

## EL PROTOCOLO RIORDAN DE VITAMINA C INTRAVENOSA (VCI) PARA EL CUIDADO COMPLEMENTARIO DEL PACIENTE DE CÁNCER: VCI COMO AGENTE QUIMIOTERAPÉUTICO Y MODIFICADOR DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA

Hugh Riordan, MD, Neil Riordan, PhD, Joseph Casciari, PhD, James Jackson, PhD, Ron Hunninghake, MD, Nina Mikirova, PhD, y Paul R. Taylor

Se agradece a la Clínica Riordan, por el permiso otorgado para publicar el Protocolo de Vitamina C Intravenosa.

Vitamina C (ascorbato, ácido ascórbico), es un antioxidante soluble en agua que aumenta la producción de colágeno extracelular, importante para el funcionamiento adecuado de las células inmunitarias. (Hoffman, 1985; Cameron, et al., 1979). Desempeña una función clave en la síntesis de L-carnitina, en el metabolismo de colesterol y citocromo P-450 así como en la actividad y síntesis de neurotransmisores. (Geeraert, 2012). El protocolo Riordan VCI describe una infusión lenta de Vitamina C en dosis de 0,1 a 1,0 g de ascorbato por kilogramo (kg) de peso corporal. (Riordan, et al., 2003). El uso de VCI ha aumentado recientemente entre los practicantes de medicina integral y ortomolecular. Una encuesta realizada entre 300 profesionales, llevada a cabo durante 2006 al 2008, indica que aproximadamente 10,000 pacientes recibieron VCI, con una dosis media de 0,5 g/kg, sin efectos adversos significativos (Padayatty, et al., 2010). El tratamiento con VCI presenta una variedad de aplicaciones que han generado un mayor interés como tratamiento adjunto en pacientes de cáncer; entre ellas se encuentra la habilidad para combatir infecciones secundarias (Padayatty, et al., 2010) y tratar artritis reumatoide (Mikirova, et al., 2012).

La Vitamina C surgió por primera vez como herramienta para el tratamiento de cáncer en los años 1950. Su efecto en la producción y protección de colágeno condujo a la postulación de la hipótesis propuesta por varios científicos, la cual indica que la restitución de ascorbato, protege el tejido normal ante la invasión tumoral y metástasis. (McCormick, 1959; Cameron, et al., 1979). Debido a que los pacientes de cáncer frecuentemente presentan una deficiencia de Vitamina C (Hoffman, 1985; Riordan, et al., 2005), la suplementación con ésta, puede mejorar la función del sistema inmune y la salud y bienestar general del paciente. (Henson, et al., 1991). Cameron y Pauling

observaron que el tratamiento con VCI en pacientes con cáncer terminal seguido de una suplementación oral, presentaban tiempos de supervivencia cuatro veces mayor que los no tratados. (Cameron & Pauling, 1976). Sin embargo, dos ensayos clínicos aleatorios realizados en la Clínica Mayo únicamente con ascorbato oral no mostraron beneficios. (Creagan, et al., 1979; Moertel, et al., 1985). A partir de entonces, la mayoría de investigaciones se han centrado en el tratamiento con ascorbato intravenoso. Las razones por las cuales se utilizan infusiones intravenosas de ascorbato para tratar el cáncer, se discuten a continuación en detalle:

- Concentraciones plasmáticas de ascorbato en el rango milimolar (mM) se pueden conseguir de forma segura con VCI.
- A concentraciones mM, la VC presenta toxicidad preferencial en las células cancerígenas *in vitro*; y es capaz de inhibir angiogénesis *in vivo* e *in vitro*.
- La VC se acumula en los tejidos tumorales, donde produce una significativa inhibición del crecimiento. Este efecto se ha observado en cobayas a concentraciones intratumorales  $\geq 1$  mM.
- Los estudios de caso publicados, reportan eficacia anticáncer, mejora en el bienestar del paciente y disminución de los marcadores de inflamación y de crecimiento tumoral.
- Estudios clínicos de fase I indican que la VCI se puede administrar de manera segura con relativamente pocos efectos adversos.

La Clínica Riordan ha tratado cientos de pacientes de cáncer utilizando el protocolo Riordan de VCI (Figura 1); además el Instituto de Investigación de la Clínica Riordan (RCRI) ha estado investigando el potencial de la terapia VCI durante más de 30 años. Nuestros esfuerzos incluyen estudios *in vitro*, modelos animales, análisis farmacocinéticos y ensayos clínicos. El protocolo Riordan de VCI y los resultados de investigación del RCRI son descritos a continuación.

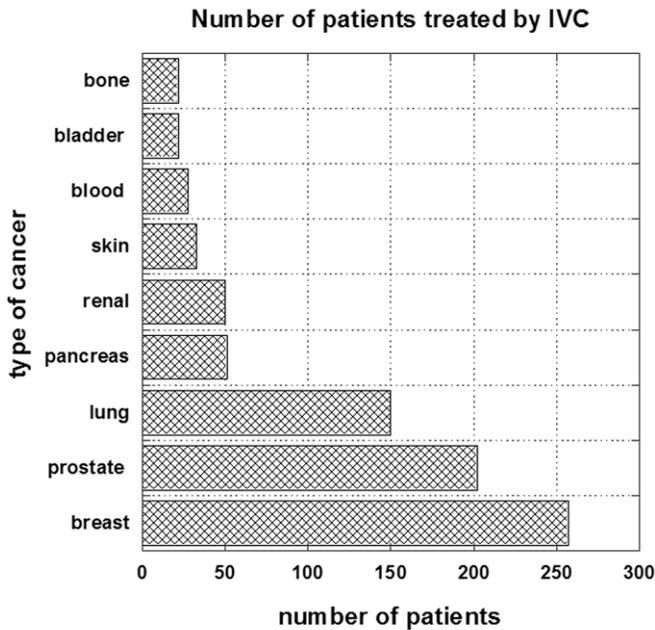


FIGURA 1. Tipos de cáncer tratados con VCI en la Clínica Riordan.

**Antecedentes Científicos**

**Farmacocinética**

La vitamina C es soluble en agua y su absorción oral es limitada. El ascorbato tiende a acumularse en las glándulas adrenales, cerebro y algunas células del sistema inmune. Los niveles plasmáticos permanecen relativamente bajos. (Keith & Pelletier, 1974; Hornig, 1975; Ginter, et al., 1979; Kuether, et al., 1988).

Levine y colaboradores demostraron que los niveles plasmáticos en adultos sanos, permanecen a menos de 100 µM, incluso cuando se administran 2.5 g vía oral, una vez al día. (Levine, et al., 1996.)

Los pacientes de cáncer tienden a presentar deficiencia de VC. En un estudio de fase I, 14 de 22 pacientes terminales de cáncer se encontraron con deficiencia de VC. Diez de ellos presentaron niveles no detectables de ascorbato en plasma. (Riordan, et al., 2005) (Figura 2). En otro estudio realizado en un hospicio dedicado al cuidado de pacientes de cáncer Mayland y colaboradores encontraron que 30% de los pacientes presentaban deficiencia de VC (Mayland, et al., 2005).

La deficiencia (<10 µM) se correlacionó con niveles elevados de CRP (Proteína C reactiva, un marcador de inflamación) y tiempo de supervivencia. Ya que la VC desempeña un papel importante en la producción de colágeno, sistema inmune y protección antioxidante entre otras; no ha sido sorprendente encontrar que los pacientes deficientes en VC presentaran defensas bajas ante el cáncer. Éstos resultados indican que el almacenamiento de VC puede ser útil en la terapia conjunta en éstos pacientes. Cuando la VC es administrada vía intravenosa, se obtienen picos plasmáticos de más 10 mM sin efectos adversos significativos (Casciari, et al., 2001; Padayatty, et al., 2004) La figura 3 muestra concentraciones plasmáticas de ascorbato obtenidos después de una infusión de VCI en la Clínica Riordan. La figura 4 muestra la farmacocinética de dos individuos que recibieron infusiones de VCI durante 80 minutos. Los picos plasmáticos obtenidos con VCI son dos veces mayores que los obtenidos vía oral, lo cual sugiere que la VCI restaura la deficiencia de VC con mayor efectividad en los pacientes de cáncer. Los médicos de la Clínica Riordan han observado que (a) las concentraciones plasmáticas obtenidas después de las infusiones de VCI tienden a ser menores en pacientes de cáncer que en pacientes sanos, sugiriendo que los tejidos depletos de VC en los pacientes de cáncer absorben y actúan como depósito de VC.

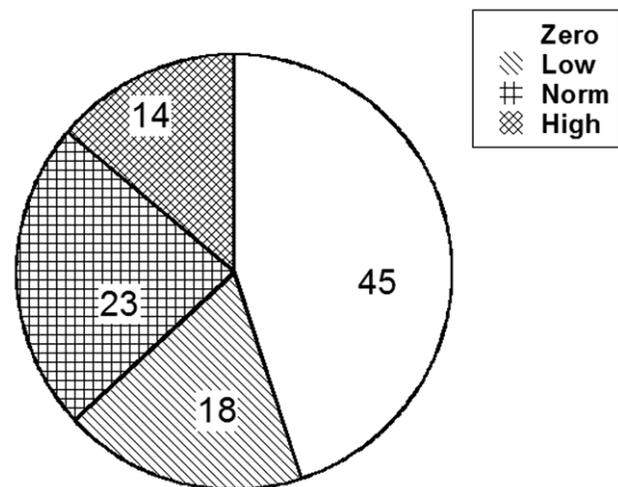


FIGURA 2. Distribución de niveles de ascorbato en plasma en pacientes terminales de cáncer, previo al tratamiento con VCI. Deficiente (< 10 µM), bajo (10 to 30 µM), normal (20 to 100 µM), y elevado (> 100 µM) (Riordan, et al., 2005).

## PROTOCOLO RIORDAN PARA LA ADMINISTRACIÓN DE VITAMIA C VÍA INTRAVENOSA. ANTECEDENTES DE INVESTIGACIÓN

La Clínica Riordan, está enfocada en la medicina funcional. Fundada en 1975 con el nombre de "Center for the Improvement of Human Functioning" (Centro para la Mejora del Funcionamiento Humano) por el Dr. Hugh Riordan, médico y psiquiatra.

El Dr. Riordan originalmente se enfocó en tratar pacientes con enfermedades mentales, utilizando medicina nutricional. El uso de la VC como tratamiento potencial en pacientes de cáncer, se expuso por primera vez en 1976, en una publicación de Ewan Cameron y Linus Pauling, en la cual sugerían un aumento en la sobrevivencia en pacientes de cáncer que recibían tratamientos intravenosos de VC.

El Dr. Riordan utilizó ésta terapia por primera vez, a inicios de los años 80s, cuando un paciente de 70 años de edad con cáncer renal y metástasis en el hígado y pulmones, se presentó en la Clínica Riordan con el objeto de recibir el tratamiento con VCI. El paciente había leído sobre las investigaciones de Pauling y Cameron y en aquel momento el Dr. Riordan era el único que administraba VCI en la ciudad de Wichita, Kansas. EL paciente inició el tratamiento, recibiendo 30g de VCI dos veces por semana. Quince meses después, el oncólogo del paciente reportó la ausencia de signos progresivos de cáncer. El paciente permaneció libre de cáncer durante 14 años más.

Basado en la experiencia, el Dr. Riordan se fijó como meta iniciar un proyecto para investigar el cáncer. En 1989 el Dr. Riordan anuncia la creación del RECNAAC (cáncer deletreado al revés), un proyecto de 11 años, dedicado a encontrar tratamientos no tóxicos para pacientes de cáncer. El coordinador de proyecto fue el Dr. Neil Riordan y el grupo se encontraba formado por varios investigadores: Dr. J. Casciari, Dr. J. Jackson, Dr. X. Meng, Dr. J. Zhong, P. Taylor, Dr. N. Mikirova y otros.

El grupo ha validado el uso de la VCI en la terapia del cáncer. Se han analizado más de 60 líneas celulares, evaluando la toxicidad del ascorbato a dosis elevadas.

Se ha demostrado que dosis elevadas de VC eliminan células cancerígenas sin dañar a las células sanas.

Los investigadores de la Clínica Riordan han sido los primeros en demostrar que se pueden alcanzar niveles elevados en plasma en pacientes de cáncer y afectar células de forma selectiva. (*Med Hypothesis*, 1995).

En 1997 el tratamiento con VCI se patentó por los doctores Neil and Hugh Riordan. El título de la patente es: "Intravenous ascorbate as tumor cytotoxic chemotherapeutic agent" (Ascorbato intravenoso como agente quimioterapéutico y citotóxico en tumores). Otros resultados importantes incluyen las siguientes publicaciones: Vitamina C y ácido lipóico (*Br J Cancer*, 2001), Protocolo para alcanzar niveles plasmáticos citotóxicos en tumor (*PR Health Sci J*, 2003), Inhibición de angiogénesis con VC (*J Transl Med*, 2008), Efecto de ascorbato en la función inmune. Fase I, ensayo del tratamiento propuesto. Se ha encontrado además, que el tratamiento con VCI mejora la calidad de vida en pacientes con estado avanzado de cáncer, corrige la frecuente deficiencia de VC en éstos pacientes y optimiza las concentraciones de VC en células del sistema inmune en sangre.

El análisis de marcadores de inflamación en pacientes de cáncer, ha demostrado que dosis elevadas de VCI reducen inflamación, pueden mejorar la respuesta a quimioterapia y radioterapia y reducir los efectos adversos. El efecto terapéutico de VC puede ser favorecido con vitamina K3 y ácido lipóico. Ensayos clínicos importantes han sido llevados a cabo en la Universidad Thomas Jefferson en Filadelfia, como resultado de los estudios realizados en la Clínica Riordan.

La visión del Dr. Riordan de tratar y prevenir enfermedades con una aproximación nutricional no tóxica lo condujo a convertirse en uno de los primeros médicos dedicados al tratamiento de pacientes terminales de cáncer con la terapia con VCI y a la publicación de numerosos artículos y patentes derivados de la investigación; participación en simposios e iniciativas de salud.

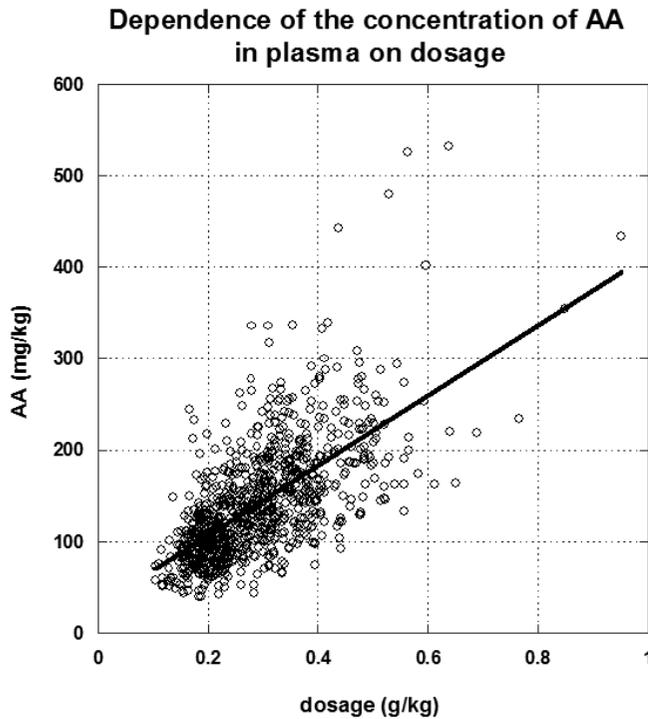


FIGURA 3. Picos plasmáticos de las concentraciones de ascorbato (mM) versus dosis de VCI (mg/kg) en 900 individuos, administradas en la Clínica Riordan.

(b) En los pacientes de cáncer que reciben múltiples tratamientos de VCI, las concentraciones plasmáticas basales tienden a incrementar lentamente, debido a la progresiva acumulación de las reservas de VC. Los tratamientos con VCI pueden ser también utilizados por oncólogos que deseen explorar las distintas propiedades de éste tratamiento, como inducción de apoptosis en células tumorales, inhibición de angiogénesis y disminución en la inflamación. Los datos reportados in vitro e in vivo, sugieren que concentraciones de 2mM pueden ser relevantes para lograr éstos efectos. Las figuras 3 y 4 demuestran que estas concentraciones son alcanzadas en plasma usando dosis progresivas de VCI. Un modelo de 2 compartimientos puede ser utilizado para predecir y promediar los picos plasmáticos (durante 24 horas) en un adulto promedio y una dosis determinada, como se muestra en la figura 5.

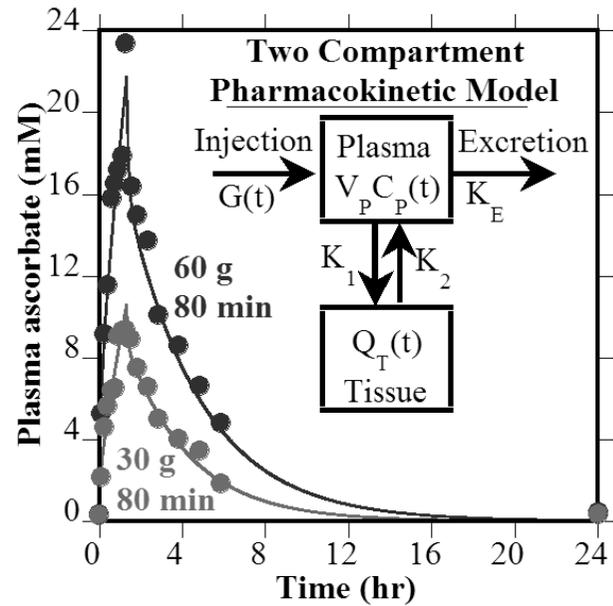


FIGURA 4. Concentraciones de VC en plasma durante y después de VCI/80 min. 60 g y 30 g. Las curvas representan los puntos de entrecruzamiento de datos; modelo farmacocinético.  $K_1$ ,  $K_2$ , y  $K_E$  corresponden a los valores de 0.31-1, 0.091 min<sup>-1</sup>, y 0.022 min<sup>-1</sup>, para la dosis de 60 g y 0.21 min<sup>-1</sup>, 0.060 min<sup>-1</sup>, y 0.027 min<sup>-1</sup> para la dosis de 30g

De acuerdo a éstos cálculos, una infusión de 50 g durante 1 hora, produciría un pico plasmático de aproximadamente 18 mM y un promedio integral de 2.6 mM, el cual es un objetivo racional en pacientes de cáncer.

**Citotoxicidad producida por la formación de peróxido**

A concentraciones fisiológicas normales (0.1 mM), la VC actúa como un antioxidante soluble en agua (Geeraert, 2012). Sin embargo a concentraciones de 1 mM, logradas con VCI, el ciclo rédox se ve alterado con la formación de peróxido de hidrógeno, que presenta una toxicidad selectiva en las células tumorales, produciendo autofagia y apoptosis. (Benade, et al., 1969; Riordan, et al., 1995; Casciari, et al., 2001; Chen, et al., 2005; Frei & Lawson, 2008).

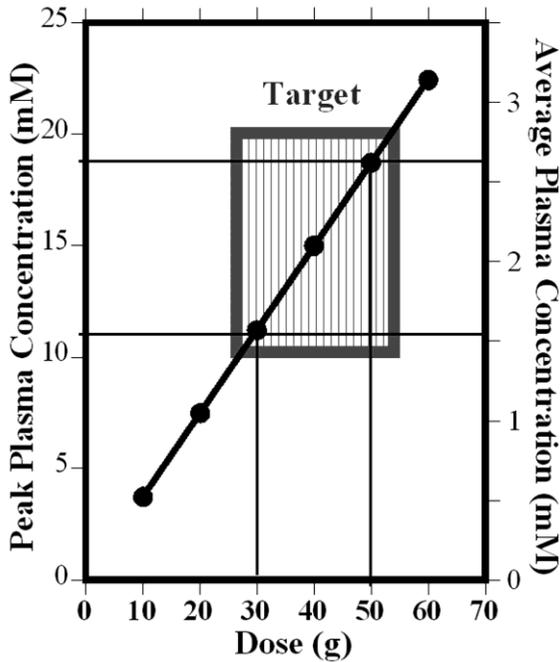


FIGURA 5. Dosis ideal de VCI basada en la obtención de una concentración integral promedio de ascorbato (24 hrs) para producir efectos anticancerígenos.

Para examinar el efecto citotóxico en un modelo tridimensional, los investigadores del RCRI utilizaron una modelo de fibra hueca, para mimetizar tumores sólidos (HFST). La figura 6 muestra un corte histológico de células de cáncer de colon creciendo en éste modelo. Una tinción doble con ioduro de propidio mostró en el citómetro de flujo, un incremento significativo en apoptosis y disminución en el sobrevivimiento de ciertas áreas. Concentraciones de ascorbato: 1mM-10 mM. LC50 = 20 mM, durante 2 días de incubación. (Mucho más elevadas que en cultivos monocapa). El umbral de citotoxicidad puede ser reducido LC50 = 4 mM, cuando se combina con ácido lipóico. Otros reportes sugieren que la citotoxicidad ante células cancerígenas puede aumentar usando una combinación con compuestos con Menadiona (Verrax, et al., 2004) o Cobre (Gonzalez, et al., 2002).

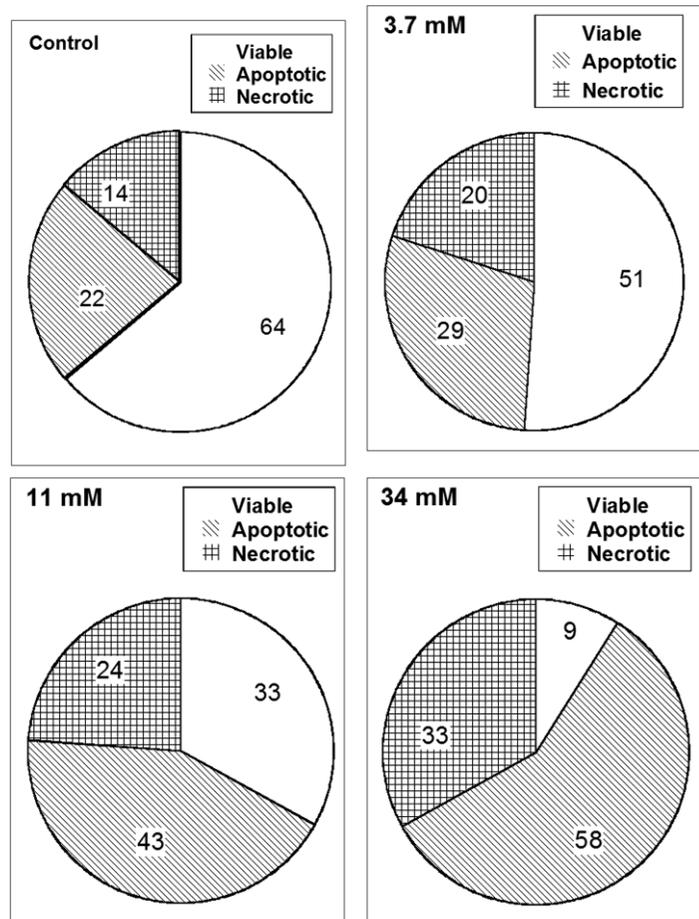
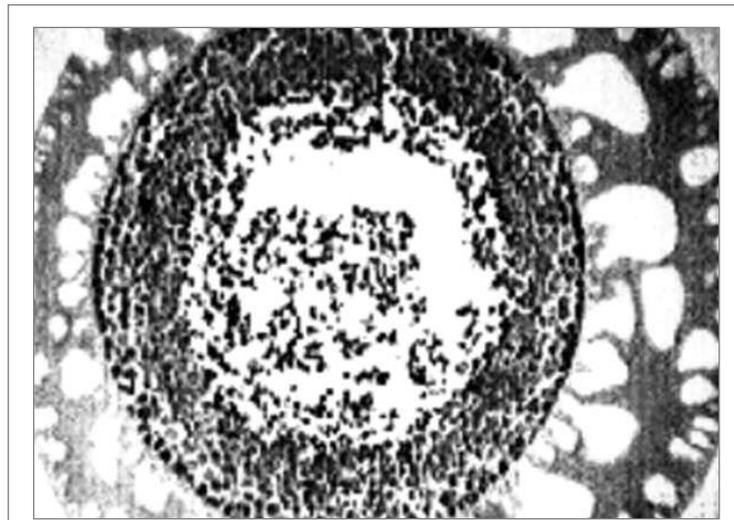


FIGURA 6. Corte histológico de un tumor en fibra hueca SW620 (HFST) con secciones viables, apoptóticas y necróticas. 2 días post tratamiento con ascorbato.

Estudios realizados en diversos laboratorios en distintos modelos animales, confirman la citotoxicidad de ascorbato *in vivo* y la reducción del crecimiento de distintos tumores. (Cáncer hepático, pancreático, colónico, prostático, leucemia, sarcoma y mesotelioma (Chen, et al., 2008; Verrax & Calderon, 2009; Belin, et al., 2009; Yeom, et al., 2009; Du, et al., 2010; Pollard, et al., 2010).

La figura 7 muestra datos del modelo L-10 en conejillo de las indias; implantado subcutáneamente y con metástasis en linfonodos. La masa tumoral (previo a metástasis) ha sido determinada 30 días después de observarse el tumor y 18 días de tratamiento con ascorbato.

Las concentraciones intratumorales de ascorbato han sido medidas y la correlación entre masa tumoral y concentración de ascorbato intratumoral se muestran elevadas, independientemente del método de administración de ascorbato. El porcentaje de inhibición de crecimiento tumoral con una concentración de 1 mM ha sido de un 50% aproximadamente en relación con los controles; y del 65% a 2 mM. La dosis de ascorbato utilizada en éste estudio ha sido de 500 mg/kg/d.

Los resultados de un estudio similar con sarcoma 180 se muestran en la figura 8. El promedio de supervivencia para los ratones tratados ha sido de 35.7 días post implantación, mientras que para los ratones tratados con 700 mg/kg/d ha sido de 50.7 días. La eficacia observada en éstos estudios animales puede deberse a la combinación de citotoxicidad y otros factores como inhibición de angiogénesis y otras modificaciones de la respuesta biológica (Yeom, et al., 2009; Cameron, et al., 1979).

**Inhibición de la angiogénesis**

La angiogénesis tumoral, es considerada como un paso crítico en el crecimiento tumoral y metástasis. Distintos reportes literarios sugieren que el efecto del ascorbato en la síntesis de colágeno puede inhibir la formación de nueva vasculatura (Ashino, et al., 2003); que puede tener efecto en el factor de inducción de hipoxia y que puede inhibir genes necesarios para la angiogénesis (Berlin, et al., 2009; Page, et al., 2007).

FIGURE 7. Correlation between intra-tumor ascorbate concentrations and tumor masses in

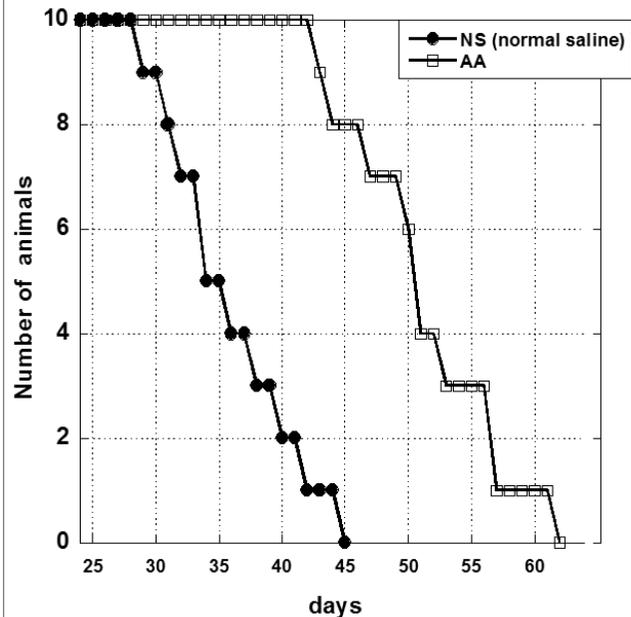
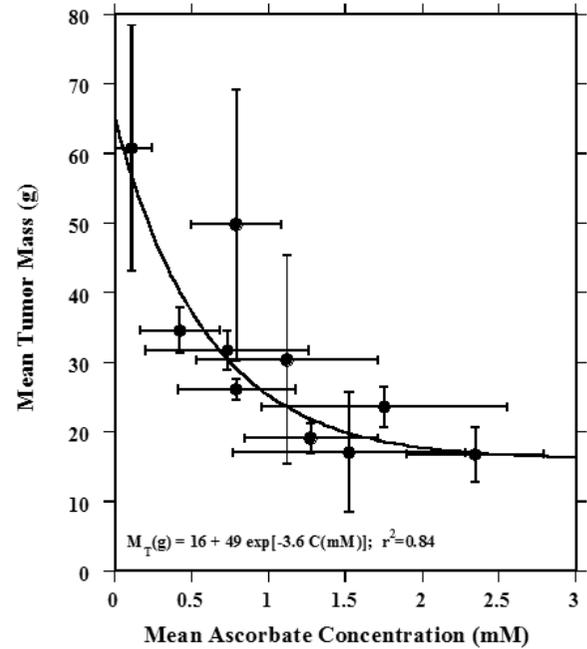


FIGURA 8. Tiempo de supervivencia de ratones BALB/C implantados con sarcoma. Controles y tratados IP día 12 con 700 mg/kg ascorbato.

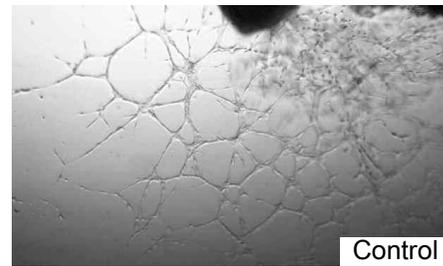
Investigadores de la Clínica Riordan también han evaluado la inhibición de angiogénesis utilizando cuatro modelos experimentales distintos. Los resultados demuestran angiogénesis a concentraciones de ascorbato de 1 to 10 mM (Mikirova, et al., 2008; Mikirova, et al., 2012. Figuras 9A y 9B).

- El crecimiento de nuevos micro vasos a partir de anillos aórticos ex vivo, es inhibido a concentraciones  $\geq 5$  mM.
- El ascorbato inhibe la formación de túbulos endoteliales en Matrigel de manera dependiente a la concentración utilizada. El número de túbulos intactos disminuye un 50% a concentraciones = 11 mM en células endoteliales progenitoras y a 17 mM en células HUVEC.
- La tasa a la cual las células endoteliales pueden migrar en una placa Petri y rellenar los espacios vacíos se reduce al utilizar una concentración de 5.7 mM. El ascorbato también reduce la producción de ATP en células endoteliales en un 20%. La viabilidad celular no se ve afectada.
- Cuando se implantaron tapones de Matrigel subcutáneamente en ratones, la densidad de micro vasos se redujo significativamente en ratones tratados con 430 mg/kg cada dos días durante dos semanas.

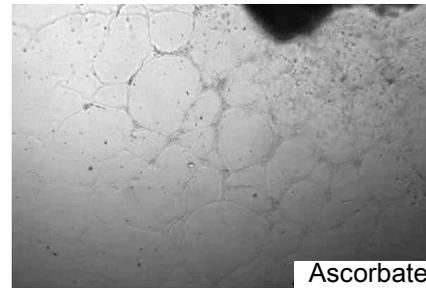
En experimentos con modelos animales y en experimentos clínicos, las dosis elevadas de ascorbato han mostrado eficacia ante el crecimiento tumoral. Este beneficio puede representar un sinergismo terapéutico debido a la inhibición de angiogénesis y citotoxicidad entre otras.

**Modulación de la inflamación**

El análisis de datos clínicos de la Clínica Riordan, sugiere que la inflamación es un problema que afecta a pacientes de cáncer y que puede ser disminuido con VCI (Mikirova, et al., 2012). La proteína reactiva C se ha utilizado como marcador de inflamación. De acuerdo a previas publicaciones, niveles elevados de proteína C están correlacionados con una prognosis pobre (St. Sauver, et al., 2009). En los datos analizados, más del 60% de los pacientes de cáncer presentaron niveles > 10 mg/L, antes de iniciar la terapia con VCI. Los niveles se redujeron en 13% de los pacientes. La figura 10A muestra las comparaciones entre los valores de proteína C reactiva, antes y después de la terapia con VCI.



Control



Ascorbate

FIGURA 9A: Crecimiento endothelial de micro vasos. Control vrs. Tratados con ascorbato. (5.7 mM, 4 días).

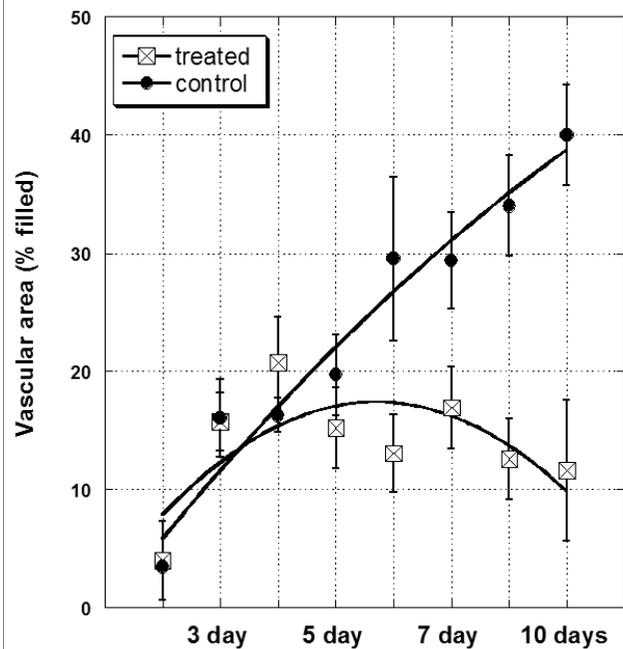


FIGURA 9B: Área vascular cercana al arco ahórtico en función del tiempo. (Mikirova, et al., 2012).

Debido a que muchos de los pacientes incluidos en el análisis son pacientes de cáncer de próstata, se evaluaron los niveles del antígeno específico de próstata (PSA) antes y después de la terapia con VCI. (Figura 10A). La mayoría de los pacientes mostraron reducciones en los niveles de PSA durante la terapia con VCI. Sin embargo no se ha observado el mismo efecto con otros marcadores. (Figura 10C). Algunos de los datos de pacientes analizados incluyen marcadores tumorales y niveles de proteína reactiva antes y después de la terapia con VCI, los resultados han mostrado una correlación significativa ( $r^2 = 0.62$ ) entre ambos, lo cual es consistente con observaciones reportadas en la literatura en la que se correlacionan niveles de CRP y PSA en pacientes de cáncer prostático (Lin, et al., 2010).

Distintas citoquinas de inflamación han sido evaluadas en respuesta a la terapia con VCI. Los niveles séricos de IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , IL-8, IL-2, TNF- $\alpha$  y Eotaxina han mostrado una disminución significativa después de administrar una infusión de 50 g de VCI. En el caso de IL-2, TNF- $\alpha$  y Eotaxina los niveles se han mantenido disminuidos durante el curso de la terapia (Mikirova, et al., 2012).

**Controversia en la quimioterapia**

La descripción del ascorbato como un antioxidante que se acumula de manera preferencial en tumores (Agus, et al., 1999) ha creado la preocupación de que su administración disminuye la eficacia de la quimioterapia (Raloff, 2000).

En el año 2008, Heaney y colaboradores, encontraron mayor resistencia a agentes quimioterapéuticos en células tumorales in vitro y modelos animales en ratón tratados previamente con ácido dehidroascórbico, a partir de éste estudio, ciertas preguntas han sido planteadas en cuanto a si las condiciones experimentales del estudio han sido clínica y bioquímicamente relevantes, o sí el uso de ácido dehidroascórbico y no ascórbico ha afectado los resultados obtenidos por Heaney. (Espey, et al., 2009). Es importante mencionar que la meta en el tratamiento con VCI en pacientes de cáncer, es la obtención de concentraciones milimolares intratumorales y por lo tanto la acumulación de ascorbato en tumores es considerada como una ventaja. En contraparte a éstas observaciones, diversos laboratorios han sugerido que las concentraciones elevadas de ascorbato no interfieren con la quimioterapia o radioterapia, incluso algunos de ellos han sugerido que favorece su eficacia (Fujita, et al., 1982; Okunieff & Suit, 1987; Kurbacher, et al., 1996; Taper, et al., 1996; Fromberg, et al., 2011; Shinozaki, et al., 2011; Espey, et al., 2011).

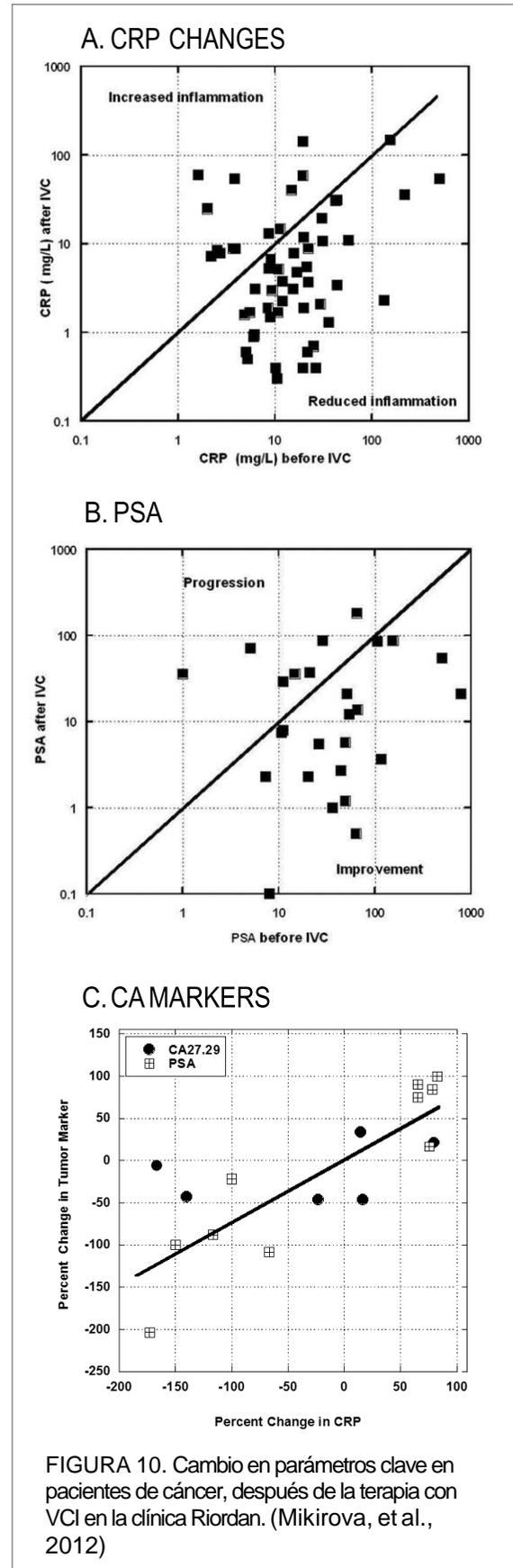


FIGURA 10. Cambio en parámetros clave en pacientes de cáncer, después de la terapia con VCI en la clínica Riordan. (Mikirova, et al., 2012)

Datos obtenidos por medio de estudios meta analíticos, han concluido en que la terapia con VCI no interfiere con regímenes quimioterapéuticos (Simone, et al., 2007; Block, et al., 2008).

### Estudios de casos clínicos

A diferencia de los agentes quimioterapéuticos, la administración de VCI, no está regulada por la Administración de Alimentos y Medicamentos en Estados Unidos (FDA). Como resultado, estudios clínicos se realizan frecuentemente de forma paralela a ensayos de laboratorio. Dos estudios iniciales indicaron que la terapia con VCI podría incrementar las expectativas de vida en pacientes de cáncer (Cameron & Pauling, 1976; Murata, et al., 1982). El equipo de investigación de la Clínica Riordan y colaboradores, han publicado diversos estudios de casos clínicos. (Jackson, et al., 1995; Riordan, et al., 1996; Riordan, et al., 1998, Drisko, et al., 2003; Padayatti, et al., 2006). A pesar de que éstos estudios no representan evidencia concluyente de la misma manera que un estudio de Fase III, representan metodologías útiles para aplicar en futuros estudios y han sido de importancia relevante en los pacientes beneficiados con del uso de la terapia con VCI. Algunos de estos casos son descritos a continuación:

**Mujer de 51 años de edad** con carcinoma renal (nuclear grado III/IV) y metástasis pulmonar, declina la quimioterapia y elige VCI con dosis inicial de 15g. Dos semanas después la dosis es incrementada a 65 g durante 10 meses. La paciente recibe además suplementación con extracto protéico de Timo, N-acetilcisteína, niacinamida, betaglucanos y extracto tiroideo. Siete de las 8 masas pulmonares desaparecen y la paciente permanece sin signos de regresión. 4 años después, la paciente presenta una nueva masa pulmonar, consistente con carcinoma pulmonar pero sin metástasis del cáncer renal. Lamentablemente muere poco tiempo después. (Padayatti, et al., 2006).

**Hombre de 49 años de edad** con tumor vesical, invasivo, grado III (carcinoma papilar transitorio) y múltiples tumores satélite. Declina la quimioterapia y elige VCI. Recibe 30 g dos veces por semana durante tres meses, seguido de 30 g mensualmente por cuatro años.

La suplementación incluye extracto botánico de

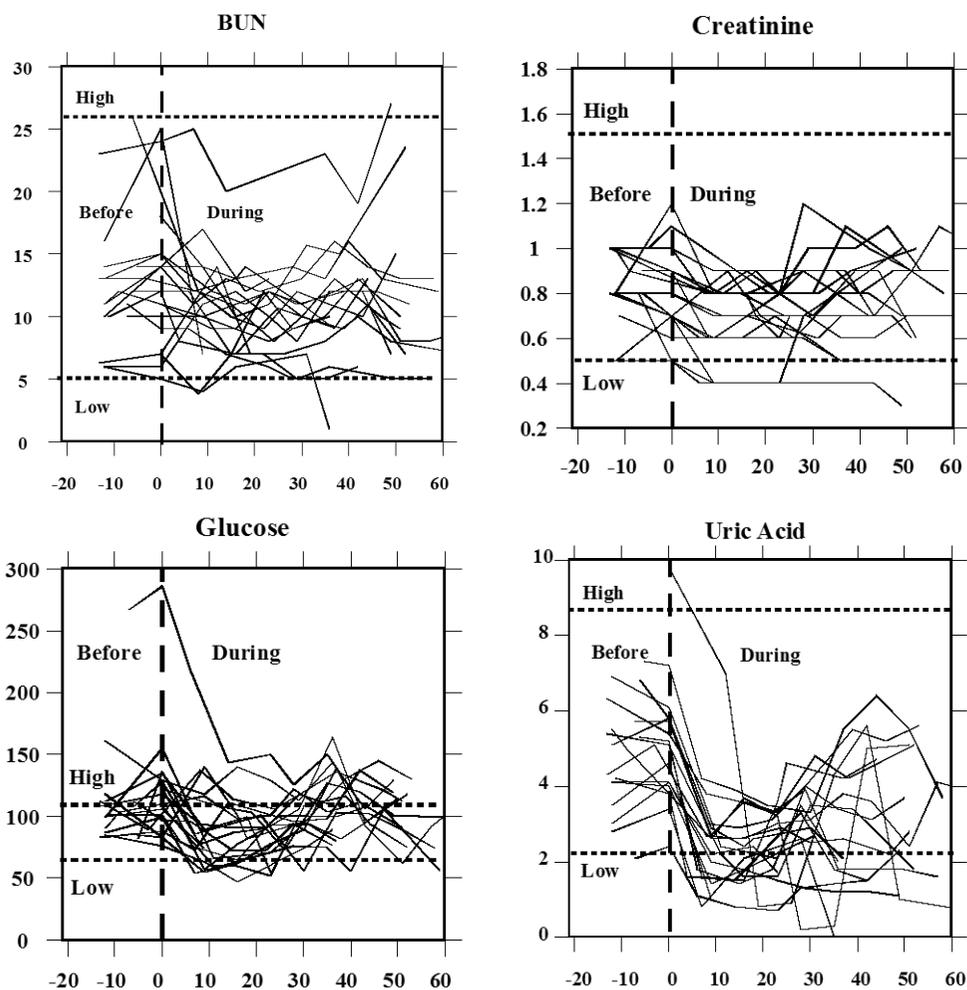
sulfato de condroitina, picolinato de cromo, aceite de lino, sulfato de glucosamina, ácido lipóico, *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* y selenio. Nueve años después el paciente se encuentra en estado de buena salud sin signos de recurrencia o metástasis (Padayatti, et al., 2006).

**Mujer de 66 años de edad**, con linfoma de células B, estado III, mitosis activa y masa para espinal en el lado izquierdo (3.5–7 cm transversal x 11 cm craneocaudal), con evidencia de invasión ósea. Recibe radioterapia durante 5 semanas pero rehúsa el tratamiento con quimioterapia. Recibe 15 g de VCI dos veces por semana durante dos meses de manera conjunta a la radioterapia y posteriormente una vez al mes cada dos o tres meses durante un año. La suplementación incluye, coenzima Q10, magnesio, betacaroteno, vitamina B y C y N-acetilcisteína. La masa original permanece palpable después de la radiación y aparece una nueva masa. Seis semanas después, las masas ya no son palpables. Cuatro meses después de la desaparición de las masas, aparece un nuevo tumor linfoideo pero sin signos clínicos de linfoma durante un año. Diez años después la paciente permanece en estado de buena salud. (Padayatti, et al., 2006).

**Mujer de 55 años de edad**, con adenocarcinoma papilar estado III de ovario, sometida a cirugía con extirpación ovárica, seguida de 6 ciclos de quimioterapia (Paclitaxel, Paraplatin) combinada con ascorbato intravenoso y oral. La infusión inicial de VCI es de 15 g dos veces por semana y luego es aumentada a 60 g dos veces por semana. Los niveles plasmáticos de ascorbato logrados durante la infusión son de 200 mg/dl. Seis semanas después del tratamiento, las dosis se reducen a una vez por semana, cada dos semanas durante un año. Los suplementos recibidos por la paciente son: Vitamina E, C y A; coenzima Q10 y beta caroteno. 40 meses después del diagnóstico original, al momento de realizar la publicación del caso clínico, los resultados de tomografía computarizada, PET y escáneres no muestran ningún signo de cáncer. Los niveles de CA-125 son normales y la paciente continúa recibiendo VCI (Drisko, et al., 2003).

Es importante resaltar que los estudios de caso previamente descritos involucran distintos tipos de cáncer y en algunos casos VCI en combinación con quimioterapia o radioterapia y usualmente involucran el uso de suplementos nutricionales.

FIGURA 11. Niveles de BUN, creatinina, ácido úrico y glucosa en pacientes y tiempo de terapia en días. Los límites dentro del rango normal, están indicados por medio de líneas horizontales con puntos interlineados. El inicio del tratamiento está indicado por líneas verticales interlineadas. Se seleccionaron los datos de 20 pacientes con los tratamientos con VCI más prolongados.



Otros estudios clínicos han evaluado el efecto de la VC en la calidad de vida en el paciente de cáncer. En un estudio realizado en Corea en el 2007 por Yeom y colaboradores, se encontró que la VCI mejoró significativamente la calidad de vida, con beneficios que incluían: menor fatiga, náuseas y vómitos y mejora del apetito. En otro estudio realizado en Alemania se compararon pacientes con cáncer mamario que recibieron terapia convencional combinada con VCI ante pacientes que recibieron únicamente terapia convencional, el primer grupo mostró menor depresión y desordenes de sueño así como mejor apetito y menor fatiga y náuseas. (Vollbracht, et al., 2011). No se observaron efectos secundarios.

### **Ensayos clínicos fase I**

La seguridad en la terapia con VCI ha sido evaluada en varios estudios clínicos de fase I (Riordan, et al., 2005; Hoffer, et al., 2008; Monti, et al., 2012). En el año 2005 el Dr. Riordan y colaboradores evaluaron 24 pacientes terminales de cáncer, mayormente hepático y colonorectal. (Riordan, et al., 2005). En el estudio se utilizaron dosis de hasta 710 mg/kg/día. La figura 11 muestra los parámetros asociados con la función renal durante el curso del tratamiento. Estos indicadores permanecieron estables o disminuyeron con el tiempo, mostrando que no se afecta la función renal con la terapia con VCI. El análisis sanguíneo tampoco mostró compromiso renal y uno de los pacientes mostró estabilidad durante 48 semanas de tratamiento. Los efectos secundarios reportados son náusea, edema, sequedad de boca o piel. En otro trabajo realizado por Hoffer y colaboradores en 2008, 24 pacientes en estado avanzado de cáncer sin respuesta a terapia convencional se incluyeron en un estudio con VCI a dosis de 0.4 g/kg a 1.5 g/kg (equivalente a 28-125 g en un adulto de 70kg) tres veces por semana. Se encontraron concentraciones plasmáticas de más de 10 mM y no se reportaron efectos secundarios. Los pacientes que recibieron dosis elevadas mantuvieron la calidad de vida, sin embargo no se reportaron respuestas anti cáncer. En el estudio realizado por Monti y colaboradores, 14 pacientes recibieron VCI en combinación con Gencitabina y Erlotinib. Los efectos adversos observados se atribuyeron a los agentes quimioterapéuticos, sin embargo no se observaron efectos en la mejora del cáncer. Hasta hoy, los estudios de fase I administrados a pacientes de cáncer han utilizado dosis de 10 a 100 g o más, pero sin ningún efecto anticáncer.

Es importante mencionar que los pacientes en éstos estudios, son pacientes terminales y por lo tanto son los más difíciles de tratar.

### **Problemas de seguridad reportados en la literatura**

Existe evidencia que indica que los pacientes sin historia de problemas renales no desarrollan ninguna enfermedad renal a causa de la VCI. (Riordan, et al., 2005). Sin embargo en casos con historia previa de enfermedad renal o formación de cálculos renales, es importante tomar las precauciones necesarias (Riordan, et al., 2005). Wong y colaboradores reportaron en 1994 un caso de obstrucción uretral bilateral e insuficiencia renal debido a la formación aguda de oxalatos. Es por ello que es necesario realizar un análisis completo de sangre y orina antes de la terapia con VCI.

Campbell y Jack reportaron en 1979 la muerte de un paciente que presentó necrosis tumoral masiva y hemorragia después de la terapia con VCI. Es por ello que se recomienda iniciar la terapia con dosis bajas y con infusión lenta, para evitar hemólisis fatal en pacientes con deficiencia de G6PD. El tratamiento está contraindicado en pacientes en que el aumento de fluidos, sodio o quelación pueda ocasionar problemas serios, por ejemplo fallo cardíaco congestivo, edema, ascitis, hemodiálisis crónica, sobrecarga inusual de hierro, inadecuada hidratación o disminución en la eliminación de orina (Rivers, 1987).

## El protocolo Riordan de VCI

### Crterios de inclusión y candidatos

1. Pacientes en los que: a) la terapia convencional no haya funcionado, b) deseen mejorar la efectividad de la terapia convencional, c) deseen disminuir la severidad y efectos secundarios de la terapia convencional; d) intenten prolongar la remisión y mejorar la salud en general; e) declinen la terapia convencional pero que deseen un tratamiento alternativo.
2. El paciente o persona con potestad legal sobre el paciente debe firmar una autorización de consentimiento previo al tratamiento con VCI. El paciente no debe presentar problemas psiquiátricos significativos, fallo cardíaco congestivo u otra condición comorbida descontrolada.
3. Se debe realizar una análisis general de laboratorio que incluya:
  - a. Perfil químico sérico con electrolitos.
  - b. Conteo sanguíneo completo (CBC)
  - c. Glóbulos rojos G6PD
  - d. Urianálisis completo
4. Con el objeto de evaluar la respuesta del paciente a la terapia con VCI, es necesario obtener una anamnesis completa.
  - a. Tipo y estado de tumor. Reportes quirúrgicos, patológicos y procedimientos especiales. (Reclasificar el estado de cáncer en caso de que existan síntomas de progresión).
  - b. Marcadores tumorales apropiados, CT, MRI, PET, escáneres óseos y rayos X.
  - c. Tratamientos previos y la respuesta del paciente a cada uno de ellos, incluyendo efectos secundarios. Estado funcional del paciente (Índice ECOG, por sus siglas en inglés, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Score).
  - d. Peso corporal

### Precauciones y efectos secundarios

Según la experiencia clínica, en el centro Riordan, con más de 40,000 tratamientos con VCI aplicados, los efectos secundarios son raros, sin embargo es necesario tomar las precauciones necesarias.

1. Interpretación errónea de glucómetro (punción en dedo - método electroquímico) en pacientes diabéticos que reciban dosis  $\geq$  a 15 g (Jackson & Hunninghake, 2006). Dependiendo de la dosis, los falsos positivos en lecturas de glucosa p u e d e n

durar hasta 8 horas después de la infusión. La sangre venosa extraída y analizada con el método de glucosa hexoquinasa sérica no es afectada. Las tiras electroquímicas no distinguen entre ácido ascórbico y glucosa a niveles elevados. La VC oral no produce éste efecto. Es importante alertar a los pacientes diabéticos acerca de éste efecto para evitar complicaciones posteriores.

2. El síndrome de lisis tumoral o necrosis tumoral, ha sido reportado en un paciente después de recibir una dosis elevada de VCI, es por ello que el protocolo debe iniciarse a dosis de 15 g (Campbell & Jack, 1979).
3. Nefropatía aguda por formación de oxalato, ha sido reportado en otro paciente que recibió 60 g de VCI. Es importante, evaluar la función renal, hidratación y capacidad de producción de orina antes de la terapia con VCI. (Riordan, et al., 2005).
4. Hemólisis es otro problema que ha sido reportado en pacientes con deficiencia de G6PD al recibir dosis elevadas de VCI. (Campbell, et al., 1975). El nivel de G6PD debe ser evaluado previo al tratamiento con VCI. (En la Clínica Riordan, se han eportado 5 casos de lectura disminuida de G6PD. Infusiones posteriores de 25 g o menos de VCI no produjeron hemólisis o efectos adversos.
5. Irritación en el sitio de infusión, es otro efecto no deseado que ocurre cuando se aplica de forma directa en una vena sin utilizar un puerto venoso. Es también probable que ocurra irritación cuando se exceden tasas de infusión mayores a 1g/min. En el protocolo se aconseja agregar magnesio para reducir la incidencia de irritación y espasmo venoso.
6. Debido al efecto quelante de la VCI, algunos pacientes pueden quejarse de temblores a causa de niveles disminuidos de magnesio o calcio. La adición de 1 ml de MgCl, normalmente resuelve éste problema. En casos más severos pueden incluirse 10 ml de gluconato de calcio 1ml/min.
7. Es recomendable comer antes de la infusión con VCI para evitar las fluctuaciones de azúcar sanguínea.
8. Debido a la cantidad de fluidos que se utilizan durante la VCI, cualquier condición que pueda ser afectada por la sobrecarga de sodio (se utiliza hidróxido de sodio y bicarbonato como buffer en VCI) está contraindicada su aplicación.

9. Sobrecarga de hierro también ha sido reportada con la terapia con VCI. En la Clínica Riordan se ha tratado un paciente con hemocromatosis sin efectos adversos o cambios significativos en el hierro.

10. Como con cualquier infusión intravenosa, infiltración en el sitio es un efecto adverso posible. El uso de puertos venosos y mariposas con agujas #23 generalmente evita éste problema.

11. La tasa de administración de VCI debe ser de aproximadamente 0.5 g/min. (Tasas de hasta 1 g/min son generalmente bien toleradas, pero se recomienda observación frecuente, ya que los pacientes pueden presentar problemas de náusea, temblores y escalofríos.)

No debe aplicarse a velocidad elevada ya que la osmolaridad de dosis elevadas puede causar esclerosis de venas periféricas, tampoco debe administrarse vía intramuscular o subcutánea. La Tabla 1 incluye la osmolaridad de varios volúmenes de fluido. Nuestra experiencia ha demostrado que una osmolaridad menor de 1200 mOsm/kg es bien tolerada en la mayoría de los pacientes.

12. Actualmente utilizamos una solución de ascorbato de sodio, MEGA-C-PLUS®, 500 mg/mL, pH 5.5–7, de la compañía Merit Pharmaceuticals, Los Ángeles, CA, 90065.

### **Administración de VCI**

Tomando las precauciones descritas anteriormente, el médico inicia con una serie de tres infusiones consecutivas de 15, 25 y 50 g, con determinación post IVC de niveles plasmáticos de VC y carga oxidativa para el establecimiento de dosis óptimas.

Tabla 2. De acuerdo a nuestra experiencia e investigación, cuando se alcanzan picos plasmáticos ~20 mM (350–400 mg/dL) es cuando se observa mayor eficacia. (No se ha observado toxicidad post VCI en niveles plasmáticos de hasta 780 mg/dL). El nivel plasmático post VCI posterior al primer tratamiento con 15 g ha demostrado ser clínicamente importante por la información que aporta: niveles menores a 100 mg/dL se correlacionan con niveles elevados de estrés oxidativo, probablemente a causa de una mayor carga tumoral, daño ocasionado por radioterapia o quimioterapia, infecciones secundarias ocultas u otros factores oxidativos como tabaco. Después de las primeras tres infusiones, el paciente puede continuar la terapia con 25-50 g dos veces por semana, hasta tener los resultados de laboratorio de niveles plasmáticos post

VCI.

**TABLA1. DILUCIONES RECOMENDADAS Y OSMOLARIDAD****ASCORBATO**

Masa (g) (500 mg/ml)	Volumen (ml)	Diluyente	mOsm/l
15 g	→ 30 ml	250 mL Ringer	909
25 g	→ 50 ml	250 ml H <sub>2</sub> O	600
50 g	→ 100 ml	500 ml H <sub>2</sub> O	1097
75 g	→ 150 ml	750ml H <sub>2</sub> O	1088
100 g	→ 200 ml	1000 ml H <sub>2</sub> O	1085

Si los niveles post plasmáticos posteriores a dosis de 50 g no alcanzan el rango de 350–400 mg/dL, debe obtenerse una segunda muestra post VCI. Si el rango es alcanzado, el paciente debe continuar con el tratamiento de 50 g dos veces por semana. Los niveles plasmáticos deben evaluarse una vez al mes para asegurar la eficacia del tratamiento. Cuando el rango plasmático post VCI no es alcanzado, la dosis debe aumentarse a 4 infusiones de 75 g; posterior a esto deben medirse los niveles plasmáticos. En pacientes en los que el rango esperado no se alcanza, la dosis puede aumentarse hasta 100 g. Si a pesar de ello el paciente permanece en rangos inferiores a los esperados, la causa puede ser la presencia de infecciones secundarias, progresión tumoral o tabaco. Al descartar éstos factores, el médico puede elegir aumentar la dosis a 100 g tres veces por semana, dosis mayores de 100 g no se recomiendan sin haber evaluado previamente la osmolaridad sérica antes o después de VCI, para mantener rangos osmolares fisiológicos.

Cuando las dosis elevadas no son bien toleradas o si existe progresión tumoral a pesar de lograr rangos plasmáticos esperados, las dosis menores proveen los beneficios biológicos de la VC, que incluyen, mejora en la respuesta inmune, disminución de dolor, aumento de apetito y mejora en el bienestar general. En nuestra experiencia, la mayoría de los pacientes requieren infusiones de 50 g 2 a 3 veces por semana para mantener niveles plasmáticos terapéuticos. Todos los pacientes deben ser monitorizados mensualmente. Además es recomendable que los pacientes tomen VC oral, al menos 4 g diarios, especialmente en los días en que no se administra VCI. Esto ayuda a prevenir un posible efecto rebote. La suplementación oral con ácido lipóico se recomienda de acuerdo a cada caso.

TABLA 2. Razonamiento

Volumen de ácido ascórbico	Volumen de solución		Extracción de solución y volumen de descarte	Solución restante	Inyectar AA en solución	Inyectar MgCl2 en solución	Volumen final	Velocidad de infusión	Tiempo total de infusión
	Ringer lactato	Agua estéril							
15g (30cc)	250 cc		31cc	219cc	30 cc	1 cc	250 cc	0.5-1.0 g/min	~ 0.5 h
25g (50cc)	500cc		51cc	449cc	50cc	1cc	500cc	0.5-1.0 g/min	~ 1 h
50 g (100cc)		500cc	102cc	398 cc	100 cc	2cc	500cc	0.5-1.0 g/min	~ 1.5 h
75 g (150cc)		750cc	152cc	598cc	150cc	2cc	750cc	0.5-1.0 g/min	~ 2.5 h
100g		1000cc	202cc	798cc	200cc	2cc	1000cc	0.5-1.0 g/min	~ 3.5 h

## CONCLUSIONES

La vitamina C puede ser administrada de forma segura vía intravenosa a dosis máximas de 100g, sí se siguen las precauciones previamente descritas.

Los picos plasmáticos obtenidos a éstas dosis, pueden alcanzar concentraciones de 20 mM.

La VCI provee beneficios potenciales en pacientes de cáncer que utilizan el tratamiento como cuidado complementario:

- Debido a que los pacientes de cáncer frecuentemente presentan deficiencia de VC, la terapia con VCI es un medio adecuado que restaura las reservas tisulares.
- La terapia con VCI ha demostrado mejorar la calidad de vida en pacientes de cáncer.
- La terapia con VCI reduce la inflamación (proteína C reactiva) y la producción de citoquinas inflamatorias.
- Dosis elevadas de ascorbato proveen una toxicidad selectiva en células cancerígenas e inhiben angiogénesis.

El siguiente paso en investigación de la terapia con VCI consiste en estudios de fase II. Actualmente existen algunos en curso.

La VCI puede ser utilizada en distintas condiciones como: artritis reumatoide, infecciones secundarias, enfermedades mentales y ADHD en las que la inflamación desempeña un papel importante.

## REFERENCIAS

- Agus, D., Vera, J. & Golde, D., 1999. Stromal cell oxidation: a mechanism by which tumors obtain Vitamin C. *Cancer Res.*, Vol 59, pp. 4555–8.
- Ashino, H. et al., 2003. Novel function of ascorbic acid as an angiostatic factor. *Angiogenesis*, Volume 6, pp. 259–69.
- Belin, S. et al., 2009. Antiproliferative effect of ascorbic acid is associated with inhibition of genes necessary for cell cycle progression. *PLoS ONE*, Volume 4, p. e4409.
- Benade, L., Howard, T. & Burk, D., 1969. Synergistic killing of Ehrlich ascites carcinoma cells by ascorbate and 3-amino-1,2,4- triazole. *Oncology*, Volume 23, pp. 33–43.
- Berlin, S. et al., 2009. Antiproliferative effect of ascorbic acid is associated with inhibition of genes necessary for cell cycle progression. *PLoS ONE*, Volume 4, pp. E44–0.
- Block, K. et al., 2008. Impact of antioxidant supplementaion on chemotherapeutic toxicity: a systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Int J Cancer*, Volume 123, pp. 1227–39.
- Cameron, E. & Pauling, L., 1976. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *PNAS USA*, Volume 73, pp. 3685–9.
- Cameron, E., Pauling, L. & Leibovitz, B., 1979. Ascorbic acid and cancer, a review. *Cancer Res*, Volume 39, pp. 663–81.
- Campbell, A. & Jack, T., 1979. Acute reactions to mega ascorbic acid therapy in malignant disease. *Scott Med J*, Volume 24, p. 151.

- Campbell, G., Steinberg, M. & Bower, J., 1975. Letter: ascorbic acid induced hemolysis in a G-6-PD deficiency.. *Ann Intern Med*, Volume 82, p.810.
- Casciari, J., Riordan, H., Miranda-Massari, J. & Gonzalez, M., 2005. Effects of high dose of ascorbate administration on L-10 tumor growth in guinea pigs. *PRHSJ*, Volume 24, pp. 145–50.
- Casciari, J., Riordan, N. S. T. M. X., Jackson, J. & Riordan, H., 2001. Cytotoxicity of ascorbate, lipoic acid, and other antioxidants in hollow fibre in vitro tumours. *Br. J. Cancer*, Volume 84, pp. 1544–50.
- Chen, Q. et al., 2008. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *PNAS USA*, Volume 105, pp. 11105–9.
- Chen, Q. et al., 2005. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *PNAS USA*, Volume 102, pp. 13604–13609.
- Creagan, E. et al., 1979. Failure of high-dose Vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer: A controlled trial. *NEJM*, Volume 301, pp. 687–690.
- Drisko, J., Chapman, J. & Hunter, V., 2003. The use of antioxidants with first-line chemotherapy in two cases of ovarian cancer. *Am J Coll Nutr*, Volume 22, pp. 118–23.
- Du, J. et al., 2010. Mechanisms of ascorbate-induced cytotoxicity in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, Volume 16, pp. 509–20.
- Espey, M. et al., 2011. Pharmacologic ascorbate synergizes with gemcitabine in preclinical models of pancreatic cancer. *Free Radic Biol Med*, Volume 50, pp. 1610–19.
- Espey, M., Chen, Q. & Levine, M., 2009. Comment re: Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of chemotherapy. *Cancer Research*, Volume 69, p. 8830.
- Frei, B. & Lawson, S., 2008. Vitamin C and cancer revisited. *PNAC USA*, Volume 105, pp. 11037–8.
- Fromberg, A. et al., 2011. Ascorbate exerts anti-proliferative effects through cell cycle inhibition and sensitizes tumor cells toward cytostatic drugs.. *Cancer Chemother Pharmacol*, Volume 67, pp. 1157–66.
- Fujita, K. et al., 1982. Reduction of adriamycin toxicity by ascorbate in mice and guinea pigs. *Cancer Res*, Volume 42, pp. 309–16, p. 42.
- Geeraert, L., 2012. *CAM- Cancer Consortium. Intravenous high-dose Vitamin C*. [Online] Available at: [www.cam-cancer.org/CAM-Summaries/Other-CAM/Intravenous-high-dose-Vitamin-C](http://www.cam-cancer.org/CAM-Summaries/Other-CAM/Intravenous-high-dose-Vitamin-C).
- Ginter, E., Bobeck, P. & Vargova, D., 1979. Tissue levels and optimal dosage of Vitamin C in guinea pigs.. *Nutr Metab*, Volume 27, pp. 217–26.
- Gonzalez, M. et al., 2002. Inhibition of human breast cancer carcinoma cell proliferation by ascorbate and copper.. *PRHSJ*, Volume 21, pp. 21–3.
- Heaney, M. et al., 2008. Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs. *Cancer Res*, Volume 68, pp. 8031–8.
- Henson, D., Block, G. & Levine, M., 1991. Ascorbic acid: biological functions and relation to cancer. *JNCI*, Volume 83, pp. 547–50.
- Hoffer, L. et al., 2008. Phase I clinical trial of i.v. ascorbic acid in advanced malignancy. *Ann Oncol*, Volume 19, pp. 1969–74, p. 19.
- Hoffman, F., 1985. Micronutrient requirements of cancer patients.. *Cancer*, 55(Supl. 1), pp. 145–50.
- Hornig, D., 1975. Distribution of ascorbic acid metabolites and analogues in man and animals. *Ann NY Acad Sci*, Volume 258, pp. 103–18.
- Jackson, J. & Hunninghake, R., 2006. False positive blood glucose readings after high-dose intravenous Vitamin C. *J Ortho Med*, Volume 21, pp. 188–90.
- Jackson, J., Riordan, H., Hunninghake, R. & Riordan, N., 1995. High dose intravenous Vitamin C and long time survival of a patient with cancer of the head and pancreas. *J Ortho Med*, Vol 10, pp. 87–8.
- Keith, M. & Pelletier, O., 1974. Ascorbic acid concentrations in leukocytes and selected organs of guinea pigs in response to increasing ascorbic acid intake. *Am J Clin Nutr*, Volume 27, pp. 368–72.
- Kuether, C., Telford, I. & Roe, J., 1988. The relation of the blood level of ascorbic acid to tissue concentrations of this Vitamin and the histology of the incisor teeth in the guinea pig. *J Nutrition*, Volume 28, pp. 347–58.
- Kurbacher, C. et al., 1996. Ascorbic acid (Vitamin C) improves the antineoplastic activity of doxorubicin, cisplatin, and paclitaxel in human breast carcinoma cells in vitro. *Cancer Lett*, Volume 103, pp. 183–9.
- Levine, M. et al., 1996. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *PNAS USA*, Volume 93, pp. 3704–9.
- Lin, A., Chen, K., Chung, H. & Chang, S., 2010. The significance of plasma C-reactive protein in patients with elevated serum prostate-specific antigen levels. *Urological Sci*, Volume 21, pp. 88–92.
- Mayland, C., Bennett, M. & Allan, K., 2005. Vitamin C deficiency in cancer patients. *Palliat Med*, Volume 19, pp. 17–20.
- McCormick, W., 1959. Cancer: a collagen disease, secondary to nutrition deficiency. *Arch. Pediatr.*, Volume 76, pp. 166–171.

- Mikirova, N., Casciari, J. & Riordan, N., 2012. Ascorbate inhibition of angiogenesis in aortic rings ex vivo and subcutaneous Matrigel plugs in vivo. *J Angiogenesis Res*, Volume 2, pp. 2–6.
- Mikirova, N., Casciari, J., Taylor, P. & Rogers, A., 2012. Effect of high-dose intravenous Vitamin C on inflammation in cancer patients. *J Trans Med*, Volume 10, pp. 189–99.
- Mikirova, N., Ichim, T. & Riordan, N., 2008. Anti-angiogenic effect of high doses of ascorbic acid.. *J Transl Med*, Volume 6, p. 50.
- Mikirova, N., Rogers, A., Casciari, J. & Taylor, P., 2012. Effects of high dose intravenous ascorbic acid on the level of inflammation in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Res Inflamm*, Volume 1, pp. 26–32.
- Moertel, C. et al., 1985. High-dose Vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have no prior chemotherapy: a randomized double-blind comparison.. *NEJM*, Volume 312, pp. 137–41.
- Monti, D. et al., 2012. Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *PLoS One*, Volume 7, p. e29794.
- Murata, A., Morishige, F. & Yamaguchi, H., 1982. Prolongation of survival times of terminal cancer patients by administration of large doses of ascorbate. *Int J Vitam Res Suppl*, Volume 23, pp. 103–13.
- Okunieff, P. & Suit, H., 1987. Toxicity, radiation sensitivity modification, and combined drug effects of ascorbic acid with mis-onidazole in vivo on FSall murine fibrosarcomas. *JNCI*, Volume 79, pp. 377–81.
- Padayatti, S. et al., 2006. Intravenous Vitamin C as a cancer therapy: three cases. *CMAJ*, Volume 174, pp. 937–42.
- Padayatty, S. & Levine, M., 2000. Reevaluation of ascorbate in cancer treatment: emerging evidence, open minds and serendipity. *J Am Coll Nutr.*, Volume 19, pp. 423–5.
- Padayatty, S. et al., 2010. Vitamin C: intravenous use by complementary and alternative medical practitioners and adverse effects. *PLoS ONE*, Volume 5, p. 11414.
- Padayatty, S. et al., 2004. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Ann. Intern. Med.*, Volume 140, pp. 533–37.
- Page, E. et al., 2007. Hypoxia inducible factor-1 (alpha) stabilization in nonhypoxic conditions: role of oxidation and intracellular ascorbate depletion. *Mol Biol Cell*, Volume 19, pp. 86–94.
- Pollard, H., Levine, M., Eidelman, O. & Pollard, M., 2010. Pharmacological ascorbic acid suppresses syngenic tumor growth and metastases in hormone-refractory prostate cancer. *In Vivo*, Volume 2012, pp. 249–55.
- Raloff, J., 2000. Antioxidants may help cancers thrive. *Science News*, Volume 157, p. 5.
- Riordan, H. et al., 2005. A pilot clinical study of continuous intravenous ascorbate in terminal cancer patients. *PR Health Sci J*, Volume 24, pp. 269–76.
- Riordan, H. et al., 2003. Intravenous ascorbic acid: protocol for its application and use. *PR Health Sci. J.*, Volume 22, pp. 225–32.
- Riordan, H., Jackson, J., Riordan, N. & Schultz, M., 1998. High-dose intravenous Vitamin C in the treatment of a patient with renal cell carcinoma of the kidney. *J Ortho Med*, Volume 13, pp. 72–3.
- Riordan, N., JA, J. & Riordan, H., 1996. Intravenous Vitamin C in a terminal cancer patient. *J Ortho Med*, Volume 11, pp. 80–2.
- Riordan, N., Roirdan, H. & Meng, X., 1995. Intravenous ascorbate as a tumor cytotoxic chemotherapeutic agent. *Med Hypotheses*, Volume 44, pp. 207–13.
- Rivers, J., 1987. Safety of high-level Vitamin C ingestion. In: Third Conference on Ascorbic Acid. *Ann NY Acad Sci*, Volume 489, pp. 95–102.
- Shinozaki, K. et al., 2011. Ascorbic acid enhances radiation-induced apoptosis in an HL60 human leukemia cell line. *J Radiat Res*, Volume 52, pp. 229–37.
- Simone, C., Simone, N. S. V. & CB, S., 2007. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase survival, part 1. *Altern Ther Health Med*, Volume 13, pp. 22–8.
- St. Sauver, J. et al., 2009. Associations between C-reactive protein and benign prostatic hyperplasia lower urinary tract outcomes in a population based cohort. *Am J Epidemiol*, Volume 169, pp. 1281–90.
- Taper, H., Keyeux, A. & Roberfroid, M., 1996. Potentiation of radiotherapy by nontoxic pretreatment with combined Vitamins C and K3 in mice bearing solid transplantable tumor. *Anticancer Res*, Volume 16, pp. 499–503.
- Verrax, J. et al., 2004. Ascorbate potentiates the cytotoxicity of menadione leading to an oxidative stress that kills cancer cells by a non-apoptotic caspase-3 independent form of cell death. *Apoptosis*, Volume 9, pp. 223–33.
- Verrax, J. & Calderon, P., 2009. Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumor effects. *Free Radic Biol Med*, Volume 47, pp. 32–40.
- Vollbracht, C. et al., 2011. Intravenous Vitamin C administration improves quality of life in breast cancer patients during chemoradiotherapy and aftercare: results of a retrospective, multicentre, epidemiological cohort study in Germany. *In Vivo*, Volume 82, pp. 983–90.

Wong, K. et al., 1994. Acute oxalate nephropathy after a massive intravenous dose of Vitamin C. *Aust NZ J Med*, Volume 24, pp. 410–1.

Yeom, C., Jung, G. & Song, K., 2007. Changes of terminal cancer patients health related quality of life after high dose Vitamin C administration. *Korean Med Sci*, Volume 22, pp. 7–11.

Yeom, C. et al., 2009. High-dose concentration administration of ascorbic acid inhibits tumor growth in BALB/C mice implanted with sarcoma 180 cancer cells via the restriction of angiogenesis. *J Transl Med*, Volume 7, p. 70.