

UJI EFEKTIVITAS VITAMIN C DALAM MENINGKATKAN KADAR SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) PLASMA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG TERPAPAR HEAT STRESS

Tinanda Tarigan¹, Lusiana Batubara², Dwi Ngestiningsih²

¹ Mahasiswa Program S-1 Ilmu Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim pertama dalam mekanisme pertahanan terhadap superoksida. Paparan *heat stress* dapat menurunkan kadar SOD yang dapat memicu timbulnya stres oksidatif. Antioksidan tambahan dari luar tubuh diperlukan dalam kondisi ini. Vitamin C merupakan senyawa yang telah dikenal secara luas sebagai antioksidan. Pemberian vitamin C dapat meningkatkan kadar SOD.

Tujuan Membuktikan efektivitas pemberian vitamin C dalam meningkatkan kadar SOD plasma tikus *Sprague Dawley* yang terpapar *heat stress*.

Metode Penelitian ini merupakan *true experimental randomized post test only control group design*. Sampel berjumlah 12 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang memenuhi kriteria dan dibagi dalam dua kelompok; kelompok K diberikan paparan *heat stress* pada suhu 43⁰C selama 70 menit, dan kelompok P diberikan vitamin C 0,075 mg/gBB 2 jam sebelum diberi paparan *heat stress* 43⁰C selama 70 menit. Tikus kemudian diterminasi dan diambil darahnya melalui *plexus retroorbital*. Plasma yang diperoleh dilakukan pengukuran kadar SOD dengan metode ELISA. Data dianalisis dengan uji t tidak berpasangan.

Hasil Rerata kadar SOD plasma: kelompok K sebesar 12.88 ± 2.89 ng/ml; kelompok P sebesar 18.82 ± 5.22 ng/ml. Pada uji t tidak berpasangan didapatkan nilai signifikan (p<0.05) dengan nilai p=0.022.

Kesimpulan Vitamin C terbukti efektif meningkatkan kadar SOD plasma tikus *Sprague Dawley* yang terpapar *heat stress* secara signifikan.

Kata kunci : Vitamin C, Superoksida dismutase, *heat stress*, radikal bebas

ABSTRACT

EFFECT OF VITAMIN C TO INCREASE SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) PLASMA LEVELS OF SPRAGUE DAWLEY RATS EXPOSED BY HEAT STRESS

Background Superoxide dismutase (SOD) is the first enzyme in the superoxide defense mechanism. The heat stress exposure decreased SOD levels that can result oxidative stress. Additional antioxidants from outside of the body are required under these conditions. Vitamin C is a compound that has been widely known as an antioxidant. Administration of vitamin C is expected to increase levels of SOD.

Aim To prove the effectiveness of vitamin C in increasing the SOD plasma level before heat stress exposure.

Methods True Experimental Post Test Only Control Group design. Samples were 12 male Sprague Dawley Rats which fulfilled the criteria. Samples were randomized into 2 groups; K was exposed to heat stress at 43⁰C in 70 minutes; group P was administered with vitamin C 0.075 mg/g samples were collected to measure the SOD levels with ELISA method. The data was analyzed with Independent t test.

Result The mean of SOD plasma levels: group K was 12.88 ± 2.89 ng/ml; group P was 18.82 ± 5.22 ng/ml. Independent t test found significant ($p < 0.05$) with $p = 0.022$.

Conclusion Vitamin C has been proved to effectively increase SOD plasma levels of Sprague Dawley rats exposed by heat stress significantly

Key word : Vitamin C, Superoxide dismutase, Heat Stress

PENDAHULUAN

Kemampuan manusia untuk beradaptasi dengan temperatur lingkungan sangatlah penting untuk bertahan hidup, namun sistem tersebut terganggu ketika tubuh mengalami *heat stress*. *Heat stress* terjadi ketika akumulasi panas dalam tubuh melebihi kemampuan tubuh untuk mengeluarkan panas berlebihan dan mengakibatkan tubuh mengalami stres oksidatif.^{1,2} Stres oksidatif dapat mengakibatkan disfungsi seluler seperti penuaan, kanker, dan penyakit-penyakit lainnya hingga kematian.^{3,4,5}

Permasalahan kesehatan akibat *heat stress* sudah terjadi di beberapa negara. Penelitian terbaru di Amerika menemukan bahwa rujukan pasien dengan gangguan pernapasan terkait *heat stress* meningkat sebesar 4,3% setiap kenaikan suhu lingkungan sebesar 10° F.⁶ *Heat stress* yang terjadi di Australia pada tahun 2009 menyebabkan kenaikan mortalitas sebesar 62% di Melbourne dan 10% di Adelaide dan diperkirakan ada 500 kematian yang diakibatkan oleh *heat stress*.⁷ Ancaman *heat stress* akan terus meningkat seiring

dengan terjadinya pemanasan global. Menurut *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), durasi, intensitas, dan frekuensi paparan panas akan meningkat di beberapa negara pada masa yang akan datang.⁸

Superoksida dismutase (SOD) merupakan enzim pertama dalam mekanisme pertahanan terhadap superoksida dan dapat mengurangi reaksi superoksida yang kemudian melindungi tubuh dari keracunan superoksida, namun *heat stress* diketahui dapat menyebabkan penurunan kadar SOD.^{9,10} Hal ini mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah oksidan dan antioksidan sehingga akan memicu timbulnya stres oksidatif. Antioksidan tambahan dari luar tubuh diperlukan untuk membantu tubuh dalam menghadapi keadaan meningkatnya radikal bebas superoksida dalam tubuh.¹¹

Salah satu antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas adalah asam askorbat atau vitamin C. Antioksidan ini berperan penting dalam tubuh diantaranya membantu kerja enzim tertentu atau

prekursor, melindungi zat makanan dari oksidan, membantu penyerapan makanan dalam usus dan melindungi bagian darah yang sensitif terhadap oksidan.^{12,13}

Selama ini belum pernah dilakukan penelitian untuk menguji efektivitas pemberian vitamin C dalam meningkatkan kadar SOD plasma tikus yang terpapar *heat stress*. Berdasarkan latar belakang di atas, perlu diteliti efektivitas pemberian vitamin C dalam meningkatkan kadar SOD plasma tikus yang terpapar *heat stress*.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group* yang menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Perlakuan dan pemeliharaan hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan pemeriksaan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro pada bulan Juli 2017. Sampel yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* jantan dengan kriteria inklusi berat badan tikus 250-300 gram, usia tikus 2-3 bulan, dan tikus jantan. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah adanya kelainan anatomis dan pada pengamatan visual tikus tampak tidak aktif dan sakit.

Hewan coba yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi dibagi secara acak menjadi 2 kelompok dengan 5 ekor tikus pada masing-masing kelompok. Satu kelompok diberikan paparan *heat stress* pada suhu 43⁰ C selama 70 menit dan berfungsi sebagai kontrol. Satu kelompok diberikan paparan *heat stress* pada suhu 43⁰ C selama 70 menit dan vitamin C dengan dosis 0,075 mg/g BB per tikus selama 2 jam dan berfungsi sebagai perlakuan. Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian vitamin C dengan dosis 0,075 mg/g BB, sedangkan variabel terikat yaitu kadar SOD plasma. Kedua kelompok akan dipaparkan terhadap suhu 43⁰C selama 70 menit setelah dilakukan pemberian vitamin C 2 jam sebelumnya pada kelompok P. Setelah dilakukan pemaparan suhu 43⁰C selama 70 menit, dilakukan pengambilan sampel darah pada tiap kelompok. Darah diambil pada daerah *plexus retroorbital*. Darah yang telah diambil dilakukan sentrifugasi dan dimasukkan ke dalam tabung EDTA. Plasma yang didapat dilakukan pemeriksaan kadar SOD dengan metode ELISA.

Data yang diperoleh adalah data primer. Data dimasukkan ke dalam *file* komputer dan dianalisis dengan menggunakan program *SPSS 18 for*

Windows®. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Uji *Levene's test* digunakan untuk uji homogenitas data dan uji T tidak berpasangan digunakan untuk menganalisis perbedaan antar kelompok, dengan nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p < 0,05$ pada interval kepercayaan 95%.

HASIL

Penelitian ini dilakukan pada tikus *Sprague Dawley* jantan yang telah memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi. Selama masa penelitian, tidak didapatkan masalah, komplikasi, ataupun efek samping sehingga tidak dilakukan *drop out* dan sampel yang digunakan berjumlah 12 sampel. Penelitian dilakukan selama 8 hari dan diakhiri dengan pengambilan darah tikus dan pemeriksaan kadar SOD plasma tikus. Hasil pengukuran kadar SOD plasma tikus *Sprague Dawley* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar SOD Plasma (ng/ml)

Kelompok Perlakuan	Rata-rata kadar SOD plasma ± SD		p
	(ng/ml)		
K	12.88 ± 2.89		0,022*
P	19.45 ± 4.28		

*perbedaan signifikan/bermakna

Rata-rata kadar SOD plasma pada kelompok K adalah 12.88 ± 2.89 , dan rata-rata kadar SOD plasma pada kelompok P adalah 19.45 ± 4.28 . Uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal ($p > 0,05$) pada kedua kelompok. Uji homogenitas dengan uji *Levene's test* memiliki $p = 0,443$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa data homogen. Uji statistik T tidak berpasangan menghasilkan nilai $p = 0,022$ ($p < 0,05$) sehingga didapatkan perbedaan yang bermakna antar kelompok.. Rata-rata kadar SOD plasma pada kelompok K adalah 12.88 ± 2.89 , dan rata-rata kadar SOD plasma pada kelompok P adalah 19.45 ± 4.28 . Uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data normal ($p > 0,05$) pada kedua kelompok. Uji homogenitas dengan uji *Levene's test* memiliki $p = 0,443$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa data homogen. Uji statistik T tidak berpasangan menghasilkan nilai $p = 0,022$ ($p < 0,05$) sehingga didapatkan perbedaan yang bermakna antar kelompok. Dapat diambil kesimpulan berdasarkan hipotesis, yaitu kadar SOD plasma tikus yang terpapar *heat stress* pada kelompok yang diberi vitamin C lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberi vitamin C diterima

PEMBAHASAN

Pemberian paparan *heat stress* dilakukan terhadap tikus dengan tujuan meningkatkan anion superoksida sehingga terjadi respon tubuh yang ditandai dengan perubahan kadar SOD plasma tikus.¹⁴ Xiaojing Lin et al (2017) menyatakan bahwa paparan *heat stress* 43⁰ selama 70 menit dapat menyebabkan penurunan kadar antioksidan tubuh.¹⁵

Efek dari paparan akut *heat stress* pada status antioksidan tikus telah diteliti secara intensif. Penelitian oleh Madhuri et al (2014) menunjukkan bahwa paparan akut terhadap stres panas selama empat jam dalam satu hari menunjukkan peningkatan signifikan dalam peroksidasi lipid. Peningkatan tingkat peroksidasi lipid adalah bukti yang mendukung keterlibatan stres oksidatif pada jaringan. Data menunjukkan bahwa ada aktivasi prekursor radikal bebas di semua jaringan yang diteliti. Antioksidan, baik enzimatis (superoksida dismutase, glutathione peroxidase & katalase) dan nonenzimatis (vitamin C dan E) memberikan pertahanan yang diperlukan terhadap stres oksidatif yang ditimbulkan karena suhu lingkungan yang tinggi.¹⁶ Masih ada kontroversi pada aktivitas antioksidan yang diakibatkan oleh *heat stress*. Hal ini bergantung pada spesies hewan dan waktu.¹⁷ Penelitian lain

melaporkan bahwa aktivitas SOD miokard tidak dimodifikasi 24 jam setelah paparan *heat stress* pada tikus.^{18,19}

Pemberian vitamin C dengan dosis 0,075 mg/gBB sebelum diberikan paparan *heat stress* pada suhu 43⁰C selama 70 menit pada kelompok perlakuan (P) menghasilkan kadar SOD plasma lebih tinggi 51% jika dibandingkan kontrol negatif (K). Pada penelitian ini, pemberian vitamin C dosis 0,075 mg/gBB sebelum paparan *heat stress* pada 43⁰C selama 70 menit terjadi peningkatan kadar SOD plasma secara signifikan.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ozlem (2009) yang melakukan penelitian tentang suplementasi vitamin C pada kondisi stress oksidatif akibat DM tipe 2 pada tikus yang diinduksi dengan streptozotocin (STZ). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C meningkatkan kadar SOD dan enzim katalase dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberi vitamin C.²⁰ Temuan ini juga sejalan dengan hasil penelitian Egbuniwe (2016) yang melakukan penelitian tentang pemberian vitamin C dan betaine dapat meningkatkan kadar SOD pada unggas yang terpapar *heat stress* pada musim panas.²¹ Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian vitamin C dapat

meningkatkan kadar SOD plasma secara signifikan pada sampel unggas. Penelitian tersebut dilakukan pada kondisi *heat stress* yang terjadi dalam rentang suhu 35-38⁰C selama 6 minggu.²²

Vitamin C bekerja sebagai pendonor elektron dan agen pereduksi. Efek dari vitamin C secara fisiologis dan biokimia berhubungan dengan cara kerjanya sebagai pendonor elektron. Zat ini dapat disebut sebagai antioksidan karena vitamin C dapat mencegah terjadinya stress oksidatif melalui donor elektron.²³ Antioksidan ini sangat penting di plasma, dapat bekerja di jaringan dan berperan sebagai faktor anti-stres pada konsentrasi tinggi. Vitamin C juga mencegah aktivitas pro-oksidan vitamin E dengan mengurangi aktifitas radikal tokoferol sehingga berperan dalam meningkatkan antioksidan total dan mengurangi ROS. Vitamin C dapat menghambat peroksidasi, membersihkan radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya stress oksidatif.¹⁶

Vitamin C dapat meningkatkan kadar SOD karena dapat menangkap radikal bebas superoksida dan meminimalkan kerusakan yang ditimbulkan oleh stres oksidatif. Antioksidan ini bereaksi dengan superoksida membentuk hidrogen peroksida dan oksigen yang meringankan

kerja SOD sehingga aktivitas SOD dalam menghambat radikal bebas menjadi lebih tinggi.¹¹ Hipólito (2015) menjelaskan bahwa vitamin C dapat memberikan pengaruh secara langsung terhadap SOD melalui aktivitas biologis SOD dengan fosforilasi p38MAPK. Vitamin C meningkatkan fosforilasi p38MAPK yang dapat dihubungkan dengan aktivasi SOD.²⁴ Pemberian suplemen vitamin C dapat meningkatkan pertahanan antioksidan dalam melawan radikal bebas pada manusia yang diakibatkan oleh aktivitas maupun penyakit metabolik.^{25,26} Pada penelitian ini, vitamin C terbukti secara statistik dapat meningkatkan kadar SOD plasma dalam tubuh akibat *heat stress* sehingga dapat dijadikan rekomendasi atau penelitian lebih lanjut mengenai pengaruhnya terhadap paparan *heat stress* pada manusia.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pemberian vitamin C meningkatkan kadar SOD plasma tikus *Sprague Dawley* yang terpapar *heat stress*. Hal ini dibuktikan dengan pemberian vitamin C dengan dosis 0.075 mg/gBB 2 jam sebelum terpapar *heat stress* pada kelompok perlakuan (P) terbukti efektif dalam meningkatkan kadar SOD plasma tikus

Sprague Dawley secara signifikan jika dibandingkan kontrol positif (K).

Saran

Penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh vitamin C diharapkan dilakukan pada *heat stress* tipe kronik dengan variasi waktu paparan *heat stress*. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk pemeriksaan antioksidan enzimatis lainnya. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai penggunaan vitamin C sebelum dan sesudah terpapar *heat stress* pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kovats RS, Hajat S. Heat Stress and Public Health: A Critical Review. *Annu Rev Public Health*. 2008 Apr;29(1):41–55.
2. Laitano O, Kalsi KK, Pook M, Oliveira AR, González-Alonso J. Separate and combined effects of heat stress and exercise on circulatory markers of oxidative stress in euhydrated humans. *Eur J Appl Physiol*. 2010;110(5):953–60.
3. Fukai T, Ushio-Fukai M. Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(6):1583–606.
4. Sharma HS. Hyperthermia induced brain oedema: Current status & future perspectives. 2006;(May):629–52.
5. Tong S, Wang XY, Yu W, Chen D, Wang X. The impact of heatwaves on mortality in Australia: a multicity study. *BMJ Open*. 2014;4(2):e003579.
6. Anderson GB, Dominici F, Wang Y, McCormack MC, Bell ML, Peng RD. Heat-related emergency hospitalizations for respiratory diseases in the medicare population. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(10):1098–103.
7. Nitschke M, Tucker GR, Hansen AL, Williams S, Zhang Y, Bi P. Impact of two recent extreme heat episodes on morbidity and mortality in Adelaide, South Australia: a case-series analysis. *Env Heal*. 2011;10:42.
8. Field CB. Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation. Barros, V., Stocker, T.F., Qin, D., Dokken, D.J., Ebi, K.L., Mastrandrea, M.D. et al., editor. Cambridge University Press, The Edinburgh Building, Shaftesbury Road, Cambridge CB2 8RU ENGLAND. The Intergovernmental Panel on Climate

- Change (IPCC).; 2012. 90-93 p.
9. Rasheed O, Al-Rubayee W. Effects of Cigarette Smoking on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Iraqi Men at Baghdad City. *Int J Basic Appl Sci.* 2012;2(1):47–50.
 10. Wang C, Zhang S, Tian Y, Wang B, Shen S. Effects of Simulated Heat Waves on ApoE^{-/-} Mice. *Int J Environ Res Public Health.* 2014;11(2):1549–56.
 11. Budi Ekanto, Syamsudin TPH. Pengaruh Pemberian Teh Rosella (Hibiscus Sabdariffa) Terhadap Kadar Superoxide Dismutase (Antioksidan Tubuh Utama) Pada Tikus Jantan Remaja Yang Diberi Alkohol. 2012;8(1):7–16.
 12. Moreira MA, Nascimento MA, Bozzo TA, Cintra A, Da Silva SM, Dalboni MA, et al. Ascorbic acid reduces gentamicin-induced nephrotoxicity in rats through the control of reactive oxygen species. *Clin Nutr.* 2014;33(2):296–301.
 13. Hurrell R, Egli I. Iron bioavailability and dietary reference values. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(5):1461S–1467S.
 14. Belhadj Slimen I, Najjar T, Ghram A, Dabbebi H, Ben Mrad M, Abdrabbah M. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *Int J Hyperth.* 2014;30(7):513–23.
 15. Lin X, Lin C-H, Zhao T, Zuo D, Ye Z, Liu L, et al. Quercetin protects against heat stroke-induced myocardial injury in male rats: Antioxidative and antiinflammatory mechanisms. *Chem Biol Interact.* 2017;265:47–54.
 16. Madhuri BA. Antioxidant Changes in Wistar Albino Rats After Acute Heat Stress. 2014;5(9):3999–4003.
 17. Arnaud C, Joyeux M, Garrel C, Godin-Ribuot D, Demenge P, Ribuot C. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardioprotection in isolated rat hearts. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2002 Apr [cited 2017 Oct 11];135(7):1776–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11934819>
 18. Xi L, Chelliah J, Nayeem MA, Levasseur JE, Hess ML, Kukreja RC. Whole Body Heat Shock Fails To Protect Mouse Heart Against Ischemia/ Reperfusion Injury: Role of 72 kDa Heat Shock Protein and

- Antioxidant Enzymes. *J Mol Cell Cardiol* *J Mol Cell Cardiol* [Internet]. 1998 [cited 2017 Oct 11];30(30):2213–27. Available from: [http://www.jmmc-online.com/article/S0022-2828\(98\)90781-7/pdf](http://www.jmmc-online.com/article/S0022-2828(98)90781-7/pdf)
19. Currie RW, Karmazyn M, Kloc M, Mailer K. Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery. *Circ Res* [Internet]. 1988 Sep 1 [cited 2017 Oct 11];63(3):543–9. Available from: <http://circres.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.RES.63.3.543>
20. Yildirim O. The effect of vitamin C and cobalt supplementation on antioxidant status in healthy and diabetic rats. *African Journ Biotechnol*. 2009;8(19):5053–8.
21. Egbuniwe IC, Ayo JO, Kawu MU, Mohammed A. Effects of betaine and ascorbic acid on tonic immobility, superoxide dismutase and glutathione peroxidase in broiler chickens during the hot-dry season. *J Vet Behav Clin Appl Res* [Internet]. 2016 Mar [cited 2017 Oct 9];12:60–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1558787815001914>
22. Reddy,Varaprasad LSS, V Leela, B Sudhakara Reddy, P Ananda Reddy. A Study of the Effect of Vitamin C and Ocimum Sanctum Supplementation on Antioxidant Enzyme Levels in Broilers Under Heat-Stress. *Int J Vet Heal Sci Res* [Internet]. 2014 May 31 [cited 2017 Oct 9];21–3. Available from: <http://scidoc.org/articlepdfs/IJVHSR/IJVHSR-2332-2748-02-201.pdf>
23. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee J-H, et al. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 2003 Feb [cited 2017 Oct 10];22(1):18–35. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/07315724.2003.10719272>
24. Hipólito U V., Callera GE, Simplicio JA, De Martinis BS, Touyz RM, Tirapelli CR. Vitamin C prevents the endothelial dysfunction induced by acute ethanol intake. *Life Sci*. 2015;141:99–107.
25. Kathore, Vinod, A.N. Shete. Effect of vitamin C supplementation on serum superoxide dismutase levels in the patients of type 2 diabetes mellitus. *Indian J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2011;55(5 SUPPL.

- 1):211–2. Available from:
http://www.ijpp.com/vol55_5/197-245.pdf
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed10&NEWS=N&AN=70708330>
26. Khassaf M, McArdle A, Esanu C, Vasilaki A, McArdle F, Griffiths RD, et al. Effect of Vitamin C Supplements on Antioxidant Defence and Stress Proteins in Human Lymphocytes and Skeletal Muscle. *J Physiol* [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2017 Oct 11];549(2):645–52. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1113/jphysiol.2003.040303>