

## The Effect of Orally High Dose Vitamin C Supplementation on Serum Vitamin C, Leptin and Cortisol Parameters in Rats

Mehmet BAŞEĞMEZ<sup>1\*</sup>, Abdullah ERYAVUZ<sup>2</sup>

<sup>1\*</sup>Pamukkale University, Acipayam Vocational High School, Laboratory and Veterinary Health, Denizli, Turkey

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Afyonkarabisar, Turkey

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the changes in the blood levels of vitamin C, cortisol, and leptin, depending on the vitamin C supplementation administered orally at high dose intervals in rats. A total of 21 female Wistar Albino rats aged 6-9 months were randomly divided into three groups, each group containing seven animals. The first group is the control group, and the experiment groups are Vitamin C (1000 mg/kg CA group, orally), Vitamin C (3000 mg/kg CA group, orally). At the end of the total experiment period of 10 days, blood samples were taken into the serum tube as intracardiac. Vitamin C, cortisol, and leptin levels were determined from serum. It was found that there was no difference between the groups in serum vitamin C, cortisol, and leptin levels in blood samples. As a result, it has been observed that high-dose vitamin C supplements administered orally are not an effective way to increase the vitamin C pool in the body.

**Keywords:** Cortisol, Leptin, Rat, Vitamin C.

\*\*\*

### Sıçanlarda Oral Yüksek Doz Vitamin C Takviyesinin Serum Vitamin C, Leptin ve Kortizol Parametrelerine Etkisi

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda yüksek doz aralıklarında oral uygulanan vitamin C takviyesine bağlı olarak vitamin C, kortizol ve leptinin kan düzeylerindeki değişiklikleri belirlemektir. Toplam 21 adet 6-9 aylık yaşta Wistar Albino türü dişi sıçan rastgele olarak grup başına 7 hayvan içerecek şekilde üç gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu iken, deney grupları şu şekilde düzenlenmiştir: Vitamin C (1000mg/kg CA grubu, oral yoldan), Vitamin C (3000mg/kg CA grubu, oral yoldan). On günlük toplam deney süresi sonunda kan örnekleri İntrakardiyak olarak serum tüplerine alındı. Serumda vitamin C, kortizol ve leptin düzeyleri belirlendi. Yapılan uygulamaların serum vitamin C, kortizol ve leptin düzeylerine etki etmediği bulundu. Sonuç olarak, oral olarak uygulanan yüksek doz vitamin C takviyesinin vücuttaki C vitamini havuzunu artırmanın etkili yolu olmadığı görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Kortizol, Leptin, Rat, Vitamin C.

To cite this article: Başeğmez M, Eryavuz A. The Effect of Orally High Dose Vitamin C Supplementation on Serum Vitamin C, Leptin and Cortisol Parameters in Rats. Kocatepe Vet J. (2021) 14(3):339-345

Submission: 23.03.2021 Accepted: 16.08.2021 Published Online: 02.09.2021

ORCID ID; MB: 0000-0002-9994-1251, AE: 0000-0001-8602-2400

\*Corresponding author e-mail: mbasegmez@pau.edu.tr

## GİRİŞ

Vitamin C olarak da bilinen askorbik asit (AA), ilk olarak 1920'lerde skorbut hastalığının önlenmesi ve tedavisindeki rolünü keşfeden Albert von Szent Györgyi tarafından tanımlanan küçük bir karbonhidrat molekülüdür (De Tullio 2010). Vitamin C'nin emilimi, dağılımı, metabolizması ve atılımı oldukça karmaşık olup, çoğu düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin aksine bağırsak alımı, doku dağılımı ve böbrek geri alımının büyük bir kısmı sodyuma bağımlı vitamin C taşıyıcı (SVCT) protein ailesi tarafından gerçekleştirilmektedir (Tsukaguchi ve ark. 1999, Wu ve ark. 2008). Diyetle, fizyolojik olarak L-askorbik asit ve L-dehidroaskorbik asit olmak üzere iki ana C vitamini formu bulunmaktadır (Pénicaud ve ark. 2010, Cisternas ve ark. 2014). Bitki ve hayvanların çoğu askorbik asidi D-glikoz veya D-galaktozdan sentezleyebilirlerken, kobaylar, meyve yiyen yarasalar, maymunlar ve insanlar, L-gulonolakton oksidaz enzimi bulunmadığından askorbik asit sentezleyememekte ve günlük diyetle almak zorundadırlar (Naidu 2003). Vitamin C'nin homeostazı; genetik polimorfizmler, gebelik, laktasyon gibi fizyolojik faktörler ile diyet, stres, sigara alışkanlığı gibi çevresel ve yaşam tarzı değişikliklerinden etkilenmektedir (Lykkesfeldt ve Tveden-Nyborg 2019). Bulaşıcı hastalıklar, kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve sepsis gibi çok sayıda hastalık durumu da düşük vitamin C alımları ile ilişkilendirilmiştir (Frei ve ark. 2012, Tveden-Nyborg ve Lykkesfeldt 2013). Sağlıklı memelilerin, vitamin C bakımından zengin kaynaklar içermesi koşuluyla, diyet yoluyla yeterli miktarda vitamin C alması mümkün olduğu bildirilse de (Krinsky ve ark. 2000, Carr ve ark. 2013), birçok hastalıkta ve çok düşük vitamin C durumu olan canlılarda diyetle vitamin C alınmasını sağlamanın yetersiz olabileceği de bazı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Lykkesfeldt ve ark. 2000, Tveden-Nyborg ve Lykkesfeldt 2013, Dachs ve ark. 2014). Levine ve ark. (1996), askorbik asit'in vücutta tutulum veya birikim sağlamayarak fazlasının idrarla hemen atıldığını vurgulayarak, günlük vitamin C alınmasına ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenlerle, vücuttaki vitamin C seviyesini korumak için günlük düzenli olarak vitamin C takviyesi yapılması gerektiği öne sürülmektedir (Naidu 2003). Vitamin C takviyelerinin, canlılarda birçok biyolojik işlevinin yanı sıra, vücuttaki miktarına bağlı olarak hastalıkların önlenmesinde etkili olduğu ve daha sağlıklı bir yaşama olanak sağladığı ifade edilmektedir (Du ve ark. 2012, Ward ve ark. 2013, Moores 2013, Malik, 2018, Kalil, 2020). Son yapılan çalışmalarda, C vitamininin yeterince yüksek dozlarda verildiğinde ve kan düzeyi yüksek seviyelere ulaştığında bazı antikanser etkilerinin olduğu öne sürülmektedir (Magri ve ark., 2020). Bu bildirimler, yüksek vitamin C takviyelerinin bazı hastalıkların tedavilerinde umut verici bir yaklaşım önermektedir.

Vitamin C, hem güçlü bir hücre içi antioksidan (Ibrahim ve ark. 2020), hem de geniş biyolojik süreç yelpazesinde steroid hormon sentezine katılarak glukokortikoid biyosentez yolağına katkıda bulunan bir enzimler ko-faktörüdür (Patak ve ark. 2004). Antioksidan rolü, özellikle hem hastalıkların hem de yüksek kirlilik seviyelerinin organizmada yol açtığı oksidatif stresin arttığı durumlarda, vitamin C takviyesini önemli bir seçenek haline getirmektedir (Maeda ve ark. 2020). Son yapılan çalışmalarda C vitamini takviyelerinin insan ve hayvanları; enfeksiyon, zehirlenme, otoimmün hastalıklar ve kanser gelişiminden koruyabilen en ucuz tedavi yöntemlerinden birine aday olduğu gösterilmektedir (Padayatty ve ark. 2003, Aguirre ve May 2008, Ranjan ve ark. 2012, Kuhn ve ark. 2018, Maeda ve ark. 2020, Magri ve ark. 2020). Bununla birlikte, vitamin C takviyelerinin uygulandığı yöntemin (oral, i.m. vb.) de önemli olduğu (Magri ve ark. 2020), oral yapılan takviyelerin bağırsak reseptörleri tarafından kana alınmasında düşük sonuçlara yol açtığı ileri sürülmektedir (Tsukaguchi ve ark. 1999, Rowe ve Carr, 2020). Yapılacak araştırmalardan oral yapılan yüksek doz vitamin C takviyelerinin doku ve organların fizyolojik fonksiyonlarında oluşturduğu etkilere yönelik vitamin C'nin yeni işlevlerinin keşfedilmesi beklenmektedir. Bu nedenle bu çalışma, sıçanlarda farmakolojik doz aralıklarında oral uygulanan vitamin C takviyesine bağlı olarak vitamin C, kortizol ve leptinin kan düzeylerindeki değişikliklerin belirlenmesi amacıyla yapıldı.

## MATERYAL ve METOT

Çalışmada hayvan materyalini Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 6-9 aylık yaşta, 21 adet Wistar Albino türü dişi sıçan (yaklaşık 250-300 g) oluşturdu. Çalışma boyunca hayvanlara yapılacak tüm müdahaleler Pamukkale Üniversitesi Deneysel Cerrahi Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapıldı. Hayvanlar oda sıcaklığı ( $22 \pm 1$  °C), bağıl nem (%50-55) ve 12 saat karanlık/aydınlık periyotlarda tutuldu. Sıçanların beslenmesinde standart rat yemi ve içme suyu ad libitum olarak verildi. Çalışmada kullanılacak Vitamin C verilme miktarları daha önce yapılan çalışmalar (Johnston 1999, Brody ve ark. 2002) esas alınarak belirlendi. L (+) ascorbic acid (vitamin C) ticari müstahzarı şeklinde (Dasitgroup, Carlo Erba Reagents, Fransa) temin edildi.

### Vitamin C Solüsyonunun Hazırlanması

Kontrol gruplarına (Grup I) deney süresi boyunca her gün gastrik gavaj yoluyla 1ml % 0.9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonu (POLİFLEKS) uygulaması yapılırken, vitamin C gruplarına deney süresi boyunca

her gün hassas terazi (Tekstar Kd-Tbc 300G 0.001G) ile tartılan L(+) askorbik asid ( Carlo Erba Reagents, 402406 Fransa) % 0.9 luk izotonik sodyum klorür solüsyonu ile karıştırılıp, vorteks (Velp Scientifica ZX3) ile tamamen yüksek devirde içerisinde partikül kalmayacak şekilde çözdürüldükten sonra 1000 mg/kg (Grup II) ve 3000 mg/kg (Grup III)

farmakolojik dozlara denk gelecek şekilde ml bazında 10 gün boyunca gastrik gavaj ile oral olarak verildi. Deneysel aşaması 10 gün olarak yapılan çalışmada hayvanlar rastgele örnekleme metodu ile her grupta 7 sıçan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Çalışmada gruplara uygulanan yöntem ve deney grupları Tablo 1' de belirtildiği şekilde yapıldı.

**Tablo 1.** Gruplar, gruplardaki hayvan sayıları ve uygulama yöntemi.

**Table 1.** Groups, numbers of animals in groups and application method.

Gruplar	Gruptaki Hayvan Sayısı	Uygulama Yöntemi
Grup I	7	Kontrol grubu; 1ml %0,9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonu gastrik gavajla uygulandı.
Grup II	7	Vitamin C (1000mg/kg CA) grubu; 1000mg/kg CA karşılık gelecek şekilde vitamin C, 0.9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonunda çözdürülüp ml şeklinde gastrik gavaj ile verildi.
Grup III	7	Vitamin C (3000mg/kg CA) grubu; 3000mg/kg CA karşılık gelecek şekilde vitamin C, 0.9'luk izotonik sodyum klorür solüsyonunda çözdürülüp ml şeklinde gastrik gavaj ile verildi.

### Kan Örneklerinin Alınması

Son uygulamaları takiben 24 saat sonrasında hayvanlardan ksilazin ve ketamin anestezisi altında İntrakardiak olarak serum ayrıştırma tüpüne kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin serumları soğutmalı santrifüjde (Hettich Universal 320 R) 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek ayrıştırıldı. Ayrıştırılan serumlar zaman kaybetmeden 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak -80 °C de biyokimyasal aşamaya kadar bekletildi.

### Biyokimyasal Analizler

Ependorf tüplerine alınan serum örnekleri, mikroplyt okuyucu (Multiskan Go. Thermo Scientific) ile serum Vitamin C (Bioassay Technology Laboratory marka Kat. No: E0612Ra), serum kortizol (Bioassay Technology Laboratory marka Kat. No: E0828Ra) ve serum leptin (Bioassay Technology Laboratory marka Kat. No: E0561Ra) parametre değerleri ticari rat kitleri kullanılarak belirlendi.

### İstatistiksel Analizler

Araştırmadan elde edilen veriler SPSS 25.0 istatistik programı kullanılarak değerlendirildi. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart hata olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelendi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanıldı. Tüm analizlerde  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### BULGULAR

Çalışmada tüm gruplardan elde edilen serum vitamin C, kortizol ve leptin parametrelerine yönelik veriler Tablo 2'de verildi. Çalışmada farmakolojik doz aralıklarında vitamin C takviyesinin sıçanlarda serum vitamin C, kortizol ve leptin biyokimyasal parametrelerini sayısal açıdan artırsa da gruplar arasında istatistiksel anlamda bir farklılığın olmadığı bulundu ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 2.** Dişi sıçanlarda 1000 mg/kg ve 3000 mg/kg vitamin C takviyesinin serum vitamin C, kortizol ve leptin parametrelerine etkisi (n=7, mean $\pm$ SE). \*

**Table 2.** The effect of 1000 mg/kg and 3000 mg/kg vitamin C supplementation on serum vitamin C, cortisol, and leptin parameters in female rats (n=7, mean $\pm$ SE).

Parametreler	Kontrol	Vitamin C 1000 mg/kg	Vitamin C 3000 mg/kg
Vitamin C nmol/ml	41,57 $\pm$ 1,54	42,50 $\pm$ 1,17	44,55 $\pm$ 2,21
Kortizol mg/dl	31,40 $\pm$ 0,84	31,40 $\pm$ 1,33	35,12 $\pm$ 1,67
Leptin ng/ml	1,69 $\pm$ 0,04	1,813 $\pm$ 0,04	1,811 $\pm$ 0,05

\*; Aynı satırda gruplar arasında istatistiksel anlamda bir farklılık yoktur ( $P > 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Vitamin C'nin, bazı hormonların salgılanmasında tanımlanmış işlevlere sahip olması ve sodyum bağımlı C vitamini taşıyıcısı (SVCT) 1 ve 2 tarafından gerek bağırsaklardan emilimi gerekse dokular tarafından alınımının ayarlanmasının hormon sentezi için önemli olduğuna yönelik bildirimler (Wu ve ark. 2008) dikkate alınarak yüksek dozda oral vitamin C alınmasının kan kortizol ve leptin düzeylerine etkilerinin belirlendiği bu çalışmada, vitamin C'nin 1000 ve 3000 mg/kg canlı ağırlıktaki dozları kullanılmıştır. Çalışmada; vitamin C takviyelerinin çok yüksek dozlarda bile toksik olmadığı veya sağlık üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratmadığı (Johnston, 1999) ve 3000 mg'a kadar günlük uzun süreli oral takviyelerinin bile güvenli olduğu (Gerster ve Moser 1988, Rivers 1987) bildirimleri dikkate alınarak, sıçanlara toplam 10 gün süren çalışma süresince günde 1000 ve 3000 mg/kg canlı ağırlık düzeyinde vitamin C oral olarak uygulanmıştır.

Çalışmada yüksek doz vitamin C takviyesine rağmen kan vitamin C düzeyinde istatistiksel önemde bir değişikliğin olmaması, vitamin C takviyesinin oral olarak kullanılmasından kaynaklanabilir (Magri ve ark. 2020). Nitekim sağlıklı genç deneklerde yapılan çalışmalarda (Rowe ve Carr, 2020), vitamin C'nin farmakokinetiğinin uygulama yoluna bağlı olarak değiştiği ve oral olarak uygulanmasına göre intra venöz (i.v.) uygulanmasının vitamin C'nin plazmada 100 kat daha yüksek düzeylere ulaşmasına yol açtığı bildirilmektedir. Tsukaguchi ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada; Na<sup>+</sup> bağımlı C vitamini taşıyıcıları SVCT1 ve SVCT2 olarak izole edilmiş, bu taşıyıcıların doku dağılımını incelendiğinde ise SVCT1'in bağırsakta en bol bulunduğu ve vitamin C'nin en önemli taşıyıcısı olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz vitamin C'nin oral takviyelerinin taşıma mekanizmalarının üzerinde zararlı etki oluşturarak emilim yüzdesinde düşüşe neden olduğu birçok yazar tarafından belirtilmiştir (Horning ve ark. 1980, Levine ve ark. 1996, Graumlich ve ark. 1997). Ayrıca yüksek doz vitamin C kullanımının, bağırsak epitel hücre zarının apikal yüzeyinde SVCT1 ekspresyonunda güçlü bir azalışa sebep olması (MacDonald ve ark. 2002), yüksek doz vitamin C takviyelerinin göreceli verimsizliğini açıklarken, C vitamininin biyoyararlanımını sınırlayan ana faktörün bağırsaktan emilimi olduğu tezini de desteklemektedir. Chen ve ark. (2005), vitamin C takviyesinde farmakolojik plazma konsantrasyonlarına oral alımın aksine, çoğunlukla intravenöz infüzyon olmak üzere parenteral uygulama ile ulaşılabilirliğini bildirmektedirler. Sonuç olarak, sağlıklı deneklerde oral verilen vitamin C takviyelerinin bağırsaklardan emiliminin düşük olması nedeniyle kan düzeylerini de etkileyebilmektedir (Rowe ve Carr, 2020). Çalışmada elde edilen bulgu, diyetle yeterli düzeyde vitamin C

alan sıçanlara vitamin C'nin yüksek dozlarda oral uygulanmasının kan vitamin C düzeyini etkilemeyeceğine ve fizyolojik etkilerin oluşmasına katkı sağlamayacağına işaret etmektedir.

Dokular, C vitamini içeriği bakımından büyük farklılıklar gösterse de hipofiz, böbrek üstü bezi ve gonadlar gibi hormon sentezi yapan dokularda yüksek düzeylerde vitamin C bulunmaktadır (Das ve ark. 1993). Bu tür endokrin dokulardaki yüksek vitamin C düzeyleri, hormon sentezindeki önemini kanıtlamaktadır. Adrenal bezden kortizolun sentezlenmesi için vitamin C'ye gereksinim olduğu bilinmektedir (Levine ve Morita, 1985). Bu nedenle, vitamin C sağlamak hem antioksidan sistemde hem de adrenal bezlerde kortizol sentezinde değişiklikler yaparak gerek oksidatif strese gerekse bağışıklık tepkisinde değişiklikler yapabilir. Strese yanıt olarak adrenal bezler tarafından üretilen önemli bir glukokortikoid olan kortizol, organizmadaki birçok fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (Sheibani ve ark. 2021).

Yüksek vitamin C alımının canlılarda kortizol sekresyonu üzerindeki nihai etkisine dair tartışmalı literatürler bulunmaktadır (Mourot ve ark. 1992, Zhou ve ark. 2003). Daha önce domuz ve kanatlılarda yapılan çalışmalarda (Wariss 1979, Mourot ve ark. 1992), vitamin C takviyesinin plazma kortizol düzeylerini düşürdüğü bildirimlerinin aksine, bu çalışmada; yüksek düzeylerde vitamin C'nin oral takviyesinin kan kortizol düzeylerine etki etmemesi, Pion ve ark. (2004)'nın domuzlarda vitamin C takviyesinin kan kortizol düzeyi üzerinde etkisi olmadığı yönündeki bildirimlerini destekler niteliktedir. Benzer şekilde, bu çalışmadaki bulgular; vitamin C takviyesinin adrenokortikotropik hormon (ACTH) tarafından indüklenen kortizol sentezi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı (Montalvo ve ark. 2011), günde 3000 mg C vitamininin oral almanın akut psikolojik strese yanıt verdikten sonra kortizolün daha hızlı iyileşmesine yol açarak, hormonun genel konsantrasyonunu azaltmadığı (Brody ve ark. 2002) ve 0-10.000 mg/kg aralığında C vitamini takviyeli diyetle beslenen kaplumbağa grupları arasında serum kortizol düzeylerinin etkilenmediği (Zhou ve ark. 2003) yönündeki bildirimlerle uyumluydu. Bununla birlikte, endojen vitamin C sentezi bulunmayan kobaylarda skorbüt hastalığı gelişimi esnasında adrenal vitamin C düzeylerinde hızlı bir düşüş meydana geldiği ve bunu plazma kortizol seviyesinde artışın izlediği kaydedilmiştir (Douglas ve ark.1987). Avcı ve ark. (2008)'ının nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda yaptıkları çalışmada; nakil işleminin oluşturduğu strese bağlı olarak kan kortizol düzeyinin arttığını ancak hayvanlara i.m. vitamin C enjeksiyonu yapılması halinde nakil işlemi sonrası kan kortizol düzeylerinde önemli bir azalmanın olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu durum transport sürecinde canlıda stres oluşturacak çevresel ve fizyolojik değişikliklerin plazma ACTH ve kortizol

salınmasında meydana gelen artış ile ilişkilendirilmiştir (Avcı ve ark. 2008). Benzer şekilde Olayaki ve ark. (2015), C vitamini ile tedavi edilen hem akut hem de kronik uykudan yoksun sıçanlarda gözlenen plazma kortizol düzeylerindeki önemli derecede düşüşün, C vitamininin stres yanıtını hafifletme kabiliyetine bağlı olduğu gösterilmiştir. Vitamin C takviyesinin kan kortizol düzeyleri bakımından çalışmalar arasında gözlenen farklılıkların vitamin C takviyesinin yapılma şeklindeki (oral ya da i.m.) farklılıklar (Rowe ve Carr, 2020) ile denemede kullanılan hayvanlarda stres oluşturacak (psikolojik, nakil vb.) faktörlerden (Brody ve ark. 2002, Avcı ve ark. 2008, Olayaki ve ark., 2015) kaynaklandığı söylenebilir.

Kanda vitamin C düzeyinin düşük olmasının; vücut yağı, abdominal yağ ve bel/boy oranının yükselmesi ile ilişkisinin bulunduğu öne sürülmektedir (Garcia-Diaz ve ark. 2014). Daha önce yapılan çalışmalarda (Garcia ve ark. 2012, Garcia-Diaz ve ark. 2014), insanlarda hipovitaminoz C ile obezite arasında bir ilişkinin bulunduğu ve bu nedenle obezite ve stres gibi sağlığı etkileyen yönleri de dahil olmak üzere C vitamini durumu ve gereksinimlerini etkileyen çok sayıda faktörün olduğu kaydedilmektedir. Adipositler tarafından salınan ve enerji alımı ve harcanmasını düzenlemede önemli bir rol oynayan peptid yapıdaki leptin hormonu, beyindeki tokluk merkezini uyararak obeziteyi inhibe edebilmektedir (Jamalan ve ark. 2015). Nitekim, yağ dokudan salgılanan leptin hormonunun kan düzeylerinin vitamin C takviyelerinden etkilendiği ve hem insan hem de hayvan modellerinde leptin ekspresyonunu inhibe ettiği ileri sürülmektedir (Garcia-Diaz ve ark. 2010). Bu çalışmada yüksek düzeyde oral vitamin C takviyelerinin kan leptin düzeyinde herhangi bir etki doğurmadığının nedeni, hayvanların sağlıklı ve stres oluşturacak herhangi bir etkiye maruz kalmamış olmalarından ve vitamin C'nin uygulama şeklinden kaynaklanabilir. Nitekim, bu çalışmada kan vitamin C düzeylerinin uygulamalardan etkilenmemiş olması, yağ dokuda leptin ekspresyonunu inhibe edecek kan düzeyine ulaşmamış olmasına yol açmış olabilir. Vitamin C takviyelerinin farklı uygulama yolları ile yapılacak yeni çalışmalarla, hangi uygulama şeklinin kan leptin düzeyini azaltmada daha etkili olduğu ortaya çıkartılabilir.

## SONUÇ

Aynı bakım ve besleme şartlarına sahip 6-9 aylık Wistar Albino dişi sıçanlarda yapılan bu çalışmada elde edilen bulgularda, hem 1000 mg/kg hem de 3000 mg/kg oral vitamin C takviyesinin vitamin C, kortizol ve leptinin kan düzeylerine etkisinin olmadığı saptandı. Bu durum sıçanlara yüksek doz C vitamini takviyelerinin oral olarak alınmasının vücuttaki C vitamini havuzunu artırmanın etkili bir yolu olmadığını ve diyet yükünü büyük ölçüde artıracığını göstermektedir. Bu alanda farklı

yaşlarda, cinsiyetlerde, dozlarda ve değişik verilmiş yollarında yapılacak yeni araştırmalarla, vitamin C takviyesinin organ ve dokuların fizyolojik fonksiyonlarına yaptığı katkılarının daha iyi anlaşılması sağlanabilir. Çalışmada vitamin C'nin yüksek dozlarda oral takviyesinin etkilerine yönelik elde edilen bulguların, vitamin C'nin insan ve hayvanlarda günlük alınması gereken düzeyinin belirlenmesiyle ilgili yapılacak yeni çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Etik Kurul Bilgileri:** Pamukkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 13.08.2020 tarihli PAUHDEK-20/26 sayılı Araştırma onayıyla etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

- Aguirre R, May JM.** Inflammation in the vascular bed: importance of vitamin C. *Pharmacology & therapeutics.* 2008; 119(1), 96-103.
- Avcı G, Küçük Kurt İ, Fidan AF, Eryavuz A, Aslan R, Dündar Y.** Nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda vitamin C ve ksilazin uygulamasının kortizol ve lipid peroksidasyon ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi.* 2008; 22(3), 147-152.
- Brody S, Preut R, Schommer K, Schürmeyer TH.** A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol, and subjective responses to psychological stress. *Psychopharmacology.* 2002; 159(3), 319-324.
- Carr AC, Bozonet SM, Pullar JM, Simcock JW, Vissers M.** A randomized steady-state bioavailability study of synthetic versus natural (kiwifruit-derived) vitamin C. *Nutrients.* 2013; 5(9), 3684-3695.
- Chen Q, Espey MG, Krishna MC, Mitchell JB, Corpe CP, Buettner GR, Levine M.** Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2005; 102(38), 13604-13609.
- Cisternas P, Silva-Alvarez C, Martínez F, Fernandez E, Ferrada L, Oyarce K, Nualart F.** The oxidized form of vitamin C, dehydroascorbic acid, regulates neuronal energy metabolism. *Journal of neurochemistry.* 2014; 129(4), 663-671.
- Dachs GU, Munn DG, Carr AC, Vissers MC, Robinson BA.** Consumption of vitamin C is below recommended daily intake in many cancer patients and healthy volunteers in Christchurch. *NZ Med J.* 2014; 127(1390), 73-6.
- Das PC, Das KP, Bagchi K, Dey CD.** Evaluation of tissue ascorbic acid status in different hormonal states of female rat. *Life Sci.* 1993; 52:1493-1498.
- De Tullio MC.** The mystery of vitamin C. *Nat. Educ.* 2010; 3(9), 48.
- Doulas NL, Constantopoulos A, Litsios B.** Effect of ascorbic acid on guinea pig adrenal adenylate cyclase activity and plasma cortisol. *The Journal of nutrition.* 1987; 117(6), 1108-1114.
- Du J, Cullen JJ, Buettner GR.** Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer.* 2012; 1826(2), 443-457.

- Frei B, Birlouez-Aragon I, Lykkesfeldt J.** Authors' perspective: what is the optimum intake of vitamin C in humans?. *Critical reviews in food science and nutrition.* 2012; 52(9), 815-829.
- Garcia-Diaz DF, Campion J, Milagro FI, Boque N, Moreno-Aliaga MJ, Martinez JA.** Vitamin C inhibits leptin secretion and some glucose/lipid metabolic pathways in primary rat adipocytes. *Journal of Molecular Endocrinology.* 2010; 45(1), 33-43
- Garcia-Diaz DF, Lopez-Legarrea P, Quintero P, Martinez JA.** Vitamin C in the treatment and/or prevention of obesity. *Journal of nutritional science and vitaminology.* 2014; 60(6), 367-379.
- García OP, Ronquillo D, del Carmen Caamaño M, Camacho M, Long KZ, Rosado JL.** Zinc, vitamin A, and vitamin C status are associated with leptin concentrations and obesity in Mexican women: results from a cross-sectional study. *Nutrition & Metabolism.* 2012; 9(1), 59.
- Gerster H, Moser U.** Is high-dose vitamin C intake associated with systemic conditioning? *Nutrition Research.* 1988; 8(11), 1327-1332.
- Graulich JF, Ludden TM, Conry-Cantilena C, Cantilena LR Jr, Wang Y, Levine M.** Pharmacokinetic model of ascorbic acid in healthy male volunteers during depletion and repletion. *Pharmaceutical Research.* 1997; 14, 1133-1139.
- Hornig D, Vuilleumier JP, Hartmann D.** Absorption of large, single, oral intakes of ascorbic acid. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research.* 1980; 50, 309-314.
- Ibrahim RE, Ahmed SA, Amer SA, Al-Gabri NA, Ahmed AI, Abdel-Warith AWA, Metwally AE.** Influence of vitamin C feed supplementation on the growth, antioxidant activity, immune status, tissue histomorphology, and disease resistance in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Reports.* 2020; 18, 100545.
- Jamalan M, Rezazadeh M, Zeinali M, Ghaffari MA.** Effect of ascorbic acid and alpha-tocopherol supplementations on serum leptin, tumor necrosis factor alpha, and serum amyloid A levels in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Avicenna journal of phytomedicine.* 2015; 5(6), 531.
- Johnston CS.** Biomarkers for establishing a tolerable upper intake level for vitamin C. *Nutrition reviews.* 1999; 57(3), 71-77.
- Kalil AC.** Lack of Benefit of High-Dose Vitamin C, Thiamine, and Hydrocortisone Combination for Patients With Sepsis. 2020; *JAWA*, 323; 419-420.
- Krinsky NI, Beecher GR, Burk RF, Chan AC, Erdman JJ, Jacob RA, Prentice RL.** Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *Institute of Medicine.* 2000.
- Kuhn SO, Meissner K, Mayes LM, Bartels K.** Vitamin C in sepsis. *Current opinion in anaesthesiology.* 2018; 31(1), 55.
- Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, Cantilena LR.** Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: evidence for a recommended dietary allowance. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1996; 93(8), 3704-3709.
- Levine M, Morita K.** Ascorbic acid in endocrine systems. *Vitam Horm.* 1985; 42:1-64
- Lykkesfeldt J, Tveden-Nyborg P.** The pharmacokinetics of vitamin C. *Nutrients.* 2019; 11(10), 2412.
- Lykkesfeldt J, Christen S, Wallock L M, Chang HH, Jacob RA, Ames BN.** Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *The American journal of clinical nutrition.* 2000; 71(2), 530-536.
- MacDonald L, Thumser AE, Sharp P.** Decreased expression of the vitamin C transporter SVCT1 by ascorbic acid in a human intestinal epithelial cell line. *Br. J. Nutr.* 2002; 87, 97-100.
- Maeda J, Allum AJ, Mussallem JT, Froning CE, Haskins AH, Buckner MA, Kato TA.** Ascorbic acid 2-glucoside pretreatment protects cells from ionizing radiation, UVC, and short wavelength of UVB. *Genes.* 2020; 11(3), 238.
- Magri A, Germano G, Lorenzato A, Lamba S, Chila R, Montone V, Amadio V, Ceruti T, Sassi F, Areno S, Abrignani S, D'incalci M, Zucchetti M, Nicolantino F, Bardelli A.** High-dose vitamin C enhances cancer immunotherapy. *Sci. Transl. Med.* 2020 12 (532).
- Malik EP.** Hydrocortisone, Ascorbic Acid and Thiamine (HAT Therapy) for the Treatment of Sepsis. *Focus on Ascorbic Acid. Nutrients.* 2018; 10 (11); 1762.
- Montalvo CP, Díaz NH, Galdames LA, Andrés ME, Larrain RE.** Effect of vitamins E and C on cortisol production by bovine adrenocortical cells in vitro. *Journal of dairy science.* 2011; 94(7), 3495-3497.
- Moore J.** Vitamin C: a wound healing perspective. *British journal of community nursing.* 2013; 18(Sup12), S6-S11.
- Mourot J, Peiniau P, Aumaitre A, Chevillon P.** Effect of dietary vitamin C supplementation on growth performance and meat quality in Large White or Large White × Pietrain pigs. *J. Rech. Porc France.* 1992; 24:55-64.
- Naidu KA.** Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition journal.* 2003; 2(1), 7.
- Olayaki LA, Sulaiman SO, Anoba NB.** Vitamin C prevents sleep deprivation-induced elevation in cortisol and lipid peroxidation in the rat plasma. *Nigerian Journal of Physiological Sciences.* 2015; 30(1-2), 5-9.
- Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, Levine M.** Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American college of Nutrition.* 2003; 22(1), 18-35.
- Patak P, Willenberg HS, Bornstein SR.** Vitamin C is an important cofactor for both adrenal cortex and adrenal medulla. *Endocrine research.* 2004; 30(4), 871-875.
- Pénicaud C, Peyron S, Bohuon P, Gontard N, Guillard V.** Ascorbic acid in food: Development of a rapid analysis technique and application to diffusivity determination. *Food Research International.* 2010; 43(3), 838-847.
- Pion SJ, Van Heugten E, See MT, Larick DK, Pardue S.** Effects of vitamin C supplementation on plasma ascorbic acid and oxalate concentrations and meat quality in swine. *Journal of animal science.* 2004; 82(7), 2004-2012.
- Ranjan R, Ranjan A, Dhaliwal GS, Patra RC.** L-Ascorbic acid (vitamin C) supplementation to optimize health and reproduction in cattle. *Veterinary Quarterly.* 2012; 32(3-4), 145-150.
- Rivers JM.** Safety of high-level vitamin C ingestion. *Ann NY Acad Sci.* 1987; 498, 445-454.
- Rowe S, Carr AC.** Global Vitamin C Status and Prevalence of Deficiency: A Cause for Concern? *Nutrients.* 2020; 12(7), 2008.
- Sheibani S, Capua L, Kamaei S, Akbari SSA, Zhang J, Guerin H, Ionescu AM.** Extended gate field-effect-transistor for sensing cortisol stress hormone. *Communications materials.* 2021; 2(1), 1-10.
- Tsukaguchi H, Tokui T, Mackenzie B, Berger UV, Chen XZ, Wang Y, Hediger MAA** family of mammalian Na<sup>+</sup>-dependent L-ascorbic acid transporters. *Nature.* 1999; 399(6731), 70-75.

- Tveden-Nyborg P ve Lykkesfeldt J.** Does vitamin C deficiency increase lifestyle-associated vascular disease progression? Evidence based on experimental and clinical studies. *Antioxidants & redox signaling*. 2013; 19(17), 2084-2104.
- Ward MS, Lamb J, May JM, Harrison FE.** Behavioral and monoamine changes following severe vitamin C deficiency. *Journal of neurochemistry*. 2013; 124(3), 363-375.
- Wariss PD.** Adrenal ascorbic acid depletion as an index of preslaughter stress in pigs. *Meat Sci*. 1979; 3:281–285.
- Wu X, Iguchi T, Itoh N, Okamoto K, Takagi T, Tanaka K, Nakanishi T.** Ascorbic Acid Transported by Sodium-Dependent Vitamin C Transporter 2 Stimulates Steroidogenesis in Human Choriocarcinoma Cells. *Endocrinology*. 2008; 149; 73-83.
- Zhou X, Xie M, Niu C, Sun R.** The effects of dietary vitamin C on growth, liver vitamin C and serum cortisol in stressed and unstressed juvenile soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2003; 135(2), 263-270.