente adiuvante alle terapie standard per il trattamento della leucemia e di altri tumori.

Vitamina C: un nuovo regolatore epigenetico

La vitamina C è un requisito alimentare essenziale per gli esseri umani, noto soprattutto per il suo ruolo nella protezione contro lo scorbuto. Questa malattia, causata da una grave carenza di vitamina C, se non curata può essere fatale ed è caratterizzata da emorragie e scarsa guarigione delle ferite [1]. Il ripristino della vitamina C nella dieta inverte i sintomi dello scorbuto ed è in gran parte attribuito al ripristino mediato dalla vitamina C dell'attività delle proliidrossilasi del collagene, una famiglia di diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato ($\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$; vedere Glossario) che regolano la sintesi del collagene [2]. Molte altre diossigenasi $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KG}$ dipendenti dipendono anche dalla vitamina C come cofattore per mantenere la loro attività enzimatica, inclusi i principali regolatori epigenetici della demetilazione degli istoni e dell'idrossimetilazione del DNA che

svolgono un ruolo fondamentale nella riprogrammazione epigenetica delle cellule staminali e del cancro [3 – 6]. Studi recenti hanno dimostrato che la vitamina C può proteggere le cellule staminali emopoietiche dalle alterazioni epigenetiche che guidano la progressione della leucemia e, pertanto, la capacità della vitamina C di modulare l'epigenoma ha riaperto l'interesse per i potenziali benefici terapeutici della vitamina C [7,8]. È stato anche dimostrato che dosi farmacologiche di vitamina C agiscono in sinergia con la chemioterapia standard nel trattamento delle cellule tumorali solide ed emopoietiche [9 – 11]. In questa revisione riassumiamo le note funzioni biologiche della vitamina C, la sua regolazione omeostatica nel corpo e il suo ruolo come cofattore di Fe^{2+} / α -KGDD per modificare l'epigenoma delle cellule staminali. Inoltre, evidenziamo i potenziali benefici del trattamento con vitamina C ad alte dosi come terapia antitumorale.

Biosintesi e assorbimento della vitamina C

La maggior parte dei mammiferi è in grado di sintetizzare la vitamina C de novo nel fegato dal glucosio tramite l'azione enzimatica della L-gulonolattone ossidasi (GULO). Tuttavia, negli esseri umani e in altri primati, oltre alle cavie, ai pipistrelli e ai pesci teleostei come il pesce zebra, il gene GULO è inattivo, rendendo la vitamina C un requisito dietetico essenziale [1,12]. Per mantenere livelli fisiologici ottimali di vitamina C, l'assunzione giornaliera raccomandata è di 200 mg/giorno, che si traduce in una concentrazione plasmatica di circa ~70-80 μM e può essere facilmente sostenuta dal consumo di una varietà di frutta e verdura [1,13]. Periodi prolungati di bassa assunzione dietetica di vitamina C (< 10 mg/giorno), che portano a livelli plasmatici inferiori a ~10 μM , si manifestano nella sua forma più grave come scorbuto. Tuttavia, una carenza di vitamina C più lieve potrebbe essere sottostimata a causa dei suoi sintomi non specifici come affaticamento, irritabilità, dolori sordi e perdita di peso [14,15]. Negli Stati Uniti si stima che > 7% della popolazione (> 20 milioni di persone) sia carente di vitamina C [15] e nel Regno Unito il 25-46% della popolazione a basso reddito e dei fumatori presenta livelli plasmatici di vitamina C carenti o impoveriti [16]. Il modo in cui la carenza di vitamina C può influenzare la progressione delle malattie umane anche a livelli inferiori allo scorbuto, dato il suo ruolo più recentemente definito come regolatore epigenetico, richiede ulteriori indagini e sottolinea l'importanza di comprendere come i livelli di vitamina C siano regolati in vivo.

Trasporto e omeostasi della vitamina C

La vitamina C è idrosolubile e viene assorbita nella dieta attraverso il lume intestinale per la distribuzione in tutto il corpo tramite il flusso sanguigno. Nel tratto gastrointestinale la forma ionizzata della vitamina C, L-ascorbato (ASC), e la sua controparte ossidata, L-deidroascorbato (DHA), vengono assorbite dalle cellule luminali attraverso diversi meccanismi tra cui diffusione passiva, diffusione facilitata e trasporto attivo [13]. La diffusione passiva è limitata dalla bassa idrofobicità di ASC e DHA e contribuisce solo a una frazione della regolazione complessiva dell'omeostasi della vitamina C nel corpo [17]. Il trasporto di DHA, ma non di ASC, avviene tramite diffusione facilitata attraverso diversi trasportatori del glucosio (GLUT1 – 4) con diverse distribuzioni tissutali e affinità per la vitamina C, ed è inibito in modo competitivo dal glucosio (Figura 1, Figura chiave) [13]. La diffusione facilitata di DHA attraverso GLUT1 è la modalità primaria di assorbimento della vitamina C da parte degli eritrociti. Una volta all'interno dell'eritrocita, il DHA viene ridotto ad ASC dal glutatione (GSH), mantenendo così un gradiente di concentrazione che favorisce l'assorbimento del DHA ma solo all'equivalente delle concentrazioni plasmatiche (Box 1) [13]. A differenza degli eritrociti, la concentrazione intracellulare di vitamina C in altre cellule può variare da 1 a 4 mM nei globuli bianchi fino a 10 mM nelle cellule cerebrali [18]. La capacità delle cellule di raggiungere concentrazioni intracellulari così elevate (mM) di vitamina C da bassi livelli plasmatici (μM) è attribuita all'azione di due trasportatori di vitamina C sodio-dipendenti (SVCT) che utilizzano il gradiente di sodio attraverso le membrane plasmatiche

per trasportare ASC (ma non DHA) nella cellula (Figura 1) [18,19]. SVCT1 è espresso principalmente nelle cellule epiteliali e regola l'assorbimento gastrointestinale e il riassorbimento renale, mentre SVCT2 è espresso nella maggior parte dei tessuti e si pensa sia responsabile dell'assorbimento cellulare sistemico [13,18]. I livelli plasmatici di vitamina C sono strettamente controllati dai due SVCT, che a loro volta presentano caratteristiche di regolazione dipendente dal substrato. Dopo la somministrazione orale di dosi molto elevate di vitamina C (> 500 mg/giorno), le concentrazioni plasmatiche massime non superano i 150 μM a causa della downregulation omeostatica di SVCT1, che impedisce l'assorbimento intestinale e il riassorbimento renale, portando all'escrezione urinaria di vitamina C in eccesso [20]. Al contrario, la carenza di vitamina C può anche promuovere la upregulation dell'espressione di mRNA sia di SVCT1 che di SVCT2 in vari tessuti tra cui fegato e intestino [13]. È stata segnalata una disregolazione della funzione dei trasportatori della vitamina C attraverso la variazione genetica [21], e ciò può influenzare l'assorbimento e la distribuzione nell'intero corpo, portando ad alterazioni sia nell'epigenoma che nell'equilibrio redox cellulare.

Il ruolo antiossidante della vitamina C

La vitamina C svolge un ruolo importante nella protezione delle cellule dallo stress ossidativo mantenendo l'equilibrio redox intracellulare. Agendo come donatore di elettroni, la vitamina C può ridurre le specie reattive dell'ossigeno (ROS), tra cui anioni superossido, radicali idrossilici, ossigeno singoletto e acido ipocloroso che vengono generati durante la normale respirazione metabolica/fosforilazione ossidativa mitocondriale (generazione di ATP aerobica). Estinguendo i radicali liberi, la vitamina C può quindi proteggere dalle mutazioni indotte dal danno ossidativo al DNA, dalla perossidazione lipidica e dall'ossidazione dei residui di amminoacidi in modo da mantenere l'integrità proteica [1]. Mantenere l'equilibrio redox attraverso il trasferimento di elettroni è inoltre fondamentale in molti processi metabolici, nonché per la formazione di intermedi metabolici che sono noti per svolgere un ruolo importante nella modulazione dell'attività dei regolatori epigenetici, come l' α -chetoglutarato e altri intermedi del ciclo dell'acido citrico [22]. La vitamina C ha quindi il potenziale per svolgere un ruolo nel mantenimento dell'integrità cellulare e per influenzare lo stato epigenetico tramite la sua proprietà antiossidante.

La vitamina C è un cofattore chiave per $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$

Oltre al ruolo antiossidante della vitamina C, la sua capacità di agire come donatore di elettroni per ridurre il ferro ferrico (Fe^{3+}) in ferro ferroso (Fe^{2+}) è un meccanismo chiave mediante il quale la vitamina C agisce come cofattore per le diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato ($\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$). Diverse famiglie di $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ sono regolate dalla vitamina C, comprese le prolil idrossilasi [23] e i regolatori epigenetici come le istone demetilasi contenenti il dominio Jumonji C (JmjC) (JHDM) [5], le demetilasi del DNA e dell'RNA della famiglia dell'omologo di AlkB (ALKBH) [24,25] e la famiglia delle DNA idrossilasi di traslocazione dieci-undici (TET) [3,6] (Riquadro 2 e Figura 1).

Le diossigenasi dipendenti da $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KG}$ hanno valori di K_m relativamente alti per la vitamina C (la concentrazione richiesta per metà delle velocità di reazione massime è 140 – 300 μM) e quindi mostrano una bassa affinità per la vitamina C e per questo motivo possono richiedere livelli intracellulari superiori a 1 mM per un'attività catalitica ottimale [20]. La vitamina C è tuttavia spesso essenziale per l'attività massima di $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ e non può essere sostituita nella reazione da altri antiossidanti come spermidina, vitamina B1, vitamina E, glutatione, NADP, ditiotreitolo o L-cisteina, indicando una specifica necessità di vitamina C come cofattore per questi enzimi [2,6,26]. Inoltre, è stato dimostrato che la vitamina C si lega direttamente ad alcune $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ come le proteine TET [14]. Tuttavia, vi sono anche prove che la vitamina C può agire semplicemente come agente riducente per mantenere il ferro nello stato ferroso, indipendentemente

da qualsiasi attività cofattoriale diretta, dato che, in particolari condizioni di reazione, è stato dimostrato che altri antiossidanti oltre alla vitamina C possono ridurre il ferro ferrico (Fe^{3+}) a ferro ferroso (Fe) per migliorare l'attività degli enzimi TET [27]. La vitamina C può quindi svolgere un ruolo indiretto nel mantenimento dell'attività di $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ attraverso la regolazione del ferro redox attivo (Box 3).

Riprogrammazione epigenetica delle cellule staminali da parte della vitamina C

Nel 2010, due studi indipendenti hanno dimostrato che la vitamina C potrebbe promuovere la demetilazione del DNA nelle cellule staminali embrionali (ESC) [28] e migliorare la riprogrammazione delle cellule somatiche in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) [4]. La vitamina C è necessaria per mantenere la proliferazione delle ESC in vitro [28], ed è stata originariamente aggiunta al terreno di coltura delle cellule somatiche per contrastare i ROS generati durante la riprogrammazione nel tentativo di migliorare l'efficienza o la qualità delle iPSC generate [4]. Tuttavia, la vitamina C ha dimostrato di essere sostanzialmente più efficiente nel migliorare la generazione di iPSC rispetto ad altri antiossidanti. Inoltre, gli inibitori delle diossigenasi dipendenti da $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KG}$ hanno compromesso la riprogrammazione [5], implicando il coinvolgimento di questi enzimi nel meccanismo di riprogrammazione mediata dalla vitamina C.

JHDM nella riprogrammazione mediata dalla vitamina C

Inizialmente si è ipotizzato che le proteine enzimatiche istone demetilasi contenenti il dominio Jumonji C (JHDM) fossero effettori chiave della riprogrammazione delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) a valle della vitamina C [5]. È stato dimostrato che la vitamina C potenzia l'attività di JHDM1a/1b (KDM2a/2b) per promuovere la demetilazione della lisina 36 dell'istone H3 di/trimetilato ($\text{H3K36me}_{2/3}$) nei fibroblasti embrionali di topo in coltura e durante la riprogrammazione [5]. In linea con queste osservazioni, la sovraespressione di Jhdm1a/1b ha potenziato potentemente la riprogrammazione, mentre l'abbattimento ha compromesso la generazione di iPSC [5].

È stato dimostrato che la metilazione della lisina 9 sull'istone 3 (H3K9) è una barriera durante la riprogrammazione delle cellule somatiche in iPSC [29]. La vitamina C, agendo tramite JMJDa/1b (KDM3a/3b), induce una perdita specifica di H3K9me_2 nelle ESC [30] e può guidare la transizione pre-iPSC-iPSC migliorando sia la demetilazione di $\text{H3K9me}_{2/3}$ mediata da JMJD1 (KDM3) che da JMJD3 (KDM4) nei loci genici della pluripotenza centrale [29]. È interessante notare che la vitamina C migliora anche la generazione di iPSC almeno in parte ritardando la senescenza cellulare [4] attraverso la rimozione di $\text{H3K36me}_{2/3}$ mediata da JHDM1b, che porta al silenziamento del locus *Cdkn2a* (*Ink4/Arf*) che induce la senescenza [5].

Proteine TET nella riprogrammazione mediata dalla vitamina C

Studi recenti hanno dimostrato che anche la riprogrammazione potenziata delle iPSC e la demetilazione del DNA indotte dalla vitamina C dipendono dalle proteine TET. I fibroblasti embrionali di topo (MEF) depleti di Tet1 o Tet2 non sono in grado di generare colonie di iPSC, mentre la sovraespressione delle proteine TET migliora la riprogrammazione [31 – 33]. La vitamina C può aumentare drasticamente la produzione di 5-idrossimetilcitosina (5hmC) nelle ESC e durante la riprogrammazione dei fibroblasti di topo e umani in iPSC [3,26,34]. Il rapido aumento di 5hmC osservato nelle ESC trattate con vitamina C si accumula nei siti di inizio trascrizionale (TSS) ed è seguito dalla demetilazione del DNA nei promotori dei geni della linea germinale che sono normalmente espressi durante la formazione di uno stato simile alla blastocisti [3,6]. In particolare, 100 μM di vitamina C sono sufficienti per aumentare 5hmC fino a circa quattro volte rispetto ai livelli basali nelle ESC entro 24 ore dal trattamento. Effetti ancora più grandi si osservano sui livelli di 5-formilcitosina (5fC; aumento di 10 volte) e 5-carbossicitosina (5caC; aumento di 20 volte), i

prodotti di ossidazione successivi di 5hmC catalizzati dalle proteine TET che innescano la demetilazione attiva del DNA [6]. Gli effetti della vitamina C su 5hmC, espressione genica e demetilazione del DNA si perdono nelle ESC Tet1^{-/-}Tet2^{-/-} [3,6], evidenziando l'importanza delle proteine TET come bersagli a valle della demetilazione del DNA mediata dalla vitamina C. L'integrazione di vitamina C aumenta anche l'efficienza della riprogrammazione attivando l'espressione di diversi microRNA [5] e prevenendo l'ipermetilazione aberrante del DNA e il silenziamento dei geni impressi nel cluster genico Dlk1 – Dio3 [35] che potrebbe essere mediato da una combinazione di maggiore attività JHDM e TET.

Regolazione epigenetica mediata dalla vitamina C delle cellule staminali emopoietiche (HSC)

Un ruolo della vitamina C nel mantenimento dei livelli fisiologici di 5-idrossimetilcitosina (5hmC) e dell'attività enzimatica TET completamente funzionale nelle HSC ha recentemente attirato l'attenzione. Le proteine TET sono noti soppressori tumorali della linea emopoietica (rivisti in [36]). Dei tre geni TET, le mutazioni inattivanti TET2 sono le più diffuse, verificandosi fino al 30% dei pazienti con mielodisplasia (MDS), leucemia mieloide acuta (LMA) ed emopoiesi clonale a potenziale indeterminato (CHIP), uno stato premaligno osservato in circa il 10% degli anziani sani che aumenta il rischio di progressione verso la LMA [37,38].

La perdita di funzione di TET è stata anche modellata geneticamente nei topi. La carenza di Tet1 porta a un auto-rinnovamento anomalo e all'espansione delle HSC con un bias del lignaggio delle cellule B [39,40], mentre la carenza di Tet2 causa un auto-rinnovamento anomalo con un bias del lignaggio mieloide [41 – 43]. Inoltre, la perdita combinata di Tet1 e Tet2 limita la malignità al lignaggio delle cellule B, mentre la carenza combinata di Tet2 e Tet3 causa un'accelerata LMA [39,44]. In questi modelli di topi, la carenza di proteine TET causa la perdita di 5hmC nel genoma delle HSC e variazioni dell'ipermetilazione del DNA che è associata a cambiamenti nell'espressione genica specifica di una data linea cellulare ematopoietica e all'instabilità genomica. Data l'importanza della vitamina C per il mantenimento di un sistema immunitario sano [45], il potenziale della vitamina C di modulare la funzione delle HSC attraverso la regolazione dei fattori epigenetici era stato sorprendentemente trascurato fino a poco tempo fa.

Carenza di vitamina C e progressione della leucemia

Recentemente, un gruppo di ricerca, utilizzando un approccio di screening metabolomico, ha scoperto che i livelli di vitamina C sono più elevati nelle HSC umane e di topo rispetto ai tipi di cellule ematopoietiche più differenziate [7]. Il gene del trasportatore della vitamina C Svct2 (Slc23a2) è anche espresso in modo più abbondante sulle HSC rispetto ai progenitori con lignaggio limitato e alle cellule immunitarie mature.

Utilizzando topi Gulo^{-/-} [46], gli autori hanno dimostrato che la carenza di vitamina C ha portato a una maggiore frequenza di HSC e ha causato una perdita di 5hmC nel genoma. Questi effetti potrebbero essere invertiti dall'assunzione di vitamina C nella dieta, implicando un'attività TET carente come causa dell'espansione aberrante delle HSC [7]. Inoltre, la carenza di vitamina C modellata sistemicamente (Gulo^{-/-}) o utilizzando topi knockout del trasportatore di vitamina C intrinseco alle cellule (Slc23a2^{-/-}) [47] ha dimostrato di cooperare con l'oncogene Flt3ITD per accelerare la leucemogenesi negli studi sul trapianto di midollo osseo. La carenza di vitamina C ha esacerbato la perdita di 5hmC nelle HSC con perdita eterozigote o omozigote di Tet2, suggerendo che un ambiente di micronutrienti impoverito di vitamina C potrebbe compromettere globalmente l'attività delle proteine TET tra cui TET1 e/o TET3 [7].

Ripristino della funzione TET mediante trattamento con vitamina C

Le mutazioni TET2 riscontrate nei pazienti sono quasi esclusivamente eterozigoti e influenzano la capacità dell'enzima di legare Fe²⁺ o α-KG nel dominio catalitico, portando a una compromissione

dell'idrossilazione della 5-metilcitosina (5mC) e all'ipermetilazione del DNA [48,49]. Abbiamo ipotizzato che il potenziamento dell'attività della proteina residua di tipo selvaggio codificata dall'allele non mutato, o il potenziale aumento dell'attività delle proteine TET2 mutanti per ripristinare i normali livelli di attività TET2, potrebbe giovare ai pazienti con malattie da deficit di TET2. Infatti, utilizzando modelli genetici di topi specifici, abbiamo scoperto che il ripristino dei livelli di espressione endogena di Tet2 nelle cellule con knockdown di Tet2 è sufficiente a bloccare l'auto-rinnovamento aberrante delle HSC, aumentare 5hmC, promuovere la demetilazione del DNA e regolare positivamente l'espressione di geni importanti per la differenziazione delle cellule mieloidi [8]. Il trattamento con vitamina C delle cellule staminali e progenitrici emopoietiche (HSPC) carenti di Tet2 potrebbe imitare il ripristino di Tet2, causando una maggiore formazione di 5hmC, un blocco nell'auto-rinnovamento aberrante delle HSPC umane o di topo e la soppressione della progressione della malattia in vivo [8]. Similmente agli studi sulle ESC e sulle iPSC, la sensibilità alla vitamina C e all'induzione di 5hmC dipendeva dalla quantità di espressione totale di TET. Tet2 e Tet3 rappresentano > 95% dell'mRNA di Tet espresso nelle HSPC di topo. La perdita combinata di Tet2 e Tet3 ha reso le HSPC resistenti al trattamento con vitamina C e gravemente carenti nella loro capacità di generare 5hmC [8], suggerendo che una soglia di espressione di TET è necessaria affinché la vitamina C moduli l'auto-rinnovamento delle HSPC.

Vitamina C come agente ipometilante

Analogamente agli studi iniziali sulle cellule staminali embrionali umane (ESC) che hanno mostrato un'ipometilazione diffusa del DNA in seguito al trattamento con vitamina C [28], abbiamo anche dimostrato che la vitamina C determina l'ipometilazione del DNA e l'espressione di una firma genica dipendente da TET2 nelle linee cellulari di leucemia umana [8]. L'ipermetilazione del DNA è un segno distintivo delle cellule staminali embrionali umane aberranti provenienti da pazienti con MDS e LMA con una mutazione TET2 [50,51] e gli agenti ipometilanti del DNA come la 5-azacitidina (5-aza) e la 5-aza-2-deossicitidina (decitabina) provocano un tasso di risposta più elevato nei pazienti con mutazioni TET2 [52]. È stato dimostrato che la vitamina C agisce in sinergia con la decitabina in modo dipendente da TET2 per aumentare 5hmC, migliorare l'ipometilazione del DNA e aumentare l'espressione dei geni retrovirali endogeni, innescando una risposta di mimetismo virale innata che promuove l'apoptosi di diverse linee cellulari tumorali umane [53]. Nell'ultimo studio, sono state utilizzate concentrazioni fisiologiche di vitamina C ottenibili tramite somministrazione orale (57 μ M di dosi giornaliere), suggerendo che l'integrazione di vitamina C nella dieta potrebbe migliorare le risposte terapeutiche nei pazienti trattati con agenti ipometilanti del DNA.

Vitamina C ad alto dosaggio come agente antitumorale

I livelli di vitamina C sono strettamente regolati nel plasma umano per mantenere concentrazioni fisiologiche di 50-70 μ M, limitando la capacità di ottenere un elevato assorbimento cellulare tramite il solo consumo orale [13,20]. La concentrazione di vitamina C utilizzata in vitro (250 μ M) nel nostro studio ha superato i normali livelli plasmatici nei topi o i livelli massimi raggiungibili dopo somministrazione dietetica (circa 150 μ M) [15,54]. Studi farmacocinetici sugli esseri umani hanno dimostrato che la somministrazione endovenosa (IV) di L-ascorbato di sodio può generare livelli plasmatici di picco fino a 30 mM, 100 volte superiori ai livelli prodotti dalla somministrazione orale ad alte dosi, con una tossicità minima [11,55,56]. I primi studi documentati che utilizzavano vitamina C IV ad alte dosi nella terapia del cancro sono stati pubblicati da Linus Pauling ed Ewan Cameron negli anni '70, con segnalazioni di una certa efficacia [57]. Tuttavia, i successivi studi clinici sulla vitamina C ad alte dosi non sono riusciti a mostrare alcun beneficio, molto probabilmente perché questi studi utilizzavano solo la somministrazione orale [58,59]. Recenti studi clinici e casi di studio hanno dimostrato l'efficacia della vitamina C come agente antitumorale

quando somministrata per via endovenosa ad alte dosi che vanno da 0,4 a 1,5 g di ascorbato/kg di peso corporeo, generando fino a 100 volte la concentrazione di vitamina C plasmatica ottenibile con somministrazione orale, per trattare pazienti con una varietà di tumori solidi tra cui cancro al seno, alle ovaie, alla prostata, ai reni, ai polmoni e al fegato [11,55,56,60]. Il motivo esatto per cui solo alcuni tumori rispondono rimane poco chiaro, sebbene il percorso RAS sia stato implicato nella sovraregolazione indotta di GLUT1, seguita da un aumento dell'assorbimento di DHA e dal conseguente stress ossidativo dovuto all'aumentata richiesta di antiossidanti (come GSH) per ridurre DHA ad ASC, e questo è stato proposto come potenziale meccanismo. La capacità della vitamina C di sopprimere la progressione della leucemia migliorando l'attività enzimatica TET [7,8] suggerisce che la carenza di TET potrebbe essere un biomarcatore di risposta per la terapia con vitamina C. I futuri studi clinici potrebbero concentrarsi sulle malattie da deficit di TET2, tra cui CHIP, MDS e AML, così come sulle neoplasie linfoidi come il linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) e il linfoma angioimmunoblastico a cellule T (AITL), dove sono prevalenti anche le mutazioni con perdita di funzione di TET2 [36].

Vitamina C come adiuvante per la terapia del cancro

I pazienti con neoplasie ematopoietiche o altri tumori sono spesso marcatamente carenti di vitamina C [53,61,62] e il ripristino o il mantenimento di livelli fisiologici ha dimostrato di rallentare la crescita delle cellule maligne in molteplici contesti, tra cui la leucemia [7,53,63]. Tuttavia, dosi farmacologiche di vitamina C, somministrate per via endovenosa, stanno ricevendo sempre più attenzione nella ricerca sul cancro data la loro capacità di sfruttare molteplici meccanismi terapeutici di azione. A basse dosi, la vitamina C agisce come antiossidante e mantiene livelli sufficienti di ferro nello stato ferroso per promuovere l'attività delle diossigenasi [1]. Tuttavia, a dosi più elevate la vitamina C può comportarsi come un pro-ossidante, causando stress ossidativo e deplezione del GSH che porta all'accumulo di ROS [64] (Box 4).

Di recente, è stato dimostrato che la vitamina C ad alte dosi è selettivamente tossica per le cellule del cancro del colon-retto mutanti KRAS o BRAF [64]. In quello studio, l'aumento dell'assorbimento cellulare di vitamina C ossidata (DHA) tramite trasportatori GLUT sovraregolati ha portato alla deplezione del GSH e a livelli letali di ROS [64]. La vitamina C ad alte dosi aumenta anche la sensibilità di molteplici neoplasie ematopoietiche al triossido di arsenico [10,62] e aumenta la chemiosensibilità e la radiosensibilità di varie cellule tumorali tra cui le cellule ovariche [9], pancreatiche [65], del glioblastoma e del carcinoma polmonare non a piccole cellule [66].

L'aumento del ferro labile e della deplezione del GSH sono effettori distintivi della ferroptosi, una forma di morte cellulare non apoptotica causata dalla perossidazione lipidica letale [67]. Dato che la vitamina C ad alte dosi può promuovere una maggiore mobilitazione del ferro redox-attivo e la deplezione del GSH [64,66], la capacità di indurre la ferroptosi potrebbe essere un meccanismo aggiuntivo attraverso il quale la vitamina C può esercitare la sua funzione di terapia antitumorale.

Abbiamo dimostrato che il ripristino di Tet2 nelle HSPC murine o il trattamento con vitamina C delle linee cellulari di leucemia umana inducono una firma di espressione genica di riparazione per escissione di base (BER) che include la sovraregolazione dei geni della poli(ADP-ribosio) polimerasi (PARP) [8]. L'aumentata attività di TET, mediata dal trattamento con vitamina C, può potenzialmente imitare il danno ossidativo del DNA catalizzando la formazione di 5fC e 5caC.

Queste modifiche sono un fattore scatenante per BER e demetilazione attiva del DNA che dipende dalle proteine PARP [68,69]. L'inibizione di PARP può aumentare la sensibilità del tumore al danno del DNA indotto dalla chemioterapia e determina letalità sintetica nelle cellule prive di BER intatto o che ospitano difetti di ricombinazione omologa (HR) [70]. Abbiamo dimostrato che la combinazione del trattamento con vitamina C con l'inibitore di PARP, olaparib, aumenta l'uccisione delle cellule AML umane più di entrambi gli agenti da soli, in assenza di ROS elevati [8].

L'ossidazione del DNA mediata da TET indotta dalla vitamina C può quindi potenzialmente imitare

una risposta al danno del DNA nelle cellule LMA, rendendole ipersensibili all'inibizione di PARP e fornendo una nuova strategia terapeutica per la terapia di combinazione.

Osservazioni conclusive e direzioni future

La vitamina C è recentemente emersa come un importante regolatore della biologia delle cellule staminali e della progressione del cancro attraverso la sua capacità di modulare l'epigenoma. Nonostante il controllo rigoroso della distribuzione dell'intero corpo con l'assunzione dietetica, i livelli farmacologici di vitamina C possono essere raggiunti per via parenterale, con una tossicità minima per i pazienti e hanno un potenziale per un'ampia efficacia nel trattamento del cancro. Mantenere una dieta ricca di vitamina C potrebbe aiutare a prevenire o sopprimere la progressione del cancro e le dosi farmacologiche potrebbero agire in sinergia con le terapie ipometilanti o dannose per il DNA per migliorare i risultati nei pazienti oncologici. Non è chiaro se il meccanismo antitumorale primario dell'azione della vitamina C ad alte dosi sia attraverso il suo ruolo di pro-ossidante, dato che il contributo dell'attività diossigenasica potenziata nella sensibilizzazione alle terapie standard durante il trattamento con vitamina C non è stato ampiamente studiato. L'identificazione di biomarcatori di sensibilità sarà importante per stratificare i pazienti che potrebbero trarre i maggiori benefici dal trattamento con vitamina C. Inoltre, migliorare la biodisponibilità della vitamina C e comprendere la base strutturale con cui la vitamina C può agire come cofattore specifico per $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ può aiutare nello sviluppo di terapie mirate per trattare pazienti con carenze di regolatori epigenetici come le proteine TET (vedere Domande in sospeso). La perdita di funzione nei regolatori epigenetici è un segno distintivo del cancro e, nel caso della malignità ematopoietica, è un fattore determinante nella progressione della malattia. La potenzialità della vitamina C di modulare l'epigenoma come terapia epigenetica naturale e non tossica per la prevenzione e il trattamento del cancro ha ulteriormente ampliato il ruolo di questa vitamina essenziale nella biologia umana.

Glossario

L-Ascorbato (ASC): la forma ridotta di vitamina C che partecipa come donatore di elettroni e mantiene l'attività delle diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato (KG) indicate con la sigla $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$.

Riparazione per escissione della base (BER): una modalità di riparazione del DNA coinvolta nella demetilazione attiva del DNA in risposta all'attività TET, per cui un nucleotide viene rimosso e sostituito da una nuova base attraverso un meccanismo che coinvolge glicosilasi del DNA, endonucleasi e ligasi.

L-Deidroascorbato (DHA): la forma ossidata di vitamina C che entra nelle cellule tramite trasportatori di glucosio e può essere ridotta di nuovo ad ascorbato.

Riprogrammazione epigenetica: la generazione e la rimozione di segni epigenetici, tra cui la metilazione del DNA e degli istoni, per rimodellare il panorama epigenetico di una cellula.

Trasportatori di glucosio (GLUT): facilitano il trasporto di DHA in competizione con il glucosio.

L-Gulono- γ -lattone ossidasi (GULO): un enzima che catalizza la fase finale della biosintesi della vitamina C nel fegato dei topi, ma non è funzionale negli esseri umani.

5-idrossimetilcitosina (5hmC): una modifica del DNA generata dall'attività dell'idrossilasi TET che protegge le cellule dall'ipermetilazione aberrante del DNA e regola l'espressione genica.

Demetilasi istoniche contenenti il dominio Jumonji C (JmjC) (JHDM/KDM): diossigenasi dipendenti da Fe^{2+}/α -chetoglutarato ($\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$) dipendenti dalla vitamina C che catalizzano la demetilazione della lisina e regolano la riprogrammazione epigenetica dei fibroblasti in iPSC.

Diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato ($\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$): una famiglia eterogenea di enzimi che sono sia dipendenti dal chetoglutarato (KG) che da ferro e che utilizzano la vitamina C come cofattore.

5-metilcitosina (5mC): citosina metilata. La metilazione è una modifica della base citosina generata dall'attività degli enzimi DNA metiltransferasi per regolare l'espressione genica e il silenziamento genico.

Trasportatori di vitamina C sodio-dipendenti (SVCT): una delle due molecole (SVCT1/2) che utilizzano un gradiente di sodio per trasportare attivamente ASC, generando elevate concentrazioni intracellulari di vitamina C.

Famiglia di traslocazione dieci-undici (TET): Fe^{2+}/α -KGDD dipendenti dalla vitamina C che catalizzano l'ossidazione di 5mC nel genoma per regolare la metilazione del DNA, la riprogrammazione, la pluripotenza delle cellule staminali e agiscono come soppressori tumorali della malignità emopoietica.

Box 1. Forme biologicamente attive di vitamina C

A pH fisiologico, la vitamina C esiste prevalentemente nella sua forma ionizzata come L-ascorbato (ASC) [13]. L'ASC subisce l'ossidazione di un elettrone per formare un radicale ascorbico che è relativamente stabile e può essere riciclato enzimaticamente in ASC. Tuttavia, due radicali ascorbici possono anche dismutarsi in una molecola di ASC e una di deidroascorbato (DHA). Il DHA, che è strutturalmente instabile, con un'emivita di diversi minuti, si degrada irreversibilmente se non viene rapidamente ridotto in ASC da reazioni enzimatiche e non enzimatiche dipendenti dal glutathione (GSH) e dal NADP [71]. Pertanto, in condizioni fisiologiche, > 95% della vitamina C è nella forma ridotta di ASC nei fluidi corporei sia intracellulari che extracellulari [1].

Box 2. Diossigenasi regolate dalla vitamina C

La capacità della vitamina C di modulare il ferro redox attivo le consente di partecipare a numerosi processi biologici influenzando un'ampia varietà di diossigenasi dipendenti da Fe^{2+} e α -chetoglutarato (KG) (Fe^{2+}/α -KGDD) tra cui prolil idrossilasi, istone demetilasi, omologhi ALKB e proteine TET (Figura 1).

Prolil-idrossilasi, ormoni peptidici e biosintesi lipidica

Senza vitamina C, la prolil-4-idrossilasi del collagene (C-P4H) non può catalizzare l'idrossilazione della prolina nel collagene, portando a una produzione difettosa di collagene e alla rottura sistemica dei tessuti caratteristica dello scorbuto [13]. La vitamina C è inoltre necessaria per l'idrossilazione prolifica del fattore inducibile dall'ipossia (HIF), che prende di mira HIF-1 per la degradazione [72] e potenzia l'attività del fattore asparaginil idrossilasi che inibisce HIF-1 (FIH-1), un importante soppressore dell'attività trascrizionale di HIF [73]. La vitamina C è inoltre necessaria per la conversione della dopamina in noradrenalina e per potenziare l'attività degli enzimi coinvolti nell' α -ammidazione di numerosi pro-ormoni e nella biosintesi della L-carnitina [2].

Demetilazione degli istoni

La vitamina C è necessaria per l'attività ottimale e la capacità di demetilazione di diverse demetilasi istoniche contenenti il dominio Jumonji C (JHDM) [74], che includono oltre 20 proteine negli esseri umani che idrossilano e rimuovono mono-, di- o trimetil-lisine negli istoni [75]. La demetilazione dell'istone è catalizzata dal dominio JmjC per produrre una specie ossoferrilica altamente reattiva che idrossila il substrato metilato, consentendo la perdita spontanea del gruppo metilico come formaldeide [76]. JHDM1 (KDM2) demetila specificamente H3K36, JHDM2A (JMJD1A, KDM3A) demetila H3K9 e JHDM3A (JMJD2A, KDM4) demetila sia H3K9 che H3K36 trimetilati per regolare lo stato della cromatina e l'espressione genica [75].

Riparazione di DNA e RNA

Gli ALKBH dei mammiferi sono una famiglia di nove diossigenasi (ALKBH1 – 8 e 9 (FTO)) che

ossidano i gruppi alchilici sulle basi di acidi nucleici danneggiate dall'alchilazione, agendo come enzimi di riparazione di DNA/RNA o demetilasi dirette che rimuovono la 1-metiladenina citotossica (1-meA), la 3-metilcitosina (3-meC) e l'eteno-adenina (ϵ A) [77]. I gruppi alchilici ossidati vengono successivamente rilasciati come aldeidi, rigenerando le basi non danneggiate. Sia FTO (ALKBH9 o proteina associata a massa grassa e obesità) che ALKBH5 riparano la N6-metil-adenina (m6A) nell'RNA [77]. È interessante notare che le varianti umane di FTO sono associate a un aumento dell'indice di massa corporea e a una predisposizione al diabete [78,79]. La modulazione del peso corporeo attraverso l'associazione di vitamina C e FTO non è stata esplorata.

Idrossimetilazione del DNA

Le proteine TET (TET1 – 3) catalizzano l'idrossilazione dei residui di 5-metilcitosina (5mC) nel DNA in 5-idrossimetilcitosina (5hmC), che può essere ulteriormente ossidata in 5-formilcitosina (5fC) e 5-carbossilcitosina (5caC). I prodotti di 5mC catalizzati dalle proteine TET possono essere cationi modificatori stabili o transitori che forniscono un innesco per la demetilazione del DNA [80 – 82]. La vitamina C aumenta l'attività catalitica dei TET portando a una maggiore formazione di 5hmC, 5fC e 5caC e a concentrazioni fisiologiche di Fe^{2+} (10 μM) il trattamento con vitamina C (50 – 500 μM) aumenta l'attività dei TET in modo dose-dipendente e accelera la loro velocità di reazione fino a otto volte [6].

Box 3. Regolazione dell'assorbimento del ferro e dell'omeostasi da parte della vitamina C

La vitamina C potrebbe svolgere un ruolo indiretto nel mantenimento dell'attività delle diossigenasi Fe^{2+} e α -chetoglutarato dipendenti, regolando l'omeostasi del ferro. La capacità della vitamina C di ridurre il ferro ferrico (Fe^{3+}) in ferro ferroso (Fe^{2+}) è il meccanismo con cui aumenta l'assorbimento di Fe^{3+} non eme dalla dieta e aumenta l'assorbimento cellulare di Fe^{3+} legato alla transferrina trasportato nel plasma [19]. La riduzione di Fe^{3+} a Fe^{2+} gli consente di entrare nelle cellule attraverso un trasportatore di ioni metallici bivalenti, che può aumentare il pool di ferro labile attivo redox intracellulare (Figura 1). Inoltre, la vitamina C può stimolare la sintesi della proteina di riserva del ferro cellulare, la ferritina, inibire la degradazione della ferritina lisosomiale e l'efflusso di ferro cellulare e indurre l'assorbimento di ferro da complessi ferro-citrato a basso peso molecolare [19].

Box 4. Ruolo pro-ossidante della vitamina C ad alto dosaggio

La vitamina C, a basse concentrazioni, funziona come un agente riducente e antiossidante, proteggendo le cellule dallo stress ossidativo [1]. A concentrazioni più elevate, tuttavia, può agire come pro-ossidante, aumentando lo stress ossidativo per promuovere la morte cellulare [64,83], che può essere sfruttato per colpire le cellule tumorali (Figura 1). Ad alte dosi, la vitamina C viene ossidata nel fluido extracellulare in un radicale ascorbato (AscH^{\cdot}), causando la riduzione del ferro nella forma ferrosa ($\text{AscH}^{\cdot} + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{AscH} + \text{H}^+$). Il ferro ferroso può reagire con l'ossigeno per produrre un anione superossido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), tramite la cosiddetta reazione di Fenton, per formare livelli tossici di H_2O_2 [83]. L'enzima catalasi, in condizioni fisiologiche, può metabolizzare H_2O_2 in ossigeno e acqua [84]. Tuttavia, livelli basali elevati di ROS, carenza di attività della catalasi o aumento dell'assorbimento di vitamina C da parte delle cellule tumorali potrebbero renderle selettivamente vulnerabili all'effetto pro-ossidante di alte dosi di vitamina C, e questo è un campo di ricerca in corso.

Domande in sospeso

Qual è il ruolo della vitamina C nella modulazione dell'attività di altri Fe^{2+}/α -KGDD nelle HSC e nel cancro?

La vitamina C influenza l'attività dei Fe^{2+}/α -KGDD regolando l'omeostasi del ferro

sistemico/cellulare?

Qual è il miglior biomarcatore predittivo della sensibilità al trattamento con vitamina C?

Esiste una dipendenza strutturale intrinseca ai $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ mediante la quale la vitamina C può modulare direttamente l'attività catalitica?

Ci sono mutazioni patogene nelle proteine TET o in altri $\text{Fe}^{2+}/\alpha\text{-KGDD}$ che alterano la capacità della vitamina C di agire come cofattore?

Le mutazioni o i polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) nei geni coinvolti nel trasporto e nel riciclaggio della vitamina C influenzano la biodisponibilità della vitamina C nelle malattie umane?

Quali sono le terapie combinate più efficaci che agiscono in sinergia con la vitamina C?