

**C Vitamini Bakımından Zengin Sebze ve Meyvelerin Beyaz Kan  
Hücreleri Artışı Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

**Gaziantep Üniversitesi  
Biyoloji Bölümü  
Yüksek Lisans Tezi**

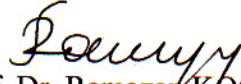
**Danışman  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN**

**Abdulsamet KUBAT  
Temmuz 2011**

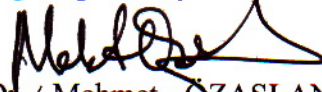
T.C  
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Tezin Adı: C Vitamini Bakımından Zengin Sebze ve Meyvelerin Beyaz Kan Hücreleri Artışı Üzerine Etkilerinin Araştırılması  
Öğrencinin, Adı Soyadı: Abdulsamet KUBAT  
Tez Savunma Tarihi: 25.07.2011


Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

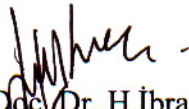
  
Prof. Dr. Ramazan KOÇ  
FBE Müdürü

Bu tezin yüksek lisans/Doktora tezi olarak gerekli şartları sağladığımı/onaylarım.

  
Prof. Dr. / Mehmet ÖZASLAN  
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda (tarafımızca) okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN  
Tez Danışmanı

  
Yrd. Doç. Dr. H.İbrahim KILIÇ  
İkinci Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:


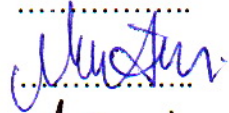
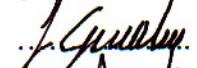
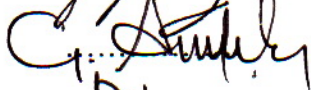
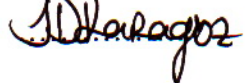
Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Doç. Dr. Muhammed Emin GÜLDÜR

Doç. Dr. Filiz Özbaş GERÇEKER

Doç. Dr. Abuzer ÇELEKLİ

Yrd. Doç Dr. Işık Didem KARAGÖZ

  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....  


## ÖZET

### **C Vitamini Bakımından Zengin Sebze ve Meyvelerin Beyaz Kan Hücreleri Artışı Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

KUBAT, Abdulsamet

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

Temmuz 2011, 61 sayfa

Bu çalışmada normal dokularda ve oksijenli ortamda güçlü bir antioksidan olan doğal C vitaminin beyaz kan hücreleri artışı üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 25-30 g ağırlığında ve 10-12 haftalık olan toplam 54 adet *Mus musculus* türü deney faresi kullanılmıştır. Bu fareler, biri kontrol grubu olmak üzere toplam 6 gruba ayrılmıştır(n=9). Deney gruplarına 28 gün boyunca günlük 100 µl'lik dozlarda C vitamini bakımından zengin olan nar, maydanoz, biber, limon ve mandalina özütlüleri gavaj yoluyla verilmiştir. Çalışmanın 14. ve 28. gününde kan örnekleri alınarak sürtme froti yöntemiyle her denekten üç preparat hazırlanmıştır. Daha sonra giemsa ile boyandıktan sonra lökositler sayılmıştır. Sayılan lökositlerden lenfosit, monosit, nötrofil, bazofil ve eozinofil yüzdeleri saptanmıştır. Çalışmada, 28. günün sonunda kardiaktan kan dokusu alımından sonra deney hayvanları sakrifiye edilerek böbrek, mide, karaciğer, ince barsak doku örnekleri alınmış ve patoloji laboratuvarında toksisite açısından incelenmiştir. Bu doku örneklerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak lökosit sayımlarında deney farelerinin lenfosit ve nötrofil oranı artarken monosit, eozinofil ve bazofil oranında ise azalma olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** C Vitamini, Doğal Sebze ve Meyveler, Beyaz Kan Hücreleri

## **ABSTRACT**

### **The Effect of Vegetables and Fruits Which Are Rich in Vitamin C on White Blood Cells Proliferation**

KUBAT, Abdulsamet

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN

July 2011, 61 pages

In this study, effects on white blood cells proliferation of natural vitamin C as a powerful antioxidant were investigated in normal tissues and oxygenated medium. For this study was used totally 54 *Mus musculus* species that they were experiment mice at weight of 25-30 g and grown for 10-12 weeks. These mice were divided into 6 groups, moreover one of them was used as a control group (n:9). They were feed by gavage during 28 days with 100 µl of fresh juice of pomegranate, parsley, pepper, lemon and tangerine that they are rich in respect to vitamin C. After blood samples were collected in 14<sup>th</sup> and 28<sup>th</sup> days, tree preparations were prepared by the method of the rubbing froth. Then, they were stained by giemsa dye. The percentages of lymphocyte, monocyte, neutrophil, basophil and eosinophil were counted. In end of 28<sup>th</sup> days, after it was taken blood tissue from cardiac, experimental animals were sacrificed and the samples taken from tissues of the kidney, stomach, liver, small intestine were examined for toxicity in the pathology laboratory. In the tissues were not observed a significantly change. As distinct from this, it was determined that ratios of lymphocyte and neutrophil from the leukocyte cells of the mice increased whereas ratios of monocyte, eosinophil and basophil decreased.

**Key Words:** Vitamin C, Natural Vegetables and Fruits, White Blood Cells

## TEŞEKKÜR

Tez konunun belirlenmesi, yürütülmesi ve bütün çalışmalarım boyunca bana rehber olan, ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum Sayın **Prof. Dr. Mehmet Özaslan**'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Bölümünde patolojik değerlendirmelerimi gerçekleştiren Sayın **Doç Dr. Muhammed Emin Güldür**' e katkı ve yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Yardımlarından dolayı Sayın **Yrd. Doç. Dr. Halil İbrahim Kılıç**'a ve **Yrd. Doç. Dr. Işık Didem Karagöz**'e teşekkür ederim.

Ayrıca eğitim hayatım boyunca yardımlarını esirgemeyen aileme, özellikle kardeşim İbrahim Kubat'a ve laboratuvar çalışmalarında bana yardım eden yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Kendi alanlarında uzman olan değerli hocalarımla çalışmamda bulunmaları beni onurlandırmıştır.

Teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
GRAFİKLER VE ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Vitaminlerin Sınıflandırılması.....	1
1.2. C Vitamini (Askorbik Asit).....	2
1.2.1. C Vitaminin Kimyası.....	4
1.2.2. C Vitamini Kaynakları.....	6
1.2.3. C Vitamini Biyosentezi.....	7
1.2.4. C Vitamini Absorpsiyonu ve Transportu.....	9
1.2.5. C Vitamini Eksikliği.....	11
1.2.6. C Vitaminin Fonksiyonları.....	12
1.3. Beyaz Kan Hücreleri (Lökositler).....	14
1.3.1. Lenfositler.....	15
1.3.2. Monositler.....	16
1.3.3. Nötrofiller.....	17
1.3.4. Eozinofiller.....	18
1.3.5. Bazofiller.....	18
1.4. İmmün Sistemde C Vitaminin Rolü.....	19
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	22
3. MATERYAL VE METOD.....	30
3.1. Bitkisel Özütlelerin Hazırlanması.....	30
3.2. Fare Gruplarının Oluşturulması ve Beslenme Şekilleri.....	30
3.3. Kan Örneklerinin Alımı ve Kan Hücre Tiplerinin Sayısal Belirlenmesi.....	31
3.4. Doku Örneklerinin Patolojik Açıdan İncelenmesi.....	32

3.5. İstatistiksel Analizler.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1. Lökosit Değerleri.....	34
4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları.....	40
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	49

## GRAFİKLER VE ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

<b>Şekil 1.1.</b> C vitaminin Yapısı.....	4
<b>Şekil 1.2.</b> Askorbik Asitin Oksitlenmesi.....	5
<b>Şekil 1.3.</b> D-Glukoz ve L-Askorbik Asit'in Moleküler Yapısı.....	8
<b>Şekil 1.4.</b> C Vitaminin biyosentezi.....	9
<b>Şekil 1.5.</b> Askorbik Asitin Serbest Radikal Reaksiyonları.....	13
<b>Şekil 1.6.</b> Bağışıklık Sistemi ile C Vitaminin İlişkisi.....	20
<b>Grafik 4.1.</b> Grupların İkinci Haftaya Ait Lökosit Yüzdelerinin Ortalamaları.....	35
<b>Grafik 4.2.</b> Grupların Dördüncü Haftaya Ait Lökosit Yüzdelerinin Ortalamaları.....	37
<b>Şekil 4.1.</b> Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip Mide Dokusu Kesiti.....	40
<b>Şekil 4.2.</b> Maydanoz Grubuna Ait Mide Dokusu Örnekleri.....	41
<b>Şekil 4.3.</b> Kontrol Grubuna Ait Normal Histolojiye Sahip İnce Barsak Dokusu Kesiti.....	41
<b>Şekil 4.4.</b> Maydanoz Grubuna Ait İnce Barsak Dokusu Kesiti.....	42
<b>Şekil 4.5.</b> Kontrol Grubuna Ait Karaciğer Dokusu Örnekleri.....	42
<b>Şekil 4.6.</b> Maydanoz Grubuna Ait Karaciğer Dokusu Örnekleri.....	43
<b>Şekil 4.7.</b> Kontrol Grubuna Ait Böbrek Dokusu Kesitleri.....	43
<b>Şekil 4.8.</b> Maydanoz Grubuna Ait Böbrek Dokusu Kesitleri.....	44



## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.1.</b> Çeşitli Sebze ve Meyvelerin Askorbik Asit Değerleri.....	7
<b>Tablo 1.2.</b> Yaşa ve Cinsine Göre Günlük C Vitamini İhtiyacı.....	11
<b>Tablo 4.1.</b> Grupların İkinci Haftaya Ait Lökosit Değerlerinin Ortalamaları.....	34
<b>Tablo 4.2.</b> Grupların Dördüncü Haftaya Ait Lökosit Değerlerinin Ortalamaları.....	36
<b>Tablo 4.3.</b> Zamana Bağlı olarak Lökosit Sayılarının İstatistiksel Sonuçları.....	39

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>µl</b>	Mikrolitre
<b>µm</b>	Mikrometre
<b>AA</b>	Askorbik Asit
<b>ACTH</b>	Adrenokortikotrop Hormon
<b>ANOVA</b>	Analysis of Variance
<b>ASA</b>	American Society of Anesthesiology
<b>B</b>	Biber
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>CCl4</b>	Karbontetraklorür
<b>CV</b>	C Vitamini
<b>DCPIP</b>	Diklorofenolindofenol
<b>DHAA</b>	Dehidroaskorbik Asit
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>Fe</b>	Demir
<b>GSH</b>	Glutatyon
<b>HCl</b>	Hidroklorik Asit
<b>HE</b>	Hematoksilen-Eozin
<b>HMP</b>	Hekzan Monofosfat
<b>İ/R</b>	İskemi Reperfüzyon
<b>İAA</b>	İdrar Askorbik Asit
<b>KI</b>	Potasyum İyodür
<b>L</b>	Limon
<b>M</b>	Mandalina
<b>Mmol</b>	Milimolar
<b>My</b>	Maydanoz
<b>N</b>	Nar
<b>NaCl</b>	Sodyum-Klorür

<b>NADPH</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NVC</b>	Natural Vitamin C
<b>P</b>	Fosfat
<b>PMNL</b>	Polimorfonükleer lökosit
<b>RNA</b>	Ribonükleik Asit
<b>SD</b>	Serum Demir
<b>SHR</b>	Spontan Hipertansif Sıçan
<b>SOD</b>	Superoksitdismutaz
<b>TDBK</b>	Total Demir Bağlama Kapasitesi
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>WBC</b>	White Blood Cell
<b>Vit.</b>	Vitamin
<b>WKY</b>	Wistar-Kyoto
<b>Zn</b>	Çinko

## 1. GİRİŞ

Vitaminler, mikro-besin öğeleri grubunun bir alt dalı olup, büyüme ve gelişme, sinir ve sindirim sistemlerinin normal işlevlerinin sürdürülmesi, besinlerle alınan besin öğelerinin vücutta elverişli olarak kullanılabilmesi, bağışıklık sistemi işlevlerine destek gibi önemli rolleri olan ve sağlığın korunmasında ve yaşamın sürdürülmesinde gerekli organik bileşiklere verilen ortak addır. Metabolizma üzerinde sahip olduğu önemli işlevlerin yanı sıra, normal hücre fonksiyonlarının sağlanmasında da görevlidirler (Siddique, 2006).

Vitaminler, insan vücudu tarafından üretilmedikleri ya da yeterli miktarda yapılamadıkları için besinlerle dışarıdan alınmaları gerekir. Vücudun sağlıklı gelişimi, sindirim fonksiyonları, enfeksiyonlara karşı bağışıklık gelişimi açısından gerekli olan bileşiklerdir. Ayrıca organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteini kullanmasını da sağlarlar. Vitaminler vücutta yakılmaz, yani vitaminlerden doğrudan enerji (kalori) elde edilemez. Bazı vitaminler besinlerde aktif şekilde, bazıları da pro-vitamin olarak bulunur. Pro-vitaminler vücutta aktif forma dönüşürler. Vücut, her vitaminden gerekli olan miktarın kan dolaşımında sürekli mevcut olmasını sağlar. Suda çözünen vitaminlerin fazlası vücut sıvıları ile atılırken, yağda çözünen vitaminlerin fazlası ise yağ dokusunda depolanır (Öz, 2008).

Sağlıklı yaşamın sürdürülmesi için proteinler, yağlar, karbonhidratlar ve inorganik tuzlar (NaCl, vs) gibi makrobesleyicilerin yanı sıra vitaminler ve esansiyel mineraller (Fe, Zn, Ca, vs) gibi mikrobesleyicilere ve doymamış yağlar ile aminoasitlere de gereksinim vardır (Akkan, 1999).

### 1.1. Vitaminlerin Sınıflandırmaları

Vitaminler, suda çözünen vitaminler ve yağda çözünen vitaminler olmak üzere iki sınıfa ayrılarak incelenirler.

**Yağda çözünen vitaminler:** Vitamin A, vitamin D, vitamin E, vitamin K'dir. Yağda çözünen vitaminlerin hepsi izopren türevi apolar moleküllerdir. Bağırsaklardan emilen yağda çözünen vitaminler, şilomikronlar içinde karaciğere taşınırlar. Vitamin A, vitamin D ve vitamin K karaciğerde depolanırlarken vitamin E yağ dokuda depolanır. Yağda çözünen vitaminler, kanda lipoproteinler veya özel bağlayıcı proteinler tarafından taşınırlar. Yağda çözünen vitaminler, safra yoluyla atılır ama idrarla atılamazlar (Bingöl, 1977).

**Suda çözünen vitaminler:** Tiamin (Vitamin B<sub>1</sub>, Antiberiberik Vitamin), Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>, Laktoflavin), Nikotinamid (Niasin, Vitamin PP), Pantotenik asit (Vitamin B<sub>5</sub>), Piridoksin (Vitamin B<sub>6</sub>, Andermin), Biotin (Vitamin H), Folik asit (Vitamin B<sub>9</sub>), Kobalamin (Vitamin B<sub>12</sub>, Antipernisiyöz Faktör), Askorbik asit (Vitamin C, Antiskorbutik Vitamin)'tir.

Suda çözünen vitaminlerin birbirinden çok farklı kimyasal yapıları vardır. Fakat hepsi polar moleküllerdir, bu nedenle suda çözünürler. Vitamin B<sub>12</sub> hariç suda çözünen vitaminler, bitkiler tarafından sentez edilebilirler. Vitamin B<sub>12</sub> ve C vitamini (askorbik asit) hariç suda çözünen vitaminlerin depo şekilleri yoktur, diyetle devamlı olarak alınmaları zorunludur (Bingöl, 1977).

## **1.2. C Vitamini (Askorbik Asit)**

Yüzyıllar önce, uzun süre Okyanuslar üzerinde seyahat eden denizcilerde bazı kanamaların olduğu bunların güçsüz düştükleri görülüyor. Fakat bu belirtilerin taze sebze ve meyvelerden mahrum olunması sonucu ortaya çıkan C vitamini yetersizliğinden ileri geldiğini henüz o çağda anlamak mümkün olmuyordu. Bir besin faktörü yokluğu nedeni ile Uzak Şark'ta Java'da yaşayan yerlilerde Beriberi Hastalığının meydana geldiği gözlemini yapan ilk araştırmacı Hollandalı Hekim Gerrit Grijns (1901) olmuştur.

Askorbik asit üzerinde bilimsel araştırmalar 1907'de Holst ve Frolich tarafından yapılan deneylerle başlamıştır. Araştırmalarını sürdüren Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkilerinin olduğunu bulmuşlardır.

Casimir Funk 1912'de ilk defa 'Vitamin' sözcüğünü kullanmıştır. *Vita* Latince, 'hayat', *-amine* son eki ise 'azotlu bileşik' anlamına gelmektedir. Skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya koyan Casimir Funk, bu maddeye 'Antiskorbutik Vitamin' adını vermiştir (Funk, 1912). Daha sonra Drummond 1920'de antiskorbutik vitamin için 'Vitamin C' adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918-1929) limondan antiskorbutik faktörü yoğunlaştırma üzerinde çalışmışlar ve hemen hemen saf askorbik asitin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyerek izole etmişlerdir. Zilva, bu çalışmalarını esnasında 2,6-diklorofenolindofenolün vitamin çözeltisi tarafından indirgenliğini de bulmuştur (Zilva, 1936).

Zilva deneylerini sürdürürken Szent-Gyorki 1928 yılında portakal, lahana ve hayvanların adrenal bezlerinden askorbik asidi ayırmış fakat 1932 yılına dek bu maddenin antiskorbüt vitamini olduğunu anlayamamıştır (Larson, 1997). Buluşunu yayımlamadan King bu araştırmadan habersiz 'heksuronik asit' ile aynı olduğunu kabul ettikleri kristal maddenin limon suyundan izolasyonunu bildirmiştir. Bundan sonra birçok bağımsız araştırmacılar özellikle Tillmans, Vedder, Nelson, Harris ve Von Vargha vitaminin kimliğini saptamışlar ve glikozdan sentezini gerçekleştirmişlerdir. 'Askorbik asit' ismi Szent-Gyorki'ye izafeten verilmiştir (Othmer, 1955; Papas, 1998).

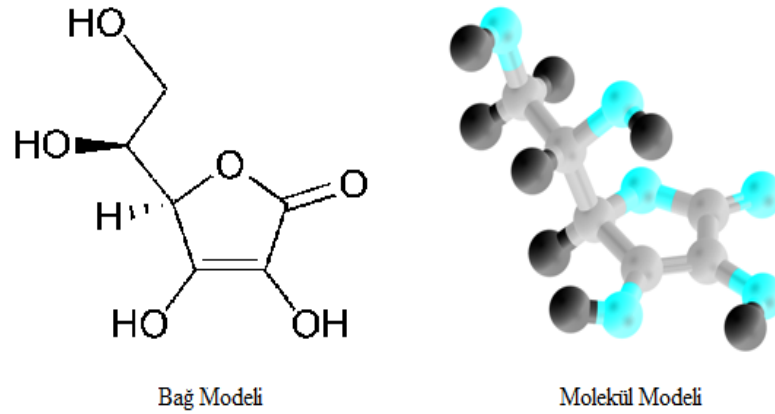
C vitamini, kan damarlarının büyük bir kısmı, kemikler, eklemler, dişler ve diş etlerinin oluşumunda rol oynar ve başlıca rolü doku bağlarını tutan ana protein maddesi olan kollajeni üretmek ve bağışıklık sistemi, sinir sistemi, hormonlar ve besinlerin emilimi fonksiyonlarına destek olmaktır. C vitamininin kollejen sentezindeki görevi prolinin hidroksiproline çevrilmesine yardımcı olmaktır. Hücre, doku, organ ve vücut fonksiyonları için gerekli organik mikro besin maddelerini ihtiva eder. Suda çözünen C vitamini antioksidan özelliği gösterir ve vitaminler arasında en az stabil olandır. Ayrıca lipid ve demir metabolizması üzerinde olumlu etkiler sağlar ve bağışıklık sistemini kuvvetlendirir (Ely, 1996). Yaraların ve kırık kemiklerin iyileşmesinde çok önemlidir. Kemik iliğinde hemoglobin ve kırmızı kan hücrelerinin üretiminde de rol oynar. Sinir iletiminin önemli bir kısmında rol oynadığı için beyinde de çok miktarda bulunur. C vitamininin fazla dozları her gün alındığında astım belirtilerini azaltabilir. Kalp krizlerini ve çarpıntılarını önleyici etkiye de sahiptir (Balın, 2007).

### 1.2.1. C Vitaminin Kimyası

Askorbik asit ve vitamin C, L-ksiloaskorbik asidin günümüzde yaygın olarak kullanılan iki ismidir. Bununla birlikte tarihsel gelişimi sırasında vitamin C, L-askorbik asit, skorbutamin, redoxon, antiskorbütik vitamin, cevitaminik asit olarak adlandırılmıştır. Diğer kimyasal isimleri; 3-Okso-L-glufuranolaktonel, L-3-ketothreo-heksuronik asit laktondur (Shahidi, 1998).

C vitamini kimyasal yapısı nedeniyle kuvvetli bir indirgen özelliğe sahiptir. Bundan dolayı oksitleyici maddeler, bakır ve demir gibi metaller ve bileşikleri, alkaliler, heksametilentetramin, sodyum salisilat, B grubu vitaminler, UV ve hava etkisi ile aktivitesini kaybedebilir (Gilman vd., 1985; Dale, 1985).

Askorbik asit, yapısal olarak (Şekil 1.1) L-askorbik asit ve D- askorbik asit olmak üzere iki şekli vardır. D-askorbik asit inaktiftir. L izomeri ise biyolojik olarak aktif formudur. C vitamini denildiği zaman aktif olan L-askorbik asit anlaşılır (Aras vd., 1976; Decker ve Clarkson, 1999). Kimyasal formülü  $C_6H_8O_6$  olan C vitamininin molekül ağırlığı 176,12 g/mol'dür. Erime noktası 189 °C, bozunma sıcaklığı 192 °C'dir. Kristaller halinde ve ekşi tadı olan bir maddedir. Bir gram askorbik asit yaklaşık 3 ml su, 30 ml alkol, 50 ml absolu alkol, 100 ml gliserol ve 20 ml propilen glikolde çözünür (Merk Ind., 1976).

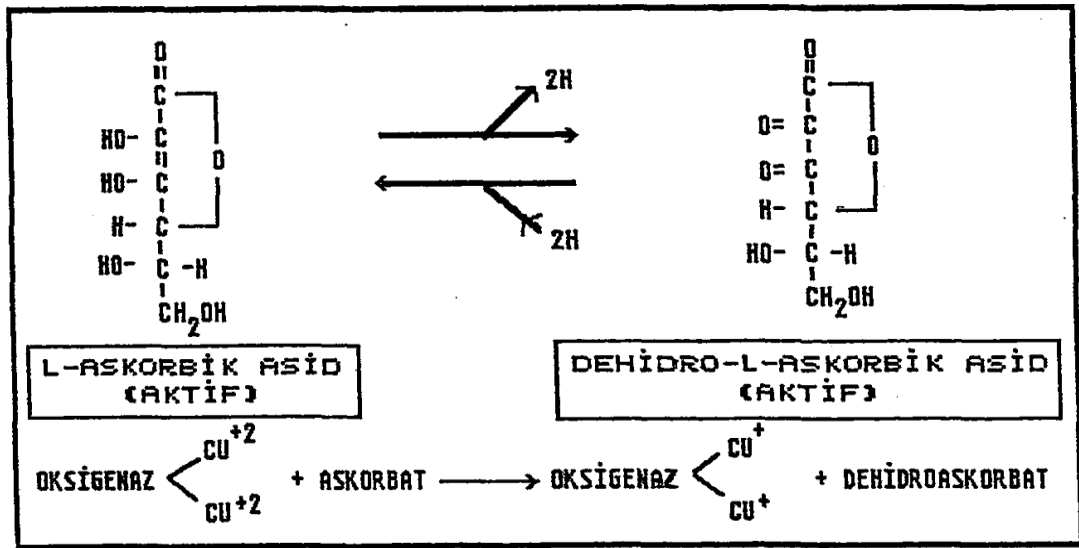


**Şekil 1.1.** C vitaminin yapısı (Decker ve Clarkson, 1999)

Askorbik asit vücutta, geri dönüşümlü olarak kolayca hidroaskorbik aside okside olur. Bu dönüşümü bakırlı bir enzim olan askorbik asit oksidaz katalizler (Frisell, 1982). Bazı araştırmacılar, dokularda dehidroaskorbik asitin bir enzime gerek

olmadan da meydana gelebildiğini bildirmişlerdir (Bender, 1978). Oksitlenme, askorbik asit molekülündeki endiol grubunun dehidro grubuna dönüşmesi ve doymamış bağı doymuş hale gelmesiyle olur. Bu özelliği nedeniyle askorbik asit, indirgeyici nitelik gösterir, dehidro şekline dönüşmesi molekül başına iki hidrojen atomunun serbest kalmasına neden olur (Şekil 1.2).

Dehidroaskorbik asit ortamdan iki hidrojen alarak kolaylıkla askorbik aside indirgenir. Bu özelliklerinden dolayı askorbik asit ve dehidroaskorbik asit vücut sıvılarında denge halinde bulunurlar, birbirlerine kolayca dönüşürler ve böylece redoks niteliği gösterirler.



Şekil 1.2. Askorbik asitin oksitlenmesi (Yıllar, 1989)

Dehidroaskorbik asitte de tam olarak C vitamini aktivitesi vardır. Askorbik asit, optikçe aktif 1 karbon atomuna sahiptir ve antiskorbütik aktivite hemen hemen tamamen L-izomerdedir. Kimyasal yönden daha dayanıklı oldukları için, iki askorbik asit türevi olası biyolojik aktiviteleri yönünden test edilmişlerdir. Bunlar, askorbik asit-2-fosfat ve askorbik asit-2-sülfat'tır. Askorbik asit-2-sülfatın ratlarda C vitaminin bir metaboliti olduğu Muma ve Verlangieri tarafından 1972 yılında gösterilmiştir (Muma ve Verlangieri, 1972). Daha sonra karaciğer, adrenaller ve idrarda da aynı madde saptanmıştır (Baker vd., 1971).

Askorbat-2-fosfat da dayanıklı olması nedeniyle gıdalarda ve farmasötik endüstride kullanım özelliği sebebiyle ilgi çekmiştir. Bu maddenin, hem maymunlarda (Machlin vd., 1979) hem de kobaylarda (İmai vd., 1967), skorbütü önleme ve iyileştirmede



molar bazda askorbik asitle aynı güçte olduğu gösterilmiştir. Machlin ve arkadaşları, askorbat fosfatın intestinal alkalın ve asit fosfatazlar için bir substrat olduğunu ve böylece, askorbik asitin bir öncü maddesi olarak intestinal lümeninden hızla absorbe edildiğini bildirmişlerdir (Machlin vd., 1979).

### **1.2.2. C Vitamini Kaynakları**

C vitamini içeren besinlerin saklanması, doğranması ve özellikle de pişirilmesi, yapılarında bulunan vitaminin, büyük oranlarda kaybına sebep olmaktadır. Bekletme ile oluşan kayıp, bitki dokularındaki ‘askorbat oksidaz’ enziminin aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bunun nedeni, kesme işlemi sırasında askorbat oksidazın serbest hale gelmesi ve non-enzimatik atmosferik oksidasyonudur (Bender, 1978).

Doğada yaygın olarak bulunan C vitaminin en zengin kaynaklarını taze meyve ve sebzeler oluşturur. Sebze ve meyvelerin C vitamini miktarı; türüne, yetiştiği toprağa, iklime, tohumuna ve olgunluk derecesine göre değişir. Genellikle ham meyve ve sebzeler olgun olanlarından daha çok C vitamini içerirken domates, şeftali ve kayısı gibi meyvelerin olgun olanlarında C vitamini miktarı daha fazladır. Yine güneş ışığından çok yararlanan bitkilerin C vitamini miktarı, güneş ışığından yararlanamayanlardan daha yüksektir (Kara vd., 2008).

Meyveler arasında en çok C vitamini içerenler; limon, portakal, kuru üzüm, mandalina, kivi, greyfurt, ananas, nar, çilek ve frenk üzümüdür (Tablo 1.1). Elma, armut, kiraz ve erik ise bunlara göre daha az miktarda askorbik asit içerir. Bu meyvelerden özellikle sitrus meyveleri (limon, portakal, greyfurt), kivi ve domatesin dış kısımları (kabuk) askorbik asit bakımından zengindir. Sebzeler, özellikle domates, kuşburnu, karnabahar, lahana, havuç, brokoli, ıspanak, kuru soğan, biber, turp, tere, maydanoz ve yer elması askorbik asit bakımından en zengin kaynaklardandır (Larson, 1997).

**Tablo 1.1.** Çeşitli sebze ve meyvelerin askorbik asit değerleri (Kara vd., 2008)

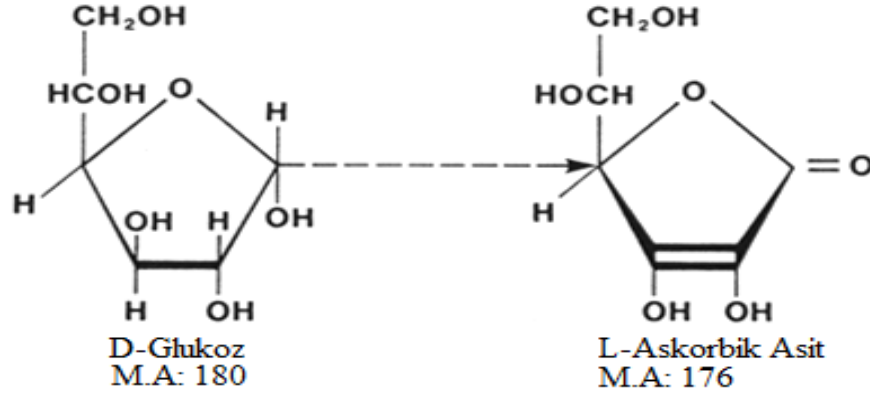
Sebze-meyve	Askorbik asit (g/100g)	Sebze-meyve	Askorbik asit (g/100g)
Kuşburnu	0,450	Portakal	0,050
<b>Maydanoz</b>	<b>0,180</b>	<b>Limon</b>	<b>0,050</b>
Şalgam yaprağı	0,130	Lahana	0,042
Asma yaprağı	0,120	Greyfurt	0,043
<b>Yeşil sivri biber</b>	<b>0,100</b>	<b>Mandalina</b>	<b>0,030</b>
Karalâhana	0,094	Şeftali	0,028
Kivi	0,090	Domates	0,023
Karnabahar	0,080	Ahududu	0,022
Ispanak	0,050	Böğürtlen	0,020
Çilek	0,070	Taze fasulye	0,020
Kızılcık	0,055	<b>Nar</b>	<b>0,010</b>

C vitamini, korus luteum ve adrenal kortekste çok fazla bulunmasına rağmen bunların diyetle alınımı söz konusu değildir. Bu vitamin az miktarda karaciğer ve çeşitli hayvansal kaynaklı etlerde (domuz, sığır, koyun, dana) bulunmaktadır. Bazı tür balıklarda, özellikle de pisi balığında C vitamini miktarı oldukça fazladır. Sütteki C vitamini düzeyi ise epeyce düşüktür. Anne sütündeki C vit. miktarı inek sütüne göre yaklaşık olarak iki katı daha fazladır. Sebze ve meyvelerin çoğunda askorbat mevcut olan oksidaz enzimi, aktivitesiyle birçok sebze ve meyvedeki vitamini kolaylıkla oksidasyona uğratarak bozabilir. Oysa hayvansal organizmalarda önemli derecede C vitamini kaybı olmaz. Çünkü proteinler, amino asitler ve glutatyon, askorbik asidi oksidasyondan koruyucu etki yapar (Sauberlich, 1994).

### 1.2.3. C Vitamini Biyosentezi

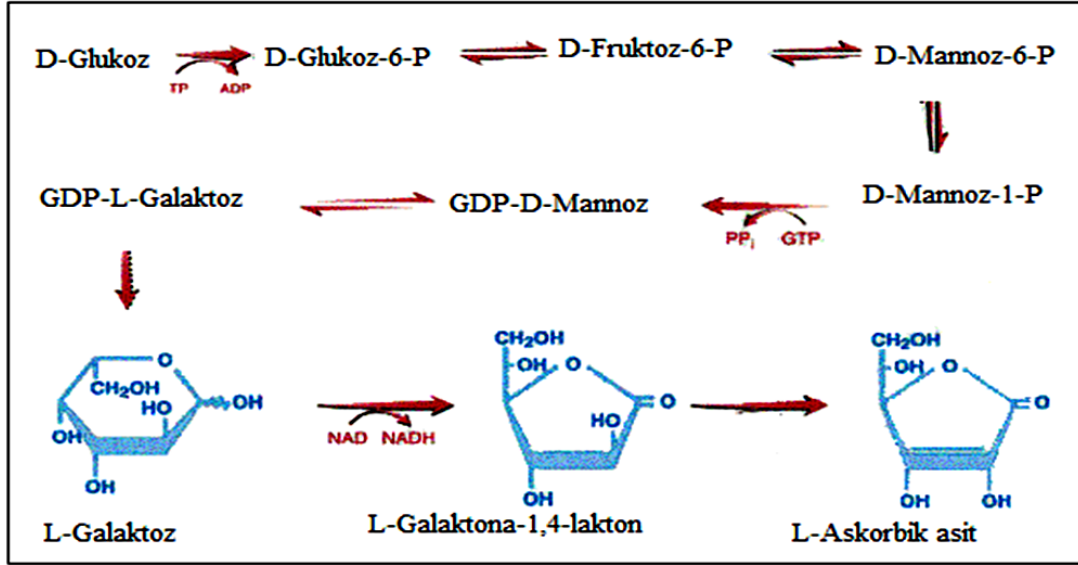
C vitamini sentezi, glukozdan türevlenen glukonik asit veya galaktonik asit üzerinden yürür. Bu metabolik yol ile glukonik asitten C vitamini sentezi için bazı (L.gulonoksidaz, AA oksidaz) enzimlere gereksinim vardır. Bu enzimler karaciğer mikrozomal fraksiyonlarından izole edilmiştir (Nelson, 1978; Sungurluoğlu ve Ağca, 1989).

Askorbik asit bütün canlı dokularda bulunur ayrıca insanlarda ve diğer primatlarda ve kobayda esansiyeldir. İncelenen diğer bütün hayvanlarda ve bitkilerde D-glukozdan, glukuronik asit üzerinden sentezlenir. Dolayısıyla askorbik asit bir monosakkarit türevi olup yapıca glukozu (Şekil 1.3) ve diğer altı karbonlu monosakkaritlere benzer (Tuncer, 2008).



**Şekil 1.3.** D-glukoz ve L-askorbik asitin moleküler yapısı

İnsan, maymun, kobaylar, yarasalar ve bazı balık türleri askorbik asidi sentezleyemezler ve dışarıdan almak zorundadırlar (Machlin vd., 1976). Bunun sebebi bunlarda askorbik asit biyosentezinin (Şekil 1.4) son reaksiyonunu katalizleyen gulonolakton oksidaz enziminin olmamasıdır. Ancak askorbik asit, memelilerde karaciğerde, kuşlar, kurbağalar ve sürüngenlerde ise böbreklerde sentezlenebilir. Eski kitaplar, özellikle Hint Yarasası'nın antiskorbütik vitamini dışarıdan almaya gereksinim duyduğundan, fakat diğer yarasaların bu vitamini sentezleyebildiğinden bahseder. Ancak Binney ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu durumun böyle olmadığını ve bütün türlerin askorbat sentezi yapamadıklarını bildirmişlerdir. Bunun nedenini de gulonolakton oksidaz enziminin eksikliğinden kaynaklandığını göstermişlerdir (Binney vd., 1976). Mikroorganizmalar askorbik aside gereksinim duymazlar ve sentez etmezler. Hayvansal dokulardan böbrek üstü bezi, karaciğer ve süt en yüksek askorbik asit konsantrasyonuna sahiptir (Aşı, 1999). Bitkiler âleminde ise en önemli askorbik asit kaynakları yeşil sebzeler ve meyveler, domates, acısız kırmızıbiber olan paprika ve turunçgillerdir (Tuncer, 2008).



Şekil 1.4. C vitaminin biyosentezi (Levine, 1986)

#### 1.2.4. C Vitamini Absorbsiyonu ve Transportu

İnsanlarda idrarla atılan askorbik asidin son ürünü ya değişmemiş askorbik asit veya dehidroaskorbattır. Askorbat ve dehidroaskorbat sodyum, bağımsız kolaylaştırılmış difüzyon ile glomerulustan süzülmekte, sonra reabsorbe edilmektedir. Reabsorbe edilen dehidroaskorbat, böbrekte askorbata redüklenmektedir.

Karaciğerdeki askorbik asidin yaklaşık %20'sinin oldukça dayanıklı bir bileşen olan askorbik asit-2-sülfat bileşiminde olduğu saptanmıştır. Bunun karaciğerde ve belki de başka dokularda bir yedeklenme şekli ve askorbik asidin aktif bir metaboliti olabileceği düşünülmektedir (Ball, 2004).

Hem askorbat hem de dehidroaskorbat ağızdaki mukoza hücrelerden taşıyıcı araçlı pasif difüzyonla absorbe olur. Mukozal konsantrasyon 6 mmol/L'den büyük olduğunda askorbik asit emiliminde doygunluk meydana gelir. Bu durum askorbik asidin artmış alınımına karşın emilimindeki azalmayı açıklar. Dehidroaskorbik asit, askorbik asitten daha kolay emilir. Böylece askorbik asitten dehidroaskorbik asite dönüşüm izlenebilir ve bağırsaktan emildikten sonra dehidroaskorbik asit tekrar askorbik asite indirgenir.

Askorbik asit ince bağırsaktan kolayca emilir, hücre zarını geçmesi, olasılıkla lipidde çözünebilir dehidroaskorbik asit şeklinde olur (Tuncer, 2008). Sonra da bağırsaktan

alınan askorbik asit kan dolaşımına ve dolayısıyla çeşitli doku ve organlara gider. İnsanlarda absorpsiyonun maksimum olduğu yer jejunum, kobaylarda ise ileumdur. İnsanda askorbik asit gastrointestinal sistemde enerji gerektiren sodyum bağımlı aktif taşıma mekanizması ile absorbe olur. Sıçan ve hamsterlarda ise sodyum bağımsız intestinal absorpsiyonla alınır (Stevenson, 1974; Sungurluoğlu ve Ağca, 1989).

Askorbik asitin vücuttaki dağılışı dokuların metabolik aktivitelerine göre değişmektedir. Adrenal bez, hipofiz, korpus luteum, timus bezleri ve barsak duvarında askorbik asit yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Buralarda toplanan askorbik asit daha çok dokuların gereksinimini karşılar. İnsanlarda diyetle askorbat alınımında vücut bu askorbatın ancak % 80-90'ı absorbe edebilmektedir (100 mg/gün). C vitaminin tüm vücut depo miktarı 300 mg' a yakındır (Öz, 2008). En son 1989'da Ulusal Bilimler Akademisi, Gıda ve Beslenme Heyeti tarafından tavsiye edilen günlük C vitamini alım miktarı 60 mg'dır. Ancak son veriler bu tavsiyelerin dayandığı verilerin hatalı olabileceğini ve tavsiye edilen alım miktarının günde 60 mg'dan fazla olması gerektiğini ortaya koymaktadır. Çeşitli kaynaklara göre önerilen günlük askorbik asit miktarının farklı olma gerekçesi askorbik asit gereksiniminin yaşa ve cinse bağlı olarak değişmesidir (Tablo 1.2.). Günlük süt çocuklarına 30 mg, yetişkinlere 75 mg veya daha yüksek dozlarda C vitamini verildiğinde vücut bu vitamin bakımından doymuş hale gelir (May, 2000). Gebelik ve laktasyon sırasında, stres ve ateş hallerinde askorbik asit gereksinimi artar (Tuncer, 2008). Doymuşluk halinde plazmadaki C vitamini yoğunluğu yaklaşık 1,4 mg/100ml kadardır. Eğer alım 200 mg/gün'e çıkarsa, vücut deposu yaklaşık olarak 2500 mg olur ve plazma konsantrasyonu 0,8 mg/100 ml'den 2 mg/100 ml'ye ulaşmış olur. Böylece eşik değeri aşıldığı için C vitamini böbrek tarafından atılmaya başlar (Öz, 2008). Eritrositlerde plazma seviyesinin 1-2 katı lökositlerde ise 10-80 katı askorbik asit bulunur (May, 2000).

**Tablo 1.2.** Yaşa ve cinse göre günlük C vitamini ihtiyacı (Visagie vd., 1975)

<b>CİNS</b>	<b>YAŞ (YIL)</b>	<b>AĞIRLIK (kg)</b>	<b>C VİT (mg)</b>
<b>Bebek</b>	0,0-0,5	6	30
	0,5-1	9	35
<b>Çocuk</b>	1-3	13	35
	4-6	20	50
	7-10	38	60
<b>Erkek</b>	11-14	45	90
	15-18	66	100
	19-22	70	75
	23-50	70	75
	51<	70	75
<b>Kadın</b>	11-14	46	75
	15-18	55	80
	19-22	55	70
	23-50	55	70
	51<	55	70
<b>Hamile</b>			100
<b>Laktasyon Dönemi</b>			150

Askorbik asidin büyük bir kısmı plazmada serbest halde, geri kalan kısmı da albumine bağlı olarak taşınır. Askorbik asidin %5'lik bölümü dehidroaskorbik asit formunda bulunur. Hücrelerdeki askorbik asit konsantrasyonu, kandaki düzeyinden 3-10 kat daha yüksektir. Nötrofil ve fibroblastlarda askorbik asit ve dehidroaskorbik asit iki farklı mekanizma ile taşınır. Dehidroaskorbik asidin taşınımı glukoz taşıyıcılarını içeren kolaylaştırılmış mekanizma ile ilişkilidir fakat sodyum bağımlı değildir. Askorbik asit taşınımı sodyum–askorbik asit aracılı taşıyıcılarla olur.

### **1.2.5. C Vitamini Eksikliği**

Askorbik asit eksikliğinde insanlarda skorbüt hastalığı meydana gelir. Skorbüt hastalığında, kollajen metabolizması bozukluğuna bağlı olarak kemik yapımı ve büyümesinde değişiklikler, eklemlerde şişme, subperiosteal kanamalar, dişlerin gevşemesi ve düşmesi, kan duvarlarının kolay zedelenmesi, deride sertlik ve çatlaklar gibi rahatsızlıklar görülür. Gizli askorbik asit eksikliğinin belirtileri, ilkbahar yorgunluğu ve enfeksiyonlara yakalanma riskinin artmasıdır. Askorbik asit eksikliği olan hayvanlar iştahlarını kaybederler, eklemleri şişer ve duyarlılık kazanarak arka ayaklarını uzatıp yatarlar.

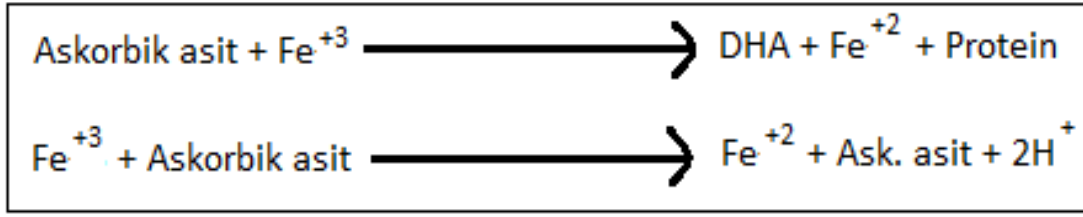
Kronik olarak aşırı derecede yüksek doz C vitamin alınması, kalsiyum oksalat taşları oluşmasına ve gastrointestinal kanaldan diğer vitaminlerin ve ilaçların emilmesinin engellenmesine neden olabilir. Yeterli C vitamini alınımı birçok kanser çeşidine karşı korunmayı sağlamış olur (Tuncer, 2008).

İnsanlarda kan plazmasındaki askorbik asit miktarı %1 mg kadardır, fazla miktarda askorbik asit alınmasından sonra %1,5 mg olan böbrek eşiğini aşabilir, ayrıca bulantı, kusma ve ishale neden olabilir. Ağız yoluyla 9 gram askorbik asit alınmasından sonra idrarla atılan oksalik asit iki katına çıkar. Askorbik asit insanda oksalata çevrilebilir ve idrarla atılan oksalatın kalsiyum tuzu böbrek taşları oluşturabilir (Kayaalp, 1989; Dawson vd., 1999).

### **1.2.6. C Vitaminin Fonksiyonları**

Askorbik asit, dehidroaskorbik asit ile bir redoks sistemi oluştururlar. Normal şartlarda oksidan ve redüktan kapasitesi eşittir. Ancak fizyolojik şartlarda bu eşitlik sağlanamadığı için askorbik asit elektron vericisi olarak görev yapar. Bu özelliğinden dolayı biyolojik sistemlerde AA'nin en önemli fonksiyonu hidrojen taşıyıcısı olarak rol oynamasıdır. Askorbik asit suda çözünen süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen ile doğrudan reaksiyona giren zincir kıran bir antioksidandır (Combs, 1998; Asard, 2004).

Askorbat, sulu peroksil radikalleri ve aktif polimorfonükleer lökositlerden salınan oksidanlarca indüklenen peroksidatif hasarı önleme yeteneğine sahiptir. Plazma diğer antioksidanlara sahip olsa bile AA yoksa lipitlerde oksidatif hasar meydana gelir. Askorbik asidin diğer bir özelliği, antioksidan etkisi yanında prooksidan etki de göstermesidir. Askorbik asit metal iyonları varlığında prooksidan gibi rol oynar. Askorbik asit, ferri demiri ( $Fe^{+3}$ ) ferro demire ( $Fe^{+2}$ ) indirgeyen süperoksit radikali dışındaki tek sellüler ajandır. Bu yolla askorbat, proteine bağlı ferri demiri uzaklaştırarak ya da doğrudan indirgeyerek fenton reaksiyonunda hidrojen peroksitle etkileşmeye uygun olan ferro demire dönüştürür (Şekil.1.5). Yani süperoksit üretimine katkıda bulunur. Bu özelliğinden dolayı askorbik asit serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir (Paolini vd., 1999).



**Şekil 1.5.** Askorbik asitin serbest radikal reaksiyonları

Glutatyon (GSH) birçok hücreyel olayda önemli rol oynayan bir tripeptittir. Hücrelerin serbest oksijen radikallerine karşı korunması hücre içi GSH sistemine bağlıdır. Askorbik asit, E vitaminini redükte forma çevirirken kendisinde oksitlenerek DHAA şekline çevrilir. GSH, DHAA'yı rejenere ederek askorbik asidin yenilenmesini sağlar. Bu nedenle GSH ile DHAA arasında non-enzimatik bir etkileşim olduğu ileri sürülmekte ve bir redoks potansiyeli düşünülmektedir. GSH ve DHAA arasındaki spontan non-enzimatik reaksiyonlar askorbik asidin hücreyel konsantrasyonunun sağlanmasında önemlidir ve olasılıkla antioksidan reaksiyonlara katılan askorbik asidin tüketimini engellemektedir (Iqbal ve Khan, 2004).

Askorbik asit organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonlarında indirgeyici ajan olarak görev yapar. Kollojen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir. Kemiğin organik matriksi kollojen içerdiğinden kemik oluşumu için askorbik asidin varlığı önemlidir. Kapiller damar çeperinin temel yapı taşında kollojen yer aldığından C vitamini eksikliği frajiliteye de yol açar (Iqbal ve Khan, 2004). Askorbik asit kan merkezlerini uyararak alyuvarların yapım ve olgunlaşmasında etkilidir (Emadi-Konjin, 2005).

Midede demir emilimi çok az düzeydedir. Askorbik asit, demirin ince bağırsaklardan emilimini ve depolardan mobilizasyonunu artırır, glukozdan glikojen oluşumunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Arrigoni, 1975). Demirin emiliminde enzimatik olmayan bir yol ile indirgeyici bir rol oynar. Midede ferri demiri ferro demire indirgeyerek emiliminde görev alır. Askorbik asit yalnız demirin emilimini değil aynı zamanda demirin kan yapımına katılmasını da kolaylaştırır. İmmünite ve yara iyileşmesinde de etkilidir (Iqbal ve Khan, 2004).

Askorbik asidin önemli fonksiyonlarından biri de infeksiyon hastalıklarına karşı organizmanın direncini artırıcı rolü bulunmasıdır. Bu nedenle bu vitamine



antienfeksiyöz vitamin de denmiştir. Bu vitamin antienfeksiyöz etkisini toksinleri inaktive etmek, antikorların yapımını kolaylaştırmak ve lökositlerin bakterileri fagosite etme yeteneklerini artırarak yapar. Bundan başka bazı bakterilerin (boğmaca, difteri) etkilerini engelleyici veya yok edici etkisi de vardır (Iqbal ve Khan, 2004).

Askorbik asidin fagositoz için de önemli olduğu gösterilmiştir. Solunumsal patlama sırasında nötrofiller C vitamini alırlar ve aktivasyonu takiben C vitamini konsantrasyonları azalır. Solunumsal patlama sırasında, reaktif moleküllerin çevreye yayılarak mutasyonlara, hücre hasarına, inflamasyona sebep olurlar. Askorbik asit reaktif bakterisidal moleküllerin intrasellüler konsantrasyonlarında azalmaya sebep olmadan oksidatif parçalanma ürünlerinin zarar verici etkilerini engeller.

### **1.3. Beyaz Kan Hücreleri (Lökositler)**

Sitoplazmalarında bulunan granüllerin türüne ve nükleuslarının şekline göre iki tip akyuvar vardır. Sitoplazmalarında granül içeren lökositlere granüositler (polimorfonükleer lökositler), sitoplazmalarında granül bulunmayanlara da agranüositler (mononükleer lökositler) adı verilir. Granüositler iki tür granül içerirler. Kullanılan boyanın nötral ya da asidik bileşenlerini bağlayan granüllere spesifik granüller adı verilir. Bazik boyalar ile mor renkte boyanma gösteren granüller ise azürafilik granüllerdir. Spesifik ve azürofilik granüller bir dizi enzim içerirler. Granüositler, granüllerinin boyanma özelliklerine göre nötrofiller, eozinofiller ve bazofiller olmak üzere üçe ayrılırlar. Agranüositler lenfositler ve monositler olmak üzere iki türdür (Gartner ve Hiatt, 2006).

Lökositler vücudun yabancı maddelere karşı hücrel ve hümorale yollarla korunmasından sorumludur. Dolaşım kanında küre şeklinde ve hareketsizdirler. Yabancı bir nesne ile karşılaştıklarında, şekil değiştirirler ve hareketlenirler. Lökositler endotel hücrelerinin bağlantı yerlerinden geçerek, dolaşımı terk ederler ve bağ dokusuna yerleşirler. Bu olaya diapedez adı verilir. Bağ dokusu içinde bol miktarda lökosit bulunur ve bunlar bağ dokusunun normal hücrel elemanları, olarak kabul edilirler.

Kandaki lökositlerin sayısı yaşa, cinsiyete ve fizyolojik koşullara göre değişir. Normal erişkin bir insanın her mikrolitre kanında yaklaşık olarak 6.000-10.000 lökosit bulunur (Junqueira vd., 1993).

### **1.3.1. Lenfositler**

Çapları 6-8 µm arasında olan küçük boy lenfositler ve dolaşım kanında az sayıda bulunan, çapları 18 mm'ye ulaşabilen büyük boy lenfosit grupları vardır. Lenfositlerde görülen büyüklük farkları fonksiyonları ile ilişkilidir. Büyük boy lenfositler, spesifik antijenler ile uyarılmak suretiyle farklılaşmış hücreler olarak nitelendirilirler. Bu hücreler, etki gösteren T ve B lenfositlere farklılaşırlar.

Küçük boy lenfositler dolaşım kanında baskın biçimde bulunurlar. Bu hücrelerin nükleusları kromatin bakımından oldukça zengin olduğu için oldukça koyu boyanır. Küçük boy lenfositlerin sitoplazması çok azdır. Yayma preparatlarda nükleusu çevreleyen ince bir band halinde görülür. Sitoplazmada az sayıda mitokondri, sentriol ile ilişkili küçük bir golgi kompleksi ile çok sayıda serbest ribozom ve bazen de birkaç azürofilik granül bulunur. Lenfositlerin yaşam süreleri farklılık gösterir. Bazı lenfositler sadece birkaç gün, bazıları da birkaç yıl yaşayabilmektedir.

Lenfositler esas olarak farklılaşma bölgeleri ve içerdikleri tanımlayıcı integral membran proteinlerine göre iki gruba ayrılırlar. Lenfosit öncüller fetal yaşamın ileri dönemlerinde kemik iliğinden türerler. Bu hücrelerin yavaş bir şekilde çoğalması doğumdan sonraki yaşamda da devam eder. İmmünokompetan hücrelere farklılaşma, kemik iliği ve timusta olur.

1960'ların başında civciv embriyoları ile yapılan çalışmalarda, lenfosit farklılaşmasının anatomik bölgelerinden birinin bursa Fabricius olduğu saptanmıştır. Bu yapı kuşların kloakası ile ilişkili lenfoid doku kitlesidir. Bu doku tahrip edildiğinde, organizmanın özel antijenlere karşı immünooglobulinleri sentezleme yeteneğinden yoksun kaldıkları görülür. Lenf düğümleri ve dalaktaki belirli bölgelerde yerleşmiş olan lenfositlerin sayısı dikkat çekici bir şekilde azalır. Bu gözleme dayanarak bu bölgelere bursaya bağımlı bölgeler adı verilmiştir. Bu işlemde etkilenen lenfositlere de B lenfositleri ya da B hücreleri denilmiştir. İnsan dâhil bütün memelilerde, B lenfositlerin kemik iliğinde özel bir mikro-çevreden farklılaştığı fikri yaygın olarak benimsenmektedir.

Öte yandan, yeni doğmuş farelerde timüs'ün çıkarıldığı deneyler, bu organın yokluğunun dolaşımdaki immünoglobuline bağlı hümmoral immün yanıtın aksine, canlı hücrelerin varlığını gerektiren hücreyel immün yanıtlarda bozulmaya neden olduğunu göstermiştir. İnsandaki hücreyel immün yanıtta en çarpıcı örnek, nakledilen deri, böbrek gibi organların reddidir. Timusu çıkarılan farelerde lenf düğümleri ve dalakta bursa Fabriciusun çıkarılmasından etkilenen bölgelerden daha farklı olan alanlardaki lenfositler azalmıştır. Bu bölgelere de, timusa bağımlı bölgeler adı verilir. Bu bölgelerde yerleşen lenfositlere ise T lenfositleri veya T hücreleri adı verilir.

Kandaki lenfositlerin yaklaşık % 80'i çok uzun ömürlü T lenfositleridir. Bu lenfositler birden fazla fonksiyona sahiptirler. T hücreleri, yardımcı T hücrelerini ya da B hücrelerini olumlu yönde (yardımcı T hücreleri) veya olumsuz yönde (baskılayıcı T lenfositleri) kontrol ederler. B ve T lenfositleri immünolojik belleğe sahiptirler. Her lenfosit tek bir antijene cevap verecek şekilde şartlandırılmıştır (Junqueira vd., 1993; Gartner ve Hiatt, 2006).

### **1.3.2. Monositler**

Monositler kemik iliği kaynaklı agranülositlerdir. Bu hücrelerin çapı 12 µm'den-20 µm'ye kadar değişmekte olup, lökositlerin en büyük hücresidir. Nükleusun kromatin içeriği diğer lökositlerinkinden oldukça azdır ve fibriller bir yapıya sahiptir. Monositlerin sitoplazması bazofiliktir ve çok küçük çaplı azürofilik granüller içerir. Granüller bütün sitoplazmaya dağılmışlardır. Boyanmış yayma preparatlarda sitoplazmanın mavimsi gri boyanmasına neden olurlar. Monositlerin azürofilik granülleri lizozomlarıdır. Sitoplazmada az miktarda endoplazmik retikulum, poliribozamlar ve fazlaca küçük mitokondriler bulunur. Lizozomal granül sentezinden sorumlu golgi kompleksi diğer lökositlere oranla iyi gelişmiştir.

Dolaşım kanında bulunan monositler mononükleer fagositik sistemin genç öncülleridir. Bu hücreler kapillerlerden bağ dokusuna geçtikten sonra makrofajlara farklılaşırlar. Monositlerin kandaki yarı ömürleri yaklaşık 12-100 saat kadardır. Bu süre sonunda kandan bağ dokusuna geçerler. Monositlerin bir kez bağ dokusuna geçtikten sonra tekrar kana dönüp dönmedikleri bilinmemektedir. Bağ dokusunda, lenfositler ile etkileşirler. İmmünokompetan hücreler ile antijenin tanınması ve

bunlar arasında ilişkinin kurulmasında görev üstlenirler (Junqueira vd., 1993; Gartner ve Hiatt, 2006; Guyton ve Hall, 2006).

### 1.3.3. Nötrofiller

Nötrofiller dolaşım kanındaki lökositlerin % 60-70'ini oluştururlar. Çapları 12-15 µm olup çekirdekleri ince kromatin iplikleri ile bağlanan 3-5 lob içerirler. (Junqueira vd., 1989). Bütün gronüositlerin nükleusları aynı kromatin özelliği gösterir. Yoğun heterokromatin kümeleri nükleus iç zarına yakın olarak yerleşirken orta kısmında ökromatin bulunur. Nötrofillerin sitoplazmasında iki tür granül bulunur. Bunlardan biri spesifik granüller olup, sayıları çok fazladır (Henricks vd., 1986; Stites ve Terr, 1991). Bu granüllerin çapları çok küçüktür ve genellikle görünümüleri yuvarlak veya hafifçe uzamış pirinç tanesi biçimindedirler. Nötrofillerde bulunan diğer granül türü ise primer lizozomlar olan azürofilik granüllerdir. Hücrelerin metamorfozları esnasında mitokondriler, sayı ve hacim bakımından azalır. Nötrofillerin sitoplazmasında glikojen partikülleri de bulunur (Junqueira vd., 1989; Zinkl, 1989).

Glikojen, glikoliz ve heksoz monofosfat yolları ile yıkılarak glukoz oksidasyonu ile enerji elde edilir. Bu yıkımda sitrik asit siklusu pek kullanılmaz, bu nedenle nötrofillerdeki mitokondrilerin sayısı azdır. Nötrofillerin anaerobik ortamlarda yaşamlarını sürdürmeleri, enfeksiyonlu ile nekrotik dokularda ve oksijensiz bölgelerde bakteriler kolaylıkla öldürülebilir ve artıklar ortadan kaldırılabilir.

Nötrofillerin yaşam süreleri oldukça kısadır. Bu hücrelerin dolaşım kanındaki yarı ömürleri 6-7 saattir. Sonra bağ dokusuna geçerler. Bağ dokusunda 1-4 gün yaşamlarını sürdürdükten sonra ölürlar. Bu nedenle nötrofiller bölünme yeteneklerini kaybetmiş hücrelerdir. Eozinofiller ve bazofiller de aynı durumda olan hücrelerdir. Buna karşılık lenfositler ile monositler ölmeden önce birkaç aktif siklus geçirirler. Kısa yaşam sürelerinden dolayı terminal hücreler granül sentezleyemezler. Protein sentezlemeden sorumlu organelleri de iyi gelişmemiştir.

Nötrofiller başta bakteriler olmak üzere, mikroorganizmaların istilasına karşı vücudu korurlar. Bazen küçük partikülleri de fagosite ederler. Dolaşım kanında inaktif durumda küre şeklinde olan nötrofiller, katı bir yapı ile karşılaştıklarında şekil değiştirerek yapay uzantılar çıkartır ve bu yapılara yapışırılar.

Nötrofil ile fagosite edilecek bakteri, nötrofilin çıkardığı psödopodlarla sarılır. Psödopodların karşılıklı gelen uçları kaynaşır ve bakterinin etrafı nötrofil membranın oluşturduğu bir vakuol halinde sitoplazma içine alındıktan hemen sonra spesifik granülün membranı fagozom membranı ile kaynaşır ve enzimler fagozoma boşalır (Junqueira vd., 1989; Stites ve Terr, 1991). Fagozom membranındaki proton pompası ilerleyerek vakuol içerisindeki pH 4' e kadar düşürülür. Bu pH seviyesi, Iizozomla enzim aktivitesinin en üst düzeyde gerçekleşmesi için idealdir. Sonradan azürofilik granül membranı fagozom ile kaynaşarak içerdiği sindirici hidrolitik enzimleri fagozom içine boşaltır. Bu sindirici enzimler vakuol içindeki asit pH'da aktifleşir ve bakteriyi öldürerek sindirirler (Junqueira vd., 1993; Gartner vd., 2006).

#### **1.3.4. Eozinofiller**

Eozinofiller, lökositlerin sadece % 2-4'ünü oluştururlar. Çapları 12-15 µm ve nükleusları da genellikle 2 lobludur. Endoplazmik retikulumu, golgi kompleksi iyi gelişmemiştir ayrıca mitokondrilerin sayısı da azdır. En belirgin özellikleri eozin ile boyanan ve sayıları 200 kadar olan, büyük uzun ve refraktil granüller içermeleridir.

Granüllerin uzunluğu 0,5-1,5 µm genişliği ise 0,3-1 µm'dir. Eozinofilik granüller zar ile çevrilidirler. Granülün uzun eksenine paralel ve merkezi olarak yerleşmiş bir kristal bulunur. Kristal argininden zengin bir bazik protein içerir. Bu protein toplam granül proteininin yarısını oluşturur ve granülün eozinofilik boyanmasına neden olur.

Adrenal bezin korteksinden salgılanan kortikosteroidler dolaşım kanında eozinofil sayısının ani bir şekilde düşmesine neden olur. Bu hormonlar granüositlerin kemik iliğinden kana verilmesini engellerler (Junqueira vd., 1993; Gartner ve Hiatt, 2006).

Dolaşım kanında eozinofillerin artmasına eozinofili adı verilir, Bu durum alerjik reaksiyonlar ve parazitik infeksiyonlar ile ilişkilidir. Eozinofiller kan dışında, genellikle derinin derimsi ile bronş, sindirim sistemi, uterus ve vajina gibi organların epitelleri altındaki bağ dokusunda bulunurlar (Guyton ve Hall, 2006).

#### **1.3.5. Bazofiller**

Kandaki lökositlerin % 1 'ini oluştururlar. Bu nedenle normal yayma preparatlarda bulunmaları oldukça güçtür. Bazofillerin çapı yaklaşık olarak 12-15 µm'dir. Nükleuslarındaki kromatin, daha az yoğun bir yapıya sahiptir.

Bazofiller bazik boyalar ile metakromatik boyanma gösterirler. Bu boyanma granüllerin içerdiği heparinden ileri gelir. Bazofillerin spesifik granülleri diğer granüositlerinkinden hem daha az sayıdadır hem de çap ve şekil olarak daha fazla düzensizlik gösterirler. Bazofilik granüllerde histamin ve heparin bulunur.

Bazofiller aşırı duyarlılık reaksiyonlarında bağ dokusuna göç ederek mast hücrelerinin tamamlayıcısı olarak görev yaparlar. Bazofillerin granülleri ile mast hücrelerinin granülleri arasında bazı benzerlikler bulunmaktadır. Her iki granül de bazik boyalarla metakromatik olarak boyanırlar ve ikisi de histamin ile heparin içerirler. Bazofiller de mast hücreleri gibi bazı antijenlere karşı cevap olarak granüllerini dış ortama salgırlar. İki hücre arasındaki bu benzerliklere karşın bazofiller ile mast hücreleri aynı hücre değildirler. Aynı tür canlıda bile ince yapı farklılıkları gösterirler. Bu iki hücre kemik iliğinde farklı olarak kök hücrelerinden gelişirler (Junqueira vd., 1993; Gartner ve Hiatt, 2006).

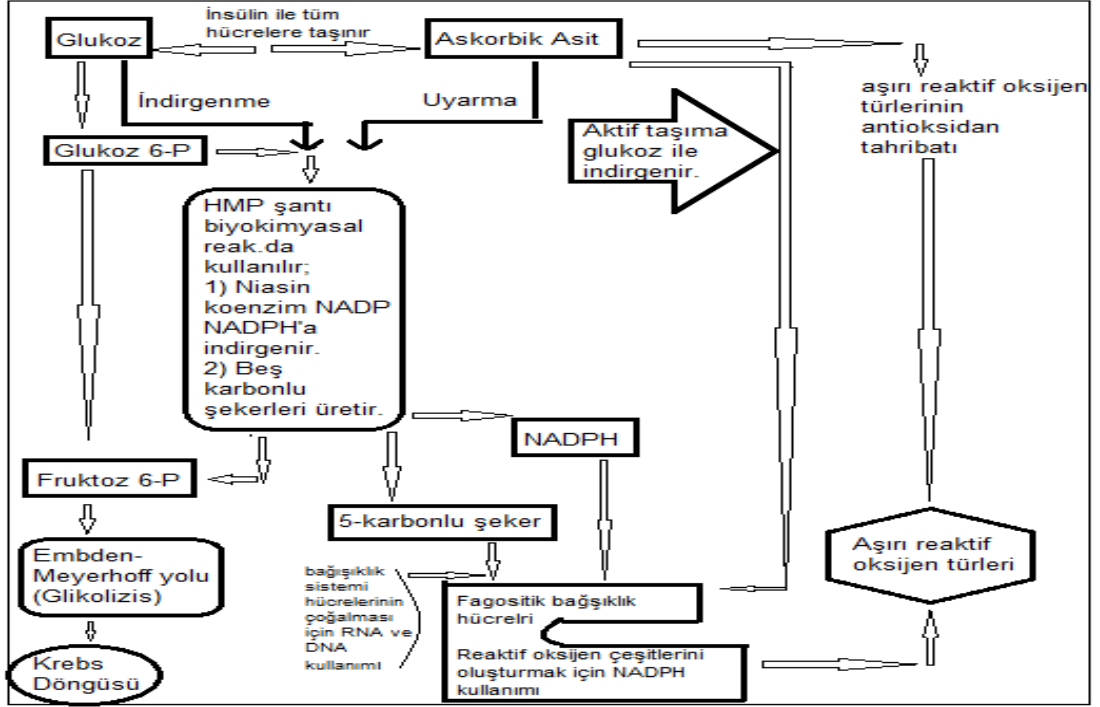
#### **1.4. İmmün Sistemde C Vitamini Rolü**

Lökositlerdeki yüksek askorbat konsantrasyonu ve bunun enfeksiyon ve fagositoz sırasında hızla harcanması, vitaminin immün sistemde de etkili olduğunu göstermektedir. Soğuk algınlığı belirtilerinde lökosit ve plazma AA düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı ileri sürülmektedir. AA'nin düşük dozlarda soğuk algınlığını önleme özelliği vardır ancak yüksek miktarlarda önemi daha büyüktür. Alınan AA'nin miktarı arttıkça koruma özelliği de artar (Goetzl vd., 1974; Başpınar vd., 1998).

Askorbik asitin bakterisidal aktivitesini in vivo ve in vitro koşullarda anlatan çok sayıda eski bilimsel kaynaklar mevcuttur. Bu kaynaklar özellikle bağışıklık sistemindeki askorbik asitin rolü üzerinde durmuştur (Shiloh ve Bhat, 1977; Goldschmidt, 1991). Diğer çalışmalar ise; konak savunmasından sorumlu olan lökositlerin askorbik asit içeriğinin plazma içeriğinden 80 kat daha fazla olduğundan bahseder (Evans, vd., 1982; Moser, 1987). Hücre içi ve hücre dışı konsantrasyonlar arasındaki büyük farklar sadece aktif transport sistemini etkileyebilir. Askorbik asit, plazma konsantrasyonuna karşı lökosit içine aktif olarak taşınmış olması, bağışıklık sistemi için askorbik asitin önemini gösterir (Ely, 1996; Heuser ve Vojdani, 1997).

İnsülin, diyagramın sol üst köşesinden başalayarak, saldırgan bakteriler, virüsler, tümör hücreleri, kandaki çeşitli mikroskobik hücrelere ve fagositik hücreler de dahi

olmak üzere vücudun tüm hücrelerine hem glukoz hem de askorbik asit taşıdığı görülmüştür (Şekil 1.6.). Bu ortak taşıma sistemi, glukoz ile askorbik asit arasındaki rekabeti tanımlar, yararlı bir etki sağlamak için glukoz tarafından inhibisyonu bastırmak için yüksek dozda askorbik asit gereklidir. Glukoz tüm vücut hücreleri için sadece askorbik asit transportunu inhibe etmez. Aynı zamanda askorbik asit tarafından HMP uyarılmasını da inhibe eder (DeChatelet, vd., 1972).



**Şekil 1.6.** Bağışıklık sistemi ile C vitamininin ilişkisi

HMP şantı glikolizisin (Embden-Meyerhoff glikolitik yolu) birinci ve ikinci adımları arasındaki dolaylı bir yoldur (Şekil 1.6). Glikolizisin ilk adımı, glukoz 6-P 'ın fosforilasyonudur, ayrıca CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O için glukozun geri dönüşümü ve Krebs döngüsündeki enerji de sayılabilir. Glikolizisin ikinci adımı ise, fruktoz 6-P için glukoz 6-P'm yeniden düzenlenmesidir. Şekil 1.6'daki tekrar, askorbik asit HMP şantı için glikolizisten glukoz 6-P'ın sapmasını uyarır.

HMP şantının iki fonksiyonu bağışıklık sistemi için önemlidir. Biri, genetik bileşenleri RNA ve DNA sentezi için gerekli olan beş karbonlu şekerin altı karbonlu glukozla dönüşümü, diğeri ise oksidasyon reaksiyonlarına katılmak zorunda olan NADPH ın niasin koenzim NADP ye indirgenmesidir. Beş karbonlu şeker ve

NADPH ihtiyacından sonra artakalan HMP bileşenleri fruktoz 6-P aşamasında glikolizise geri dönüşür.

Beş karbonlu şekerlere, bağışıklık sistemi hücrelerinin çoğalması için ve yüksek mitotik aktivitelerin desteklenmesi için immün sistem tarafından ihtiyaç duyulur. Patojenlere karşı konak savunmasının öncelikli işlevi fagositik lökositleri hızlıca ve çok sayıda yaymasıdır. Şekilde de görüldüğü gibi beş karbonlu şekerler, fagositik hücrelerin bu yayılımı için gerekli olan DNA ve RNA sentezine imkan verir. HMP şantı tarafından üretilen NADPH, süperoksit ve bir dizi yüksek reaktif oksijen çeşidi ortaya koymak için fagositozlar tarafından kullanılır ve istilacı patojenleri de öldürdüğü söylenmektedir (Anderson ve Lukey, 1987; Sharma, vd., 2004).

Sonuç olarak, fazlalığında fagosit kaynaklı yüksek reaktif oksidanlar, ekstrasellüler alanda hücrelerinin dışına sızarak öldürücü aktiviteleri için fagositler tarafından kullanılır. Bu oksidan biyokimyasalları konakçı hücreleri için toksiktir ama konakçıya zarar vermeden önce yok edilmelidirler. Bir antioksidan olarak görev yapan askorbik asit burada devreye girer ve bu aşırı toksinleri yok eder (Anderson ve Lukey,1987).



## 2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

Sir James Lancaster, 1601 yılında gemi tayfalarının diyetlerine turunçgil meyvelerini eklemiş ve bunun gemiciler arasında oldukça yaygın olan diş etlerinin kanaması, dişlerin düşmesi ve genel durumun bozulmasıyla karakterize bir hastalığa karşı koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir (Stewart ve Guthrie, 1953). Kamehiro Takaki, 1882’de diyetlerine et, arpa, meyve eklenmiş Japon gemicilerinde beriberi olarak bilinen hastalığın tedavi edildiğini gözlemiştir (Gubler, 1991).

Skorbüt ve diyet arasındaki ilişkinin sistematik araştırması ilk olarak 1747’de James Lind tarafından başlatılmıştır. Bu sıralarda uzun deniz yolculukları sırasındaki ölümlerin, genellikle salgın bir hastalıktan ileri geldiğine inanılmıştır. Bazıları ise birtakım yemeklerin, seferler sırasında gereğinden fazla yenildiğini ve hastalığın buna bağlı olduğunu düşünmüştür. Lind, hastalığın sadece besinlerdeki bir eksiklikten kaynaklandığını savunarak çalışmalarını yapmıştır. Bu tarihte İngiliz Kraliyet donanmasında doktor olan Lind, skorbüt vakalarında hastalara elma suyu, sirke, portakal ve limon ya da sarımsak ve hardal vermiştir. Yazdığı ‘A Treatise on the Scurvy’ de hastalığın önlenmesi ve tedavisi için portakal ve limon suyundaki bir faktörün çok etkili olduğunu anlatmıştır (Lind, 1757). Taze sebze ve meyvelerin önemini kavrayan James Cook, 1772-1775 yılları arasında denizden yaptığı dünya turu sırasında, bazen taze erzak almak için durmuş ve bu şekilde gezi boyunca ekibini tam sağlıklı olarak tutabilmiştir (Barker ve Bender, 1982).

C vitamini üzerinde ilk bilimsel çalışmalar 1900’lü yılların erken dönemlerinde Holst ve Frolich tarafından yapılmıştır. Holst ve Frolich birçok besin maddesinin ve bu arada özellikle yeşil sebze ve meyvelerin skorbüt hastalığını önleyici etkileri olduğunu bulmuşlar. Pirinç kabuğu üzerinde çalışmalarını sürdüren Casimir Funk 1912 yılında skorbüt hastalığının besinlerde bulunan bir faktörün eksikliği sonucu oluştuğu düşüncesini ortaya atmış ve bu maddeye ‘Antiskorbutik Vitamin’ adını vermiştir. Daha sonra Drummond 1920’de antiskorbutik vitamin için ‘Vitamin C’ adını kullanmıştır. Zilva ve çalışma arkadaşları (1918-1929) limondan antiskorbutik

faktörü yoğunlaştırma üzerinde çalışmışlar ve hemen hemen saf askorbik asitin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirleyerek izole etmişlerdir (Larson, 1997; Bingöl, 1977). Askorbik asidin yapısı 1933 yılında Birmingham'daki Haworth laboratuvarında aydınlatılmış (Herbert vd., 1933) ve aynı yıl Haworth ile İsviçre'de Reichstein'in ekibi tarafından sentez edilmiştir (Reichstein vd., 1933).

Kara vd. (2008)'nin çalışmalarında, bazı sebze ve meyvelerdeki C vitamini miktarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Deneylelerinde çeşitli sebze ve meyve sularının içerdikleri C vit. miktarının tayini için iyodometrik yöntem kullanmışlardır. Her sebze ve meyve ekstratındaki C vit. miktarının hesaplanabilmesi için ekstratların içerisine 5 ml HCl çözeltisi, 1 g KI ve 4 ml nişasta çözeltisi eklemiştirler. Çalışma sonunda, kırmızı biber, yeşil bibere göre, olgunlaşmamış çilek, olgunlaşmış çileğe göre, kırmızı domates, yeşil domatese göre, yaş meyveler, kuru meyvelere göre, maydanoz yaprağı, maydanoz sapına göre, taze meyve suyu, beklemiş meyve suyuna göre, daha fazla C vitamini miktarı içerdiği gözlenmiştir (Kara vd., 2008).

Spencer vd. (1963) C vitaminin dışarıdan diyetle almaya zorunlu olmayan tavşan ve ratların, askorbik asidi intestinal mukozadan pasif olarak absorbe ettiklerini göstermişlerdir (Spencer vd., 1963). Öte yandan, C vitaminini organizmalarında sentez edemedikleri için dışarıdan almak zorunda olan kobaylarda, absorpsiyonun aktif bir olay olduğunu Stevenson ve Brush (1969) tarafından bildirilmiştir (Stevenson ve Brush, 1969). Bu aktif taşıma sisteminin, sodyuma bağımlı bir şekilde işleyen glikoz taşıma sistemine benzediği gözlenmiştir.

Stevenson (1974), çalışmalarını insan intestinal mukozası üzerine genişletmiş ve burada da askorbik asit emiliminin, sodyuma bağımlı aktif bir olay olduğunu göstermiştir. Aktif taşımayı, ortama ilave edilen dinitrofenolün yaptığı inhibisyon; olayın sodyuma bağımlı olduğunu ise ouababainin oluşturduğu inhibisyon ile kanıtlamıştır (Stevenson, 1974).

Arslan vd. (2004)'nin yaptığı çalışmada, güreşçilerde C vitamini yüklemesinin kan Fe değerlerine etkisinin saptanması araştırılmıştır. Deneysel sürece 14 adet güreşçi dâhil edilmiştir. Deney (n=7) grubuna 1 ay boyunca günlük toplam 1,0 g C vitamini iki eşit doz olarak verilirken kontrol (n=7) grubuna bu süre içinde benzeri bir uygulama yapılmamıştır. Çalışma sonunda C vitamini verilmeden önce ve bir aylık C

vit. takviyesinden sonraki denek venöz kan örnekleri alınmış ve serum demir ve total demir bağlama kapasitesi ölçülmüştür. SD düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlemlenirken TDBK düzeyindeki artış anlamlı bulunmamıştır. Ayrıca idrar askorbik asit atılımı kolorimetrik karşılaştırma sonucu bir aylık C vitamini takviyesinin İAA düzeyini artırdığı gözlenmiştir (Arslan vd., 2004).

Khassaf vd. (2003)'nin yaptıkları çalışmada, insan lenfositleri ve iskelet kaslarında antioksidan ve stres proteinlerine C vitamininin etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada 8 hafta boyunca uygulanan C vitamini takviyesinden sonra örneklerin kontrol gruplarına göre lenfosit sayılarının arttığı ve SOD ve katalaz gibi antioksidan aktiviteye sahip enzimlerin etkisinin arttığı ve plazmada C vitamini seviyesinin yükseldiği gözlemlenmiştir (Khassaf vd., 2003).

Özaslan vd. (2004) yaptığı çalışmada, C vitamini takviyesinin lökosit miktarı ve performans üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada deney gruplarına günlük farklı dozlarda askorbik asit (4 mg, 8,8 mg ve 13 mg) intraperitoneal yolla verilmiştir. Deneklerin kan örnekleri 7, 14, 21 ve 28. günlerde alınmış ve giemsa ile boyandıktan sonra manual olarak lenfosit monosit ve nötrofil hücreleri sayılmıştır. Çalışmanın 28. gününde patolojik incelemeler için iskelet, kas, mide, dalak, böbrek, karaciğer, kalp, deri, beyin dokuları alınmış ve hematoksilen-Eozin boyası ile boyanmıştır. Sonuç olarak C vitamini takviyesinde değerler bakımından gruplar arasında lenfosit, monosit ve nötrofil yüzdeleri farklılık göstermemiştir. Ancak kontrol grubu ile deney grubu arasında önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Ayrıca C vitamini takviyesi doku morfolojisinde değişikliklere yol açmadığı görülmüştür (Özaslan vd., 2004).

Hardie vd. (1990) çalışmalarında, Atlantik somon (*Salmo salar L*) balıklarının bağışıklık sistemi üzerine C vitamini diyetinin etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada 26 hafta süresince Atlantik somon balıklarına C vitamininin normal (0,05 g/kg) ve yüksek (2,75 g/kg) düzeyleri takviye edilmiştir. Çalışma sonunda serum protein düzeyi ve lökosit sayımı, C vitamini takviyesiyle bir değişikliğe uğramadığı gözlemlenmiştir. Serum aktivitesi CV-düşük dozlu balıklarda önemli ölçüde azalma görülürken CV-yüksek dozlu balıklarda bütün aktivitelere artma olduğu gözlenmiştir. CV-düşük dozlu balıklarla diğer besin grubu balıklar

karşılaştırıldığında ölüm seviyesinin düşük dozlu balıklarda anlamlı bir şekilde artış gösterdiği görülmüştür (Hardie vd., 1990).

Kennes vd. (1983) nın yaptığı çalışmada, yaşlı insanlarda bağışıklık sistemi üzerine C vitamini takviyesinin etkilerini araştırmışlardır. Çeşitli bağışıklık parametreleri üzerine bir ay boyunca günde 500 mg C vitamini takviyesi yapıldıktan sonra etkisi incelenmiş ve C vitaminin gerçekten T lenfositlerinin proliferatif yanıtı artırdığı görülmüştür (Kennes vd., 1983).

Shilotri vd. (1977) çalışmalarında, lökositlerin bakterisidal aktivitesi üzerine büyük dozlarda C vitamini takviyesinin etkisini araştırmışlardır. İlk 15 gün içinde beş normal kişiye günlük 200 mg askorbik asit takviyesi yapılmış, sonraki 2 hafta boyunca da aynı kişilere günlük 2 g C vitamini verilmiştir. Askorbik asitin 2 g'ın yanı sıra 200 mg eklenmesi metabolizma rahatlamasında artış gösteren lökositlerin heksoz monofosfat aktivitesini uyarmıştır. Günlük 200 mg askorbik asit alımı lökositlerin bakteri öldürmesine etkisi olmamıştır. Öte yandan 2 hafta boyunca günlük 2 g askorbik asit alımı bakterisidal aktivitesini önemli derecede bozmuştur. Deney süresi olan 4 haftadan sonra vitamin desteğinin durdurulması bakterisidal aktivitesini normale dönüştürmüştür (Shilotri ve Bhat, 1977).

Prasad (1980)'ın çalışmasında, E vitamini takviyesinin lökosit fonksiyonları üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışma süresince (3 hafta) 5 erkek çocuk ve 13 erişkin erkek üzerinde E vitaminin büyük dozlarının etkilerine bakılmıştır. Deneyde 3 hafta boyunca günlük 300 mg E vitamini verilmiş ve lenfosit transformasyonu ile uyarılmış mitojen ve lökositlerin bakterisidal aktivitelerinde önemli bir çökme oluşturulmuştur. Hücrel bağışıklığın sonuçları, in vivo ve in vitro olarak farklılıkları ve çalışma potansiyelleri tartışılmıştır. E vitamini düzeyindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve periferal lökositin bakterisidal aktivitesi, ilk değerlere göre önemli bir azalma göstermiştir (Prasad, 1980).

Altinsaat vd. (2008) çalışmalarında C vitamini ile ACTH uygulamalarının koyunlarda nötrofillerin fagositik aktivitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışma bir yaşında olan 18 Akkaraman koyunu üzerinde yürütülmüştür. Denemeye geçmeden bir hafta önce her gruptan kan alınmış ve kan örneklerinde toplam lökosit ve nötrofil sayıları ile lökositlerin fagositoz indeksleri, kontrol değerleri olarak belirlenmiştir.

Deneme aşamasında yedi gün olmak üzere, birinci gruba adrenokortikotrop hormon (ACTH), kas içi yolla 20 kg/gün, ikinci gruba kas içi olarak C vitamini (100 mg/kg/gün), üçüncü gruba ise ACTH ve C vitamini birlikte aynı şekilde uygulanmıştır. Çalışmada, ACTH uygulaması ile toplam lökosit sayısında ve nötrofil sayısında artış görüldü ise de, nötrofil lökositlerin fagositik aktivitelerinde bir azalma olduğu belirlenmiştir. Tek başına C vitamini uygulanan koyunlardaki fagositik etkinlik ise önemsiz bir artış göstermiştir. Elde edilen bulgular, ACTH uygulamalarının nötrofillerin fagositik etkinliğini azalttığı, C vitamininin ise, fagositik etkinlikteki azalmayı bir dereceye kadar düzelttiği göstermiştir (Altınsaat ve Hatipoğlu, 2008).

Vasdev vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, C vitamini takviyesinin spontan hipertansif sıçanlardaki (SHR) doku aldehitlerini ve kan basıncını düşürüp düşürmediği araştırılmıştır. Ayrıca ilgili biyokimyasalları normal hale getirip histopatolojik değişiklikleri incelenmiştir. Bu çalışmada SHR'na 9 hafta boyunca C vitamini (1000 mg/kg) takviyesi yapılmış ve çalışma sonunda SHR-kontrol grubu ve WKY-kontrol grubu karşılaştırıldığında SHR-kontrol grubunda sistolik kan basıncı, trombosit, plazma insülin ve karaciğer, böbrek ve aort aldehit kanjugatları yönünde anlamlı derecede yüksek olduğunu bulmuşlardır (Vasdev vd., 2000).

Constance vd. (1987) deneylerinde, farelerin kan ve dokularındaki askorbik asit düzeyi üzerine diyet askorbik asit miktarının etkisini incelemiştir. Askorbik asit 6 seviyede (% 0, % 0,076, % 0,5, % 1, % 5 ve % 8) kullanılmıştır. Diyetle askorbik asit alımı %1 den % 8'e yükseldiğinde plazma askorbik asit seviyesi de yükselmiştir. Askorbik asit düzeyi % 5 veya % 8 olan yemlerle beslenen farelerin kalp, böbrek, akciğer, kas ve dalaktaki askorbik asit seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Askorbik asit düzeyi % 1 olan yemlerle beslenen farelerde ise kalp, akciğer ve dalaktaki askorbik asit seviyesi yükselmiştir. Deney gruplarının hiç birinde beyin, böbrek üstü bezler veya lökositlerindeki askorbik asit düzeyinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ayrıca böbrek, sadece eliminasyonda değil aynı zamanda C vitaminin katabolizmasında da önemli bir organ olduğu ileri sürülmüştür. Askorbik asit düzeyi % 0,5 veya % 0,076 olan yemlerle beslenen deney gruplarının herhangi bir organında askorbik asit miktarında önemli bir artış olmamıştır. Askorbik asit düzeyi % 0,076 olan yemlerle beslenen

fareler hafif etkilenmişler ancak bu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Çünkü kontrol grubuna göre akciğer, kas ve dalaktaki askorbik asit seviyesi daha düşük olduğu görülmüştür. Askorbik asit düzeyi % 0,5 olan yemlerle beslenen farelerin akciğer ve kaslarındaki askorbik asit miktarı kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, ekzogen askorbik asit alınımı, biyosentez, metabolizma veya farelerde bu vitaminin eliminasyonu için mekanizmalarla etkileşim öneriliyor (Constance vd., 1987).

Rosenfeld (1997), vitaminler üzerine yaptığı çalışmalarda, gine domuzlarına verilen yüksek doz C vitamininin (25 mg/100 gr vücut), karaciğer, böbrek, beyin ve kalpteki serbest yağ asidi düzeylerini azalttığı göstermiştir. C vitaminin; CCl<sub>4</sub>, alkol, dietilmaleat, menadion gibi oksidanlara karşı lipid peroksidasyonunu ve hücre hasarını engellediğini gözlemlemiştir (Rosenfeld, 1997).

Öğütçü vd. (2007)'nin yaptıkları bu çalışmada, metil parathion, vitamin C+vitamin E, vitamin C+vitamin E+metil parathion erkek sıçanlara gavaj yoluyla verilmiştir. Muameleden 4 hafta ve 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarındaki histopatolojik değişiklikler ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Metil parathion muamelesinden 4 ve 7 hafta sonra ince bağırsaklardaki villuslarda genişleme tespit edilmiştir. Buna ilaveten 7. hafta sonunda bazı bölgelerde infiltrasyon gözlenmiştir. Vitamin C+vitamin E+metil parathion muamelesi grubunda da 4 ve 7 hafta sonra sıçanların ince bağırsaklarında villusların yapısının bozulduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak düşük doz metil parathion sıçanların ince bağırsaklarında histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır. Vitamin C ve vitamin E'nin, metil parathionun ince bağırsaklarda meydana getirdiği patolojik değişiklikleri önleyemediği tespit edilmiştir (Öğütçü vd., 2007).

Berkan vd. (2001)'nin yaptığı çalışmada, alt ekstremitelerdeki geçici iskemi reperfüzyon hasarına bağlı akciğerlerde oluşan patolojik değişiklikler ve bunları önlemede askorbik asidin koruyucu etkisini araştırmayı amaçlamıştır. Çalışmada kullanılan 21 Wistar albino cinsi beyaz ratları; kontrol grubu, İ/R grubu ve askorbik asit verilen grup olmak üzere üç gruba ayırmıştır. Grup1'deki ratlarda batın açılmış ve abdominal aortları incelendikten sonra hiçbir girişimde bulunmadan tekrar kapatılmıştır. Grup2'de infrarenal aortaya klemp konulmuş, 3 saatlik iskemi süresinin sonunda klemp kaldırılmış ve reperfüzyon için 1 saat beklenmiştir. Bu

işlemlerin aynısı askorbik asid verilen 3. grupta da uygulanmıştır. Bu gruptaki ratlara, işlemlerden önceki 5 gün boyunca 50 mg/kg/gün sodyum askorbat (Redoksan) verilmiştir. Tüm gruptaki ratlar dördüncü saatte sakrifiye edilerek akciğerleri alınmış ve histopatolojik olarak incelenmiştir. İkinci ve üçüncü gruplar, kontrol grubuna göre daha fazla PMNL birikimi, ödem ve tıkanıklık olduğu saptanmıştır. İkinci gruptaki farelerde akciğer hasarı % 91,6 iken 3. gruptaki farelerin akciğer hasarı % 70,6 olarak hesaplanmıştır. Bu iki grubun sonuçları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak askorbik asit, alt ekstremitelerdeki geçici İ/R hasarına bağlı olarak akciğerlerde oluşan patolojik değişiklikleri önlemede yararlı olduğunu bulmuşlardır (Berkan vd., 2001).

Novikova vd. (1988) ratlar üzerine yaptıkları bir araştırmada granülasyon dokusu vitamin C düzeyleri ile doku hidroksiprolin düzeyleri arasında pozitif ilişki olduğunu belirlemişler ve vitaminin kollajen biyosentezi üzerindeki etkisine işaret etmişlerdir (Novikova vd., 1988).

Kaplan vd. (2004) çalışmalarında tavşanlarda vitamin C düzeyleri ile hidroksiprolin düzeylerinin yara oluşumundan sonra 5. güne kadar paralellik gösterdiğini, bu durumun da vitamin C'nin kollojen sentezi üzerine özellikle iyileşmenin ilk günlerindeki etkilerinden dolayı pozitif etkili olduğunu bildirmektedirler (Kaplan vd., 2004).

Genel ve rejyonel anestezi cerrahiyle birlikte bağışıklık sistemini baskılayarak lökosit sayı ve alt grup dağılımlarını etkilediğini biliniyor. Doğan vd. (2003) bu düşünceden yola çıkarak florlu inhalasyon anesteziklerinden sevofloran'la sağlanan genel anestezi ile bupivakain'le uygulanan epidural anestezinin oluşan bağışıklık depresyonuna bağlı lökosit sayı ve alt gruplarındaki dağılımları karşılaştırarak ortaya çıkan değişiklikleri bulmayı amaçlamıştır. Çalışmaya lökosit sayı ve subgrup dağılımı normal olan, kan transfüzyonu ve ilaç tedavisi yapılmamış ASA I-II grubu 24 hasta dâhil edilmiştir. On iki hastaya sevofloran ile genel anestezi uygulanırken diğer 12 hastaya ise bupivakain ile epidural anestezi uygulanmıştır. Her iki grupta da lökosit sayısı postoperatif dönemde artmış ancak İki grup karşılaştırılmasında genel anestezi uygulanan grubundaki artış daha anlamlı çıkmıştır. Genel anestezi grubunda nötrofil sayısındaki artış ve lenfosit sayısındaki azalma da epidural anestezi uygulanan gruba göre anlamlı olduğu görülmüştür. Epidural anestezi uygulanan

grupta monosit sayısındaki artış genel anestezi grubuna göre anlamlı çıkmıştır. Ancak bazofil ve eozinofil sayısında anlamlı değişiklikler olmamıştır. Sonuç olarak, cerrahi geçirecek hastalara bupivakain ile uygulanan epidural anestezinin, sevofloran'la uygulanan genel anesteziye göre bağışıklık sistemi az etkileyerek lokosit sayı ve alt grup dağılımında daha az değişikliklerine sebep olabildiğini gözlemlemişlerdir. Bundan dolayı epidural anestezi postoperatif infeksiyon ve inflamasyon açısından daha avantajlı olduğu düşüncesi ileri sürülmüştür (Doğan vd., 2003).



### **3. MATERYAL VE METOD**

#### **3.1. Bitkisel Özütlelerin Hazırlanması**

Çalışmaya C vitamini bakımından zengin sebzelerden yeşilbiber, limon ve maydanoz, meyvelerden ise nar ve mandalina dâhil edilmiştir. Seçilen sebze ve meyveler günlük taze alınıp blenderla parçalanarak pulp haline getirilmiş ve daha sonra süzülerek bitki özütleleri elde edilmiştir. Elde edilen özütleler kapalı ve steril erlenmayere alınarak deney hayvanlarına verilmek üzere hazır tutulmuştur. Bu işlemler çalışma süresi boyunca her gün tekrarlanmıştır.

#### **3.2. Fare Gruplarının Oluşturulması ve Beslenme Şekilleri**

Çalışmada kullanılan deney fareleri Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Ünitesi'nden alınmıştır. Uygulanan deneyler ve kullanılan deney fareleri için Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izin alınmıştır. Çalışmada, 25-30 g ağırlığında ve 10-12 haftalık *Mus musculus* türüne ait toplam 54 adet deney faresi kullanılmıştır. Deney fareleri ideal oda sıcaklığında (20-25 °C) 200 cm<sup>2</sup>'lik alandaki kafeslerde muhafaza edilmiştir. Biri kontrol grubu olmak üzere toplam 6 grup oluşturulmuştur (n=9). Uygulama toplam 28 gün sürdürülmüştür. Deney grupları aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Grup 1: Kontrol grubu / musluk suyu gavaj yoluyla

Grup 2: Standart fare yemi ve 100 µl/gün Nar suyu gavaj yoluyla

Grup 3: Standart fare yemi ve 100 µl/gün Maydanoz suyu gavaj yoluyla

Grup 4: Standart fare yemi ve 100 µl/gün Biber suyu gavaj yoluyla

Grup 5: Standart fare yemi ve 100 µl/gün Limon suyu gavaj yoluyla

Grup 6: Standart fare yemi ve 100 µl/gün Mandalina suyu gavaj yoluyla

Deney grupları oluşturulduktan sonra deney aşamalarına geçilmiş ve 28 gün boyunca aynı saatlerde her deney faresine gavaj yoluyla 100 µl özüt verilmiştir. Kontrol grubundaki farelerin de aynı stresi yaşamaları için gavaj yoluyla 100 µl musluk suyu verilmiştir.

Deney çalışması boyunca deneklere verilmek üzere kullandığımız sebze ve meyvelerin yetiştiği iklime ve özütlerdeki saf C vitamini miktarına bakılmamıştır. Bunun nedeni, insanların günlük yaşantılarında bu meyve ve sebzeleri tükettiği şekilde en yakın bir uygulamayı hedeflemektir.

### **3.3. Kan Örneklerinin Alımı ve Kan Hücre Tiplerinin Sayısal Belirlenmesi**

Sebze ve meyve özütlerinin lökosit hücre sayıları üzerine etkilerini belirlemek amacıyla deney farelerinden 14. ve 28. günlerde kan örnekleri alınmıştır. Çalışmanın 14. gününde farelerin facial veninden kan örnekleri alınırken 28. gününde intrakardiak yolla kan örnekleri alınmıştır. Bu kan örnekleri periferik yayma yöntemi ile her denekten 3 preparat hazırlanarak May Grunwald-Giemsa boyama işlemi ile boyanmıştır. May Grunwald+Giemsa boyama yöntemi;

**1-** May Grunwald ile 3 dakika fiksasyon yapılır.

**2-** Distile su ile yıkanır ve tabakalandırma yapılır.

**3-** Üç damla Giemsa damlatılır, karıştırılıp 8 dakika bekletilir.

**4-** Musluk suyu ile yıkandıktan sonra kurutulur.

**5-** Son işlem olarak kesitler üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatılır ve penset yardımıyla hava kabarıkları çıkarılır.

Hazırlanan her preparat ışık mikroskopunda 100'lük objektifte immersiyon yağı kullanarak incelenmiştir. Mikroskopta alan taraması yapılarak 100 lökosit hücresi manuel olarak saptanmıştır. Her denekten alınan üç preparatın lökosit hücrelerinin ortalaması alınarak lenfosit, monosit, nötrofil, eozinofil ve bazofil yüzdeleri saptanmıştır.

### **3.4. Doku Örneklerinin Patolojik Açıdan İncelenmesi**

Dokuların patolojik açıdan incelemesi için kardiyaktan kan örnekleri alındıktan sonra deney fareleri derin eter anestezisi ile sakrifiye edilmiştir. Uzman kişiler tarafından deneklere cerrahi işlemler uygulanmış ve gastrointestinal sistem organlarına ait doku örnekleri (Karaciğer, Böbrek, Mide, İnce barsak) alınarak % 10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde korunmuştur. Bu doku örnekleri histopatolojik olarak değerlendirilmesi için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına gönderilmiştir. Laboratuvarında doku örnekleri parafine gömülmüş, parafin bloklardan 4 mikronluk kesitler hazırlanmıştır. Bu kesitler Hemotoksilen-Eozin boya ile boyanarak ışık mikroskopunda (Olympus, BX51, Japan) incelenmiştir. Kullanılan Hematoksilen-Eosin boyama yöntemleri aşağıdaki prosedür kullanılarak yapılmıştır.

- 1-** Deparafinizasyon işlemi için, parafin bloktan lama alınmış 5 µm'lik örnek kesitler lam asansörüne yerleştirilerek 60 °C'lik etüvde 1 gece bekletilir.
- 2-** Kimyasal deparafinizasyon işlemi için, kesitler 30'ar dakika 2 değişim ksilende tutulur.
- 3-** Rehidratasyon işlemi için, % 95, % 80, % 70, % 60 etil alkol serilerinde 2'şer dakika tutulur.
- 4-** Kesitler 5 dakika musluk suyunda yıkanır.
- 5-** Kesitler 5 dakika hematoksilin boya solüsyonunda tutulur.
- 6-** Kesitler 5 dakika musluk suyunda yıkanır.
- 7-** Kesitler diferansiyasyon işlemi için asit alkol solüsyonuna 1-3 saniye batırılıp çıkarılır.
- 8-** Kesitler 5 dakika akarsuda yıkanır.
- 9-** Kesitler 2-3 dakika eosin boya solüsyonunda tutulur.
- 10-** Kesitler 1-5 dakika akarsuda yıkanır.
- 11-** Kesitler 1 dakika % 80 alkol içinde tutulur.

- 12- Kesitler 1 dakika % 95 alkol içinde tutulur.
- 13- Kesitler 1 saat ksilende tutulur.
- 14- Kesitler üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatılır ve penset yardımıyla hava kabarıkları çıkarılır.

### **3.5. İstatistiksel Analizler**

İstatistiksel analizler; tüm grupların kan parametrelerinin karşılaştırılması için, Kruskal-Wallis Testi; kendi aralarında karşılaştırılması için, Mann-Whitney Testi ve kan parametrelerinin her bir grup için ikinci ve dördüncü hafta ölçümlerinin karşılaştırılması için Wilcoxon Signed Ranks testi kullanılarak yapılmıştır. Kan değerlerinin  $p < 0,05$  seviyesindeki sonuçları önemli olarak kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada *Mus musculus* türüne ait 54 adet denek eşit gruplara ayırarak, deneklere nar, maydanoz, biber, limon ve mandalina özütleri gavaj yoluyla verilmiş ve beyaz kan hücrelerinin artışına bakılmıştır. Ayrıca gruplardaki her deneğin karaciğer, böbrek, mide, ince bağırsak doku örnekleri alınmış ve patoloji laboratuvarında incelenmiştir.

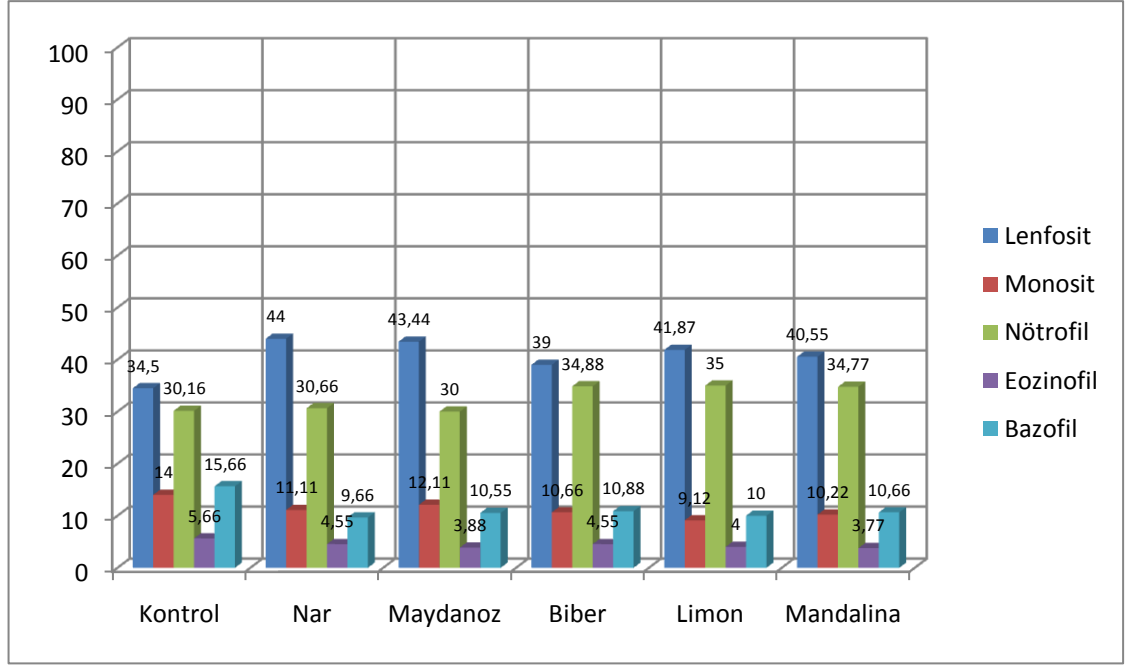
Yapılan incelemeler sonucunda beyaz kan hücrelerinden ve patolojik örneklerden elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

##### 4.1. Lökosit Değerleri

C vitamini bakımından zengin sebze ve meyve özütlerinin *Mus musculus* türü farelerde lökosit proliferasyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Uygulamanın 2. haftası sonunda lökosit sayılarını gösteren değerler Tablo 4.1 ve Grafik 4.1 de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Grupların ikinci haftaya ait lökosit değerlerinin ortalamaları

<b>NVC/WBC</b>	<b>Lenfosit%</b>	<b>Monosit%</b>	<b>Nötrofil%</b>	<b>Eozinofil%</b>	<b>Bazofil%</b>	<b>Toplam</b>
<b>Kontrol</b>	34,50	14,00	30,16	5,66	15,66	100
<b>Nar</b>	44,00	11,11	30,66	4,55	9,66	100
<b>Maydanoz</b>	43,44	12,11	30,00	3,88	10,55	100
<b>Biber</b>	39,00	10,66	34,88	4,55	10,88	100
<b>Limon</b>	41,87	9,12	35,00	4,00	10,00	100
<b>Mandalina</b>	40,55	10,22	34,77	3,77	10,66	100



**Grafik 4.1.** Grupların ikinci haftaya ait lökosit yüzdelerinin ortalamaları

Deneme gruplarına ait beyaz kan hücre parametrelerinin ikinci hafta sonunda ölçülen değerlerinin kıyaslanmasında;

Nar verilen grup ile kontrol grubu, lenfosit değerleri istatistiksel açıdan çok anlamlı derecede yüksek saptanırken, monosit ve bazofil yüzdeleri çok anlamlı derecede düşük saptanmıştır ( $p < 0,01$ ).

Maydanoz verilen grup ile kontrol grubu kıyaslandığında lenfosit yüzdesi çok önemli oranda yüksek ( $p < 0,01$ ); bazofil yüzdesi ise önemli oranda düşük saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Biber grubu ile kontrol grubunun lökosit sayıları kıyaslandığında lenfosit yüzdesi çok anlamlı düzeyde yüksek ( $p < 0,01$ ); nötrofil yüzdesi ise anlamlı düzeyde yüksek değerde saptanırken ( $p < 0,05$ ), monosit yüzdesi çok anlamlı düzeyde düşük ( $p < 0,01$ ); bazofil yüzdesi ise anlamlı düzeyde düşük değerde saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Limon verilen grup ve kontrol grubu kıyaslandığında lenfosit ve nötrofil yüzdeleri çok önemli oranda yüksek saptanırken, bazofil ve monosit yüzdeleri ise çok önemli oranda düşük miktarda saptanmıştır ( $p < 0,01$ ).

Mandalina grubu ile kontrol grubu lökosit sayıları bakımından kıyaslandığında lenfosit ve nötrofil yüzdeleri çok anlamlı bir artış gösterirken, bazofil ve monosit yüzdeleri ise çok anlamlı derecede bir düşüş göstermiştir ( $p<0,01$ ).

Nar özütü uygulanan grup diğer deney grupları ile karşılaştırıldığında; maydanoz özütü uygulanan gruplarla arasında beyaz kan hücreleri bakımından anlamlı bir fark saptanamazken ( $p>0,05$ ), biber ve mandalina özütü uygulanan gruplara göre lenfosit ve nötrofil yüzdeleri; limon özütü uygulanan gruba kıyasla da monosit ve nötrofil yüzdeleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Diğer beyaz kan hücreleri arasında ise anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).

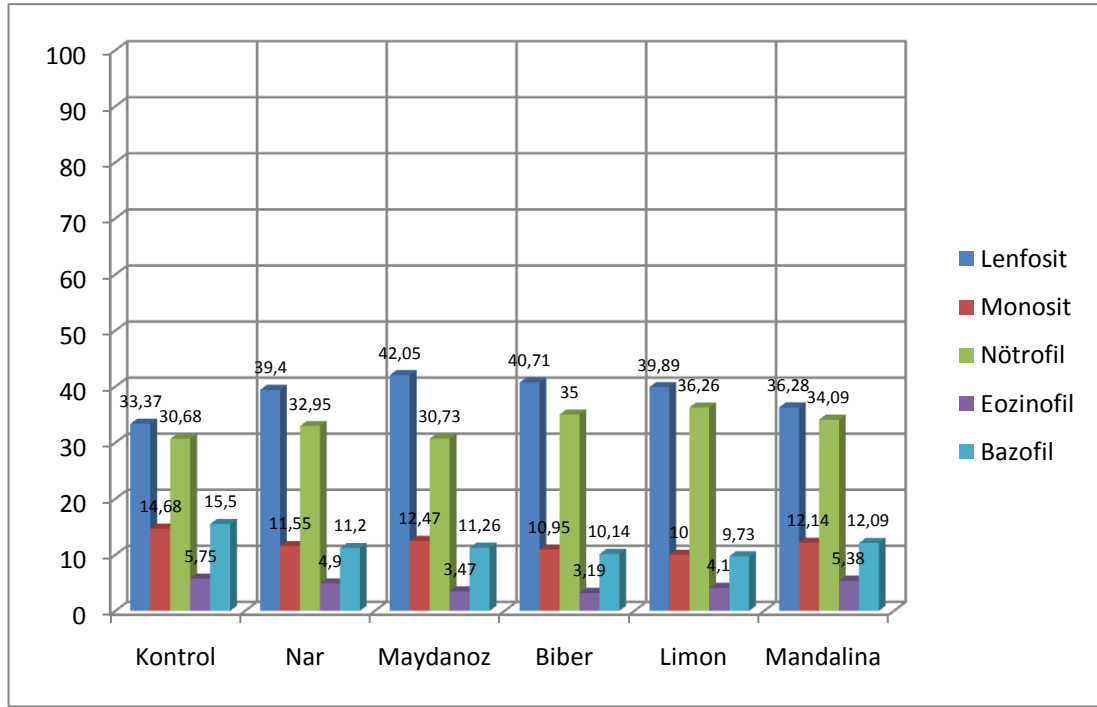
Maydanoz özütü uygulanan grupla diğer deney grupları karşılaştırıldığında; mandalina özütü verilen gruba göre sadece nötrofil yüzdesi çok anlamlı düzeyde ( $p<0,01$ ); biber özütü verilen gruba göre lenfosit ve nötrofil yüzdeleri anlamlı düzeyde; limon özütü verilen gruba göre de monosit ve nötrofil yüzdeleri anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Diğer beyaz kan hücreleri arasında ise anlamlı fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).

İkinci haftaya ait tüm veriler lenfosit yüzdeleri karşılaştırıldığında, kontrol grubuna göre en fazla artış gösteren grubun nar özütü verilen grup olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

Uygulamanın 4. haftası sonunda lökosit sayılarına ilgili değerler Tablo 4.2 ve Grafik 4.2 de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Grupların dördüncü haftaya ait lökosit değerlerinin ortalamaları

<b>NVC/WBC</b>	<b>Lenfosit%</b>	<b>Monosit%</b>	<b>Nötrofil%</b>	<b>Eozinofil%</b>	<b>Bazofil%</b>	<b>Toplam</b>
<b>Kontrol</b>	33,37	14,68	30,68	5,75	15,50	100
<b>Nar</b>	39,40	11,55	32,95	4,90	11,20	100
<b>Maydanoz</b>	42,05	12,47	30,73	3,47	11,26	100
<b>Biber</b>	40,71	10,95	35,00	3,19	10,14	100
<b>Limon</b>	39,89	10,00	36,26	4,10	9,73	100
<b>Mandalina</b>	36,28	12,14	34,09	5,38	12,09	100



**Grafik 4.2.** Grubların dördüncü haftaya ait lökosit yüzdelerinin ortalamaları

Çalışmanın dördüncü haftasına ait beyaz kan hücrelerinin sayısal değerlendirmesinde;

Nar verilen grup ile kontrol grubunun lökosit sayıları kıyaslandığında lenfosit yüzdesi anlamlı derecede yüksek saptanırken, monosit ve bazofil yüzdeleri anlamlı derecede düşük saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Maydanoz verilen grubun lökosit miktarları incelendiğinde kontrol grubuna göre lenfosit yüzdesi önemli derecede yüksek saptanırken, eozinofil ve bazofil yüzdeleri önemli derecede düşük saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Biber ve kontrol grupları lökosit sayıları bakımından kıyaslandığında lenfosit yüzdesi anlamlı derecede yüksek bulunurken ( $p<0,05$ ), nötrofil yüzdesi ise çok anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $p<0,01$ ). Bazofil yüzdesi anlamlı seviyede düşük saptanırken ( $p<0,05$ ), monosit yüzdesi çok anlamlı derecede düşük saptanmıştır ( $p<0,01$ ).

Limon ve kontrol grupları lökosit sayıları açısından kıyaslandığında lenfosit ve nötrofil yüzdeleri çok önemli oranda yüksek saptanırken, bazofil ve monosit yüzdeleri ise çok önemli oranda düşük saptanmıştır ( $p<0,01$ ).



Mandalina verilen grup ile kontrol grubu lökosit sayıları kıyaslandığında lenfosit ve nötrofil yüzdeleri çok anlamlı derecede yüksek değerde saptanırken, bazofil ve monosit yüzdeleri çok anlamlı derecede düşük değerde saptanmıştır ( $p<0,01$ ).

Çalışmanın 4. haftasında deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece eozinofil yüzdesi anlamlı çıkmıştır ( $p<0,05$ ).

Nar özütü verilen grup diğer deneme grupları ile karşılaştırıldığında; sadece biber özütü verilen gruba göre eozinofil yüzdesi çok anlamlı olarak artış göstermiştir ( $p<0,01$ ).

Maydanoz özütü uygulanan grup diğer deneme grupları ile karşılaştırıldığında; sadece eozinofil yüzdeleri bakımından mandalina verilen gruba göre çok anlamlı artış tespit edilirken ( $p<0,01$ ), nar verilen gruba göre ise anlamlı seviyede artış tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Biber verilen gruba göre ise sadece nötrofil yüzde değerinde anlamlı artış bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Mandalina uygulanan grup diğer deneme grupları ile karşılaştırıldığında; eozinofil yüzde değerlerine göre limon verilen grupla aralarında anlamlı derecede fark ( $p<0,05$ ), biber verilen grupla da çok anlamlı derecede fark saptanmıştır ( $p<0,01$ ).

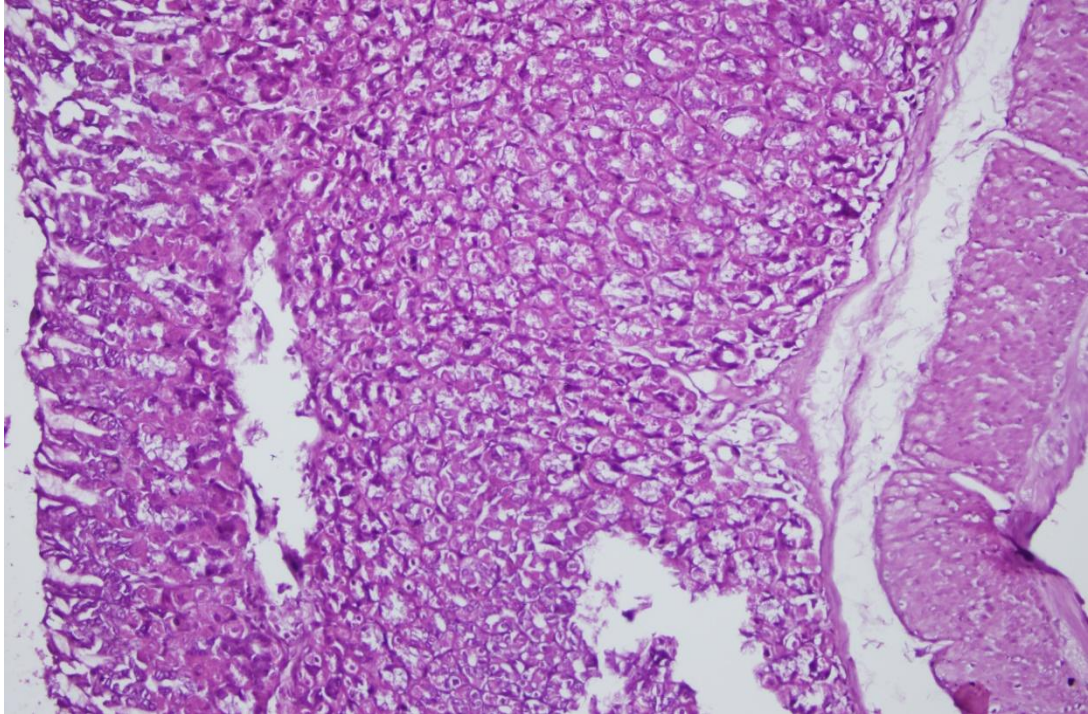
**Tablo 4.3.** Zamana bağılı olarak lökosit sayılarının istatistiksel sonuçları

NVC/WBC	Lenfosit %			Monosit%			Nötrofil%			Eozinofil%			Bazofil%		
	14.gün	28.gün	p	14.gün	28.gün	p	14.gün	28.gün	p	14.gün	28.gün	p	14.gün	28.gün	p
<b>Gruplar</b>															
<b>Kontrol</b>	34,50	33,16	0,34	14,00	14,69	0,46	30,16	30,63	0,67	5,66	5,66	0,83	15,66	15,83	1,00
<b>Nar</b>	44,00	39,66	<b>0,02</b>	11,11	11,41	0,83	30,66	32,89	0,17	4,55	4,89	0,57	9,66	11,12	0,23
<b>Maydanoz</b>	43,44	41,57	0,39	12,11	12,54	0,73	30,00	31,14	0,75	3,88	3,55	0,34	10,55	11,08	0,34
<b>Biber</b>	39,00	40,74	0,39	10,66	10,91	0,52	34,88	34,93	0,72	4,55	3,16	<b>0,02</b>	10,88	10,22	1,00
<b>Limon</b>	41,87	39,70	0,32	9,12	10,16	0,27	35,00	36,33	0,67	4,00	4,13	0,86	10,00	9,61	0,72
<b>Mandalina</b>	40,55	35,70	0,12	10,22	12,75	0,06	34,77	32,85	0,48	3,77	5,77	<b>0,01</b>	10,66	12,87	0,23

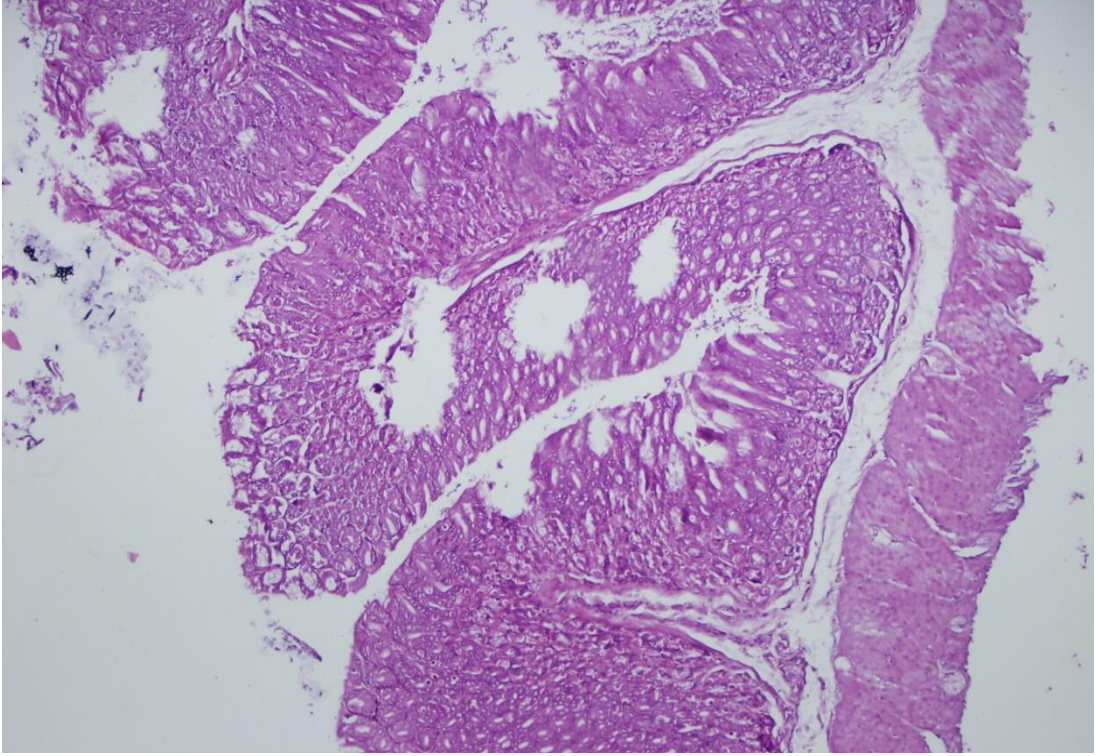
Tablo 4.1’de kontrol ve deney gruplarının zamana göre lökosit hücreleri ile ilgili istatistiksel analiz sonuçları ile birlikte verilmiştir. Zamana bağlı yapılan istatistiksel analiz sonuçlarına göre nar verilen grupta lenfosit, biber ve mandalina verilen gruplarda ise eozinofil açısından anlamlı fark ortaya çıkarken ( $p<0,05$ ), diğer hücreler açısından fark anlamlı bulunamamıştır ( $p>0,05$ ).

#### 4.2. Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

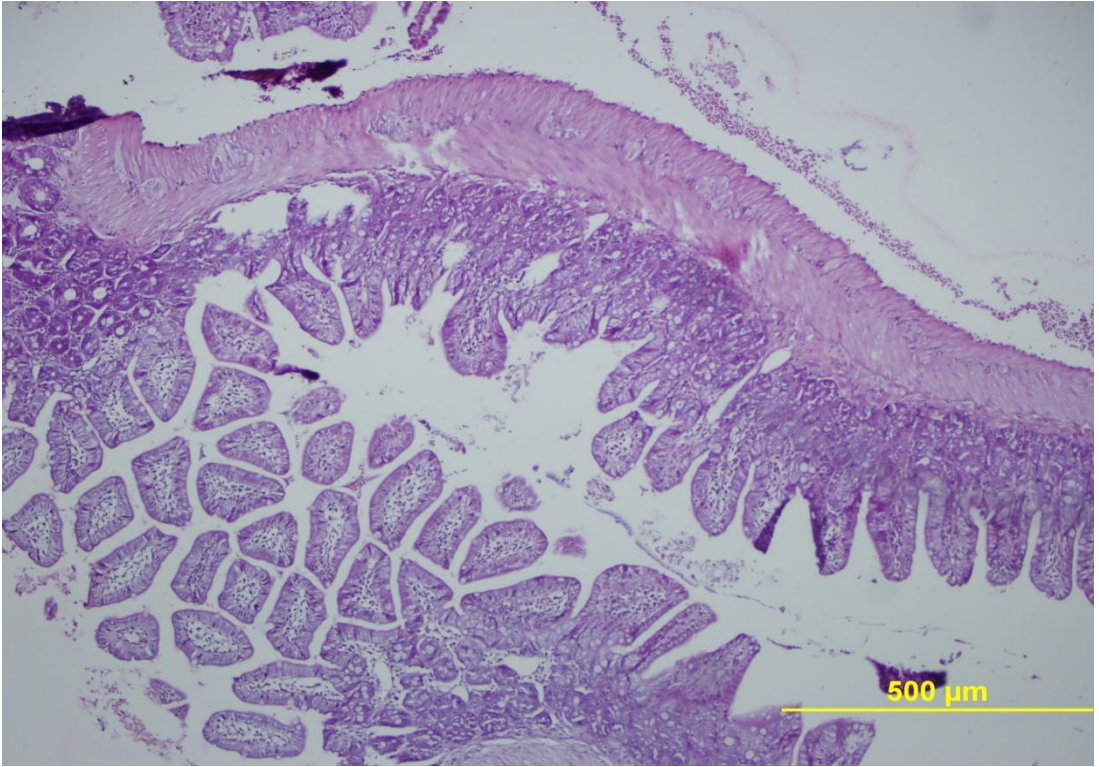
Aşağıdaki doku kesitleri incelendiğinde deney gruplarımızın doku kesitlerinde C vitamininin herhangi bir toksitesi olmadığı görülmektedir.



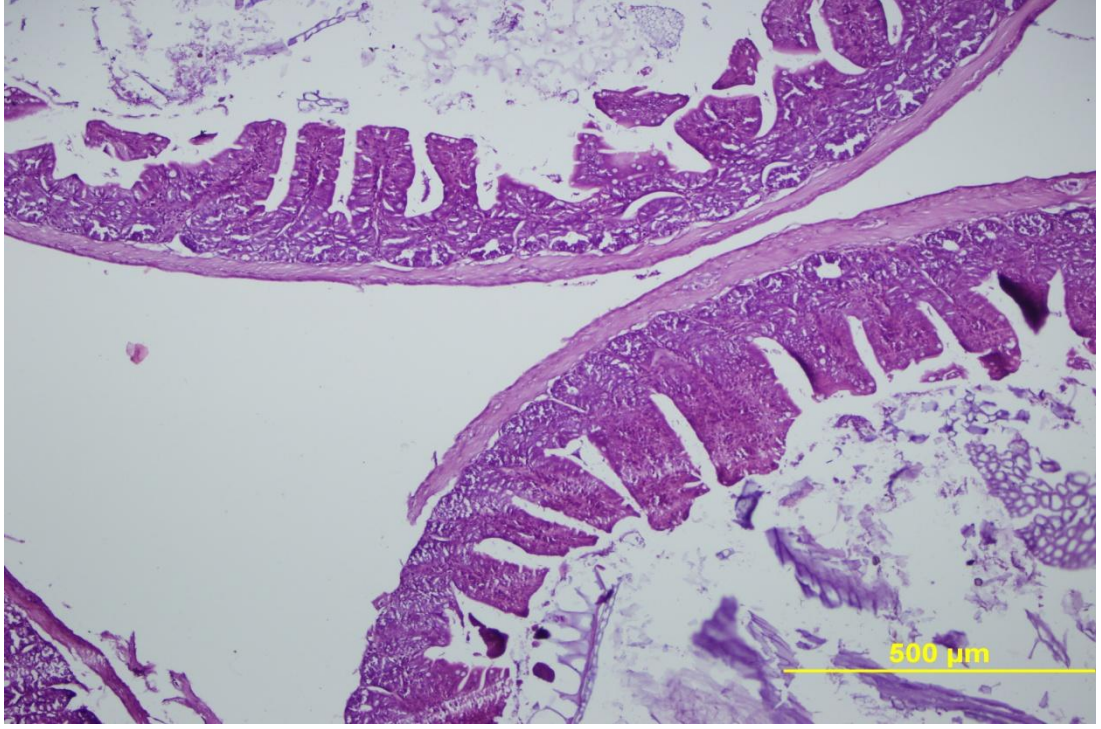
**Şekil 4.1.** Kontrol grubuna ait normal histolojiye sahip mide dokusu kesiti (HE, X200).



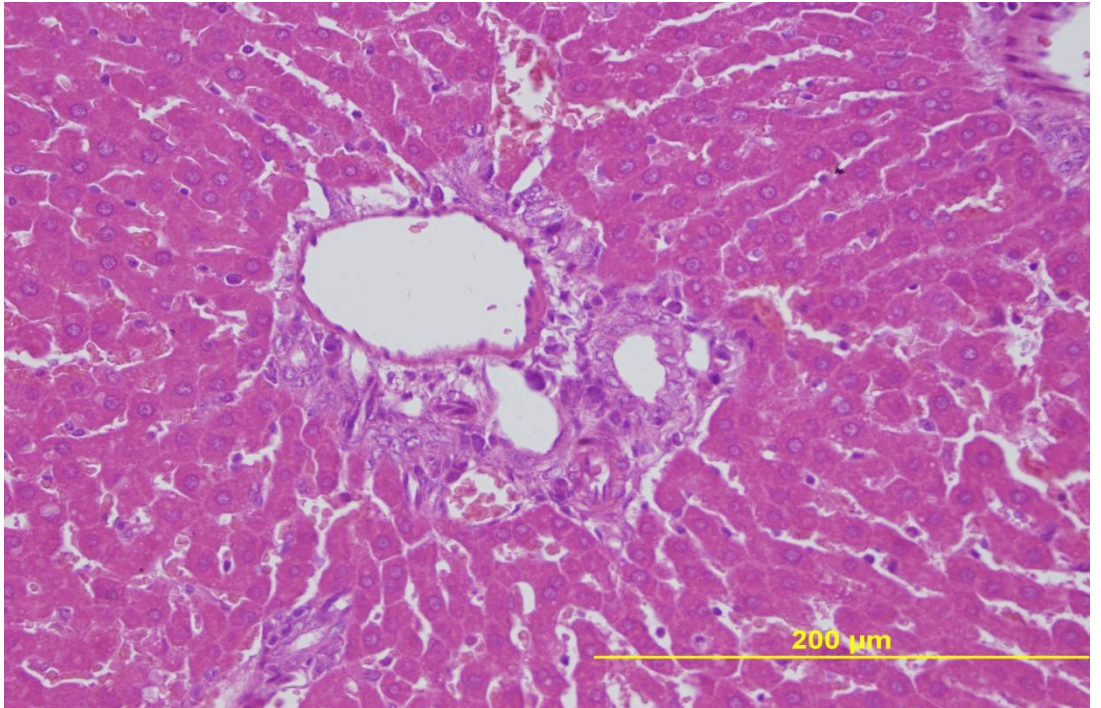
**Şekil 4.2.** Maydanoz grubuna ait mide dokusu örneklerinde düzenli yapı izlenmektedir (HE, X200).



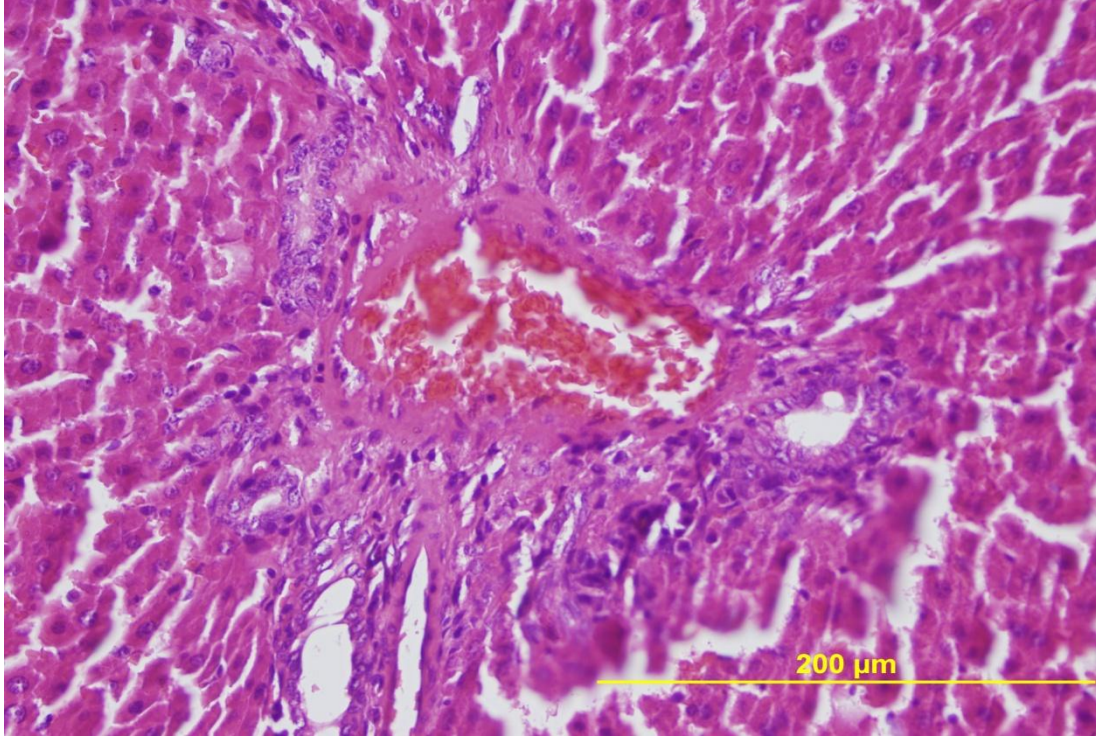
**Şekil 4.3.** Kontrol grubuna ait normal histolojiye sahip ince barsak dokusu kesiti (HE, X100).



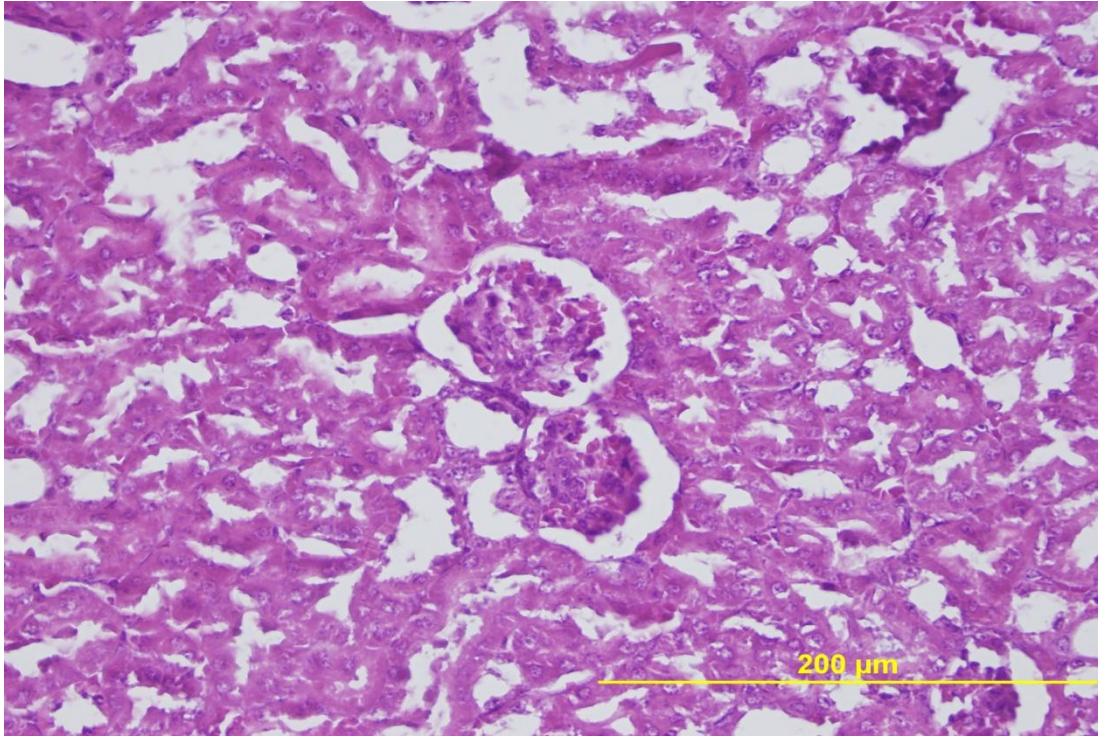
**Şekil 4.4.** Maydanoz grubuna ait ince barsak dokusu kesitlerinde düzenli yapıda barsak dokusu görülmektedir (HE, X100).



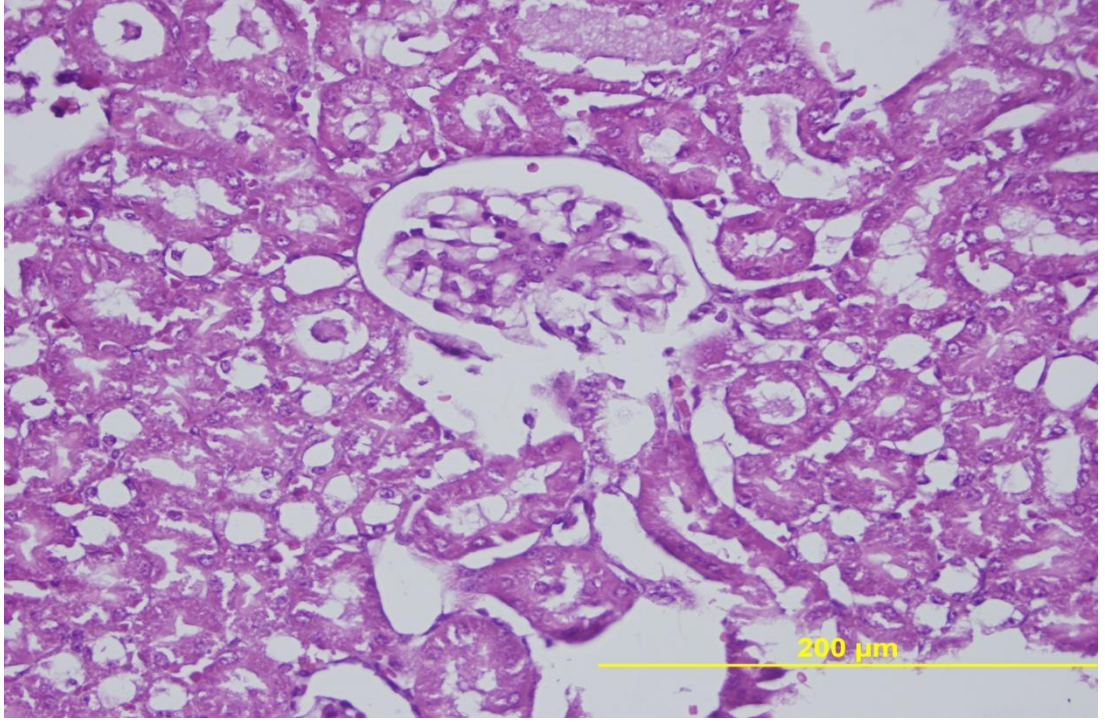
**Şekil 4.5.** Kontrol grubu farelerde alınan karaciğer dokusu örneklerinden hazırlanan kesitlerde portal alan ve merkezi venleri içeren normal karaciğer histolojisi görülmektedir (HE, X400).



**Şekil 4.6.** Maydanoz grubuna ait karaciğer dokusu örneklerinde düzenli yapıda portal alan dikkati çekmektedir (HE, X400).



**Şekil 4.7.** Kontrol grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde düzenli yapıda glomerüller ve tübüller izlenmektedir (HE, X400).



**Şekil 4.8.** Maydanos grubuna ait böbrek dokusu kesitlerinde düzenli yapıda glomerüller ve tübüller izlenmektedir (HE, X400).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

C vitamini çok sayıda metabolik süreçte aktif rol oynamaktadır. Kollajen üretimi, kan damarlarını güçlendirme, hemoglobin üretimi, adrenal hormon sekresyonu, viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma, doğal antihistamin üretimi ve serbest radikal nötralizasyonu gibi olaylarda önemli fonksiyonları bulunmaktadır (Levin vd., 2010). C vitamini eksikliği; skorbüt hastalığı, eklemlerde şişme, kan duvarlarının kolay zedelenmesi, subperiosteal kanamalar, iştahsızlık, fiziksel aktivite düşüklüğü, kaslarda ağrı artışı, immün baskılama ve enfeksiyonlara karşı duyarlılık gibi problemlere neden olmaktadır (Kayaalp, 1989; Bender, 1978). C vitamini eksikliğinin skorbüt ile olan ilişkisini ilk olarak Sir James Lancaster (1601), James Lind (1747) ve Kamehiro Takaki (1882) bildirmiştir. Casimir Funk, 1900'lü yıllarda C vitamini için 'antiskorbütik Vitamin' adını kullanmış, ancak 1920'de Drummond 'C vitamin' terimini ilk defa kullanmıştır.

C vitamin fonksiyonlarını belirlemeye yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır (Papas, 1998; Siddique vd., 2006). Araştırmalar özellikle C vitaminin antioksidan aktivitesi, bağışıklık sistemi ve besinlerin C vitamin içeriğinin belirlenmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Odabaşoğlu, 1999; Perdue vd., 1985; Hardie vd., 1990; Kennes vd., 1983; Cunnigham vd., 2003).

C vitaminin bağışıklık sistemini güçlendirdiğini bildiren çalışmaların yanı sıra bağışıklık sistemi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Hardie vd., 1990; Kennes vd., 1983; Shilotri vd., 1977; Altınsoy vd., 2008).

C vitamini, bağışıklık sistemi elemanlarından olan beyaz kan hücrelerinin yapısı ve miktarı üzerine etkisi bazı çalışmalarda farklı yorumlanmıştır.

Özaslan vd. (2004) yaptıkları çalışmada ticari amaçlı kullanılan saf askorbik asit (Redoxon®, Roche Pharmaceuticals) farklı miktarlarda intraperitoneal yolla fareler belli aralıkta vermişler ve deney grupları arasında lenfosit, monosit ve nötrofil



yüzdelerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemişlerdir. Ancak deney grupları ve kontrol grubu verileri karşılaştırıldığında, anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Saf askorbik asit verilen gruplarda lenfosit yüzdeleri kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermemiş olup bu artışın askorbik asit dozajıyla paralel olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda ise C vitamini bakımından zengin bazı sebze ve meyve özütleri deneklere verilmiş ve lökosit sayıları üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen veriler, Özaslan vd. (2004)'nin yaptıkları çalışmanın sonuçları ile uyumlu olarak lenfosit sayılarının anlamlı şekilde arttığını göstermektedir.

Ancak yaptığımız deneyde, Özaslan vd. (2004)'nin çalışmasından farklı olarak deneklere saf askorbik asit enjeksiyonu yerine doğal sebze ve meyve özütleri gavaj yoluyla verilmiştir. Bunun sonucu olarak lenfosit artışı en çok maydanoz verilen grupta saptanırken, en az artışı ise biber verilen grupta olduğu gözlenmiştir. Biber verilen grupta sadece bazofil sayısında anlamlı derecede azalma saptanırken diğer deney gruplarında hem bazofil hem de monosit yüzdeleri düşüş göstermiştir. Bu azalma, deneklere verilen meyve ve sebzelerdeki C vitamini dışındaki diğer bileşenlerin etkisi sonucu gözlenmiş olabilir.

Khassaf vd. (2003)'nin yaptıkları çalışmada; C vitamini takviyesi yapılan bireylerde kontrol grubuna göre lenfosit sayısında artış gözlenmiştir.

Lenfosit artışı bağışıklık sisteminin güçlü olduğunu göstermektedir. Kennes vd. (1983) yaşlı insanlara C vitamini takviyesi yapmış ve T lenfositlerinin proliferatif yanıtı artırdığını gözlemlemiştir (Kennes vd., 1983).

Hardie vd. (1990) çalışmalarında, C vitamini diyetinin *Salmo salar L.* balıklarının bağışıklık sistemi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda lökosit sayısının, C vitamini takviyesiyle bir değişikliğe uğramadığı bildirilmiştir.

Daha önce yapılmış bu çalışmalarda da görüldüğü gibi, C vitamini yüklemesi yapılan bazı omurgalı canlılarda (insan, fare, vs) lenfosit sayıları artmış ancak balıklarda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir.

C vitamini içeriği bakımından incelendiğinde en fazla askorbik asit miktarı içeren sebze ve meyveler; maydanoz, yeşil biber, limon, mandalina ve nar şeklinde sıralanmaktadır (Cunnigham vd., 2003; Tee vd., 1988; Wills vd., 1983; Cooker ve

Moxon, 1981). Çalışmamızda da C vitamini içeriği yüksek olan maydanoz özütü verdiğimiz grubun lenfosit yüzdeleri diğer gruplara kıyasla daha yüksek düzeyde; sonra nar özütü verdiğimiz grubun lenfosit yüzdesinin yüksek olduğu saptanmıştır. Askorbik asit tayininde seçilen sebze ve meyveler arasında en az askorbik asit miktarına sahip olan nar bitkisinin lenfosit yüzdesini artırması; nar özütündeki bazı kimyasal bileşenlerin (Alkoloit, Tanen, Antosiyanozitler, Flavonoitler, Alkanlar, Aminoasitler, Proteinler vs.) alerjik etki oluşturmasından dolayı olabilir.

En düşük C vitamini seviyesine sahip olmasına rağmen nar özütünün verildiği gruplarda lenfosit artışı en yüksek oranda gözlenmiştir. Diğer sebze ve meyvelerin verildiği gruplarda ise lenfosit artışı C vitamini içeriğine paralel şekilde artış göstermiştir.

Nötrofil sayısındaki değişimler incelendiğinde ise meyve özütlerinin verildiği gruplarda ikinci ve dördüncü hafta sonunda artış gözlenmiş ancak sebze özütü verilen gruplarda herhangi bir fark saptanmamıştır. Buna göre; meyve özütlerinin nötrofil proliferasyonu veya kan dokusuna katılımları üzerine etkisi olabileceği söylenebilir.

Beyaz kan hücrelerinde; monosit, eozinofil ve bazofil yüzdelerinin değişkenlik göstermesinin nedeni, alerjenler, farklı coğrafik bölgeler (Mishra vd., 2002), mevsimsel değişimler (Wang vd., 1998) ve paraziter enfeksiyonlar gibi etkenler olduğu düşünülmektedir. Eozinofilleri uyarılması ile daha önce sentez edilip sitoplazmik granüllerde depolanan enzimler ve proteinler, eozinofillerin aktivasyonu ve uyarılmasına neden olmaktadır (Frigas ve Gleich, 1986; Weller, 1991; Laitinen vd., 1993). Lökositlerin bazı durumlarda uyarılmasıyla kandaki miktarları değişkenlik gösterebilir. Çalışmamızda periferik kanda monosit, eozinofil ve bozofil yüzdelerinin düşük olma nedeni; mikroskopta alan taraması yapıldığında lenfosit ve nötrofil yüzdesinin yüksek olmasından dolayı monosit, eozinofil ve bazofil hücrelerine sıkça denk gelmeme durumuna da bağlayabiliriz.

Çalışmamızda C vitaminin etki ettiği dokular (Karaciğer, Mide, Böbrek, İnce bağırsak) patolojik olarak incelendiğinde herhangi bir toksisitenin olmadığı görülmüştür. Özaslan vd. (2004) yaptığı çalışmada da C vitamini takviyesinin dokular üzerinde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Özaslan vd., 2004). Ancak

Rosenfeld (1997) gine domuzları üzerinde yaptığı çalışmada, yüksek doz C vitaminin; CCl<sub>4</sub>, alkol, dietilmaleat, menadion gibi oksidanlara karşı hücre hasarını engellediğini gözlemlerken (Rosenfeld, 1997), Öğütücü vd. (2007)'nin erkek sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, metil parathionun bazı dokularda (ince bağırsak) meydana getirdiği patolojik değişiklikleri önleyemediğini gözlemlemiştir (Öğütücü vd., 2007). Bu sonuçlara göre çalışmamızda elde edilen histopatolojik veriler, Özaslan vd.'nin çalışmasıyla paralellik gösterirken Rosenfeld ve Öğütücü vd.'nin yaptığı çalışma sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Sonuç olarak, C vitamini bakımından zengin sebze ve meyvelerin vücudun gereksinim duyduğu miktarda tüketilmesi, metabolizma ve dokular için herhangi bir olumsuzluk meydana getirmediğini ve lökosit miktarına etki ederek, bağışıklık sisteminin güçlenmesini ve enfeksiyonlara karşı metabolizmayı koruyarak dirençli olmasını sağladığını söyleyebiliriz. Ayrıca C vitaminin doğrudan temas ettiği sindirim ve dolaşım sistemi organlarına patolojik ve anatomik açıdan herhangi bir etkisinin olmaması C vitaminin günlük vucüt savunması için yeterli miktarda alınması gerektiğini ve bunun sonucu olarak dokulardaki askorbik asit dengesini sağlandığını göstermektedir.

## **KAYNAKLAR:**

Akkan, A.G. (1999). İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri. Akılcı İlaç Kullanım Sempozyumu, İstanbul, 45-57.

Altınsoat, Ç., Hatipoğlu, F.Ş. (2008). Effects of Vitamin C And ACTH Applications on Phagocytic Activity of Neutrophil Leukocytes in Sheep. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, **14** (1), 5-8.

Anderson, R., Hay, I., Wyk, H. (1980). The Effect of Ascorbate on Cellular Humoral Immunity in Asthmatic Children. *South African Medical Journal*, **58**, 974-977.

Anderson, R. (1981). Ascorbate-mediated Stimulation of Neutrophil Motility and Lymphocyte Transformation by Inhibition of the Peroxide/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Halide System in Vitro and in Vivo. *American Journal Clinical Nutrition*, **34**, 1906-1911.

Anderson, R., Lukey, P.T. (1987). A Role for Ascorbate in the Selective Neutralization of Extracellular Phagocyte-Derived Oxidants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **498**, 229-247.

Aras, K., Erse, G., Karalan, S. (1976). Vitaminler. *Ankara Üniversitesi Basımevi*, Ankara, 96-100.

Arrigoni, O., Arrigoni-Liso, R. and Calabrese, G. (1975). Lycorine as an Inhibitor of Ascorbic Acid Biosynthesis. *Nature*, **256**, 513-514.

Arslan, C., Gönül, B., Dinçer, S., Kaplan, B., Çevik, C. (2004). Güreşçilerde C Vitamini Yüklemesinin Serum Demir ve Total Demir Bağlama Kapasitesine Etkisi. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 2004*, **18** (4), 215-221.

Asard, H., May, J.M., Smirnoff, N. (2004). Vitamin C Function and Biochemistry in animals and plants. *Free Radical Biology Medicine*, 173-220.

Aşı, T., (1999). Tablolarla Biyokimya cilt 2- Vitaminler, 2-37.

- Baker, E.M., Hammer, D.C., March, S.C., Tolbert, B.M., Canham, J.E. (1971). Ascorbate sulphate: a urinary metabolite of ascorbic acid in man. *Science*, **173**, 826-827.
- Balın, T. (2007). *Ganoderma lucidum* (Reishi veya ling-chi) Mantarının Subkritik Su İle Ekstraksiyonu ve Bileşenlerinin Tanımlanması. Çukurova Üniversitesi-Kimya ABD, 98-18.
- Ball, G.F.M. (2004). Vitamins; Their Role in the Human Body. *Blackwell Science*, 429-393.
- Barker, M.B., Bender, A.D. (1982). Vitamins in Medicine. *William Heinemann Medical Books Ltd. London*, Vol. 2.
- Barton, G.M.G., Roath, O.S. (1976). Leucocyte ascorbic acid in abnormal leukocyte states. *Internationale Zeitschrift für Vitamin-forschung*, **46**, 271.
- Başpınar, N., Baş, A.L., Haliloğlu, S., Elmas, M., Yazar, E. (1998). The Effects Of Intracellular Vitamin C Concentrations On Bovine Neutrophils Functions In Vitro. *Revue de Medecine Veterinaire*, **149**, 931 – 938.
- Bender, A.E. (1978). Food Processing and Nutrition. *Academic Press*, London and New York.
- Berkan, Ö., Kanrancıoğlu, N., Günay, İ., Yıldız, E. (2001). Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyona Bağlı Gelişen Akciğer Hasarında Askorbik Asidin Etkisi. *Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi*, **9 (4)**, 238-241.
- Bingöl, G. (1977). Vitaminler ve Enzimler. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 36-90.
- Binney, E.G., Jeness, R., Ayuz, K.M. (1976). İnability of bats to synthesise L-ascorbic acid. *Nature*, **260**, 626-628.
- Brigws, M., Briggs, M. (1972). Vitamin C requirements and oral contraceptives. *Nature (Lond.)*, **238**, 277.

- Brook, M., Grimshaw, J.J. (1968). Vitamin C concentration of plasma and leukocytes as related to smoking habit, age and sex of humans. *American Journal clinical Nutrition*, **21**, 1254.
- Constance, S., Tsao, Ping, Y., Young, L., Young, M. (1987). Effect of Dietary Ascorbic Acid Intake on Tissue Vitamin C in Mice. *The Journal of Nutrition*, **117**, 291-297.
- Combs, G.F. (1998). The Vitamins, Fundamental Aspect in Nutrition and Health. *Academic Press*. San Diego, California.
- Cooker, J.R., Moxon, R.E.D. (1981). The detection and measurement of vitamin C. *In: Vitamin C (Ascorbic Acid)* (J.N. Counsell and D.H. Hornig, eds.), pp. 167-198. *Applied Science*: London.
- Cunnigham, J., Milligan, G., Trevisan, L. (2003). Food Standards Australlia New Zeland (FSANZ): Minerals in Australian Fruits and Vegetables- a comparison of levels between the 1980s and 2000.
- Dale, M. (1985). The extra Pharmacopeia. 28<sup>th</sup> Edition. Edit. James, E.F. Reynolds, *The Pharmaceutical Press*. 1653-1657.
- Dawson, E.B., Evans, D.R., Harris, W.A., Teter, McGanity, W.J. (1999). The Effect of Ascorbic Acid Supplementation on the Blood Lead Levels of Smokers. *Department of Obstetrics and Gynecology*, **18 (2)**, 166–170.
- DeChatelet, L.M., Cooper, M.R., McCall, C.E. (1972). Stimulation of the hexose monophosphate shunt in human neutrophils by ascorbic acid: mechanism of action. *Antimicrob Agents Chemother*, **1**, 12-16.
- Decker, E.A., Clarkson, P.M. (1999). Dietary sources and bioavability of essential and antioxidants. *Amsterdam*, 334-337.
- Delafuente, J.C., Panush, R.S. (1980). Modulation of certain immunological responses by vitamin C. II. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **50**, 44-51.

- Delafuente, J.C., Prendergast, J.M., Modigh, A. (1986). Immunologic modulation by vitamin C in the elderly. *International Journal Immunopharmacol*, **8**, 205-211.
- Dieter, M.P. (1971). Further studies on the relationship between Vitamin C and thymic humoral factor. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **136**, 316.
- Doğan, N., Kürşad, H., Alıcı, H.A., Cesur, M. (2003). The Effects of General and Epidural Anaesthesia on the Number of Leucocytes and the Distribution of Leucocytes Subgroups. *AUTD*, **35**, 37-41.
- Driskell, V.A., Herbert, W.G. (1985). Pulmonary function and treadmill performance of males receiving ascorbic acid supplements. *Nutrition Reports International*, **32**: 443-451.
- Dreher, D. (1995). Role of oxygen free radicals in cancer development. *Euro Journal Cancer*, **32A-1**, 30-38
- El-Hag, A., Clark, R.A. (1987). Immunosuppression by activated human neutrophils. *Journal Immunology*, **139**, 2406-2413.
- Ely, J.T.A. (1996). Glycemic modulation of tumor tolerance. *Journal of Orthomol Medicine*, **11 (1)**, 23-34.
- Emadi, K., P., Verjee, Z., Levin, A.V., Adeli, K. (2005). Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography. *Clinical Biochemistr*, **38 (5)**, 450-456.
- Evans, R.M., Currie, L., Campbell, A. (1982). The distribution of ascorbic acid between various cellular components of blood, in normal individuals, and to its relationship to plasma concentration. *British Journal of Nutrition*, **47 (3)**, 473-482.
- Frigas, E., Gleich, G.J. (1986). The eosinophil and the pathophysiology of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **77**, 527.
- Frisell, R.W. (1982). Human Biochemistry. *MacMillan Publishing Co., Inc. New York*, **1**, 694.

- Foyer, C.H. (1993). Ascorbic Acid. In: Alscher RG, Hess JL, (Eds). Antioxidants in higher plants. Boca Raton: *CRC Press*, pp. 31-58.
- Funk, C. (1912) The etiology of the deficiency diseases. *Journal of State Medicine*, **20**, 341-68.
- Gallin, J.I., Elin, R.J., Hubert, R.T. (1979). Efficacy of ascorbic acid in Chediak-Higashi syndrome. *Blood*, **53**, 226-234.
- Gartner, L. P., Hiatt, J. L. (2006). Color Textbook Of Histology, third edition. *Saunders elsevier*, 592.
- Gilman, A.G., Goodman, L.S., Rall, T.N., Murat, F. (1985). The Pharmacological Basis of Therapeutics. 7<sup>th</sup> Edition, *The MacMillan Publish. Company, New York*, 1567-1570.
- Gross, W.B. (1992). Effects of ascorbic acid on stress and disease in chickens. *Avian Dis.* (**36**), 688-692.
- Goetzl, E.J., Wasserman, S.I., Gigli, I., Austen, K.F. (1974). Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. *Journal of Clinical Investigation*, **53**, 813-818.
- Goldschmidt, M.C. (1991). Reduced bactericidal activity in neutrophils from scorbutic animals and the effect of ascorbic acid on these target bacteria in vivo and in vitro. *American Journal Clinical Nutrition*, **54 (6)**, 1214-1220.
- Goodwin, J.S., Garry, P.J. (1983). Relationship between megadose vitamin supplementation and immunological function in a healthy elderly population. *Clinical and Experimental Immunology*, **51**, 647-653.
- Gubler, C.J. (1991). Thiamine. In: Handbook of Vitamins (Machlin, L. J., ed.) *Marcel Dekker, New York*, 2nd ed., 233-281.
- Guyton, A.C., Hall, J. E. (2006). Textbook Of Medical Physiology. *Saunders elsevier*, 1043-413.



- Hardie, L.J., Fletcher, T.C., Secombes, C.J. (1990). The effect of dietary vitamin C on the immune response of the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, **95**, 201-214.
- Heidrick, M.L., Albright, J.W., Makinodan, T. (1980). Restoration of impaired immune functions in aging animals. *Mechanisms of Ageing and Development*, **13**, 367-378.
- Henricks, P.A.J., Verhoef, J., Nijkamp, F.P. (1986). Modulation of cell functions. *Veterinary Research Communications*, **10**, 165-188.
- Herbert, R.W., Percival, E.G.V., Reynolds, R.J.W., Smith, F., Hirst, E.L. (1933). Constitution of ascorbic acid. *Journal of the Indian Chemical Society*, **52**, 221.
- Heuser, G., Vojdani, A. (1997). Enhancement of natural killer cell activity and T and B function by buffered vitamin C in patients exposed to toxic chemicals. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, **19 (3)**, 291-312.
- Horio, F., Ozaki, K., Kohmura, M., Yoshida, A., Makino, S., Hayashi, Y. (1986). Ascorbic acid requirement for the induction of microsomal drug-metabolizing enzymes in a rat mutant unable to synthesize ascorbic acid. *Journal of Nutrition*, **116 (11)**, 2278-2289.
- Howald, H., Segesser, B., Körner, W.F. (1975). Ascorbic acid and athletic performance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **258**, 458-464.
- Iqbal, K., Khan, A. (2004). Biological significance of ascorbic acid in human health. *Pakistan Journal Nutrition*, **3**, 5-13.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1993). Basic Histology Lange Medical Book. 273-311.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1989). Basic Histology, 6th Ed., *Prentice-Hall Inc.*, New Jersey.
- Kaplan, B., Gönül, B., Dinçer, S., Kaya, N.D., Babül, A. (2004). Relationships Between Tensile Strength, Ascorbic Acid, Hydroxyproline, and Zinc Levels of Rabbit Full- Thickness Incision Wound Healing. *Surg Today*, **34**, 747-751.

- Kara, C., Okyay, N., Şahin, U. (2008). Bazı Sebze ve Meyvelerde C Vitamini Tayini. *Tübitak Eğitimde Bilim Danışmanlığı Projesi*.
- Kay, N.E., Holloway, D.E., Hutton, S.W. (1982). Human T-cell function in experimental ascorbic acid deficiency and spontaneous scurvy. *American Journal Clinical Nutrition*, **36**, 127-130.
- Kayaalp, O. (1989). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. *Feryal Matbaacılık Ltd. Şti.*, Ankara.
- Kennes, B., Dumont, I., Brohee, D., Hubert, C., Neve, P. (1983). Effect of Vitamin C Supplements on Cell-Mediated Immunity in Old People. *Gerontology*, **29**, 305-310.
- Khassaf, M., McArdle, A., Esanu, C., Vasilaki, A., McArdle, F., Griffiths, R.D., Brodie, D.A., Jackson, M.J. (2003). Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, **549**, 645-652.
- Kristensen, B., Thomsen, P.D., Palludan, B., Wegger, I. (1986). Mitogen stimulation of lymphocytes in pigs with hereditary vitamin C deficiency. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **27**, 486-496.
- Kurl, S., Tuomainen, T.P., Laukkanen, J.A., Nyssönen, K., Laka, T., Sivenius, J., Salonen, J.T. (2002). Plasma Vitamin C Modifies the Association Between Hypertension and Risk of Stroke. *Stroke*, **33**, 1568-1573.
- Laitinen, L.A., Laitinen, A., Hahtela, T. (1993). Airway mucosal inflammation even in patients with newly diagnosed asthma. *Am Rev Respir Dis*, **147**: 697.
- Larson, R.A., (1997). Naturally Occuring Antioxidants. *Lewis Publisher, CRC-Press*; 1 edition, 208.
- Levin, A., DeSouza, C., Zaarour, C., Walsh, W., Chan, M.K., Verjee, Z., McIntyre, S., Adeli, K. (2010). Pediatric reference intervals for lymphocyte vitamin C (ascorbic acid). *Clinical Biochemistry*, CLB-07494; pages: 4; 4C.
- Levine, M. (1986). New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. *New England Medicine*, **314**, 892-902.

Lind, J. (1757). A treatise on the scurvy.

Lunec J., Blake, D. (1990). Oxygen Free Radicals: Their relevance to disease processes, In: Cohen RD, Lewis B, Albert KGMM. The Metabolic and Molecular Basis of Acquired Disease. *Bailliere Tindall*, London. 189-212.

Machlin, L.J., Garcia, F., Kuenzing, W., Brin, M. (1979). Anti-scorbutic activity of ascorbic acid in the rhesus monkey and guinea pig. *American Journal Clinical Nutrition*, **32**, 325-331.

Machlin, L.J., Garcia, F., Kuenzing, W., Richter, C.B., Spiegel, H.E., Brin, M. (1976). Lack of anti-scorbutic effect of ascorbate-2-sulphate in the rhesus monkey. *American Journal Clinical Nutrition*, **29**, 825-831.

Marshall, R.J., Scott, K.C., Hill, R.C., Lewis, D.D., Sundstrom, D., Jones, G.L., Harper, J. (2002). Supplemental vitamin C appears to slow racing greyhounds. *Journal Nutrition*, **132**, 1616-1621.

May, J.M. (2000). How does ascorbic acid prevent endothelial dysfunction? *Free Radical Biology and Medicine*, **28 (9)**, 1421-1429.

Mayer, G., Nyland, J. (2010). Cells Involved in Immune Responses and Antigen Recognition. *Immunology*, 9.

Metzger, Z., Hoffeld, J.T., Oppenheim, J.J. (1980). Macrophage-mediated suppression. *Journal Immunology*, **124**, 983-988.

Meydani, S.N., Barklund, M.P., Liu, S. (1990). Vitamin E supplementation enhances cell-mediated immunity in healthy elderly subjects. *American Journal Clinical Nutrition*, **52**, 557-563.

Michels, A.J., Joiser, N., Hagen, M.T. (2003). Age-related decline of sodium-dependent ascorbic acid transport in isolated rat hepatocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **410**, 112-120.

Mishra, A., Hogan, S.P., Brandt, E.B., Rothenberg, M.E. (2002). IL-5 promotes eosinophil trafficking to esophagus. *Journal of Immunol* **168**, 2464-2469.

Moser, U. (1987). Uptake of ascorbic acid by leukocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **498**, 200-215.

Moser, U.K. (1990). Physiology and metabolism of ascorbic acid. Pages 3-16 in Proc. 2nd Symp. Ascorbic Acid in Domes. Anim. C. Wenk, R. Fenster, and L. Völker, ed. Kartause Ittingen, Switzerland.

Muma, R.O., Verlangieri, A.J. (1972). Isolation of ascorbic acid-2-sulphate from selected rat organs. *Biochimica Biophysica Acta*, **273**, 249-253.

Nelson, E.W. (1978). Demonstration of saturation kinetics in the intestinal absorption of vitamin C in man and guinea pig. *Journal of Clinical Pharmacology*, **18** (7), 325-335.

Novikova, A.N., Mamedov, L.A., Egorova, N.D., Shekhter, A.B., Nikolaev, A.V. (1988). Ascorbic acid and hydroxyproline levels in the serum and granulation tissue of rats with aseptic and infected wounds. *Biull Eksp Biol Med*, **106**, 9, 355-358.

Odabaşoğlu, F. (1999). Antioksidan vitaminler, Atatürk Üniversitesi Eczacılık Fakültesi konferans kitapçığı, Erzurum.

Othmer, K.D.F. (1955). Encyclopedia of Chemical Technology, Edited by Raymond, E., N.Y, Vol.2, 151.

Öğütçü, A., Ulusoy, Y., Kahraman, K., Uzunhisarcikli, M., Uzun, F.G., Taştan, H. (2007). Metil Parathion'un sıçanların ince bağırsak dokusu üzerine etkisi ve vitamin C ve E'nin koruyucu rolü. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **18**, 21 – 26.

Öz, G. (2008). Vitaminlerin Yaşamımızdaki yeri nedir, ne olmalıdır? Hacettepe Üniversitesi.

Özaslan, M., Aytekin, T., Kılıç, İ.H., Bozkurt, A.I., Güldür, M.E., Cengiz, B., Bağcı, C. (2004). The Effect of Vitamin C Supplementation on Leucocyte Counts And Exercise Performance. *An International Electronic Journal*, **7**, 1097-9751.

Panush, R.S., Delafuente, J.C., Katz, P., Johnson, J. (1982). Modulation of certain immunologic responses by vitamin C. III. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **23**, 35-47.

- Paolini, M., Cantelli-Forti, G., Perocco, P., Pedulli, G.F., Abdel-Rahman, S.Z., Legator, M.S. (1999). Co-carcinogenic effect of  $\beta$ -carotene. *Nature*, **398**,760-761.
- Papas, A.M. (1998). Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health. *CRC Series in Contemporary Food Science*, 159-650.
- Penn, N.D., Purkins, L., Kelleher, J. (1991). The effect of dietary supplementation with vitamins A, C and E on cell-mediated immune function in elderly long-stay patients. *Age Aging*, **20**, 169-174.
- Perdue, S.L., Thaxton, J.P., Brake, J. (1985). Role of ascorbic acid in chicks exposed to high environmental temperature. *J. Applied Physiol*, **58**, 1511-1516.
- Prasad, J.S. (1980). Effect of vitamin E supplementation on leukocyte function. *American Journal Clinical Nutrition*, **33**, 606-608.
- Reichstein, T., Grussner, A., Oppenauer, R. (1933). Synthese der d-und L-Ascorbinsaure (C Vitamins). *Helvetica Chimica Acta*, **16**, 1019.
- Rosenfeld, L. (1997). Vitamine-vitamin. The early years of discovery. *Clinical Chemistry*, **43 (4)**, 680–685.
- Sauberlich, H.E. (1994). Pharmacology of vitamin C. *Annual Review of Nutrition*, **14**, 371-391.
- Shahidi, F. (1998). Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications. *Champaign, AOCS Press*, 432.
- Sharma, P., Raghavan, S.A., Saini, R. (2004). Ascorbate- mediated enhancement of reactive oxygen species generation from polymorphonuclear leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology*, **75 (6)**, 1070-1078.
- Shilotri, P.G., Bhat, K.S. (1977). Effect of Mega Doses of Vitamin C on Bactericidal Activity of Leukocytes. *The American Journal of Clinical Nutrition*. **30**, 1077-1081.
- Siddique, Y.H. (2006). Effect of Vitamin C on Cyproterone Acetate Induced Genotoxic Damage in Mice. *Research Journal of Biological Sciences 1*, (**1: 4**), 69-73.

Siegel, B.V., Morton, J.I. (1977). Vitamin C and the immune response. *Experientia*, **33**, 393-395.

Spencer, R.P., Pardy, S., Koeldtke, R. (1963). Studies on intestinal absorption of L-Ascorbic acid-L-<sup>14</sup>C. *Gastroenterol.* **44**, 768-773.

Standefer J.C., Vanderjagt, D., Anderson, R.E. (1987). Protective effect of ascorbate on radiationsensitive thymidine uptake by lymphocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **498**, 519-521.

Stevenson, N.R. (1974). Active transport of L-Ascorbic acid in the human ileum. *Gastroenterol.* **67**, 952-956.

Stevenson, N.R., Brush, M.K. (1969). Existence and characteristics of sodium-dependent active transport of ascorbic acid in guinea pig. *American Journal Clinical Nutrition*, **22**, 318-326.

Stewart, C.P, Guthrie, D. (1953). Lind's treatise on scurvy: a bicentennial volume containing a reprint of the first edition of *A Treatise on Scurvy* by James Lind, MD, with additional notes. Edinburgh: *Edinburgh University Press*; 145-8.

Stites, D.P., Terr, A.I. (1991). Basic and Clinical Immunology. 7th Ed., *Appleton and Lange Press, California*.

Sulak, O., Altuntaş, I., Karahan, N., Yıldırım, B., Aktürk, O., Yılmaz, H., Delibaş, N. (2005). Nephrotoxicity in rats induced by organophosphate insecticide methidathion and ameliorating effects of vitamin E and C. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **83**, 21-287.

Sungurluoglu, K., Agca, M. (1989). Kansere karşı hasta direncinin artırılmasında askorbik asidin etkileri. *Optimal Tıp Dergisi*, **2**, 134-136.

Takaki, K. (1985). On the cause and prevention of kakke. *Sei-i-Kwai Medical Journal*, **4**: 29.

Tee, E.S., Young, S.I., Ho, S.K., Siti Mizur, S. (1988). Determination of Vitamin C in Fresh Fruits and Vegetables Using the Dye-titration and Microfluorometric Methods. *Pertanika*, **11 (1)**, 39-44.

The Merck Index, Ninth Edition, Published by Merck, Co., Inc., New Jersey. USA 859 (1976).

Tuncer, A. (2008). Normal Diyet ve Metiyoninden Zengin Diyetle Beslenen Sıçanlarda Serum Asimetrik Dimetil Arginin (Adma) Düzeyleri Üzerine Vitamin E, Vitamin C, Vitamin B<sub>6</sub> ve Folik Asidin Etkileri. *Trakya Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ABD*, 79-32.

Vasdev, S., Ford, C.A., Parai, S., Longerich, L., Gadag, V. (2000). Dietary vitamin C supplementation lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **218**, 97-103.

Victor, V.M., Guayerbas, N., (2002). De F.M. Changes in the Antioxidant Content of Mononuclear Leukocytes from Mice With Endotoxin-Induced Oxidative Stress. *Molecular Cell Biochemical*. **229 (1-2)**, 107-111.

Visagie, M.E., Du Plessis, J.P., Laubsher, N. (1975). Effect of Vitamin C Supplementation on Black Mine-Workers. *South African Medical Journal*, **1 (49)**, 889-892.

Yavuz, T., Delibaş, N., Yıldırım, B., Altuntaş, I., Candır, O., Cora, A., Karahan, N., İbrişim, E., Kutsal, A. (2004). Vascular wall damage in rats induced by methidathion and ameliorating effect of vitamins E and C. *Archives of Toxicology*. **78**, 655-659.

Yıllar, D.O. (1989). İnsanlara Kolin Askorbat ve C Vitamini Uygulanmasından Sonra Kan Askorbik Asid Düzeylerinin Karşılaştırılması ve Kolin Askorbatın Stabilitesi. *İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji ABD*, 63-9.

Yonemoto, R.H. (1979). Vitamin C and immune responses in normal controls and cancer patients. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, **19**, 143-154.

Wang, Z.Q., Cui, J., Wu, F. (1998). Epidemiological, clinical and serological studies on trichinellosis in Henan Province, China. *Acta Trop*, **30 (71)**, 255-268.

Weller, P.F. (1991). The immunobiology of eosinophils. *The New England Journal of Medicine*, **324 (16)**: 1110.

Wills, R.B.H., Wimalasiri, P., Greenfield, H. (1983). Liquid chromatography, microfluorometry, and dye-titration determination of vitamin C in fresh fruit and vegetables. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, **66**, 1377-1379.

Zilva, S.S. (1936). Vitamin C requirement of the guinea pig. *Biochemistry*. 30, 1419.

Zinkl, J.G. (1989). Leucocyte function. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Ed. Kaneko, J.J., 4th Ed., *Academic Press Inclusion.*, New York, 316-337.