



# **X**THERAPEIA NATURA

INTERNATIONAL SCIENTIFIC MAGAZINE OF MEDICINE  
REVISTA CIENTIFICA INTERNACIONAL DE MEDICINA

**Vitamin C:  
An Ergogenic Aid**

**Vitamina C:  
Una Ayuda Ergogénica**

**Bind Again With Earth  
Religarnos con la Tierra**

**Vitamin C and Leukemia  
Vitamina C y Leucemia**

January - March  
Enero - Marzo | 2019

**Nº 60**





# ACADEMIA MUNDIAL DE TERAPIA NEURAL HUNEKE Y ODONTOLOGÍA NEUROFOCAL

## SEMINARIO

Terapia Neural HUNEKE  
Odontología Neurofocal  
Medicina Ortomolecular

El SEMINARIO es un lugar de estudio donde los profesores guardan su semilla y esperan que los estudiantes den frutos de nuevos entendimientos y razones. Este conocimiento está orientado para médicos, odontólogos y profesionales de la salud. Es necesario el conocimiento previo de TNH, para la profundización de nuestra teoría y prácticas.

Aprovecha los carnavales,  
al máximo conocimiento

- +593 9 8425 8252
- info@ecuadorsoma.org
- www.ecuadorsoma.org

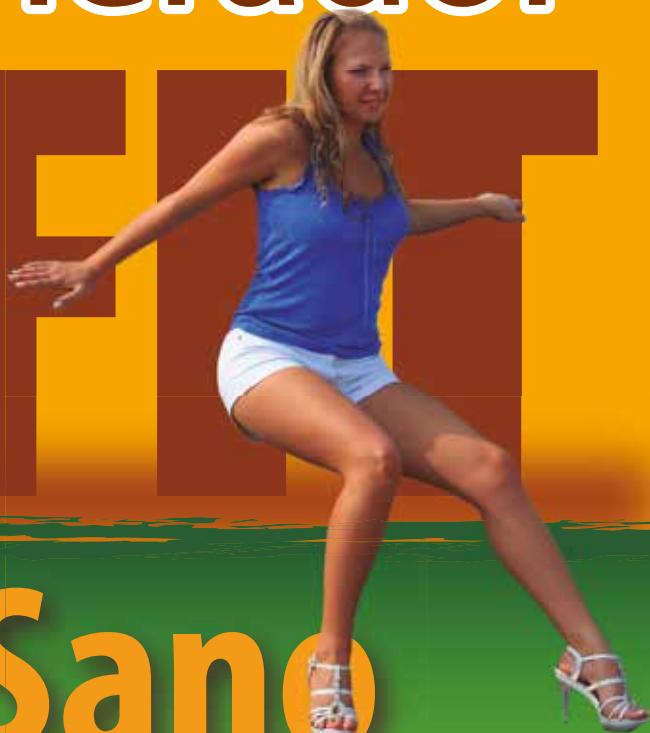
2019  
MARZO  
3-4-5



\$ 400 usd

# BioRegenerador®

# HEFIT



## Higado Sano Naturalmente

 FITHOM  
pharma

Registro Sanitario No. 166-PNN-0617



### BioRegeneración Hepática

Los principios activos del extracto de la planta *Bidens andicola* estimulan la colestiramina y el calomel que actúan como estimulantes del flujo biliar, también llamados colagogos. También tienen acción sobre la hepatocrinina, que es una hormona producida por la mucosa duodenal, que estimula la secreción hepática biliar. Los aminoácidos presentes en la planta son muy importantes en la absorción y digestión de las grasas, además de estar íntimamente ligados con los niveles de colesterol.

El BioRegenerador hepático promueve un ambiente celular e interacciones celulares saludables, contribuyendo a mantener funciones hepáticas normales y consiguientemente una regeneración.

encuéntralo en:

[www.farmaciasamaruka.com](http://www.farmaciasamaruka.com)  
[info@farmaciasamaruka.com](mailto:info@farmaciasamaruka.com)



farmacias  
**AMARUKA**

#BioRegenerador



# CONTENCE CONTENIDO

**5** Editoriales

**7** THERAPY BREAKTHROUGH /  
AVANCE TERAPÉUTICO

The Sound, Ordering Principle  
El Sonido, Principio Ordenante

**10** NATURAL TREND / TENDENCIA NATURAL

Vitamin C as an Ergogenic Aid  
La Vitamina C Como Ayuda Ergogénica

**14** NUTRITION / NUTRICIÓN

Bind Again With Earth  
Religarnos Con La Tierra

**17** EXPERT REPORT / REPORTE ESPECIALIZADO

High Doses of Vitamin C and Leukemia:  
In Vitro Update  
Altas Dosis De Vitamina C y Leucemia:  
Actualización In Vitro

Non profit publication. Every resource generated through sales, will be exclusively used for print and marketing. The statements presented in this article should not be considered medical advice or a way to diagnose or treat any disease or illness. Always seek the advice of a medical professional. The responsibility of each article published in this magazine, is granted to each author. All rights reserved. This publication can't be reproduced in full or partially, nor filed or transmitted in any electronic or mechanic record media, copy, microfilm, or any other means, without prior consent.

Publicación sin fines de lucro. Todos los recursos generados con su venta, son destinados exclusivamente a su impresión y difusión. Las declaraciones presentadas en este artículo no deben considerarse un consejo médico o una forma de diagnosticar o tratar cualquier enfermedad o dolencia. Siempre busque el consejo de un profesional médico. Los artículos publicados en esta revista son de exclusiva responsabilidad de cada autor. Derechos Reservados. Esta publicación no puede ser reproducida ni en todo, ni en parte, ni archivada o transmitida por ningún medio electrónico, mecánico, de grabación, de fotocopia, de microfilmación o en otra forma, sin el previo consentimiento.



COVER / PORTADA  
Fabio Formaggio

FOUNDER / FUNDADOR  
Prof. Dr. Méd. Fernando Pinto Floril

HONOR COUNCIL / CONSEJO DE HONOR  
Dr. Méd. Carlos Casanova-Lenti  
Dr. Méd. Holguer Huneka  
Dr. Méd. Julio César Payán  
Dr. Fernando Ríos Gómez  
Prof. Dr. José Nicolas Racca

EDITORIAL COUNCIL / CONSEJO EDITORIAL  
Dr. Odont. Mario Abad  
Dr. Méd. Jorge Luis Arturo  
Dr. Méd. Antonio Crespo Burgos  
Dr. Méd. Fernando Pinto Floril  
Dr. med. Hanz Peyer  
Dr. Méd. Julio Villarroel León  
Dr. Méd. Benno Wölfel  
Dr. Jorge Miranda Massari  
Dr. Michael J. González

PUBLISHERS / EDITORES  
Sociedad Médica Ecuatoriana de Terapias Naturales -  
SOMA

DESIGN AND LAYOUT / DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN  
Fernando Pinto Crespo

PHOTOGRAPHY / FOTOGRAFÍA  
123RF Limited  
SXC, HAAP Media Ltd.  
Inmagine Corporation LLC  
Freepick

IMPRINT / EDICIÓN  
5000 Prints / Ejemplares

PRINT WORK / IMPRESIÓN  
Imprenta Activa - 02 254 9146 - Quito-Ecuador

## COLABORATION / COLABORACIÓN

- Academia Mundial de Terapia Neural según Huneka y Odontología Neurofocal
- Academia Iberoamericana de Medicina Biológica y Odontoestomatología - AIMBO
- Linus Pauling Institute - Oregon State University
  - Dr. Rath Research Institute
- University of Puerto Rico, Medical Sciences Campus, School of Pharmacy, Department of Pharmacy Practice
- Whole Foods MAGAZINE

ISSN 1390 - 1443

ORDERS AND COMMENTS / PEDIDOS Y COMENTARIOS  
Telf.: (593-2) 514 6763 Quito,  
(593-4) 263 1311 Guayaquil - Ecuador  
Telf.: (511) 716 9977 Lima - Perú  
Telf.: (506) 229 70519 San José - Costa Rica

info@revistatherapeia.com

Quarterly publication #60  
January - March 2019

Publicación Trimestral #60  
Enero - Marzo 2019



# EDITORIAL

## 60

This image was photographed from the "lithic library" in Ica - Perú, 440 km south of the city of Lima. It is estimated that the time

in which this medical document was recorded was in the Secondary or the Mesozoic Era, this is 215 million years ago. It would seem absurd to think that the American man, not only inhabited the continent millions of years ago, but that their medical science was the most developed, even in relation to our Era (this is how we've been taught by the official science). The thousands of engraved stones show us that not only the Amerindian people lived with the dinosaurs, but in some cases tamed them. Unfortunately, there is no laboratory test to prove its antiquity, but the manager of the lytic library, Dr. Javier Cabrera Darquea, discovered in the same geological stratum a dinosaur vertebra together with a human vertebra, thus proving that the American man illustrated the drawings in stones of what they saw in that remote past.

It can be clearly seen in the present image, the representation of a surgery; caesarean section. It is recorded in a glyptolith of approximately one meter in diameter, with a blackish color and whose figures have been engraved with the deep scratching pattern, showing the figures of a woman and two men. At the far left we see a character that we could call the surgeon, in the middle there is a pregnant woman, with a mature fetus in a transverse position and on the far right is a character that could be called the pediatrician. It is easy to observe the "scalpel" of the surgeon's right hand and how his left hand pulls the child out of the mother's belly.

In addition, we can see that in the upper lip of the mother there are three needles that are inserted in point No. 28 of the so-called Governing Glass known by Chinese acupuncturists as Yinjiao (Extreme exchange). From the mouth of the doctor you can see that three needles also come out, but it is clearly noticed that they are not inserted, rather suggesting that the therapy applied to the patient (possible acupuncture anesthesia), has been prescribed and / or executed for the same, as saying that the doctor is responsible for such a decision.

According to the studies carried out by Dr. Javier Cabrera Darquea, written in his book: "The Message of the Recorded Stones of Ica", each detail of the figures has a meaning; for example, the two leaves that crown the surgeon, symbolize a mechanism (unknown at present) that allowed him to stimulate his brain to increase his cognitive function and also to convert directly the solar energy (photons) and the cosmic energy (corpuscular) in electronic energy, in this case for medical purposes. Under the leaves there is a band, which is the symbol that this man has a high scientific-spiritual rank that places him above others, his rank is a reflective and scientific man. The leaf-symbol of life- that the mouth of the pediatrician carries and another sheet that indicates the cutting instrument, reveal that the fetus is alive. The arrow that is observed, pointing to a point under the abdomen of the woman, means the point of incision down, that is, following the technique of the infraumbilical median laparotomy.

Apparently in the most remote periods of humanity, acupuncture was known as a means of healing, analgesia, anesthesia. This medical document that we can look at is proof that probably because of its antiquity, America is the cradle of acupuncture and medicine according to the thousands of evidences in all the medical areas bequeathed by the remote inhabitants of the American continent and transmitted until the 20th century by these books written in stone.

Communication is the way the universe transmits from the inside -called mind- to the outside, all kinds of processes: chemical, physical, molecular, restlessness, vacuums, discoveries, fears, diseases, death. Writing is a valuable communicative resource among human beings. From the most remote times, in which man could represent their deep experiences through drawings, hieroglyphs, symbols, and currently writing. Within the medical field, writing, is the way to feed on knowledge; to learn how to cure the patients. Physicians have had in written communication the most used resource for this purpose.

THERAPIA NATURA is a quarterly magazine that will be the kick of the doctor who wants to transmit their research, philosophy, experiences, within the field of natural medicine; old healing tool, that for approximately 25 years has been reborn in the world.

After the highest summit of orthodox medicine and its drugs, the Universal Consciousness guided the doctors to take up philosophies and millenary practices as ways of healing.

Millenary therapies such as Acupuncture, Naturism, Ch'ama, Ayurveda, have once again occupied the rightful place within the great world conglomerate. Currently what we call Natural Medicine is no longer as unknown as 25 years ago.

THERAPIA NATURA aims to be the most suitable communication between physicians who know, who want to know or who are unaware of the different natural therapies; which now a days humanity practices, researches, recommends, learns and prefers. Welcome everyone who communicates with humility: I know that I know nothing! This is the beginning, from here science begins, the teacher is NATURA.

Purposely, we have taken the name of NATURA, as Paracelsus expressed in one of his works written in Geneva in the year 1658: "Medicine is founded on Nature. Nature is medicine and only in that should men seek. Nature is the doctor's teacher, since is older than him, and she exists inside and outside of man". For this reason it seems appropriate to call Natural Medicine to all this set of forms of treatment, which use nature as therapeutic. Therapy comes from the Greek: Therapeia, honoring Hippocrates as the most important Western physician of antiquity, from whom we have now received the foundations of Natural Medicine. Natural Therapy is the way the doctor should reach their patients and it is the way we want to reach to the doctor and through him to humanity, being these the reasons of the name of this Journal recently born.

The logo was born from the writing of the ancient American Indian language Runa Simi and means the letter R. This letter represents the sky and the Earth, man, woman, microcosm, macrocosm, yin, yang, hia, hiu; the eternal complementary duality.

For the American Indian cultures it is very important the meaning of the number zero, the number of this edition -to such an extent that they associated it with God, with the Hunab Ku that means the Lord and giver of the measure and the movement. Says Black Elk: "Everything an Indian does is in a circle, and that is because the power of the world always works in circles and all things tend to be round. In the old days when we were a strong and happy people, all our power came to us from the sacred hoop of the nation, and so long as the hoop was unbroken the people flourished. Everything the power of the world does is done in a circle. The sky is round, and I have heard that the earth is round like a ball, and so are all the stars. Birds make their nests in circles, for theirs is the same religion as ours. Our teepees were round like the nests of birds, and these were always set in a circle, the nation's hoop, a nest of many nests, where the Great Spirit meant for us to hatch our children."





# EDITORIAL

# 60



Esta imagen fue fotografiada de la "biblioteca" lítica en ICA, a 440 km, al sur de la ciudad de Lima. Se calcula que la época en que se

plasmó este documento médico, fue en la secundaria o en la mesozoica, esto hace 215 millones de años. Parecería un disparate pensar que el hombre americano, no solo que habitaba el continente hace millones de años, si no que su ciencia médica fue la más desarrollada, en relación inclusive con nuestra era (así nos ha hecho estudiar y pensar la ciencia oficial). Las miles de piedras grabadas nos demuestran que no solamente el amerindio convivio con los saurios, sino que en algunos casos los domesticó. Lastimosamente no existe por el momento una prueba de laboratorio que compruebe su antigüedad, pero el gestor de la biblioteca lítica, el médico Javier Cabrera Darquea, descubrió en el mismo estrato geológico una vértebra de saurio junto a una vértebra humana, comprobando de esta manera científica que el hombre americano que ilustro los dibujos en piedras graficó lo que veía en ese remoto pasado.

Se puede apreciar claramente en la presente imagen, la representación de una cirugía; cesárea. Se encuentra grabada en un gliptolito de aproximadamente un metro de diámetro mayor, de color negruzco y cuyas figuras han sido grabadas con la modalidad del rayado profundo, se aprecian las figuras de una mujer y de dos hombres. Al extremo izquierdo observamos un personaje que podríamos llamarlo el cirujano, al medio se encuentra una mujer embarazada, con un feto maduro en posición transversa y al extremo derecho se encuentra un personaje que podría llamarse el pediatra. Es fácil observar el "bisturi" de la mano derecha del cirujano y cómo su mano izquierda extrae al niño del vientre de la madre.

Además, podemos ver que en el labio superior de la madre se encuentran tres agujas que se insertan en el punto Nº 28 del llamado Vaso Gobernador conocido por los acupunturistas chinos como Yinjiao (intercambio Extremo). De la boca del médico se puede ver que también salen tres agujas, pero se advierte claramente que no se encuentra insertadas, sin o más bien sugiere, que la terapia aplicada a la paciente (posible anestesia acupuntura), ha sido prescrita y/o ejecutada por el mismo, como diciendo que el medico es el responsable de tal decisión.

Según los estudios realizados por el Dr. Javier Cabrera Darquea, escritos en su libro: "El Mensaje de las Piedras Grabadas de Ica", cada detalle de las figuras tiene un significado; por ejemplo, las dos hojas que coronan al cirujano, simbolizan un mecanismo (desconocido en la actualidad) que le permitió estimular su cerebro para incrementar su función cognoscitiva y también para convertir directamente la energía solar (fotónica) y la energía cósmica (corpuscular) en energía eléctrica, en este caso con fines médicos. Debajo de las hojas existe una banda, la cual es el símbolo de que este hombre posee un elevado rango científico-espiritual que lo sitúa por encima de otros, su rango es de un hombre reflexivo y científico. La hoja –símbolo de la vida– que porta la boca del pediatra y otra hoja que señala el instrumento cortante, revelan que el feto está vivo. La flecha que se observa, señalando un punto bajo el abdomen de la mujer, significa el punto de incisión hacia abajo, es decir, siguiendo la técnica de la laparotomía mediana infraumbilical.

Al parecer en las épocas más remotas de la humanidad, se conocía la Acupuntura como medio de curación, analgesia, anestesia. Este documento médico que podemos mirar es la prueba de que probablemente, por su antigüedad, Amerindia es cuna de la acupuntura y de la medicina según las miles de evidencia en todas las áreas médicas legadas por los remotos pobladores del continente americano y transmitidos hasta el siglo XXI por estos libros escritos en piedra.

La comunicación es la forma como el universo transmite desde el interior, llamado mente, hacia el exterior, todo tipo de procesos: químicos, físicos, moleculares, inquietudes, vacíos, descubrimientos, miedos, enfermedades, muerte. La escritura es un valioso recurso comunicativo entre los seres humanos. Desde los tiempos más remotos, en que el hombre pudo representar sus profundas vivencias a través de los dibujos, jeroglíficos, símbolos, y actualmente la escritura, dentro del campo medico es la forma de nutrirse de los conocimientos, para aprender la manera de curar a los pacientes. Los médicos han tenido en la comunicación escrita el recurso más utilizado para este fin.

TERAPIA NATURA es una revista trimestral que será la voz del médico que deseé transmitir sus investigaciones, inquietudes filosofía, experiencias, vivencias, dentro del campo de la medicina natural que, desde hace aproximadamente 25 años, esta vieja herramienta de curación renació en el mundo.

Luego de la más alta cumbre que tuviera la medicina ortodoxa y sus fármacos, la Conciencia Universal guio a los médicos a retomar filosofías y prácticas milenarias como formas de curación.

Terapias milenarias como la Acupuntura, Naturismo, Ch'ama, Ayurveda, han vuelto a ocupar el sitio que les corresponde dentro del gran conglomerado mundial. En estos momentos lo que llamamos Medicina Natural ya no es un tan desconocida como hace 25 años.

TERAPIA NATURA pretende ser la comunicación más idónea entre los médicos que conocen, que desean conocer o que desconocen las distintas terapias naturales, las cuales, en la actualidad, la humanidad práctica, investiga, recomienda, aprende y prefiere. Bienvenido todo aquello que con humildad comunique; ¡solo se lo que nada sé!; este es el principio, desde aquí comienza la ciencia, la maestra es NATURA.

A propósito, hemos tomado el nombre de NATURA, ya que como lo expresa Paracelso en una de sus obras escritas en Ginebra en el año 1658: "La Medicina se funda sobre la Naturaleza. La naturaleza es medicina y solamente en aquella deben buscar los hombres. La naturaleza es el maestro del médico, ya que allá es más antigua que él, y ella existe dentro y fuera del hombre". Es por esta razón también que nos parece apropiado llamar Medicina Natural a todo este conjunto de formas de tratamiento, las cuales utilizaban a la naturaleza como terapéutica. Terapia viene del griego 'Therapeia' haciendo honor a Hipócrates, como el medico occidental más importante de la antigüedad, de quien hemos recibido en la actualidad las bases de la Medicina Natural. Terapia Natural es la forma como el medico debería llegar a sus pacientes, y es la manera de cómo queremos llegar al médico y por su intermedio a la humanidad, siendo estas las razones del nombre de la Revista que ha nacido.

El logotipo nació de la escritura del antiguo idioma indio americano Runa Simi y significa la letra R y esta letra representa el cielo y la tierra; el hombre, la mujer, microcosmos, macrocosmos, yin, yang, hia, hiu, la eterna dualidad complementaria.

Para las culturas indo americanas es muy importante el significado del número cero, el número de esta edición, a tal punto que lo asociaban con Dios, con el Hunab Ku que significa el Señor y dador de la medida y el movimiento. Dice Alce Negro: "Todo cuanto hace un indio, lo hace dentro de un círculo. Esto es así porque el poder del universo actúa siempre en círculos y todas las cosas tienden a ser redondas. En los tiempos antiguos cuando éramos un pueblo feliz y fuerte, nuestro poder provenía del círculo sagrado de la nación, y mientras este no sufrió daño, nuestro pueblo prospero. Todo cuanto hace el poder del Universo lo hace dentro de un círculo. El cielo es redondo, la tierra es redonda como una pelota y también son todas las estrellas. Los pájaros construyen su nido redondo, puesto que su religión es la misma que la nuestra. Del mismo modo, nuestras tiendas eran redondas como los nidos de los pájaros y estaban siempre dispuestos en círculos, el círculo de la nación, un nido hecho de numerosos nidos en el que incubábamos a nuestros hijos según la voluntad del Gran Espíritu".

# The Sound, Ordering Principle

# El Sonido, Principio Ordenante

**Prof. Dr. Med. Fernando Pinto Floril - Ecuador**

**“**If we can recognize behind everything that there is something called the Creator Spirit, 'He' is the ordering principle that is at the bottom of all existence".

Dr. Ferdinand Huneke, through his legacy, reminds us that human beings are energy and that this is what allows the normal behavior of functions. If the ordering principle is altered, distorted, or without its normal voltage, the disease is the manifestation. Then the disease, whatever it may be, is the result of an energetic alteration.

The energy can be translated as a fluid of electrons that obey laws of physics, the primordial one is sound, "In the beginning was the Word (sound), and the Word (sound) was with God, and the Word (sound) was It was God." Sound consists in the propagation of a disturbance in a medium (generally air). For a sound wave to propagate in a medium it must be elastic, have mass and inertia. The air also has some relevant characteristics for the propagation of sound. The mechanical waves are those that propagate through a material (solid, liquid, gaseous). There are two basic types of mechanical waves: transverse and longitudinal. The sound waves are longitudinal. In many instruments (as in the vibration of a string), we can identify transverse waves (as well as in the basilar membrane inside the cochlea, in the inner ear).

The Universe is created in an arithmetic, geometric, chromatic, musical, electromagnetic, alphabetical key. Numbers, forms, colors, sounds, waves, letters are its manifestation, and everything is interrelated with the primordial vibration, with itself and between them. For example, we can establish a parallelism between the visible and audible frequencies (senses of sight and hearing, respectively), the 7 colors with each of the 7 notes of the major diatonic scale, of C, as Isaac Newton did three hundred years ago. C - red, D- orange, E - yellow, F- green, G - blue, A - indigo, B - violet. When a diatonic scale (natural notes corresponding to the white keys of the piano) is tuned based on A 432Hz, a clear correspondence with the color scale can be established.

There are vibrations of natural or artificial frequency. We are facing a natural vibration when its wave is in harmony or is harmonic and resonant with the vibration of the Universe and Nature, that is, with the Primordial Vibration. Imperfections, disharmonies, diseases, come from the distancing of the Primal Vibration. Certain music, emotions, environments, objects, frequencies, can be harmful.

**“**Si logramos reconocer detrás de todo lo que existe algo que se llama el Espíritu Creador, 'El' es el principio ordenante que se halla en el fondo de toda existencia".

El Dr. Ferdinand Huneke, a través de su legado, nos recuerda que los seres humanos somos energía y que esta es la que permite el normal comportamiento de las funciones. Si el principio ordenante se encuentra alterado, distorsionado, o sin su normal voltaje, la enfermedad es la manifestación. Entonces la enfermedad, cualquiera esta sea, es el resultado de una alteración energética.

La energía la podemos traducir como un fluido de electrones que obedecen leyes de la física, la primordial es el sonido, "En el principio era el Verbo (sonido), y el Verbo (sonido) era con Dios, y el Verbo (sonido) era Dios". El sonido consiste en la propagación de una perturbación en un medio (en general el aire). Para que la onda sonora se propague en un medio este debe ser elástico, tener masa e inercia. El aire posee además algunas características relevantes para la propagación del sonido. Las ondas mecánicas son las que se propagan a través de un material (sólido, líquido, gaseoso). Hay dos tipos básicos de ondas mecánicas: transversales y longitudinales. Las ondas sonoras son longitudinales. En muchos instrumentos (como en la vibración de una cuerda), podemos identificar ondas transversales (así como en la membrana basilar dentro de la cóclea, en el oído interno).

El Universo está creado en clave aritmética, geométrica, cromática, musical, electromagnética, alfabética. Números, formas, colores, sonidos, ondas, letras son su manifestación, y todo se interrelaciona con la vibración primigenia, consigo mismo y entre ellos. Por ejemplo, podemos establecer un paralelismo entre las frecuencias visibles y las audibles (sentidos de la vista y del oído respectivamente), los 7 colores con cada una de las 7 notas de la escala diatónica mayor, de Do, tal como hizo Isaac Newton hace trescientos años. DO - rojo, RE- anaranjado, MI - amarillo , FA- verde, SOL - azul, LA- añil o índigo , SI violeta. Cuando una escala diatónica (notas naturales correspondientes a las teclas blancas del piano) está afinada en base a LA 432Hz, se puede establecer una correspondencia clara con la escala de colores.

Existen vibraciones de frecuencia natural o artificial. Nos encontramos ante una vibración natural cuando su onda está en concordancia o es armónica y resonante con la vibración del Universo y de la Naturaleza, esto es, con la Vibración Primigenia. Las imperfecciones, desarmonías,

Each subatomic particle, atom, molecule, cell, tissue, and organ of the body vibrate at a certain frequency, and so on in the microscopic and macroscopic. Everything in creation, as well as its dynamic manifestations, have their vibrational signature, which when harmonized with the primal vibration, is harmonious; that is, multiples and submultiples of 8. So, for example, an organic dysfunction, lack of health, a disease, is the result of harmonic imbalances with such vibration. Therefore sonotherapy, music therapy, meditation, psychological purification, would be great allies in the restoration of frequency. In this way, playing and listening to music tuned in 432Hz rebalances the body and also resonance effect the surrounding nature, returning the primordial balance of peace and well-being.

8Hz, although it is inaudible to our human ear, it is a frequency present in Nature and in certain organic processes. In musical terms, the frequency of 8Hz, being the sound of nature, corresponds to a G-1. Going up five octaves, that is, traveling five times the seven notes of the scale, you get a G of 256Hz, a scale in which the A has a frequency of 432Hz and not of 440Hz. 8Hz is the repetition frequency of the DNA double helix. 8Hz is the fundamental and primal "heartbeat" of the Planet, known as "Shumann fundamental resonance 7.8Hz", resulting among other things of the global electromagnetic resonances, generated by the electric discharges of the rays on the Earth's surface and the ionosphere. It must be said that this resonance has been increasing in frequency. 8Hz is the frequency of the dolphins that vibrate at a distance of 16 km from the point of emission. The "ordinary" consciousness waves of the human brain vary from 14Hz to 40Hz. In this range, only some dendrites (the minor fibers of the neurons that carry the nerve signals) operate in brain cells that predominantly use the left hemisphere (the most rational) as the center of activity. If our two cerebral hemispheres (the rational and the artistic hemispheres) were synchronized at the 8Hz frequency, they would work in the same way (in equilibrium), receiving the maximum flow of information. By the way, it should be noted that learning a musical instrument activates a large number of brain areas and produces a lot of interconnections between both hemispheres.

When one plays tuned to 440 Hz, we only get 8 harmonics. Music tuned to 440 Hz is very poor, unnatural music, devoid of the harmony and depth of Music. On the other hand, when interpreting based on the frequency A-432Hz, we put the 12 notes of the musical scale into resonance (with semitones, sharps and flats) obtaining 12 harmonics and providing all the harmonic richness to Music.

Within the laws of chemistry, there is a numerical formula with which one could determine precisely the elementary frequency of a specific substance based on its atomic weight or its molecular weight. The formula simply multiplies the atomic weight of an element by the number 1.4904752. So, for example, to calculate the frequency of magnesium, we consider its atomic weight of 24.3050 and multiply it by 1.4904752. The result is 36,226 Hz, or rounded to 36 Hz. Magnesium is the basic element of life on planet Earth. It is the heart of the chlorophyll molecule and without chlorophyll, there would be no plant life (flora) on Earth. Without flora, in turn, there can be no fauna or animal life. The frequency of all intelligent life, it would seem then, is the number 36 that is magnesium, for this element is the primordial link in the "food chain" of life on the planet -both on land, and in the oceans. Looking at the numbers inherent in the creation of life on this planet, when one multiplies the quantity of magnesium 36 with the chromatic musical scale of 12 (12 musical notes X 36 of magnesium) we obtain the number 432.

Maria Renold, in her book "Intervals, Scales, Tones and

enfermedades vienen del alejamiento de la Vibración Primigenia. Cierta música, emociones, ambientes, objetos, frecuencias, pueden ser perjudiciales.

Cada partícula subatómica, átomo, molécula, célula, tejido y órgano del cuerpo, vibran a una determinada frecuencia, y así también en lo microscópico y macroscópico. Todo en la creación, así como sus manifestaciones dinámicas, tienen su firma vibracional, que cuando están en consonancia con la vibración primigenia, resulta armónica; esto es, múltiplos y submúltiplos de 8. Así por ejemplo, una disfunción orgánica, la falta de salud, una enfermedad, es el resultado de desajustes armónicos con tal vibración. Por lo cual la sonoterapia, la musicoterapia, la meditación, la purificación psicológica, serían grandes aliadas en el restablecimiento de la frecuencia. De tal manera, tocar y escuchar música afinada en 432Hz reequilibra el cuerpo y por efecto de resonancia también la naturaleza circundante, devolviendo el primordial equilibrio de paz y de bienestar.

8Hz, aunque es inaudible para nuestro oído humano, es una frecuencia presente en la Naturaleza y en ciertos procesos orgánicos. En términos musicales, la frecuencia de 8Hz, al ser el sonido de la naturaleza, corresponde a un DO-1. Subiendo de cinco octavas, es decir, recorriendo cinco veces las siete notas de la escala, se llega a un Do de 256Hz, escala en la que el "LA" tiene una frecuencia de 432Hz y no de 440Hz. 8Hz es la frecuencia de repetición de la doble hélice del ADN. 8Hz es el "latido" fundamental y primigenio del Planeta, conocido como "Resonancia fundamental de Shumann 7.8Hz", resultado entre otros de las resonancias electromagnéticas globales, generadas por las descargas eléctricas de los rayos en la superficie terrestre y la ionosfera. Cabe decir, que esta resonancia ha ido subiendo de frecuencia... 8Hz es la frecuencia de los delfines que vibra a una distancia de 16 km desde el punto de emisión. Las ondas de conciencia "ordinarias" del cerebro humano varían de 14Hz a 40Hz. En este rango operan solamente algunas dendritas (las fibras menores de las neuronas que transportan las señales nerviosas) de las células del cerebro que utilizan preponderantemente el hemisferio izquierdo (el más racional) como centro de actividad. Si nuestros dos hemisferios cerebrales (el racional y el artístico) se sincronizaran a la frecuencia de 8Hz trabajarían de la misma forma (en equilibrio), recibiendo el máximo flujo de informaciones. Por cierto, cabe apuntar que el aprendizaje de un instrumento musical activa una gran cantidad de áreas cerebrales y produce gran cantidad de interconexiones entre ambos hemisferios.

Cuando uno toca en un La afinado a 440 Hz, sólo obtenemos 8 armónicos. La música afinada a 440 Hz es música muy pobre, poco natural, desprovista de la armonía y profundidad de la Música. En cambio al interpretar en base a la frecuencia La-432Hz ponemos en resonancia las 12 notas de la escala musical (con medios tonos y sostenidos) obteniendo 12 armónicos y proveyendo de toda la riqueza armónica a la Música.

Dentro de las leyes de la química, existe una fórmula numérica con la que se podía determinar con precisión la frecuencia elemental de una sustancia específica basada en su peso atómico o su peso molecular. La fórmula es simplemente multiplicar el peso atómico de un elemento por el número 1.4904752. Así, por ejemplo, para calcular la frecuencia del magnesio, consideramos su peso atómico de 24,3050 y lo multiplicamos por 1,4904752. El resultado es 36,226 Hz, o redondeados, 36 Hz. El magnesio es el elemento básico de la vida en el planeta tierra. Constituye el corazón de la molécula de la clorofila –y sin clorofila, no existiría la vida vegetal (flora) en la tierra. Sin flora, a su vez, no puede haber fauna o vida animal. La frecuencia de toda vida inteligente, parecería entonces, es el número 36

the Concert Pitch" describes how she tested the different effects on listeners with tunings at 440 Hz and 432 Hz. Over the course of 20 years she asked thousands of people in different countries to assess how they felt when listening on such frequencies. She determined that 90 percent preferred tuning at 432 Hz; they described it, using words such as "complete, correct, peaceful, sunny." Instead, they described the frequency of 440 Hz as "uncomfortable, oppressive, intolerant" sound; and also claimed to have conclusive evidence that tuning at 440Hz dissociates of the relation of the conscience with the body and creates anti-social conditions in humanity.

The Schiller Institute, has announced on its initiative to lower the international standardized musical tuning to the central G of 256 cycles per second (which corresponds approximately to A 430 to 432), in order to preserve the human voice and return to classical music performances the poetic intentions of composers. The 1992 Schiller Institute publication entitled "A Manual of the Rudiments of Tuning and Registration, Vol I, Introduction and Human Voice", shows that the natural tuning in G-256 is based on the physical laws of the universe, and is creating an educated leadership in the musical world to restore the tuning in which all the great classical music was written from Bach to Verdi, known as the "Verdi tuning" and in that way, save the human voice.

"From my own observations, some of the partial harmonic overtones of A = 432Hz seem to align with the natural patterns and also the resonance of the solitons. Solitons need a specific range to be formed in the field of density and array from the micro to the macro cosmos. Solitons are not only found in the mechanics of water, but also in the ion-acoustic breath between electrons and protons (...) 432 Hz vibrates at the beginning of the golden mean PHI and unifies the properties of light, time, space, matter, gravity and magnetism with biology, the DNA code and consciousness. Natural tuning at 432 Hz has profound effects on the consciousness and also on the cellular level of our body. For the re-tuning of musical instruments and the use of concert tuning at 432 hertz instead of 440 hertz, your atoms and DNA begin to resonate in harmony with the PHI spiral of Nature." -Brian T. Collins –

The recent re-discovery of the true vibratory nature of the energy indicates that the use of tuning at 440 Hz generates an intentional unhealthy effect on the environment and on living beings. This produces a change out of nature, 8 Hz, in how we think and how our DNA regulates our genetic makeup. The brain and the DNA are deeply connected to the 432Hz through the precision of the equinoxes and cosmic frequencies of 8 Hz. There are deeper studies based on the planetary movement and harmonic tones that lend themselves, more to the support of the "organic" based in the 432 Hz as a solid foundation for the musical structure and regulation of our health. Listening to and playing music at 432 Hz, convert it into an ethical, effective, transcendent, easy to apply and receive therapy.

#### Bibliografía

- Campos Serra Ignasi, "Ensayo Científico de la Frecuencia 432 Hz", Universidad de Barcelona 2016
- Huneke Ferdinand Dr. "El Fenómeno en Segundos", Editorial Quillka, 2014
- Pinto Floril Fernando Dr. "Sanando la Hibris", Academia Mundial de Terapia Neural Huneke, 2014

que es el magnesio, para este elemento es el primigenio de enlace en la "cadena alimenticia" de la vida en el planeta - tanto en la tierra, como en los océanos. Veamos los números inherentes en la creación de la vida en este planeta. Cuando uno multiplica la cantidad de magnesio 36 con la escala musical cromática de 12 (12 notas musicales X 36 del magnesio) obtenemos el número 432.

Maria Renold, en su libro "Intervals, Scales, Tones and the Concert Pitch.", describe cómo ella probó los diferentes efectos en los oyentes con sintonizaciones en 440 Hz y 432 Hz. En el transcurso de 20 años preguntó a miles de personas en diversos países para evaluar cómo se sentían al escuchar en tales frecuencias. Determinó que el 90 por ciento prefirió la afinación en 432 Hz; la describían, utilizando palabras como "completo, correcto, pacífico, soleado. En cambio, describían que la frecuencia de 440 Hz resultaba un sonido "incómodo, opresivo, intolerante", y además, afirma tener pruebas concluyentes de que la afinación en 440Hz disocia de la relación de la conciencia con el cuerpo y crea condiciones anti-sociales en la humanidad.

El Instituto Schiller, ha dado a conocer por su iniciativa para bajar la afinación musical normalizada internacionalmente al Do central de 256 ciclos por segundo (que corresponde aproximadamente al La 430 a 432), a fin de conservar la voz humana y devolverle a las interpretaciones de música clásica las intenciones poéticas de los compositores. La publicación de 1992 del Instituto Schiller titulada, "A manual of the Rudiments of Tuning and Registration, Vol I, Introduction and Human Voice", (Manual sobre los rudimentos de la afinación y el registro, Vol. I, Introducción y Voz Humana) demuestra que la afinación natural en Do-256 se fundamenta en las leyes físicas del universo, y está creando un liderazgo educado en el mundo musical para restaurar la afinación en la cual se escribió toda la gran música clásica desde Bach hasta Verdi, conocida como la "afinación de Verdi" y de esa manera, salvar la voz humana.

"A partir de mis propias observaciones, algunos de los parciales sobretonos armónicos de LA = 432Hz parecen alinearse con los patrones naturales y también la resonancia de los solitones. Los solitones necesitan un rango específico para formarse en el ámbito de la densidad y abarcar desde el micro al macro cosmos. Los solitones no sólo se encuentran en la mecánica del agua, sino también en el aliento de iones-acústico entre electrones y protones (...) 432 Hz vibra en los principios de la media de oro PHI y unifica las propiedades de la luz, tiempo, espacio, materia, gravedad y el magnetismo con la biología, el código del ADN y la conciencia. La afinación natural a 432 Hz tiene efectos profundos en la conciencia y también en el nivel celular de nuestro cuerpo. Por la re-sintonización de instrumentos musicales y el uso de la afinación de concierto a 432 hertzios en vez de 440 hertzios, tus átomos y el ADN empiezan a resonar en armonía con la espiral de PHI de la Naturaleza." -Brian T. Collins-

El reciente re-descubrimiento de la verdadera naturaleza vibratoria de la energía indica que el uso de sintonía a 440 Hz genera un efecto intencional insalubre en el medio ambiente y en los seres vivos. Esto produce un cambio fuera de la naturaleza, de 8 Hz, en cómo pensamos y cómo nuestro ADN regula nuestra constitución genética. El cerebro y el ADN están profundamente conectados al 432Hz a través de la precisión de los equinoccios y frecuencias cósmicas de 8 Hz. Hay estudios más profundos basados en el movimiento planetario y tonos armónicos que se presentan, más al apoyo de lo "orgánico" basado en los 432 Hz como un fundamento sólido para la estructura musical y regulación de nuestra salud. Escuchar e interpretar música en 432 Hz, la convierten en terapia ética, efectiva, trascendente, fácil de aplicar y recibir.



# Vitamin C as an Ergogenic Aid La Vitamina C Como Ayuda Ergogénica

Michael J. González, D.Sc., Ph.D., FACN<sup>1</sup>; Jorge R. Miranda, Pharm.D.<sup>1</sup>; Hugh D. Riordan, M.D.<sup>2</sup>

1. University of Puerto Rico Medical Sciences Campus, RECNAC II Project, San Juan, P.R.

2. The Center for the Improvement of Human Functioning Wichita, KS

## Abstract

Athletes are always searching for legal nutritional supplements that will give them a significant advantage over their competitors. We will present vitamin C (ascorbic acid) as a non-toxic, safe, multifaceted and effective ergogenic alternative. Vitamin C may have been neglected as an ergogenic aid mainly because of the lack of knowledge of ascorbate's biochemical and physiological functions when given in large doses especially by intravenous route. The mechanistic theory-model of how ascorbate may work as a novel ergogenic aid will be discussed herein.

## Resumen

Los atletas siempre están buscando suplementos nutricionales legales que les den una ventaja significativa sobre sus competidores. Presentaremos la vitamina C (ácido ascórbico) como una alternativa ergogénica no tóxica, segura, multifacética y efectiva. La vitamina C puede haberse descuidado como una ayuda ergogénica principalmente debido a la falta de conocimiento de las funciones bioquímicas y fisiológicas del ascorbato cuando se administra en grandes dosis, especialmente por vía intravenosa. La teoría-modelo mecanicista de cómo el ascorbato puede funcionar como una nueva ayuda ergogénica se tratará aquí.

## **Introduction**

Nutritional ergogenic aids are primarily aimed at enhancing performance by either directly affecting energy metabolism in the muscle or stimulating the central nervous system. Other nutritional aids of indirect ergogenic activity are those utilized for augmentation of lean body mass (muscle mass) and those aimed at reducing body fat content. Although of not a strict ergogenic action, certain supplements are directed to increase resistance to infection and improve general health. These aids are also important in reducing the interruptions to training that illness and infection may cause. The use of supplementation for all these purposes is widespread.<sup>1</sup> In addition to the type of supplement, of great relevance is the amount and timing of the supplement and the specific exercise conditions under which its effects may be optimized. Most effective supplements are against the rules of the sport and many may also be unsafe. We will present vitamin C (ascorbic acid) as non-toxic, safe, multifaceted and effective ergogenic alternative.

Vitamin C may have been neglected as an ergogenic aid as it has been neglected in the treatment of many diseases (such as the common cold, cardiovascular disease and cancer) mainly because of the lack of knowledge of ascorbate's biochemical and physiological functions when given in large doses especially by intravenous route. The mechanistic theory-model of how ascorbate may work as a novel ergogenic aid will be discussed herein.

## **Discussion**

Of great interest to athletes are supplements that may influence energy metabolism. We are presenting vitamin C (ascorbic acid) as an ergogenic aid when provided in large quantities especially when given intravenously. Ascorbic acid is distributed in varying concentrations throughout the body and is involved in a variety of metabolic reactions related to exercise such as synthesis and activation of neuropeptides, formation and repair of collagen and synthesis of carnitine.<sup>2</sup> Once these facts are taken into account, it is conceivable that exercise may enhance the utilization, metabolism and excretion of ascorbic acid, thus increasing the body's requirements for vitamin C. The recommended daily allowance for vitamin C is between 30-60 mg daily. These doses are too low to detect any possible ergogenic activity of vitamin C.

One of the most recognized features of vitamin C is its antioxidant action. Vitamin C protects cells, especially muscle cells from harmful effects of highly reactive free radicals produced when the rate of oxygen consumption is substantially increased during strenuous exercise.<sup>3</sup> Exercise that forcibly lengthens muscle may result in damage to the muscle structure and post exercise soreness. This muscle soreness peaks one to three days after the exercise bout and is often referred to as delayed onset muscle soreness (DOMS). The pain associated with this condition is thought to be consequence of microtraumatization of connective tissue and microfibers. It has been reported that oral vitamin C (in doses of about 200 mg) may significantly reduce DOMS.<sup>4</sup> It has also been suggested with some preliminary evidence that vitamin C may benefit muscle function and reduce plasma levels of malondialdehyde, a secondary product of lipid peroxidation, in addition to diminishing muscle soreness.<sup>3</sup> Vitamin C also appears to offer protection against ultra structural damage

## **Introducción**

Las ayudas ergogénicas nutricionales están dirigidas principalmente a mejorar el rendimiento ya sea afectando directamente el metabolismo energético en el músculo o estimulando el sistema nervioso central. Otras ayudas nutricionales de la actividad ergogénica indirecta son aquellas utilizadas para aumentar la masa corporal magra (masa muscular) y aquellas destinadas a reducir el contenido de grasa corporal. Aunque no es una acción ergogénica estricta, ciertos suplementos están dirigidos a aumentar la resistencia a las infecciones y mejorar la salud general. Estas ayudas también son importantes para reducir las interrupciones del entrenamiento que pueden causar las enfermedades e infecciones. El uso de suplementos para todos estos propósitos está muy extendido.<sup>1</sup> Además del tipo de suplemento, de gran relevancia es la cantidad y el tiempo del suplemento y las condiciones específicas de ejercicio bajo las cuales se pueden optimizar sus efectos. Los suplementos más efectivos están en contra de las reglas del deporte y muchos también pueden ser inseguros. Presentaremos la vitamina C (ácido ascórbico) como una alternativa ergogénica no tóxica, segura, multifacética y efectiva.

La vitamina C puede haber sido descuidada como una ayuda ergogénica, ya que se ha descuidado en el tratamiento de muchas enfermedades (como el resfriado común, enfermedad cardiovascular y cáncer), principalmente debido a la falta de conocimiento de las funciones bioquímicas y fisiológicas del ascorbato cuando se administra en grandes cantidades. Las dosis especialmente por vía intravenosa. La teoría-modelo mecanicista de cómo el ascorbato puede funcionar como una nueva ayuda ergogénica se tratará aquí.

## **Discusión**

De gran interés para los atletas son los suplementos que pueden influir en el metabolismo energético. Estamos presentando la vitamina C (ácido ascórbico) como una ayuda ergogénica cuando se proporciona en grandes cantidades, especialmente cuando se administra por vía intravenosa. El ácido ascórbico se distribuye en concentraciones variables en todo el cuerpo y está involucrado en una variedad de reacciones metabólicas relacionadas con el ejercicio, como la síntesis y activación de neuropeptidos, formación y reparación de colágeno y la síntesis de carnitina.<sup>2</sup> Una vez que se tienen en cuenta estos hechos, es posible que el ejercicio pueda mejorar la utilización, metabolismo y excreción del ácido ascórbico, lo que aumenta los requerimientos de vitamina C en el cuerpo. La cantidad diaria recomendada de vitamina C es de 30 a 60 mg al día. Estas dosis son demasiado bajas para detectar cualquier posible actividad ergogénica de la vitamina C.

Una de las características más reconocidas de la vitamina C es su acción antioxidante. La vitamina C protege a las células, especialmente a las células musculares de los efectos dañinos de los radicales libres altamente reactivos producidos cuando la tasa de consumo de oxígeno aumenta sustancialmente durante el ejercicio vigoroso.<sup>3</sup> El ejercicio que alarga el músculo mediante la fuerza puede causar daño a la estructura muscular y dolor después del ejercicio. Este dolor muscular alcanza su punto máximo entre uno y tres días después de la serie de ejercicios y, a menudo, se lo denomina dolor muscular de aparición tardía (DOMS). Se cree que el dolor asociado con esta afección es consecuencia de la microtraumatización del tejido conectivo y las micro-

following reperfusion injury.<sup>5</sup> Reduction in inflammation may explain the decreased soreness present in the vitamin C supplement group. Reduction in plasma concentration of proinflammatory cytokines such as 1L-6, TNFalpha, 1L-8, have been reported following high dose oral supplementation of 1,500 mg of vitamin C.<sup>6</sup> High doses of vitamin C may also reduce cortisol.<sup>2,6-9</sup> Athletes supplemented orally with 500 - 1,500 mg of vitamin C in the week before and on the day of the race significantly attenuated the post exercise serum cortisol responses.<sup>8</sup> High doses of vitamin C may inhibit the synthesis of cortisol, possibly through a pro-oxidant effect. As we have pointed out in other publications,<sup>10,11</sup> ascorbic acid may act as a prooxidant under certain conditions. Interestingly, declines in plasma ascorbic acid correspond to a rapid and dramatic increased in plasma cortisol and ACTH concentrations.<sup>2</sup> It is conceivable that both cortisol and ascorbic acid have a regulatory influence on gluconeogenesis, an important energy mechanism.

Moreover Cheraskin reported<sup>12</sup> that subjects who consume less than 100 mg of ascorbic acid per day showed a higher fatigability mark than those ingesting more than 400 mg of ascorbate per day when performing the same activities. It has also been documented that in cancer patients high doses of ascorbic acid produce substantial benefits ranging from increase energy to the reduction of pain and tumor burden.<sup>13-16</sup> Cancer patients claim to feel better, more energetic, stronger, with increased mental alertness and they report improved appetite.

We used intravenous ascorbic acid as an ergogenic agent in the Basketball Pre-Olympic tournament of the Americas with the Puerto Rico National basketball team. We believe that this intervention helped them classify for the 2004 Olympic games in Athens, in which the Puerto Rican national team gave the USA dream team their first defeat in Olympic competition. The question that follows is: What is the proposed mechanism by which ascorbic acid (in large doses) produces these ergogenic effects? Albert Szent-Györgyi, discoverer of vitamin C, believed that the real physiological significance of vitamin C should be ultimately looked for in the electron transport system.<sup>17</sup> Chemically, ascorbic acid exhibits redox characteristics



fibras. Se ha informado que la vitamina C oral (en dosis de aproximadamente 200 mg) puede reducir significativamente el DOMS.<sup>4</sup> También se ha sugerido con algunas pruebas preliminares de que la vitamina C puede beneficiar la función muscular y reducir los niveles plasmáticos de malondialdehído, un producto secundario de la peroxidación de lípidos, además de disminuir el dolor muscular.<sup>3</sup> La vitamina C también parece ofrecer protección contra el daño ultra estructural después de la lesión por reperfusión.<sup>5</sup> La reducción de la inflamación puede explicar la disminución del dolor presente en el grupo de suplementos de vitamina C. Se ha informado una reducción en la concentración plasmática de citoquinas proinflamatorias como 1L-6, TNFalpha, 1L-8, después de la administración oral de una dosis alta de 1,500 mg de vitamina C.<sup>6</sup> Las dosis altas de vitamina C también pueden reducir el cortisol.<sup>2,6-9</sup> Los atletas que recibieron suplementos orales con 500 - 1,500 mg de vitamina C en la semana anterior y el día de la carrera atenuaron significativamente las respuestas de cortisol en suero después del ejercicio.<sup>8</sup> Las dosis altas de vitamina C pueden inhibir la síntesis de cortisol, posiblemente a través de un efecto pro-oxidante. Como hemos señalado en otras publicaciones,<sup>10,11</sup> el ácido ascórbico puede actuar como un prooxidante en ciertas condiciones. Curiosamente, las disminuciones en el ácido ascórbico plasmático corresponden a un aumento rápido y dramático en las concentraciones plasmáticas de cortisol y ACTH.<sup>2</sup> Es concebible que tanto el cortisol como el ácido ascórbico tengan una influencia reguladora en la gluconeogénesis, un importante mecanismo energético.

Además, Cheraskin informó<sup>12</sup> que los sujetos que consumen menos de 100 mg de ácido ascórbico por día mostraron una mayor capacidad de fatiga que aquellos que ingirieron más de 400 mg de ascorbato por día cuando realizaron las mismas actividades. También se ha documentado que en pacientes con cáncer las dosis altas de ácido ascórbico producen beneficios sustanciales que van desde el aumento de energía hasta la reducción del dolor y la carga tumoral.<sup>13-16</sup> Los pacientes con cáncer afirman sentirse mejor, más energéticos, más fuertes, con mayor alerta mental y reportan mejor apetito.

Usamos ácido ascórbico intravenoso como agente ergogénico en el torneo Pre-olímpico de baloncesto de las Américas con el equipo nacional de baloncesto de Puerto Rico. Creemos que esta intervención les ayudó a clasificarse para los juegos olímpicos de 2004 en Atenas, en los que la selección nacional de Puerto Rico le dio al 'dream team' de EE. UU. Su primera derrota en competiciones olímpicas

La pregunta que sigue es: ¿Cuál es el mecanismo propuesto por el cual el ácido ascórbico (en dosis grandes) produce estos efectos ergogénicos? Albert Szent-Györgyi, descubridor de la vitamina C, creía que la verdadera importancia fisiológica de la vitamina C debería buscarse en última instancia en el sistema de transporte de electrones.<sup>17</sup> Químicamente, el ácido ascórbico presenta características redox como agente reductor. Fisiológicamente, el ácido ascórbico proporciona electrones para las enzimas y otros aceptores de electrones. Szent-Györgyi explicó que el tejido muerto tenía un complemento completo de electrones, mientras que el tejido vivo mantenía un déficit de electrones. La vitamina C asegura un intercambio continuo de electrones entre los tejidos corporales, mitocondrias

as a reducing agent. Physiologically ascorbic acid provides electrons for enzymes and other electron acceptors. Szent-Györgyi explained that dead tissue had a full complement of electrons, while living tissue maintained a deficit of electrons. Vitamin C assures a continuing electron exchange among body tissues, cell mitochondria and molecules. All body functions are directly controlled and regulated by this physiological flow of electrons. Furthermore, this flow of electricity through the body also establishes and maintains the subtle magnetic fields in the body that appear to be involved in maintaining the healthy state. Vitamin C may be the most important stimulus to this flow of electricity. A greater amount of vitamin C in the body enhances the flow of electricity, optimizing the ability of the cells to maintain aerobic energy production and metabolic intermediaries that facilitates cell to cell communications. Disease exists when this flow is impaired and death occurs when this flow stops. In support of this theory, it has been documented that osteoblast cells treated with ascorbic acid had four-fold increase in respiration, a threefold increase in ATP production that provided the necessary energy for cell differentiation.<sup>18</sup> Also ascorbate in high concentrations may reduce NADPH and therefore provide the high-energy electrons necessary for aerobic metabolism.<sup>19</sup> This redox activity of ascorbate at the level of the plasma membrane may be important not only in mitochondria energy production but in the regulation of cell growth as well.<sup>20</sup>

### Conclusions

Athletes are always searching for legal nutritional supplements that will give them a significant advantage over their competitors. Also important in this quest is that any chemical substances to be used have no harmful side effects. Given the information presented herein, we propose vitamin C as an effective, non-toxic ergogenic agent.

celulares y moléculas. Todas las funciones del cuerpo están directamente controladas y reguladas por este flujo fisiológico de electrones. Además, este flujo de electricidad a través del cuerpo también establece y mantiene los campos magnéticos sutiles en el cuerpo que parecen estar involucrados en el mantenimiento del estado saludable. La vitamina C puede ser el estímulo más importante para este flujo de electricidad. Una mayor cantidad de vitamina C en el cuerpo mejora el flujo de electricidad, optimizando la capacidad de las células para mantener la producción de energía aeróbica y los intermediarios metabólicos que facilitan las comunicaciones de célula a célula. La enfermedad existe cuando este flujo se altera y la muerte se produce cuando este flujo se detiene. En apoyo de esta teoría, se ha documentado que las células de osteoblastos tratadas con ácido ascórbico tuvieron un aumento de la respiración de cuatro veces, un aumento de tres veces en la producción de ATP que proporcionó la energía necesaria para la diferenciación celular.<sup>18</sup> También el ascorbato en altas concentraciones puede reducir el NADPH y por lo tanto, proporciona los electrones de alta energía necesarios para el metabolismo aeróbico.<sup>19</sup> Esta actividad redox del ascorbato a nivel de la membrana plasmática puede ser importante no solo en la producción de energía de las mitocondrias, sino también en la regulación del crecimiento celular.<sup>20</sup>

### Conclusiones

Los atletas siempre están buscando suplementos nutricionales legales que les den una ventaja significativa sobre sus competidores. También es importante en esta búsqueda que cualquier sustancia química que se use no tenga efectos secundarios dañinos. Dada la información presentada en este documento, proponemos la vitamina C como un agente ergogénico no tóxico y efectivo.

### References

1. Maughan RJ. Nutritional ergogenic aids and exercise performance. *Nutr Res Rev*, 1999; 12: 255-280.
2. Peak JM. Vitamin C: Effects of exercise and requirements with training. *Int J Sports Nutr Exer Metab*, 2003; 13: 125-152.
3. Kanter M. Free Radicals and Exercise: Effects of nutritional antioxidant supplementation. *Exer Sports Sci Rev*. 1995;23:375-397.
4. Kaminski M and Boal R. An effect of ascorbic acid on delayed-onset muscle soreness. *Pain*, 1992;50: 317-321.
5. Bushell A, Klenerman L, Davies H, Grierson I and Jackson M. (I) Ischaemia-reperfusion induced muscle damage. Protective effect of corticosteroids and antioxidants in rabbits. *Acta Orthop Scand*, 1996;67:393-321.
6. Nieman DC, Peters EM, Henson DA, Nevines El and Thompson MM. Influence of vitamin C supplementation on cytokine changes following an ultra marathon. *J Interferon Cytokine Res*, 2000; 20: 1029-1035.
7. Thompson D, Williams C, McGregor SJ, Nicholas CW, McArdle F, Jackson MJ and Powell JR. Prolonged vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Int J Sport Nutr Exer Metabol*, 2001;11:466-481.
8. Peters EM, Anderson R, Nieman DC, Fick H and Jessup V. Vitamin C supplementation attenuates the increases in circulating cortisol, adrenaline and anti-inflammatory polypeptides following ultramarathon running. *Int J Sports Med*, 2001; 22: 537-543.
9. Brode S, Preut R, Schommer H and Shurmeyer TH. A randomized controlled trial of high dose ascorbic acid for reduction of blood pressure, cortisol and subjective responses to psychological stress. *Psychopharmacol*, 2002; 159: 19-24.
10. González MJ, Mora EM, Riordan NA, Riordan HD and Mojica P. Rethinking vitamin C and cancer on update on nutritional oncology. *Cancer Prevent Intl*, 1998;3: 215-224.
11. González MJ, Miranda-Massari JR, Mora EM, et al: Orthomolecular Oncology: A mechanistic view of intravenous ascorbates chemotherapeutic activity. *PR Health Sci J*, 2002; 21: 39-41.
12. Cheraskin E. Vitamin C and Fatigue. *J Orthomolec Med*, 1994; 9: 39-45.
13. Cameron E and Pauling L. Supplemental ascorbate supportive treatment of cancer: Prolongation of survival time in terminal human cancer: Proc Natl Acad Sci, 1976; 73: 3685-3689.
14. Murata A, Morishige F and Yumaguchi H. Prolongation of survival times of terminal cancer patients by administration of large doses of ascorbate. *Int J Vitam Nutr Res Suppl*, 1982; 23:103-113.
15. Riordan HD, Riordan NH, Jackson JA, et al: Intravenous vitamin C as a chemotherapy agent: A report on clinical cases. *PR health Sci J*, 2004; 23: 115-118.
16. Tamayo C, Richardson MA. Vitamin C as a cancer treatment: state of the science and recommendations for research. *Altern Ther Health Med*. 2003; 9: 94-101
17. Szent-Gyorgyi A. The living state and cancer. *Ciba Found Symp*, 1978; 67: 3-16
18. Komarova SV, Ataulakhanov FI, Globus RK. Bioenergetics and mitochondria transmembrane potential during differentiation of osteoblast. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000; 279: 1220-1229.
19. Cathcart RF. A unique Function for ascorbate. *Med Hypotheses*, 1991; 35: 32-37.
20. More DJ, Crare FL, Sun IL and Navas P. The role of ascorbate in biomembrane energetics. *Ann NY Acad Sci*, 1987; 498: 153-171.





# Bind Again With Earth Religarnos Con La Tierra

SARAMICUNA

**A**fter all these imposed traditions for the end of the year -eat and drink till satiety- I always remember that we have an Andean root.

**D**espués de todas estas tradiciones impuestas de fin de año, de comer y beber hasta la saciedad, siempre recordando que tenemos una raíz andina,

For some wise reason I settled exactly in the middle of the world -Andean, millennial, pre-Columbian. Through the years, our ancestors, great-grandparents, grandparents, and parents have been inheriting us and now our children and grandchildren, a wise and very valuable tradition, which is the respect for Nature. It is always and will be united by the intimacy and warmth of the earth and what it provides for daily sustenance.

Following this wonderful custom and inheritance, means living with the sense of the sacred, staying and going straight, respecting all living beings and respecting ourselves. It is to open ourselves to know and enjoy the mountains, water, plants and animals. Everything sacred that this Great Spirit has given us: life, death, grief, joy, abundance, peace, growth, to live in harmony with the earth, the family, with health and life.

Our daily rituals renew the sacred harmony that exists in us; our acts, eating, breathing, loving, is a ceremony that recalls our dependence on Mother Earth and our kinship with all her children.

The parties with the family, always with abundant and delicious food -full of calories- and the end of the year trips, interrupt daily food routines but celebrations do not have to change our lifestyle, it is simply giving ourselves the opportunity to return to the plan and eat healthy.

To feel better after the holidays, the ideal is to eat in moderation the following days, free of meat and its derivatives, cow's milk and its derivatives, refined sugar, eggs, canned food, excesses and toxins, which enter the body during end of the year meals, leading our body to acidification. When the body fails to balance acid levels through its regulatory mechanisms, such as respiration, blood circulation, digestion, etc., many health disorders rise, with manifestations such as fatigue, irritability, increased mucus, inflammation; gradually coming to be labeled as degenerative diseases, cardiovascular diseases, diabetes, etc.

Let's try to use ingredients that promote physical and mental health that are becoming more accepted as each person becomes more aware of how to feed their body and how they benefit their vitality.

I am very grateful to Mother Nature for counting and cooking with many of these products daily, since they are part of my ancestral heritage: quinoa, amaranth, corn -in all its varieties-, cocoa, peppers, tomato, potato, that our America has given to the whole world.

Amaranth and quinoa in particular, are one of the oldest grains in the world; foods with the complete amino acids, gluten free and can be used in several ways to create delicious recipes

Also very important is to stay active, exercise the physical body and think that the goal is health for the New Year 2019.

Congratulations and fulfill with love this goal.

Por alguna sabia razón me asenté en esta plena mitad del mundo, andina, milenaria, precolombina, que a través de los años, nos han ido heredando nuestros ancestros bisabuelos, abuelos, nuestros padres a nosotros y ahora a nuestros hijos y nietos, una sabia y muy valiosa tradición, que es el respeto a la Naturaleza. Siempre está y estará unida por la intimidad y el calor de la tierra y lo que ella nos provee para el sustento diario.

Seguir esta maravillosa costumbre y herencia, significa vivir con el sentido de lo sagrado, mantenerse y andar derecho, respetar a todos los seres vivos y respetarnos a nosotros mismos. Es abrirnos a conocer y disfrutar de las montañas, el agua, las plantas y los animales. Todo lo sagrado que nos ha dado este Gran Espíritu; la vida, la muerte, la pena, la alegría, la abundancia, la paz, el crecimiento, para vivir en armonía con la tierra, la familia, con la salud y la vida.

Nuestros rituales diarios renuevan la armonía sagrada que hay en nosotros; nuestros actos, comer, respirar, amar, es una ceremonia que recuerda nuestra dependencia de la Madre Tierra y nuestro parentesco con todos sus hijos.

Las fiestas con la familia, siempre con abundante y deliciosa comida, llena de calorías; y los viajes de fin de año, interrumpen las rutinas alimenticias diarias, pero las celebraciones no tienen que cambiar nuestro estilo de vida, simplemente es darse la oportunidad para retomar el plan y comer sano.

Para sentirse mejor después de las vacaciones, lo ideal es comer con moderación los siguientes días, libre de carne y sus derivados, leche de vaca y sus derivados, azúcar refinada, huevos, enlatados, excesos y toxinas, que ingresaron al cuerpo durante las comidas de fin de año, que van a llevar a nuestro cuerpo a una acidificación. Cuando el organismo no consigue equilibrar los niveles de ácido a través de sus mecanismos de regulación, como la respiración, la circulación de la sangre, la digestión, etc, da origen a muchos trastornos de salud, con manifestaciones como por ejemplo cansancio, irritabilidad, aumento de mucosidades, inflamación, llevando poco a poco a etiquetarse ya como enfermedades degenerativas, cardiovasculares, diabetes, etc.

Tratemos de utilizar ingredientes que promueven la salud física y mental que están adquiriendo mayor aceptación a medida que cada persona va siendo más consciente de como alimentar su cuerpo y cómo benefician a su vitalidad.

Soy muy agradecida con la Madre Naturaleza por contar y cocinar con muchos de estos productos a diario, ya que forman parte de mi herencia ancestral: quinua, amaranto, maíz en todas sus variedades, cacao, pimientos, tomate, papa, etc, que nuestra América ha regalado al mundo entero.

El amaranto, la quinua en especial, son uno de los granos más antiguos del mundo, alimentos con todos los aminoácidos completos, no contienen gluten y pueden emplearse de varias maneras para crear recetas deliciosas

Muy importante además es mantenerse activo, ejercitarse el cuerpo físico y pensar que el objetivo es salud para el nuevo año 2019.

Felicidades, y a cumplir con amor esta meta.



## RECIPES

### Quinoa casserole

1 cup of quinoa  
2 pounds of potatoes  
1 long onion or 2 green onions  
1 white onion  
2 garlic cloves  
4 tomatoes  
1 bay leaf  
2 basil leaves  
 $\frac{1}{2}$  teaspoon of ground oregano  
 $\frac{1}{2}$  teaspoon of turmeric  
1 pinch of black pepper  
coconut oil, or avocado oil  
sea salt

Cook the quinoa in water for 20 minutes, add salt at the end. Sift and set aside. Cook the potatoes with sea salt, let cool and cut them into very thin slices.

Separately refry in a pan with 1 tablespoon of coconut oil, very finely chopped garlic, onions, tomatoes. Refry the garlic first, then add onions, then the tomatoes, let the tomatoes cook very well and add the turmeric, pepper, bay leaf, basil, oregano. Add salt to taste. Remove the basil and bay leaves.

Place on the base of a pan, a little coconut oil, then place the potato slices, then place a layer of quinoa on top, place a layer of refried vegetables and repeat: a layer of slices of potato, quinoa and finish with a layer of refried vegetables that covers the entire surface. Take to the oven at medium temperature and bake for 20 minutes, remove and serve.

### Detox Shake With Fruits

1/8 cup amaranth grains  
1 green apple  
 $\frac{1}{4}$  of cucumber  
 $\frac{1}{4}$  celery stalk  
1 in. of aloe pulp  
 $\frac{1}{2}$  banana  
 $\frac{1}{2}$  glass of water  
 $\frac{1}{2}$  lemon juice  
1 dash of molasses

Soak the amaranth the night before. The next morning, remove the water from the amaranth soak, put in the blender all the ingredients and mix well.

## RECETAS

### Budín de Quinua

1 taza de quinua  
2 libras de papas (patatas)  
1 cebolla larga o 2 de verdeo  
1 cebolla perla  
2 dientes de ajo  
4 tomates redondos  
1 hoja de laurel  
2 hojas de albahaca  
 $\frac{1}{2}$  cucharita de orégano triturado  
 $\frac{1}{2}$  cucharita de cúrcuma  
1 pizca de pimienta negra  
aceite de coco, o de aguacate  
sal marina

Cocinar la quinua en agua, por 20 minutos, añadir al final sal. Cernir y reservar a un lado. Cocinar las patatas con sal marina, dejar enfriar y cortarlas en tajadas muy delgadas.

Aparte hacer un refrito. Colocar en una sartén 1 cuchara de aceite de coco, añadir picando muy fino ajo, cebollas, tomates. Refreír primero el ajo, luego añadir cebollas, después los tomates, dejar que se cocinen los tomates muy bien y añadir la cúrcuma, pimienta, hojas de laurel, albahaca, orégano. Añadir sal a gusto. Retirar las hojas de albahaca y laurel.

Colocar en la base de un pyrex, un poquito de aceite de coco, luego colocar encima las tajadas de papa, luego colocar encima una capa de quinua, encima colocar una capa de refrito y repetir: una capa de tajadas de papa, de quinua y terminar con una capa de refrito que cubra toda la superficie. Llevar al horno a temperatura media y dejar por 20 minutos, retirar y servir.

### Batido Detox Con Frutas

1/8 de taza de amaranto en grano  
1 manzana verde  
 $\frac{1}{4}$  de pepinillo (pepino)  
 $\frac{1}{4}$  de tallo de apio  
3 cm de pulpa de aloe  
 $\frac{1}{2}$  banana  
 $\frac{1}{2}$  vaso de agua  
jugo de  $\frac{1}{2}$  limón  
1 corrito de miel de caña (miel de panela)

Remojar la noche anterior el amaranto.

A la mañana siguiente, retirar el agua del remojo del amaranto, poner en la licuadora todos los ingredientes y licuar bien.



# High Doses of Vitamin C and Leukemia: In Vitro Update

## Altas Dosis De Vitamina C y Leucemia: Actualización In Vitro

Domenico Mastrangelo<sup>1\*</sup>, Laureta Massai<sup>1</sup>, Giuseppe Fioritoni<sup>2</sup>, Francesco Lo Coco<sup>3,4</sup>, Nélida Noguera<sup>3,4</sup> and Ugo Testa<sup>5</sup>

**1 Department of Medical, Surgical and Neurological Sciences, University of Siena, Polo Scientiico San Miniato, Siena, Italy**

**2 Pescara Cell Factory Foundation Onlus, Pescara, Italy**

**3 Department of Biomedicine and Prevention, University of Rome Tor Vergata, Rome, Italy**

**4 Santa Lucia Foundation, I.R.C.C.S., Via del Fosso di Fiorano, Rome, Italy**

**5 Department of Hematology, Oncology and Molecular Medicine, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy**

### Abstract

Vitamin C (ascorbic acid) is an essential nutrient with a number of beneficial effects on the human body. Although the majority of mammals can synthesize their own Vitamin C, humans and a few other species, do not produce it and depend on dietary sources for their Vitamin C supply. Among its many effects on cell function and metabolism, Vitamin C has shown, in vitro, a powerful anticancer effect against a number of human tumor cell lines, including myeloid leukemia. There are many different mechanistic explanations for the anticancer/anti-leukemic effects of Vitamin C and the aim of the present review is to illustrate these mechanisms, showing the results of some preliminary in vitro investigations, and outlining their potential clinical relevance.

**Keywords:** Vitamin C, ascorbate, sodium ascorbate, high doses of ascorbate, intravenous ascorbate, cancer, leukemia, antioxidants, pro-oxidants, free radicals, oxidative stress, redox balance

### Resumen

La vitamina C (ácido ascórbico) es un nutriente esencial con una serie de efectos beneficiosos para el cuerpo humano. Aunque la mayoría de los mamíferos pueden sintetizar su propia vitamina C, los humanos y algunas otras especies, no la producen y dependen de las fuentes dietéticas para su suministro. Entre sus muchos efectos sobre la función celular y el metabolismo, la vitamina C ha demostrado, in vitro, un poderoso efecto anticancerígeno contra varias líneas de células tumorales humanas, incluida la leucemia mieloide. Hay muchas explicaciones mecanicistas diferentes para los efectos anticancerígenos/antileucémicos de la vitamina C y el objetivo de la presente revisión es ilustrar estos mecanismos, mostrando los resultados de algunas investigaciones preliminares in vitro, y destacando su potencial relevancia clínica.

**Palabras clave:** Vitamina C, ascorbato, ascorbato ácido, altas dosis de ascorbato, ascorbato intravenoso, cáncer, leucemia, antioxidantes, pro-oxidantes, radicales libres, estrés oxidativo, equilibrio redox

## **1. Introduction**

Vitamin C is an essential nutrient with a number of beneficial functions, for the organism [1], such as

1. helping the metabolism of tyrosine, folic acid, and tryptophan;
2. increasing the elimination of cholesterol;
3. contributing to the synthesis of catecholamines;
4. helping the body to absorb and breakdown histamine;
5. enhancing the absorption of non-heme iron;
6. promoting the synthesis of collagen (its most widely known physiological function);
7. neutralizing free radicals (it is a reducing agent, "scavenger" of free radicals, and a founder among the natural antioxidants);
8. protecting DNA from damage due to free radicals and mutagens;
9. reducing the risk of premature death;
10. fighting off widespread environmental pollutants; and
11. preventing the development of nitrosamines.

Though ubiquitous, ascorbate is not produced by humans, guinea pigs, some primates, a particular type of fruit eating bat, the majority of fishes and birds [2], who depend on diet for the assumption and use of this fundamental nutrient.

## **2. Vitamin C and leukemia: historical background**

The first mention of the therapeutic potentialities of Vitamin C in leukemia, can be found in the book "The healing Factor: Vitamin C against disease," written by the biochemist Irwin Stone, in 1974 [3]. In his book, Stone refers to a study, performed in 1936 by Stephen and Hawley [4], demonstrating, for the first time, that when the blood is separated into plasma, red blood cells, and white blood cells, there is a 20- to 30-fold concentration of Vitamin C in the white blood cells, as compared to plasma.

Following this report, Barkhan and Howard, by studying a few cases of chronic myelogenous and lymphatic leukemia, added the evidence that leukemic patients have substantially lower than normal plasma levels of Vitamin C [5]. As noted by Stone, although this knowledge could suggest the use of Vitamin C as a therapeutic agent, in leukemia, the first clinical trials showed contrasting results, due to the inappropriately low doses administered.

Later on, Vogt, in a literature review [6], confirmed that there are high deficits of Vitamin C in leukemic patients, as also confirmed by the reports of Kyhos and Coll. [7] in 1945, and Waldo and Zipf, in 1955 [8].

According to Stone [3], leukemia reduces the body stores of Vitamin C to very low levels, and any residual Vitamin C circulating in the blood is scavenged and locked in the excessive numbers of leukocytes characterizing this disorder. As a direct consequence, the plasma levels of Vitamin C are reduced to zero or close thereto, and tissues are no longer being supplied with this most important metabolite, since it is accumulated in leukocytes.

Stone [3] defined "biochemical scurvy" as the condition of insufficient Vitamin C supply to body tissues, and proposed that its correction required the administration of Vitamin C at a rate of 25 g or more per day.

In 2012, 76 years after the first observations on the "concentration" of Vitamin C in leukocytes, an investigation on 131 patients affected by different types of leukemia, definitively confirmed that leukemic patients have significant lower plasma Vitamin C than normal controls. The reduction of plasma Vitamin C levels in leukemia, as predicted by Stone, is due to an increased uptake and utilization by the actively proliferating leukocytes, leading to tissue biochemical scurvy and consequent increased tendency to bleeding and infections, which are the

## **1. Introducción**

La vitamina C es un nutriente esencial con una serie de funciones beneficiosas, para el organismo [1], como

1. ayudar al metabolismo de la tirosina, ácido fólico y triptófano;
2. incrementar la eliminación del colesterol;
3. contribuir a la síntesis de catecolaminas;
4. ayudar al cuerpo a absorber y descomponer la histamina;
5. mejorar la absorción de hierro no hemínico;
6. promover la síntesis de colágeno (su función fisiológica más conocida);
7. neutralizar los radicales libres (es un agente reductor, "eliminador" de los radicales libres y precursor entre los antioxidantes naturales);
8. proteger el ADN de los daños causados por los radicales libres y mutágenos;
9. reducir el riesgo de muerte prematura;
10. combatir los contaminantes ambientales generalizados; y
11. prevenir del desarrollo de nitrosaminas.

Aunque en general, el ascorbato no es producido por los seres humanos, cobayas, algunos primates, un tipo particular de murciélagos frutívoros, la mayoría de las peces y aves [2], dependen de la dieta para la absorción y uso de este nutriente fundamental.

## **2. La vitamina C y la leucemia: antecedentes históricos**

La primera mención de las potencialidades terapéuticas de la vitamina C en la leucemia se puede encontrar en el libro "El factor de curación: la vitamina C contra la enfermedad", escrito por el bioquímico Irwin Stone, en 1974 [3]. En su libro, Stone se refiere a un estudio, realizado en 1936 por Stephen y Hawley. [4], demostrando, por primera vez, que cuando la sangre se separa en plasma, en glóbulos rojos y glóbulos blancos, los leucocitos tienen una concentración de 20 a 30 veces de vitamina C, en comparación con el plasma.

Después de este informe, Barkhan y Howard, al estudiar algunos casos de enfermedades mielógenas crónicas, y leucemia linfática, agregaron la evidencia de que los pacientes leucémicos tienen sustancialmente más bajos niveles plasmáticos normales de vitamina C [5]. Como señala Stone, aunque este conocimiento podría sugerir el uso de la vitamina C como agente terapéutico, en la leucemia, los primeros ensayos clínicos mostraron resultados contrastantes, debido a las dosis inadecuadamente bajas administradas.

Más tarde, Vogt, en una revisión de la literatura [6], confirmó que hay altos déficits de vitamina C en pacientes leucémicos, como también lo confirmaron los informes de Kyhos y Coll. [7] en 1945, y Waldo. y Zipf, en 1955 [8].

Según Stone [3], la leucemia reduce las reservas corporales de vitamina C a niveles muy bajos, y toda la vitamina C residual que circula en la sangre se elimina y se bloquea en las cantidades excesivas de leucocitos que caracterizan este trastorno. Como consecuencia directa, los niveles plasmáticos de vitamina C se reduce a cero o cerca de cero, y ya no se suministra a los tejidos este metabolito tan importante, ya que se acumula en los leucocitos.

Stone [3] define como "escorbuto bioquímico" la condición de suministro insuficiente de vitamina C a los tejidos corporales, y propuso que su corrección requería la administración de vitamina C a una tasa de 25 gotas o más por día.

En 2012, 76 años después de las primeras observaciones sobre la "concentración" de la vitamina C en los leucocitos, Una investigación en 131 pacientes afectados por diferentes tipos de leucemia confirmó definitivamente que

hallmark of this pathological condition [9, 10]. Interestingly, low plasma levels of Vitamin C, have been, very recently, found in around 30% of cases of Non-Hodgkin Lymphoma (NHL), particularly in patients with high bulk disease [11]. With the above data at hand, it is clear that leukemia can be viewed as a condition of functional Vitamin C deficiency, associated with biochemical scurvy, and therefore, all leukemic patients are suitable candidates for the treatment with this nutrient.

### 3. How much Vitamin C to treat leukemia?

The concept of "mega-doses" In 1949, Frederik Klenner first reported the successful treatment of bulbar poliomyelitis, with high doses of Vitamin C administered by intramuscular, intravenous, and oral route [12]. Klenner had also established clinical protocols using massive doses of Vitamin C to treat a number of different viral conditions, but only more than two decades later, Stone formally defined the concept and rationale for the use of "mega-doses" of Vitamin C. In particular, Stone observed that man and only a few other species do not produce their own Vitamin C, while the great majority of mammals do, according to their physiologic requirements [3]. This observation led the author to hypothesize that due to either insufficient intake or increased consumption of the nutrient, or both, man could easily undergo a condition that he defined "hypoascorbemia." Hypoascorbemia is a reduced amount of circulating Vitamin C (also called "ascorbic acid"), due to the lack of the enzyme L-gulonolactone oxidase (GLO), as a consequence of an "inborn error of carbohydrate metabolism" [13-15]. This defect, now very well acknowledged and characterized [16], led Stone to hypothesize that to be in good health, man needs mega-doses of Vitamin C (several grams a day) [17, 18], rather than doses in the order of milligrams, as stated by the Recommended Daily Allowances (RDAs) [19].

The rationale behind the use of mega-doses of Vitamin C was further refined by the chemist and twofold Nobel Prize, Linus Pauling. Pauling soon became an enthusiastic supporter of the use of this nutrient, in high doses, not only to prevent disease [20-23], but also to treat a number of pathologic conditions, ranging from common cold [24, 25] to cancer [26] and AIDS [27].

### 4. Intravenous Vitamin C and cancer

Studies on dose-concentration relationship in humans, performed by Levine and co-workers [28], revealed that at oral doses exceeding 250 mg/day, the plasma levels of Vitamin C reach a plateau, and any further increase in the amount administered by mouth, does not determine significant increase in plasma concentration. This is due to multiple "control" mechanisms, including, among others, intestinal absorption, tissue accumulation, renal reabsorption and excretion, and utilization. On the contrary, the intravenous administration of high doses of Vitamin C, bypassing the above control mechanisms, allows plasma concentrations that are 100-fold or higher than maximally tolerated oral doses, and the peak could last for hours within the millimolar (mM) range [29].

More importantly, at plasma concentrations easily achievable by intravenous administration (5–10 mM for 1–2 h), Vitamin C induced death in 75% of 48 cancer cell lines tested in vitro [30], but had no toxic effect on human peripheral white blood cells, fibroblasts, or epithelial cells. This selective cytotoxic effect would be achieved since at high doses, parenteral ascorbate is a peroxide delivery system for the generation of sustainable ascorbate radical and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> would be produced in the extracellular space, with consequent oxidative damage to cancer cells [31, 32]. Therefore, Vitamin C in high doses would be cytotoxic to cancer cells because of its pro-oxidant, rather than anti-oxidant effect, even though some authors remark

dichos pacientes tienen un nivel de vitamina C en plasma significativamente más bajo que los controles normales. La reducción de los niveles plasmáticos de vitamina C en la leucemia, como predice Stone, se debe a una mayor captación y utilización por los leucocitos de proliferación activa, que conducen a escorbuto bioquímico en los tejidos, y consiguientemente, al aumento de la tendencia a sangrado e infecciones, que son el sello de esta condición patológica [9, 10]. Curiosamente, los bajos niveles plasmáticos de vitamina C, se han encontrado, muy recientemente, en alrededor del 30% de los casos de linfoma no Hodgkin (LNH), particularmente en pacientes con enfermedad de gran volumen [11]. Con los datos anteriores a la mano, queda claro que la leucemia puede verse como una condición de deficiencia funcional de vitamina C, asociada a con escorbuto bioquímico, y, por lo tanto, todos los pacientes leucémicos son candidatos adecuados para el tratamiento con este nutriente.

### 3. ¿Cuánta vitamina C para tratar la leucemia? El concepto de "mega dosis"

En 1949, Frederik Klenner informó por primera vez sobre el tratamiento exitoso de la poliomielitis bulbar, con altas dosis de vitamina C administrada por vía intramuscular, intravenosa y oral [12]. Klenner también había establecido protocolos clínicos que usaban dosis masivas de vitamina C para tratar un número de diferentes condiciones virales, pero solo más de dos décadas después, Stone formalmente definió el concepto y las razones para el uso de "mega dosis" de vitamina C. En particular, Stone observó que el hombre y solo algunas otras especies no producen su propia vitamina C, mientras que la gran mayoría de los mamíferos lo hacen, de acuerdo con sus requisitos fisiológicos [3]. Esta observación llevó al autor a plantear la hipótesis de que, debido a ya sea la ingesta insuficiente o el mayor consumo del nutriente, o ambos, el hombre fácilmente podría someterse a una condición que se define como "Hipoascorbemia". La hipoascorbemia es una cantidad reducida de vitamina C en la circulación (también llamada "Ácido ascórbico"), debido a la falta de la enzima L-gulonolactona oxidasa (GLO), como consecuencia de un "error innato del metabolismo de los carbohidratos" [13-15]. Este defecto, ahora muy bien reconocido y caracterizado [16], llevó a Stone a suponer que, para estar en buen estado de salud, el hombre necesita mega dosis de vitamina C (varios gramos al día) [17, 18], en lugar de dosis en el orden de miligramos, según lo indicado por las Asignaciones Diarias Recomendadas (RDA - Recommended Daily Allowances) [19].

La lógica detrás del uso de mega dosis de vitamina C fue aún más controlada por el químico y el doble Premio Nobel, Linus Pauling. Pauling pronto se convirtió en un entusiasta partidario del uso de este nutriente, en dosis altas, no solo para prevenir enfermedades [20-23], sino también para tratar una serie de afecciones patológicas, que van desde el resfriado común [24, 25] hasta el cáncer [26] y SIDA [27].

### 4. Vitamina C intravenosa y cáncer

Estudios sobre la relación dosis-concentración en humanos, realizados por Levine y colaboradores [28], reveló que a dosis orales superiores a 250 mg/día, los niveles plasmáticos de vitamina C alcanzan una meseta, y cualquier aumento adicional en la cantidad administrada oralmente no determina un aumento significativo en la concentración plasmática. Esto se debe a múltiples mecanismos de "control", incluyendo, entre otros, la absorción intestinal, la acumulación en los tejidos, la reabsorción renal y excreción y utilización. Por el contrario, la administración intravenosa de altas dosis de vitamina C, al pasar por alto los mecanismos de control anteriores, permite concentraciones de plasma que son 100 veces o más que las dosis orales máximamente toleradas, y el pico podría durar horas dentro del rango milimolar (mM) [29].

that the pro-oxidant activity of Vitamin C, may not be relevant, *in vivo* [33–35].

More recently, Yun and co-workers [36], by investigating the effects of high doses of Vitamin C on KRAS and BRAF mutants cells derived from colorectal cancer (CRC), have further refined the mechanistic explanation of the anticancer properties of Vitamin C. In particular, according to the authors, the death of KRAS and BRAF cell mutants of CRC is not caused by the Vitamin C itself, but rather, by its oxidized form, dehydroascorbic acid (DHAA). While Vitamin C enters cells through specific receptors, called sodium-Vitamin C co-transporters (SVCTs) [37], DHAA competes with glucose, for intracellular uptake by glucose transporters (GLUT), mainly 1 and 4 subtype receptors [38, 39].

Interestingly, both KRAS and BRAF activating mutations are responsible for the upregulation of GLUT1 expression in different types of cancer, including CRC [40, 41].

However, as reported by Yun and Coll. [36], the upregulation of GLUT-1 expression is not always associated with increased sensitivity of tumor cell lines to the cytotoxic effects of DHAA.

Further investigation into the metabolic makeup of KRAS and BRAF mutations CRC-derived cell lines, showed an accumulation of glycolytic intermediates upstream glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (GAPDH) and a contemporary depletion of the metabolites downstream GAPDH. This finding indicates an inhibition or severe reduction of GAPDH activity, which appears to be the key of the cytotoxic effect of DHA.

In summary, the data reported by Yun and Coll. on the effect of DHAA on CRC cell lines, indicate that in glycolysis-addicted KRAS and BRAF mutated cell lines, high amounts of DHAA are transported into the cancer cells, through the overexpressed GLUT-1 receptors. The exceeding amounts of intracellular DHAA are then reduced again to Vitamin C with consequent consumption of glutathione (GSH), redox imbalance, and oxidative stress. Oxidative stress, in turn, causes GAPDH inactivation, with inhibition of glycolysis, and energetic crisis, ultimately leading to cell death<sup>4</sup> 2[].

More precisely, beyond being inactivated directly by ROS (including H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), GAPDH function is also hindered by the depletion of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>), caused by the activation of the DNA repairing enzyme, poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), induced by damaged DNA. In fact, the increased production of ROS, in cancer cells, due to the high doses of Vitamin C, produces increased DNA damage and consequent activation of PARP. PARP, in turn, consumes NAD<sup>+</sup> with consequent NAD<sup>+</sup> depletion, ATP depletion, and cancer cell death [43].

## 5. High doses of Vitamin C and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

The view that Vitamin C in high concentrations, administered by intravenous infusion, acts as a pro-oxidant, leading to the formation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, thus inducing oxidative damage to cancer cells, is not new. In 1969, Benade and co-workers had already demonstrated that Vitamin C could selectively kill cancer cells, without harming normal cells. The authors suggested that the cytotoxic effect of ascorbate could be due ("in major part") to the intracellular generation of toxic hydrogen peroxide produced upon oxidation of Vitamin C, by the cells. This view was corroborated by the fact that the toxicity of Vitamin C was greatly enhanced by the concomitant administration of 3-amino-1, 2, 4-triazole (ATA) that inhibits the enzyme catalase, "thus decreasing or destroying the ability of the cancer cells to detoxify H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> effectively" [44]. Further scientific reports confirmed that

Más importante aún, a concentraciones plasmáticas fácilmente alcanzables por administración intravenosa (5–10 mM durante 1–2 h), la vitamina C indujo la muerte en el 75% de las 48 líneas celulares de cáncer analizadas *in vitro* [30], pero no tuvo ningún efecto tóxico sobre las células humanas como leucocitos periféricos, fibroblastos, o células epiteliales. Este efecto citotóxico selectivo se lograría ya que, en dosis altas, el ascorbato parenteral es un sistema de suministro de peróxido para la generación sostenible de radicales de ascorbato y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se produciría en el espacio extracelular, con el consiguiente daño oxidativo a las células cancerígenas [31, 32]. Por lo tanto, la vitamina C en dosis altas sería citotóxica para las células cancerosas por su efecto pro-oxidante, en lugar de su efecto anti-oxidante, a pesar de que algunos autores señalan que la actividad pro-oxidante de la vitamina C, puede no ser relevante, *in vivo* [33–35].

Más recientemente, Yun y sus colaboradores [36], al investigar los efectos de las altas dosis de vitamina C en células de cáncer colorrectal (CRC) derivadas de mutaciones en KRAS y BRAF, refinaron aún más la explicación mecánica de las propiedades anticancerígenas de la vitamina C. En particular, según los autores, la muerte de células de CRC derivadas de mutaciones en KRAS y BRAF no es causada por la vitamina C en sí misma, sino más bien, por su forma oxidada, el ácido deshidroascorbico (DHAA). Mientras la vitamina C ingresa a las células a través de receptores específicos, denominados co-transportadores de sodio y vitamina C (SVCTs) [37], el DHAA compite con la glucosa, por la captación intracelular de los transportadores de glucosa (GLUT), principalmente receptores de subtipo 1 y 4 [38, 39].

Curiosamente, tanto las mutaciones activadoras de KRAS como BRAF son responsables de la regulación positiva de la expresión de GLUT1 en diferentes tipos de cáncer, incluido el CCR [40, 41].

Sin embargo, según lo informado por Yun y Coll. [36], la regulación al alza de la expresión de GLUT-1 no está siempre asociada con una mayor sensibilidad de las líneas celulares tumorales a los efectos citotóxicos del DHAA.

Investigaciones adicionales sobre la composición metabólica de las mutaciones de KRAS y BRAF derivadas de líneas celulares de CRC, mostraron una acumulación de intermediarios glucolíticos en la regulación al alza de la gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH) y un agotamiento contemporáneo de los metabolitos a la baja de la GAPDH. Este hallazgo indica una inhibición o reducción severa de la actividad de la GAPDH, que parece ser la clave del efecto citotóxico del DHA.

En resumen, los datos reportados por Yun y Coll. sobre el efecto del DHAA en líneas celulares de CRC, indican que en las líneas celulares mutantes en KRAS y BRAF dependientes de glucólisis, las altas cantidades del DHAA se transportan a las células cancerosas a través de los receptores de GLUT-1 sobreexpresados. Las cantidades excedentes de DHAA intracelular se reducen de nuevo a vitamina C con el consiguiente consumo de glutatión (GSH), desequilibrio redox y estrés oxidativo. El estrés oxidativo, a su vez, causa la inactivación de la GAPDH, con inhibición de la glucólisis y crisis energética, en última instancia conduce a la muerte celular [42].

Más precisamente, más allá de ser inactivado directamente por ROS (incluido H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), la función de la GAPDH también se ve obstaculizada por el agotamiento de la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>), causado por la activación de la enzima reparadora de ADN, poli(ADP-riboza) polimerasa (PARP), inducida por el ADN dañado. De hecho, el aumento de la producción de ROS, en las

human cancer cells have low levels of antioxidant enzymes (including, among others, catalase and glutathione peroxidase), and therefore cannot detoxify hydrogen peroxide [45, 46].

According to the pro-oxidant theory, Vitamin C in high concentrations induces the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> through a Fenton-like reaction. This reaction is the oxidation of organic substrates by iron and hydrogen peroxide, in which trivalent iron (Fe<sup>3+</sup>) plays a fundamental role. However, since Fenton-like reactions are usually controlled, *in vivo*, because of iron sequestration by metal binding proteins, the pro-oxidant effect of Vitamin C, *in vivo*, may be scarcely significant [33–35], and other mechanisms should be hypothesized.

Other authors, using two prostate cancer cell lines (LNCaP and PC-3) have shown that iron at physiological concentrations in cell culture medium and human plasma abrogates the anticancer/cytotoxic effects of Vitamin C. In particular, at physiological concentrations, iron promotes both production and decomposition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the latter being mediated by a Fenton reaction, which prevents the accumulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, thus abolishing the cytotoxic effect of Vitamin C. Therefore, for an optimal anticancer effect, Vitamin C should be administered with chelating agents, which remove iron from the medium [47].

On the other hand, Vitamin C readily undergoes pH-dependent autoxidation producing hydrogen peroxide, and catalytic metals only accelerate the oxidation process. Therefore, catalytic iron may not be strictly necessary for the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. This auto oxidation process (oxidation in the absence of catalytic metals) occurs via the ascorbate di-anion (Asc<sub>2</sub><sup>-</sup>). In particular, at pH 7.0, 99.9% of ascorbate (Vitamin C) is in the form of mono-anion (AsCH<sup>-</sup>). Asc<sub>2</sub><sup>-</sup> increases by a factor ten, with one unit increase in the pH. Therefore, while the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> may be scarcely relevant in the absence of catalytic iron (as in the "Fenton chemistry"), it may become considerable when the concentration of ascorbate is in the order of the millimoles, as in the case of the use of Vitamin C as an anticancer compound [48].

Finally, accumulating evidence suggests that cancer cells produce high amounts of hydrogen peroxide [49], and hydrogen peroxide itself is a powerful carcinogen, associated with mutagenic potential [50]. Therefore, the role of Vitamin C as a pro-drug of hydrogen peroxide, to kill cancer cells, is still far from being fully elucidated.

## 6. Oral vs. intravenous Vitamin C

The pharmacokinetic studies of Levine and Padayaty [28, 29], on Vitamin C, indicate that after oral administration of 200 mg of the nutrient, the maximum plasma concentrations obtained, are not superior to 70–80 µM. This is due to a "tight control," operated by several different mechanisms, including, among others: bioavailability, intestinal absorption, tissue accumulation, renal reabsorption and excretion, and utilization rate as a function of homeostasis. On the contrary, when Vitamin C is administered intravenously, "tight control" is bypassed, until renal excretion restores equilibrium, depending on the dose administered [51].

Therefore, according to these data, the intravenous administration of Vitamin C is the only way to achieve plasma concentrations in the order of millimoles, necessary to kill cancer cells.

However, this view is in disagreement with the following evidences:

- a. The results obtained by intravenous administration of Vitamin C, do not show the same large effects reported

células cancerosas, debido a las altas dosis de vitamina C, produce un mayor daño en el ADN y la consiguiente activación de la PARP. La PARP, a su vez, consume NAD<sup>+</sup> con el consiguiente agotamiento de NAD<sup>+</sup>, agotamiento de ATP y muerte de células cancerosas [43].

## 5. Altas dosis de vitamina C y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

La opinión de que la vitamina C en altas concentraciones, administrada por infusión intravenosa, actúa como un pro-oxidante, que conduce a la formación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, induciendo así el daño oxidativo de las células cancerígenas, no es nueva. En 1969, Benade y sus colaboradores ya habían demostrado que la vitamina C podría matar selectivamente las células cancerosas, sin dañar las células normales. Los autores sugirieron que el efecto citotóxico del ascorbato podría deberse ("en gran parte") a la generación intracelular del peróxido de hidrógeno tóxico producido por la oxidación de la vitamina C, por las células. Este punto de vista fue corroborado por el hecho de que la toxicidad de la vitamina C se incrementó en gran medida por la administración concomitante de 3-amino-1,2,4-triazol (ATA) que inhibe la enzima catalasa, "de este modo, se reduce o se destruye la capacidad de las células cancerosas para desintoxicar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de manera efectiva". [44] Los informes científicos posteriores confirmaron que las células cancerosas humanas tienen niveles bajos de enzimas antioxidantes (incluyendo, entre otros, catalasa y glutatión peroxidasa), y por lo tanto no pueden desintoxicar el peróxido de hidrógeno [45, 46].

Según la teoría pro-oxidante, la vitamina C en altas concentraciones induce la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a través de una reacción tipo Fenton. Esta reacción es la oxidación de los sustratos orgánicos por parte del hierro y peróxido de hidrógeno, en el que el hierro trivalente (Fe<sup>3+</sup>) desempeña un papel fundamental. Sin embargo, dado que las reacciones de tipo Fenton generalmente se controlan, *in vivo*, debido al secuestro de hierro por las proteínas de unión a metales, el efecto pro-oxidante de la vitamina C, *in vivo*, puede ser poco significativo [33-35], y otros mecanismos deben ser hipotetizados.

Otros autores, que utilizan dos líneas celulares de cáncer de próstata (LNCaP y PC-3) han demostrado que el hierro a concentraciones fisiológicas en medio de cultivo celular y de plasma humano abroga los efectos anticancerígenos/citotóxicos de la vitamina C. En particular, en concentraciones fisiológicas, el hierro promueve tanto la producción como la descomposición del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, esta última mediada por una reacción tipo Fenton, que impide la acumulación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, suprimiendo de este modo el efecto citotóxico de vitamina C. Por lo tanto, para un efecto anticancerígeno óptimo, la vitamina C debe administrarse con agentes quelantes que retiran el hierro [47].

Por otro lado, la vitamina C se somete fácilmente a la auto-oxidación dependiente del pH, produciendo que el peróxido de hidrógeno, y los metales catalíticos solo aceleran el proceso de oxidación. Por lo tanto, el hierro catalítico puede no ser estrictamente necesario para la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Este proceso de auto oxidación. (La oxidación en ausencia de metales catalíticos) se produce a través del di-anión de ascorbato (Asc<sub>2</sub><sup>-</sup>). En particular, a pH 7.0, el 99.9% del ascorbato (vitamina C) está en forma de mono-anión (AsCH<sup>-</sup>). El Asc<sub>2</sub><sup>-</sup> se incrementa por un factor diez, con el aumento de una unidad en el pH. Por lo tanto, mientras que la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puede ser poco relevante en ausencia de hierro catalítico (como en la "química de Fenton"), puede llegar a ser considerable cuando la concentración de ascorbato es en milimoles, como en caso del uso de vitamina C como compuesto anticancerígeno [48].

by Robinson, feeding squamous cell carcinoma implanted mice, with large doses of the nutrient [52];

- Abram Hofer [53] used oral high doses of Vitamin C in cancer patients and obtained essentially the same significant results as Cameron and Pauling, Cameron and Campbell [54–58], and Murata [59];
- Although it is presently believed that only injected Vitamin C delivers the concentrations needed to produce an anti-tumor effect, neither the legendary scientist Linus Pauling nor the consultant surgeon, Ewan Cameron, seemed to know the difference between oral and intravenous administration. In fact, in their clinical trial, the protocol started with a few days of 10 grams of intravenous Vitamin C, followed by 10 grams of oral Vitamin C for the whole life. Interestingly, Cameron and Campbell, who had already reported on the successful treatment of cancer with oral Vitamin C, had already observed that "... with increasing experience, we tend now to believe that the intravenous regime is probably unnecessary as a routine measure, and need only to be employed in situations where vomiting, anorexia, or other complications of malignancy, preclude oral administration" [58];
- Plasma concentrations above the 400  $\mu\text{M}$  have been reported, after the administration of a single dose of oral liposomal Vitamin C [60];
- At times of stress or illnesses (including cancer), the body may absorb extra Vitamin C, as demonstrated by the principle of "bowel tolerance" to the nutrient administered by mouth. According to this principle, when the body is saturated with Vitamin C, slight diarrhea may appear, due to intestinal elimination of the nutrient. However, during stress or disease, the amount of oral Vitamin C a patient can tolerate, before the appearance of diarrhea, increases in proportion with the severity of the condition [61];
- This means that the "tight control" hypothesized by Levine and Padayaty, over the plasma concentration of Vitamin C, is either nonexistent or relative to disease conditions or stress. To achieve the maximum plasma levels, a typical person may need 20 g of oral Vitamin C spread throughout the day (3–4 g every 4 h); but cancer patients may require far more [62]. Such massive intake may result in plasma concentrations that the tumor may absorb, generating hydrogen peroxide that kills cancer cells;
- More recently, the paradigm according to which antioxidants inhibit tumorigenesis predominantly by decreasing ROS-mediated DNA damage and mutations [63, 64] has been challenged by experimental data. Antioxidants such as N-acetylcysteine (NAC) and Vitamin C exerts their anti-tumorigenic activity by downregulating HIF-1 $\alpha$  [65]. Interestingly, these data were obtained not by injecting, but by simply feeding mice with large amounts of NAC or Vitamin C. These findings validate the role of oral administration of Vitamin C (and other antioxidants) in fighting cancer.

## 7. Vitamin C and leukemia: an *in vitro* update

As we have previously demonstrated, high ("pharmacologic") concentrations of Vitamin C (in the form of the sodium salt of ascorbic acid) are capable of eliciting a clear-cut pro-apoptotic/cytotoxic effect on human promyelocytic leukemia-derived cell lines (HL60), *in vitro* [66] (Figures 1 and 2). This effect is already evident at concentrations of Vitamin C of 1 mM in the culture medium, and it is proportional to the amount of Vitamin C.

Since clinical investigations using high doses of Vitamin C to treat cancer, have reported plasma levels of more than 30 [67], and up to 49 mM [68], it seems reasonable to conclude that using high amounts of Vitamin C, administered by intravenous injection, is not strictly necessary to kill cancer cells in APL.

Further investigations in leukemia, performed by our research group, have shown that a plasma concentration

Finalmente, la evidencia acumulada sugiere que las células cancerosas producen altas cantidades de peróxido de hidrógeno [49], y el peróxido de hidrógeno en sí mismo es un poderoso carcinógeno, asociado con mutagénico potencial [50]. Por lo tanto, el papel de la vitamina C como profármaco del peróxido de hidrógeno, para matar las células cancerosas, aún está lejos de ser completamente aclarado.

## 6. Vitamina C oral vs. intravenosa

Los estudios farmacocinéticos de Levine y Padayaty [28, 29], sobre la vitamina C, indican que después de la administración oral de 200 mg del nutriente, las concentraciones plasmáticas máximas obtenidas no son superiores a 70–80  $\mu\text{M}$ . Esto se debe a un "control estricto", operado por varios diferentes mecanismos, incluyendo, entre otros: biodisponibilidad, absorción intestinal, acumulación tisular, reabsorción y excreción renal, y tasa de utilización en función de homeostasis. Por el contrario, cuando la vitamina C se administra por vía intravenosa, el "control estricto" se omite, hasta que la excreción renal restablece el equilibrio, dependiendo de la dosis administrada [51].

Por lo tanto, de acuerdo con estos datos, la administración intravenosa de vitamina C es la única manera de alcanzar concentraciones plasmáticas en milímoles, necesarias para matar células cancerosas.

Sin embargo, esta opinión está en desacuerdo con las siguientes evidencias:

- Los resultados obtenidos por la administración intravenosa de vitamina C, no muestran los mismos grandes efectos reportados por Robinson, suministrándose grandes dosis del nutriente a ratones implantados con cáncer de células escamosas [52];
- Abram Hofer [53] utilizó dosis altas orales de vitamina C en pacientes con cáncer y obtuvo esencialmente los mismos resultados significativos que Cameron y Pauling, Cameron y Campbell [54–58], y Murata [59];
- Aunque actualmente se cree que solo la vitamina C inyectada proporciona las concentraciones necesarias para producir un efecto antitumoral, ni el legendario científico Linus Pauling, ni el cirujano consultor Ewan Cameron, parecía saber la diferencia entre la administración oral e intravenosa. De hecho, en su ensayo clínico, el protocolo comenzó con unos pocos días de 10 gramos de vitamina C intravenosa, seguidos de 10 gramos de vitamina C oral para toda la vida. Curiosamente, Cameron y Campbell, que ya habían informado sobre el tratamiento exitoso del cáncer con vitamina C oral, ya habían observado que "... a medida que aumenta la experiencia, ahora tendemos a creer que el régimen intravenoso es probablemente innecesario como una medida de rutina, y solo deben emplearse en situaciones en las que vómitos, anorexia u otras complicaciones de malignidad, excluyen la administración oral" [58];
- Se han informado concentraciones plasmáticas superiores a los 400  $\mu\text{M}$ , después de la administración de una dosis única de vitamina C liposomal oral [60];
- En momentos de estrés o enfermedades (incluido el cáncer), el cuerpo puede absorber más vitamina C, como lo demuestra el principio de "tolerancia intestinal" al nutriente administrado por boca. De acuerdo con este principio, cuando el cuerpo está saturado con vitamina C, puede aparecer diarrea ligera, debido a la eliminación intestinal del nutriente. Sin embargo, durante el estrés o enfermedad, la cantidad de vitamina C oral que un paciente puede tolerar, antes de la aparición de diarrea, aumenta en proporción con la gravedad de la afección [61];
- Este significa que el "control estricto" hipotetizado por Levine y Padayaty, sobre la concentración plasmática de vitamina C, es inexistente o relativa a las condiciones

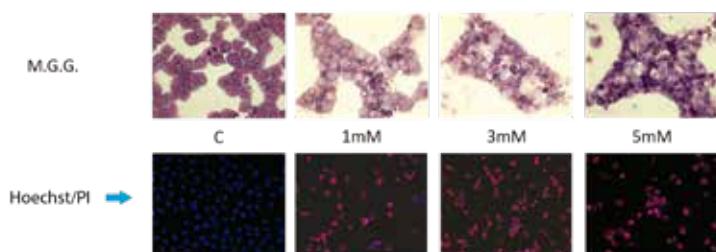


Figure 1. The microphotographs refer to the cytomorphologic modifications of HL60 cell lines (human acute promyelocytic leukemia—APL) exposed for 2 h to increasing concentrations of Vitamin C. It is evident that by increasing the concentration of Vitamin C in the medium (from 1 to 5 mM), APL cells show an increasing degree of morphologic alterations indicating progressive cell death (apoptosis, autophagy, autoschizis). With the Hoechst/PI fluorescent staining, vital cells are colored in blue, while dead/apoptotic cells are stained in red. M.G.G. = May Grunwald Giemsa cell staining; Hoechst33342/Propidium Iodide (PI) = Vital Staining; C = control (untreated) sample; 1 mM, 3 mM, 5 mM = Vitamin C at 1, 3, and 5 mM in the culture medium; original magnification: 400x.

Figura 1. Las microfotografías se refieren a las modificaciones de la citomorfología de las líneas celulares HL60 (leucemia promielocítica aguda humana [LPA] expuestas durante 2h a concentraciones crecientes de vitamina c. Es evidente que al aumentar la concentración de vitamina C en el medio (de 1 a 5 Mm), las células de LPA muestran un grado creciente de alteraciones en la morfología que indica muerte celular progresiva (apoptosis, autofagia, autosquizis). Con la tinción Hoechst/ fluorescente, las células vitales se colorean en azul, mientras que las muertas/apoptóticas se tiñen en rojo. MGG = tinción celular May Grunwald Giemsa; Hoechst33342/Yoduro de Propidio (PI) = tinción vital; C = muestra de control (no tratada); 1mM, 3mM,5mM = Vitamina C a 1,3,5mM en el medio de cultivo; Ampliación original: 400 x.

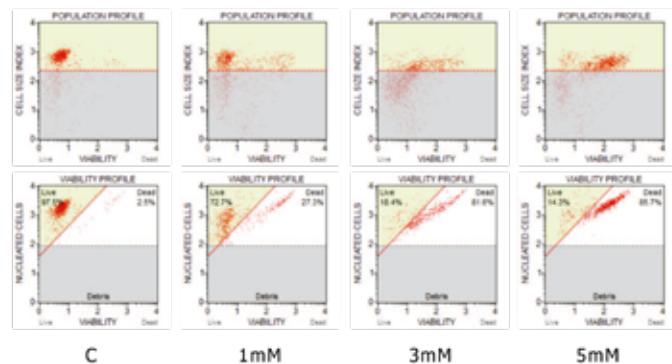


Figure 2. Viability profile of (Human) acute promyelocytic leukemia (APL) cell line (HL60) exposed for 2 h to increasing concentrations of Vitamin C. (Flow Cytometry analysis: see text). The percentage of dead cells in the plates is proportional to the concentration of Vitamin C in the medium. C = control (untreated) sample; 1 mM, 3 mM, 5 mM = Vitamin C at 1, 3, and 5 mM in the culture medium.

Figura 2. Perfil de vitalidad de leucemia promielocítica (LPA) aguda (humana) (HL60) expuesta durante 2h hasta aumentar concentraciones perfil de Vitalidad de la línea celular de leucemia promielocítica (LPA) aguda humana (HL60), expuestas 2h a concentraciones crecientes de vitamina C, (análisis de citometría de flujo; ver texto). El porcentaje de células muertas en las placas es proporcional a la concentración de vitamina C en el medio. C = muestra de control (no tratada);1mM, 3mM, 5mM = Vitamina C a 1,3,5 mM en el medio de cultivo.

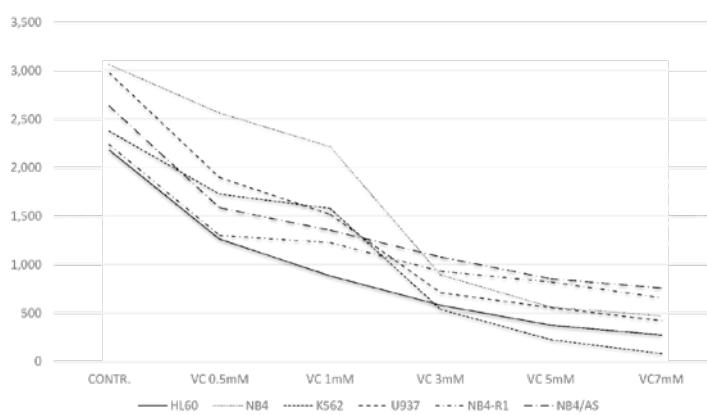


Figure 3. The figure illustrates Table 1. The diagram shows the almost uniform decrease in the number of vital leukemic cells in the culture medium, after exposing them to increasing concentrations of Vitamin C, for 2 h.

Figura3. La figura ilustra la Tabla 1. El diagrama muestra la disminución casi uniforme en el número de células leucémicas vitales en el medio de cultivo, después de exponerlas a concentraciones crecientes de vitamina C, durante 2h.

of 3 mM of Vitamin C in the culture medium, is sufficient to kill more than a half of the cells in culture (LC50) in a number of different human myeloid leukemia cell lines [69] (Figures 3 and 4) (Table 1). It is of interest to consider that according to our protocol, the leukemic cells are exposed to Vitamin C for no more than 2 h, then accurately "washed," re-suspended in fresh culture medium, without Vitamin C, and further incubated for additional 18–24 h, before the evaluation of cell survival and apoptosis. Given the results obtained, it is reasonable to conclude that the Vitamin C added to the culture medium (in the form of sodium ascorbate) is rapidly internalized by the leukemic cells, and its "toxic" effects last for hours (days), even when the nutrient has been removed from the culture medium. This is in agreement with the notion that both normal and leukemic white blood cells tend to concentrate Vitamin C [70–73] to levels that are 10–100 fold higher than plasma

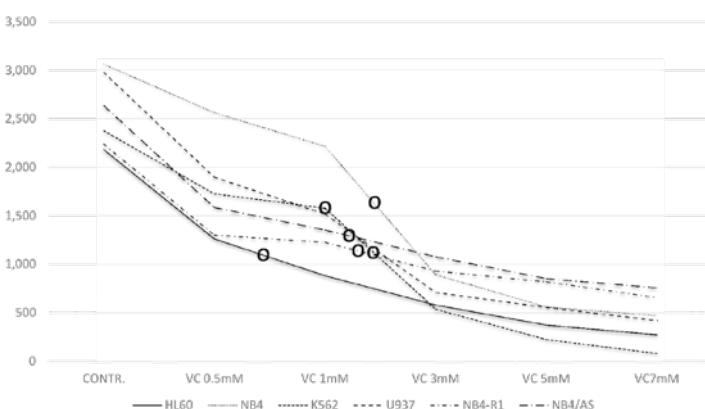


Figure 4. The figure illustrates Table 1. Highlighted with colored circles, the LC50 for each human myeloid leukemia cell line tested.

Figura 4.- La figura ilustra la Tabla 1. Resultado con círculos de colores, el LC50 para cada línea celular probada leucemia mieloide humana.

de la enfermedad o estrés. Para alcanzar los niveles plasmáticos máximos, una persona típica puede necesitar 20 g de vitamina C oral, distribuida a lo largo del día (3–4 g cada 4 h); pero los pacientes con cáncer pueden requerir mucho más [62]. Tal ingesta masiva puede resultar en concentraciones plasmáticas que el tumor puede absorber, generando peróxido de hidrógeno que mata las células cancerosas;

g. Más recientemente, el paradigma según el cual los antioxidantes inhiben la tumorigénesis predominantemente al disminuir el daño del ADN mediado por ROS y las mutaciones [63, 64] se ha visto desafiado por los datos experimentales. Antioxidantes como la N-acetilcisteína (NAC) y la vitamina C, ejercen su actividad antitumorigénica al disminuir la regulación de HIF-1 $\alpha$  [65]. Curiosamente, estos datos se obtuvieron no por inyección, sino simplemente alimentando ratones con

[74, 75], and it is in contrast with the view that hydrogen peroxide forms outside the tumor cells [31, 32].

Neutrophils, in particular, accumulate Vitamin C via the sodium-dependent Vitamin C cotransporter 2 (SVCT2) [76], and have intracellular levels of 1–2 mM [77]. Therefore, while there is agreement on the fact that in solid tumors, Vitamin C, initially oxidized to dehydroascorbic acid (DHAA), is internalized by the cell, via GLUT 1 and 4, and finally reduced again to ascorbic acid, with consumption of GSH; this may not be the case in acute myeloid leukemia.

More importantly, the parallel exposure of normal hematopoietic precursors (CD34+), isolated from cord blood, to Vitamin C, at the concentrations that are cytotoxic for leukemic cells did not affect their survival, or impair their capacity to proliferate and differentiate in response to myeloid growth factors. These data confirm that Vitamin C is harmless for normal hematopoietic precursors and therefore highly selective in its anticancer/antileukemic effect.

grandes cantidades de NAC o vitamina C. Estos hallazgos validan el papel de la administración oral de vitamina C (y otros antioxidantes) en la lucha contra el cáncer.

## 7. La vitamina C y la leucemia: una actualización in vitro

Como hemos demostrado anteriormente, altas concentraciones ("farmacológicas") de vitamina C (en forma de la sal de sodio del ácido ascórbico) son capaces de provocar un efecto pro-apoptótico/citotóxico bien definido en líneas celulares derivadas de leucemia promielocítica humana (HL60), in vitro [66] (Figuras 1 y 2). Este efecto ya es evidente a concentraciones de vitamina C de 1 mM en el medio de cultivo, y es proporcional a la cantidad de vitamina C.

Desde investigaciones clínicas que utilizan altas dosis de vitamina C para tratar el cáncer, se ha informado niveles plasmáticos de más de 30 [67], y hasta 49 mM [68], parece razonable concluir que el uso de altas cantidades de vitamina C, administrada por inyección intravenosa, no es estrictamente necesario para matar las células cancerosas

		HL60 (2 h)	NB4 (2 h)	K562 (2 h)	U937 (2 h)	NB4-R1 (2 h)	NB4/As (2 h)
Exp. 1	Contr.	471	912	663	1189	337	819
	VC 0.5	296	680	669	479	82.8	42.7
	VC 1	108	494	628	245	39.7	31.9
	VC 3	22.6	163	226	56.4	47	32.2
	VC 5	15.1	143	82	30.2	35	48.4
	VC 7	6.15	85.4	32.2	10.6	24.6	17.6
Exp. 2	Contr.	869	1020	694	829	936	958
	VC 0.5	423	959	399	704	624	823
	VC 1	349	887	445	585	560	674
	VC 3	217	337	200	232	335	581
	VC 5	143	74.6	111	118	344	402
	VC 7	89.5	147	35.2	93.7	255	329
Exp. 3	Contr.	843	1130	1020	969	967	859
	VC 0.5	545	924	660	716	678	722
	VC 1	438	835	507	689	668	649
	VC 3	343	395	113	480	551	499
	VC 5	218	346	35.2	411	443	453
	VC 7	181	241	17.6	320	380	414

The cell lines used in this experiment are variants of human myeloid leukemia cells, and include: HL60, NB4, K562, U937, NB4-R1, NB4/As. It is evident that the total number of cells in culture decreases by increasing the concentration of Vitamin C in the culture medium. C = control (untreated) sample; VC = Vitamin C; VC 0.5 mM, VC 1 mM, VC 3 mM, VC 5 mM = Vitamin C at 0.5, 1, 3, and 5 mM in the culture medium.

Table 1. The number of vital cells after 2 h of exposure to increasing concentrations of Vitamin C in the culture medium.

Las líneas celulares usadas en este experimento son variantes de células de leucemia mieloide humana e incluyen: HL60, NB4, K562, U937, NB4-R1, NB4/As. Es evidente que el número de células en cultivo disminuye al aumentar la concentración de vitamina C en el medio de cultivo. C=muestra de control (no tratada); VC=Vitamina C; VC 0,5mM, VC 1mM, VC 3mM, VC 5mM = Vitamina C a 0,5,1,3 y 5 mM en el medio de cultivo.

Tabla 1.- El número de células vitales después de 2h de exposición a concentraciones creciente de Vitamina C en el medio de cultivo.

## **8. Hypoxia inducible factor (HIF): the forgotten pathway**

Hypoxia and induction of hypoxia-inducible factors (HIF) is a hallmark of many tumors [78, 79]. HIF-1 is a heterodimeric transcription factor discovered in 1991 [80], and is composed of two subunits, α and β. The HIF-1α subunit is oxygen sensitive and it is induced by hypoxic conditions, which are very common in cancer. Direct transcriptional targets of HIF-1 include genes regulating, among others, growth and apoptosis, cell migration, energy metabolism, angiogenesis, vasomotor regulation, matrix and barrier functions, and transport of metal ions and glucose [81].

In normoxic conditions, the HIF-1α unit is downregulated by Vitamin C dependent hydroxylases, while in hypoxic conditions (such as those existing in many different types of cancer), HIF-1α hydroxylation is repressed with consequent increase in HIF-dependent gene transcription, neoangiogenesis, and tumor growth and progression [2].

More importantly, since Vitamin C stimulates HIF-1α prolyl hydroxylases, low levels of Vitamin C promote tumor growth and progression, by reducing HIF-1α hydroxylation [83], thereby stabilizing HIF-1α. On the contrary, high levels of HIF render cancer cells more sensitive to Vitamin C-induced toxicity. To confirm this view, Kuiper and Coll. [84] have recently found an inverse relationship between intra-tumor levels of Vitamin C and HIF activity in both endometrial cancer [85] and colorectal carcinoma (CRC) [86].

In 1925, Otto Warburg observed that cancer cells manifest increased rates of lactate production under aerobic conditions ("Warburg Effect") or, in other words, they preferentially utilize glycolysis, instead of oxidative phosphorylation, for metabolism even in the presence of oxygen [87, 88].

"Hypoxia" (low oxygen concentration) is a hallmark of solid tumors, usually occurring at the center of the tumor mass, where blood vessels are abnormal or insufficient to supply adequate amounts of oxygen [89].

In response to the reduced oxygen tension, the HIF is activated to mediate the primary transcriptional adaption to hypoxic stress in cancer cells [90, 91].

As previously mentioned, HIFs regulate angiogenesis, cell survival, proliferation, apoptosis, adhesion, and metabolism by transcriptionally activating downstream targets such as vascular endothelial growth factor and erythropoietin. Therefore, HIF (HIF1, in particular) plays a major role in tumor growth, and clinical data suggest that the upregulation of HIF, as determined by the low oxygen tension, is usually associated with increased mortality in a number of different cancers [92–94], and may represent a relevant target for new therapeutic approaches to the disease [95–97].

### **9. The HIF pathway in leukemia**

The role of HIF-1α in leukemia, and in particular in acute myeloid leukemia (AML), has only recently emerged and it is still somewhat controversial. One possible explanation for this delayed interest in the role of hypoxia in leukemia could be the fact that leukemia is not considered a "solid" tumor, and therefore, the role of oxygen, in its pathogenesis, has been considered inconsequential for long time. This erroneous view, has been recently reviewed, as data have emerged, demonstrating that leukemic cells are sensitive to the oxygen tension, and hypoxia influences leukemic cell proliferation, differentiation, and resistance to chemotherapy [98].

Migliavacca and Coll. have recently demonstrated oncogenic function of HIF-1α, in the M5 Fab subtype of AML [99]. In particular, the authors have demonstrated that in M5 AML, HIF-1α mediates the ability of leukemic cells to

en la leucemia promielocítica.

Investigaciones adicionales en leucemia, realizadas por nuestro grupo de investigación, han demostrado que concentraciones plasmáticas de 3 mM de vitamina C en el medio de cultivo, con suficientes para matar más de la mitad de las células cultivo (LC50) en varios tipos diferentes de líneas celulares de leucemia mieloide humana [69] (Figuras 3 y 4) (Tabla 1). Es de interés considerar que, de acuerdo a nuestro protocolo, las células leucémicas se exponen a la vitamina C durante no más de 2 h, y luego se "lavan" con precisión, son resuspendidas en medio de cultivo fresco, sin vitamina C, y luego incubadas durante 18 a 24 h adicionales, antes de la evaluación de la supervivencia celular y la apoptosis. Dado los resultados obtenidos, es razonable concluir que la vitamina C agregada al medio de cultivo (en forma de ascorbato de sodio) es internalizado rápidamente por las células leucémicas, y sus efectos "tóxicos" duran horas (días), incluso cuando el nutriente se ha eliminado del medio de cultivo. Esto está de acuerdo con la noción de que tanto el leucocito normal como el leucémico tienden a concentrar la vitamina C [70–73] a niveles 10 a 100 veces más altos que plasma [74, 75], y está en contraste con la opinión de que el peróxido de hidrógeno se forma fuera de las células tumorales [31, 32].

Los neutrófilos, en particular, acumulan vitamina C a través del co-transportador 2 de vitamina C dependiente de sodio (SVCT2) [76], y tienen niveles intracelulares de 1–2 mM [77]. Por lo tanto, mientras existe un acuerdo sobre el hecho de que, en los tumores sólidos, la vitamina C, inicialmente se oxida a ácido deshidroascórbico (DHAA), es internalizado por la célula, a través de GLUT 1 y 4, y finalmente se reduce nuevamente a ácido ascórbico, con el consumo de GSH; este puede no ser el caso en la leucemia mieloide aguda.

Más importante aún, la exposición paralela de los precursores hematopoyéticos normales (CD34+), aislados de la sangre del cordón umbilical, a la vitamina C, en las concentraciones que son citotóxicas para la leucemia, no afectó la supervivencia de las células, o su capacidad para proliferar y diferenciarse en respuesta a factores de crecimiento mieloide. Estos datos confirman que la vitamina C es inocua para los precursores hematopoyéticos normales y por lo tanto es altamente selectiva en su efecto anti-cáncer/anti-leucémico.

## **8. Factor inducible por hipoxia (HIF): la vía del olvido**

La hipoxia y la inducción de factores inducibles por hipoxia (HIF) son un sello distintivo de muchos tumores [78, 79].

El HIF-1 es un factor de transcripción heterodimérico descubierto en 1991 [80], y está compuesto por dos subunidades, α y β. La subunidad α de HIF-1 es sensible al oxígeno y es inducida por condiciones hipóticas, que son muy comunes en el cáncer. Los objetivos de transcripción directa de HIF-1 incluyen genes reguladores, entre otros, de crecimiento y apoptosis, migración celular, metabolismo energético, angiogénesis, regulación vasomotora, funciones de matriz y barrera, y transporte de iones metálicos. y glucosa [81].

En condiciones normóticas, la unidad HIF-1α está regulada a la baja por hidroxilasas dependientes de la vitamina C, mientras que en condiciones hipóticas (como las que existen en muchos tipos diferentes de cáncer), la hidroxilación de HIF-1α es reprimida con el consiguiente aumento en la transcripción de genes dependientes de HIF, neo-angiogénesis, un crecimiento y progresión tumoral [8, 2].

Más importante aún, dado que la vitamina C estimula las prolíl-hidroxilasas de HIF-1α, los niveles bajos de vitamina C promueven el crecimiento y la progresión tumoral, al

migrate and invade extramedullary sites.

The same group has demonstrated that PML-RARA and other fusion proteins involved in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia (APL) behave as transcriptional coactivators of HIFs, and both HIFs and PML-RARA enhances the progression of APL, by promoting cell migration, homing to bone marrow, and bone marrow neo-angiogenesis [100, 101].

Further investigations [102] have demonstrated that HIF-1a plays critical and pleiotropic roles in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia (CLL).

Globally, elevated levels of HIF-1a have been reported in AML [103–106], APL [100], acute lymphoblastic leukemia (ALL) [107], and chronic myelogenous leukemia (CML) [108, 109]. Furthermore, HIF-1a overexpression conditions disease severity and outcome in both AML and myelodysplastic syndrome (MDS) [110–112].

Overall, the available data show that hypoxia and HIF-mediated signaling play a crucial role in leukemia, and targeting HIF with specific drugs or natural inhibitors, such as Vitamin C, represents a potentially useful approach to its treatment [113].

#### 10. Vitamin C as a powerful modulator of TET2 activity

Decreased TET expression and loss of 5hmC have been observed in a wide variety of solid tumors, as well as in many hematological malignancies, including acute myeloid leukemias, myelodysplastic syndromes, and clonal hematopoiesis [114].

Recent experimental studies suggest that pharmacological dose of Vitamin C may represent a potentially important strategy in leukemia therapy through a stimulatory effect on TET2 activation and restoration in leukemic cells. Vitamin C is a co-factor of TET2 enzyme and is capable of interacting with the catalytic domain of TET2, enhancing the enzymatic oxidation of 5-methylcytosine (5mC) to 5-hydroxymethylcytosine (5hmC) [115]. This epigenetic modulation elicited by Vitamin C is able to improve the generation of pluripotent stem cells [116] and to induce a blastocyst-like state in mouse embryonic stem cells [117].

Two recent studies explored the possible epigenetic effects of Vitamin C on leukemia models, mediated by activation and restoration of TET2 activity in leukemic cells. In the first one, authors used a murine model of IDH1-dependent acute myeloid leukemia [118], and 2-phosphate l-ascorbic acid (Asc 2-P). Asc 2-P, unlike native Vitamin C, remains oxidatively stable under standard cell culture conditions [119], and possesses the same modulatory effects of Vitamin C, but, unlike Vitamin C, it does not induce cytotoxic effects of through stimulation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production. Asc 2-P added to the cells in culture is stable and releases Vitamin C by plasma membrane alkaline phosphatase hydrolysis [120]. Therefore, Asc 2-P allows a better characterization of the epigenetic activity of Vitamin C, without the "disturbing" H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated cytotoxic effects of the native molecule. Asc 2-P treatment of the IDH1 AML-mutant mice induced an increase of 5hmC levels, a reduction of leukemic proliferation and an increase in expression of genes involved in leukocyte differentiation [118]. The stimulatory effect of Vitamin C on myeloid differentiation is mediated through the restoration of a normal expression and function of transcription factors, such as PU.1 and RUNX1, required for normal myeloid differentiation.

A second study provided clear evidence that in various leukemia models, Vitamin C treatment induces the restoration of TET2 function, blocking aberrant self-renewal

reducir la hidroxilación de HIF-1a [83], estabilizando así a HIF-1a. Por el contrario, los altos niveles de HIF hacen que las células cancerosas sean más sensibles a la toxicidad inducida por la vitamina C. Para confirmar este punto de vista, Kuiper y Coll. [84] recientemente encontraron una relación inversa entre los niveles intratumorales de vitamina C y la actividad de HIF en el cáncer de endometrio [85] y carcinoma colorrectal (CCR) [86].

En 1925, Otto Warburg observó que las células cancerosas manifiestan mayores tasas de producción de lactato bajo condiciones aeróbicas ("Efecto Warburg") o, en otras palabras, utilizan preferentemente glucólisis, en lugar de la fosforilación oxidativa, para el metabolismo incluso en presencia de oxígeno [87, 88].

La "hipoxia" (baja concentración de oxígeno) es un sello distintivo de los tumores sólidos, que generalmente se presenta en el centro de la masa tumoral, donde los vasos sanguíneos son anormales o insuficientes para el suministro adecuado de cantidades de oxígeno [89].

En respuesta a la tensión reducida de oxígeno, el HIF se activa para mediar en la adaptación al estrés hipódico de la transcripción primaria en las células cancerosas [90, 91].

Como se mencionó anteriormente, los HIF regulan la angiogénesis, la supervivencia celular, la proliferación, la apoptosis, adhesión, y el metabolismo mediante la activación transcripcional de objetivos en sentido descendente, tales como el factor de crecimiento endotelial vascular y eritropoyetina. Por lo tanto, HIF (HIF1, en particular) juega un papel importante en el crecimiento del tumor, y los datos clínicos sugieren que la regulación positiva de HIF, según lo determinado por la baja tensión de oxígeno, generalmente se asocia con un aumento de la mortalidad en un número de diferentes cánceres [92–94], y puede representar un objetivo relevante para nuevos enfoques terapéuticos de la enfermedad [95–97].

#### 9. La vía HIF en la leucemia

El papel de HIF-1a en la leucemia, y en particular en la leucemia mieloide aguda (LMA), surgió recientemente y todavía es algo controvertido. Una posible explicación para este interés retrasado en el papel de la hipoxia en la leucemia, podría ser el hecho de que la leucemia no es considerada un tumor "sólido", y, por lo tanto, el papel del oxígeno, en su patogénesis, ha sido considerado intrascendente durante mucho tiempo. Esta visión errónea, ha sido recientemente revisada, a medida que surgieron los datos, que demuestran que las células leucémicas son sensibles a la tensión del oxígeno, y la hipoxia influye en la proliferación de células leucémicas, su diferenciación y la resistencia a la quimioterapia [98].

Migliavacca y Coll. han demostrado recientemente la función oncogénica de HIF-1a, en la Leucemia Mieloide Aguda (LMA) de subtipo M5Fab [99]. En particular, los autores han demostrado que, en la LMA M5, el HIF-1a media la capacidad de las células leucémicas para migrar e invadir los sitios extramedulares. El mismo grupo ha demostrado que PML-RARA y otras proteínas de fusión involucradas en la patogenia de la leucemia promielocítica aguda (LPA) se comportan como coactivadores transcripcionales de HIFs, y tanto los HIFs como PML-RARA, potencian la progresión de la LPA, promoviendo la migración celular, su orientación a la médula ósea y su neo-angiogénesis [100, 101].

Investigaciones adicionales [102] han demostrado que el HIF-1a desempeña un papel crítico y pleiotrópico en la patogenia de la leucemia linfocítica crónica (LLC). A nivel mundial, se han informado de niveles elevados de HIF-1a en la LMA [103–106], LPA [100], leucemia linfoblástica

and leukemia progression. Treatment with Vitamin C, mimics TET2 restoration, driving DNA hypomethylation and, by enhancing 5hmC formation, suppresses leukemic colony formation and leukemic progression of primary human leukemia patient-derived xenografts (PDXs).

Interestingly, TET2-mediated DNA oxidation induced by Vitamin C-treated leukemic cells, greatly enhances their sensitivity to PARP inhibition and could provide a safe and effective combination strategy to target TET-deficient leukemic cells. These observations suggest that future clinical trials could incorporate high-dose Vitamin C as an adjuvant to standard chemotherapy/ demethylating therapy, particularly in TET2-deficient neoplasms [121].

### 11. What to do next?

The anticancer properties of Vitamin C are known, since at least six decades, even though its use in clinical practice has only recently re-emerged, after the demonstration that in relatively high concentrations, it can selectively kill a number of different human tumor cells, both *in vitro* and *in vivo*.

The proof of the anticancer efficacy of Vitamin C in high doses, administered by mouth, has been reported four decades ago, by Linus Pauling [54–57], and further confirmed, very recently, by experimental *in vitro* and *in vivo* data [30–32, 66, 69].

Vitamin C is a natural compound, and it is an antioxidant and a life-saving nutrient with multiple beneficial effects on the human body. Man, some primates, and a few other mammals do no longer produce it. Beyond being a natural and essential nutrient, Vitamin C shows, *in vitro*, an outstanding efficacy in killing a number of different cancer cells, with an efficiency that no other anticancer drug, presently available on the market, has ever shown.

Vitamin C is extremely selective since it kills only cancer cells, by sparing, at the same time, all the other cells of the organism. As a consequence, it is very well tolerated, and devoid of any significant side effects. In fact, the only (relative) contraindication to its use, is the lack of the enzyme glucose-6-phosphate-dehydrogenase (G6PDH), a rare genetic condition also known as “favism.” More importantly, within an expensive and often artificially inflated market, such as that of the anticancer drugs [122, 123], Vitamin C, with its low cost, represents an outstanding opportunity for both the patients and the healthcare system.

Unfortunately, in spite of all the above characteristics, Vitamin C has never been easily or favorably accepted as an anticancer drug, by the western Medicine. This also explains why, although the data on its anticancer efficacy are outstanding and straightforward, many scientists still prefer to consider “controversial” the role of Vitamin C in the treatment of cancer.

As we have seen, the idea that the oral administration of Vitamin C, in high doses, is not effective against cancer is a conceptual artefact, originating from questionable interpretations of pharmacokinetics data, after oral and/or intravenous administration. On the other hand, the idea that Vitamin C, administered in high doses by intravenous infusion, behaves as a pro-drug of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> beyond being experimentally questionable, has not led to clinically significant results or outcomes [124–128]. More importantly, encouraging results have emerged from unbiased interpretation of the available data [129]. In particular, as it has been shown up to 110 g/m<sup>2</sup>/day are very well tolerated by the majority of patients, and even in the absence of any significant clinical remission, intravenous Vitamin C is almost invariably associated with a clear-cut improvement

aguda (LLA) [107] y leucemia mielógena crónica (LMC) [108, 109]. Además, la sobreexpresión de HIF-1α condiciona la gravedad de la enfermedad y el resultado en la LMA y síndrome mielodisplásico (SMD) [110–112].

En general, los datos disponibles muestran que la hipoxia y la señalización mediada por HIF juegan un papel crucial en la leucemia, y controlar a HIF con medicamentos específicos o inhibidores naturales, como la vitamina C, representa un enfoque potencialmente útil para su tratamiento [113].

### 10. La vitamina C como un potente modulador de la actividad TET2

La disminución de la expresión de metilcitosina dioxigenasa (TET) y la pérdida de 5hmC se han observado en una amplia variedad de tumores sólidos, así como en muchos tumores malignos hematológicos, incluyendo las leucemias mieloídes agudas, síndromes mielodisplásicos y hematopoyesis clonal [114].

Estudios experimentales recientes sugieren que la dosis farmacológica de vitamina C puede representar una estrategia potencialmente importante en el tratamiento de la leucemia a través de un efecto estimulante sobre la activación y restauración de TET2 en células leucémicas. La vitamina C es un cofactor de la enzima TET2 y es capaz de interactuar con el dominio catalítico de TET2, mejorando la oxidación enzimática de 5-metilcitosina (5mC) a 5-hidroximetilcitosina (5hmC) [115]. Esta modulación epigenética provocada por la vitamina C es capaz de mejorar la generación de células madre pluripotentes [116] y para inducir un estado similar al blastocisto en células madre embrionarias de ratón [117].

Dos estudios recientes exploraron los posibles efectos epigenéticos de la vitamina C en los modelos de leucemia, mediados por la activación y restauración de la actividad TET2 en células leucémicas. En el primero, los autores utilizaron un modelo murino de leucemia mieloide aguda dependiente de IDH1 [118] y 2-fosfato ácido L-ascórbico (Asc 2-P). El Asc 2-P, a diferencia de la vitamina C nativa, permanece estable a la oxidación en condiciones de cultivo celular estándar [119], y posee los mismos efectos moduladores de la vitamina C, pero, a diferencia de ella, no induce efectos citotóxicos de a través de la estimulación de la producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El Asc 2-P agregado a las células en cultivo es estable y libera vitamina C por hidrólisis con fosfatasa alcalina de la membrana plasmática [120]. Por lo tanto, el Asc 2-P permite una mejor caracterización de la actividad epigenética de la vitamina C, sin los “preocupantes” efectos citotóxicos de la molécula nativa mediados por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. El tratamiento con Asc 2-P de los ratones mutantes con LMA IDL1 indujo un aumento de los niveles de 5hmC, una reducción de la proliferación leucémica y un aumento de la expresión de genes implicados en la diferenciación de leucocitos [118]. El efecto estimulante de la vitamina C en la diferenciación mieloide está mediada a través de la restauración de una expresión y función normales de factores de transcripción, como PU.1 y RUNX1, necesarios para la diferenciación mieloide normal.

Un segundo estudio proporcionó evidencia clara de que, en varios modelos de leucemia, el tratamiento con vitamina C induce la restauración de la función de TET2, bloqueando la auto-renovación aberrante y la progresión de la leucemia. El tratamiento con vitamina C, imita la restauración de TET2 y conduce la hipometilación del ADN y, al aumentar la formación de 5hmC, suprime la formación de colonias leucémicas y progresión leucémica de xenoinjertos derivados de pacientes (PDX) con leucemia humana primaria. Curiosamente, la TET2 mediada por la oxidación del ADN inducida por

in patient's quality of life.

As a result, History repeat itself! ... and just as Vitamin C was dismissed as ineffective, against cancer, more than 30 years ago, on the ground of questionable clinical trials [130, 131], nowadays, it runs again the risk of being definitively discarded, in spite of the large amount of scientific evidence, demonstrating its extraordinary efficacy in fighting cancer!

It is clear that much remains to be understood about the cytotoxic effects of Vitamin C against cancer, and much more can (and must!) be done, to both improve the intravenous therapy and further investigate the oral administration route of the high doses of the nutrient.

Improving the intravenous treatment can (and should!) be achieved, by considering:

- a. The type of pharmaceutical preparation, the sodium salt of the ascorbic acid to be preferred, when administered by the intravenous route [132];
- b. The time and schedule of administration (slow infusion to be preferred) [133, 134];
- c. The level of tissue oxygenation (cell cultures are better oxygenated than tumor tissues, and this may explain the differences in the outcomes between *in vitro* and *in vivo* treatment of cancer) [135]. In clinical settings, an improved tumor tissue oxygenation could be obtained with either ozone or hyperbaric oxygen;
- d. The level of blood glucose (glucose may interfere with the uptake of ascorbate by cancer cells) [136, 137], and the possibility of associating an adequate dietetic regimen to the treatment with high doses of oral or intravenous Vitamin C.

## 12. Latest evidence of the role of Vitamin C in leukemia

A recent study provided clear-cut evidence that Vitamin C is a main regulator of hematopoietic stem cell (HSC) function and leukemogenesis. In fact, Agathocleous and co-workers, using a peculiar strategy for isolation of HSCs and hematopoietic progenitor cells (HPCs) from murine bone marrow, showed that HSCs have unusually high levels of Vitamin C, which decline with differentiation [138]. Importantly, human HSCs and multipotent progenitor cells (MPPs), such as murine HSCs, display high Vitamin C levels.

Using "GULO" mice (deficient in Vitamin C because of the lack of gulonolactone oxidase, the last enzyme in the synthesis of Vitamin C starting from glucose), Agathocleous and colleagues have shown that Vitamin C deficiency induces an increased number of HSCs. A FLT3- internal tandem duplication (ITD) mutation, found in approximately a quarter of patients with *de novo* AML, imparts a particularly poor prognosis. Using "GULO" mice (deficient in Vitamin C because of the lack of gulonolactone oxidase), Agathocleous and colleagues have shown that Vitamin C deficiency induces an increased number of HSCs. Therefore Vitamin C deficiency, and TET2 mutations, are likely to cooperates with FLT3-ITD to induce leukemia development in murine models of FLT3-ITD-driven leukemia. [138].

Given the above evidence, it will be worth mentioning, once more, that the biochemist Irwin Stone, in his book "The healing Factor: Vitamin C against disease," published in 1972 (45 years ago!), had already warned the scientific community on the role of Vitamin C as a main factor in the prevention and treatment of leukemia. In his words, "In a leukemic, the biochemical stresses of the disease process has reduced the body stores of ascorbic acid to very low levels ... Any ascorbic acid circulating in the blood has been scavenged and locked in the excessive numbers of white blood cells contained in the blood. The plasmas level of ascorbic acid is usually zero or close thereto. A zero level in the blood plasma means that the tissues of the body are

las células leucémicas tratadas con vitamina C, mejora en gran medida su sensibilidad a la inhibición de PARP y podría proporcionar una estrategia segura y eficaz de combinación para apuntar a células leucémicas con deficiencia de TET. Estas observaciones sugieren que los ensayos clínicos futuros podrían incorporar altas dosis de vitamina C como adyuvante a la quimioterapia estándar/terapia de desmetilación, particularmente en neoplasias con deficiencia de TET2 [121].

## 11. ¿Qué hacer a continuación?

Las propiedades anticancerígenas de la vitamina C son conocidas, desde al menos seis décadas, a pesar de su uso en la práctica clínica sólo recientemente ha resurgido, después de la demostración de que, en relativamente altas concentraciones, puede matar selectivamente un número de diferentes células tumorales humanas, tanto *in vitro* como *in vivo*.

La prueba de la eficacia contra el cáncer de la vitamina C en altas dosis, administrada por vía oral, fue informada hace cuatro décadas, por Linus Pauling [54-57], y aún más confirmada, muy recientemente, por los datos experimentales *in vitro* e *in vivo* [30-32, 66, 69].

La vitamina C es un compuesto natural, y es un antioxidante y un nutriente que salva vidas con múltiples efectos beneficiosos sobre el cuerpo humano. El hombre, algunos primates y algunos otros mamíferos ya no lo producen. Más allá de ser un nutriente natural y esencial, la vitamina C muestra, *in vitro*, una eficacia excepcional en matar a un número de diferentes células cancerosas, con una eficacia que ningún otro medicamento contra el cáncer, actualmente disponible en el mercado, ha alguna vez mostrado.

La vitamina C es extremadamente selectiva, ya que mata solo las células cancerosas, al preservar, al mismo tiempo, todas las demás células del organismo. Como consecuencia, es muy bien tolerada y carece de efectos secundarios significativos. De hecho, la única contraindicación (relativa) a su uso, es la falta de la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa (G6PDH), una condición genética rara también conocida como "favismo". Más importante aún, dentro de un costoso y, a menudo, artificialmente inflado, como el de los medicamentos contra el cáncer [122, 123], la vitamina C, con su bajo costo, representa una oportunidad excepcional tanto para los pacientes como para el sistema de salud.

Desafortunadamente, a pesar de todas las características anteriores, la vitamina C nunca ha sido aceptada fácil o favorablemente como un medicamento contra el cáncer por la medicina occidental. Esto también explica por qué, a pesar de los datos sobre su eficacia anticancerígena son excepcionales y directos, muchos científicos todavía prefieren considerar "controvertido" el papel de la vitamina C en el tratamiento del cáncer.

Como hemos visto, la idea de que la administración oral de vitamina C, en dosis altas, no es efectiva contra el cáncer es un artefacto conceptual, que se origina en interpretaciones cuestionables de los datos farmacocinéticos, después de la administración oral y/o intravenosa. Por otro lado, la idea de que la vitamina C, administrada en altas dosis por infusión intravenosa, se comporta como un pro-fármaco de H2O2, más allá de ser experimentalmente cuestionable, no ha dado lugar a resultados o desenlaces clínicamente significativos [124-128]. Más importante aún, los resultados alentadores han surgido de la interpretación imparcial de los datos disponibles [129]. En particular, como se ha demostrado, hasta 110 g/m2/día son muy bien tolerados por la mayoría de los pacientes, e incluso en ausencia de remisión clínica significativa, la vitamina C intravenosa se

not being supplied with this most important metabolite. The ascorbic acid contained in the leukocytes are unavailable for the tissues.

The tissues are in a condition of biochemical scurvy and this explains why these depleted tissues are so susceptible to the characteristic hemorrhaging of leukemia and the infections that kill so many of the leukaemics. A leukemic is not only suffering from leukemia but also from a bad case of biochemical scurvy. To correct this condition, ascorbic acid has to be administered in succulently large doses not only to saturate the excess of white blood cells but to provide adequate spill over into the blood plasma and tissues so that the seriously ill leukemic will be given a fighting chance to combat the disease. This may require the administration of ascorbic acid at the rate of 25 or more grams per day, as noted in the following case of leukemia treated with megascorbie levels of ascorbic acid." [3].

### 13. Concluding remarks

The rationale behind the use of high doses of Vitamin C in the treatment of acute leukemia is strong and very well grounded. In summary:

- a. Leukemic patients, almost invariably show a severe deficiency of this nutrient;
- b. While it is currently supposed to kill cancer cells by inducing pro-oxidant damage, Vitamin C is also very effective as an antioxidant by inhibiting the hypoxia inducible factor (HIF);
- c. The mechanistic explanation of the pathogenesis of myeloid leukemia, includes the possibility that a Vitamin deficiency may induce the neoplastic transformation of myeloid precursors, through an upregulation of the HIF, and the consequent cascade of HIF-dependent cancer genes;
- d. Although administered by intravenous infusion, in the majority of clinical trials performed so far, Vitamin C appears to be effective, in fighting cancer, even when administered by mouth;
- e. Vitamin C is very well tolerated, and has no side or undesired effects;
- f. Experimental in vitro data unequivocally show the cytotoxic effect of Vitamin C against leukemia.
- g. As shown in our study on leukemic and normal cell lines, Vitamin C can kill almost every type of acute and chronic myeloid leukemia-derived cell, without doing any harm to their normal counterpart CD34+ cells;
- h. Vitamin C is a natural compound, and it is very cheap.

Do we really need more information or evidence, to start clinical trials on Vitamin C, in the treatment of acute and chronic myeloid leukemia?

### Acknowledgements

This chapter has been realized, in part, thanks to the financial support of the "Pescara Cell Factory Foundation".

### Conflict of interests

None to declare.

\*Address all correspondence to: mastrangelod10@gmail.com

asocia casi invariablemente con un claro mejoramiento en la calidad de vida del paciente.

Como resultado, ¡la historia se repite! ... y al igual que la vitamina C fue despedida como inefectiva, contra el cáncer, hace más de 30 años, a los pies de cuestionables ensayos clínicos [130, 131], en la actualidad, se ejecuta de nuevo el riesgo de ser definitivamente descartada, a pesar de la gran cantidad de pruebas científicas, ¡lo que demuestra su extraordinaria eficacia en la lucha contra el cáncer!

Está claro que queda mucho por entender acerca de los efectos citotóxicos de la vitamina C contra el cáncer, y se puede (y se debe) hacer mucho más para mejorar la terapia intravenosa e investigar más a fondo la vía de administración oral de las dosis altas del nutriente.

El mejoramiento del tratamiento intravenoso puede (y debe) lograrse, considerando:

- a. El tipo de preparación farmacéutica, la sal de sodio del ácido ascórbico que se prefiere, cuando se administra por vía intravenosa [132];
- b. El tiempo y el horario de administración (se prefiere la infusión lenta) [133, 134];
- c. El nivel de oxigenación de los tejidos (los cultivos de células son mejor oxigenados que los tejidos tumorales, y esto puede explicar las diferencias en los resultados entre el tratamiento in vitro e in vivo del cáncer) [135]. En entornos clínicos, se podría obtener una mejor oxigenación del tejido tumoral con ozono u oxígeno hiperbárico;
- d. El nivel de glucosa en la sangre (la glucosa puede interferir con la absorción de ascorbato por las células cancerosas) [136, 137] y la posibilidad de asociar un régimen dietético adecuado al tratamiento con dosis altas de vitamina C oral o intravenosa.

### 12. Últimas evidencias del papel de la vitamina C en la leucemia.

Un estudio reciente proporcionó pruebas claras de que la vitamina C es un regulador principal de la función de las células madre hematopoyéticas (CMH) y la leucemogénesis. De hecho, Agathocleous y colaboradores, utilizando una estrategia peculiar para el aislamiento de las CMH y las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de la médula ósea murina, mostraron que las CMH tienen niveles inusualmente altos de vitamina C, que disminuyen con la diferenciación [138]. Es importante destacar que las CMH humanas y las células progenitoras multipotentes (CPM), como las CMH murinas, muestran niveles altos de vitamina C.

Utilizando ratones "GULO" (deficientes en vitamina C debido a la falta de gulonolactona oxidasa, la última enzima en la síntesis de vitamina C a partir de la glucosa), Agathocleous y sus colegas han demostrado que la deficiencia de vitamina C induce un mayor número de CMH. Una mutación de duplicación interna en tandem (DIT) FLT3, que se encuentra en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes con LMA de novo, imparte un pronóstico particularmente malo. Utilizando ratones "GULO" (deficientes en vitamina C debido a la falta de gulonolactona oxidasa), Agathocleous y sus colegas han demostrado que la deficiencia de vitamina C induce un mayor número de CMH. Por lo tanto, la deficiencia de vitamina C, y las mutaciones de TET2, es probable que sinergicen con FLT3-DIT para inducir el desarrollo de leucemia en modelos murinos de la leucemia impulsado por FLT3. [138]

Dada la evidencia anterior, vale la pena mencionar, una vez más, que el bioquímico Irwin Stone, en su libro "El factor de curación: la vitamina C contra la enfermedad", publicado en 1972 (¡hace 45 años!), ya había advertido a la comunidad científica sobre el papel de la vitamina C

## References

- [1] Iqbal K, Khan A, Ali Khan Khatak MM. Biological significance of ascorbic acid (Vitamin C) in human health. A review. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2004;3:5-13
- [2] Drouin G, Godin JR, Pagé B. The genetics of Vitamin C loss in vertebrates. *Current Genomics*. 2011;12:371-378. DOI: 10.2174/138920211796429736
- [3] Stone I. The Healing Factor: Vitamin C Against Disease. New York: Grosset and Dunlap Inc.; 1972
- [4] Stephen DJ, Hawley EE. The partition of reduced ascorbic acid in blood. *The Journal of Biological Chemistry*. 1936;115:653-658
- [5] Barkhan P, Howard AN. Distribution of ascorbic acid in normal and leukaemic human blood. *The Biochemical Journal*. 1958;70:163-168
- [6] Vogt A. Über den Vitamin C. Verbrauch bei Tumorkranken und bei der Lymphogranulomatose. *Strahlentherapie*. 1939;65:616-623
- [7] Kyhos FD, Sevringshaus FL, Hagendorf DR. Large doses of ascorbic acid in treatment of Vitamin C deficiencies. *Archives of Internal Medicine*. 1945;75:407
- [8] Waldo AL, Zipf RE. Ascorbic acid level in leukemic patients. *Cancer*. 1955;8:187-190
- [9] Pujari KN, Jadkar SP, Mashal SN, Belwalkar GJ, Kulkarni A, Patil CG, et al. Variations in vitamin C levels in leukemias. *Biomedical Research*. 2012;23:307-311
- [10] Liua M, Ohtania H, Zhoua W, Ørskovb AD, Charletc J, Zhangd YW, et al. Vitamin C increases viral mimicry induced by 5-aza-2'-deoxycytidine. *PNAS*. 2016;113:10238-10244. DOI: 10.1073/pnas.161226113
- [11] Shenoy N, Bhagat T, Nieves E, Stenson M, Lawson J, Choudhary GS, et al. Upregulation of TET activity with ascorbic acid induces epigenetic modulation of lymphoma cells. *Blood Cancer Journal*. 2017;7:e587. DOI: 10.1038/bcj.2017.65
- [12] Klenner FR. The treatment of poliomyelitis and other virus diseases with vitamin C. *Southern Medicine and Surgery*. 1949;111:209-214
- [13] Stone I. Hypoascorbemia, the genetic disease causing the human requirement for exogenous ascorbic acid. *Perspectives in Biology and Medicine*. 1966;10:133-134
- [14] Stone I. The genetic disease, hypoascorbemia: A fresh approach to an ancient disease and some of its medical implications. *Acta Geneticae Medicae et Gemellologiae*. 1967; 16:52-62
- [15] Stone I. Hypoascorbemia, our most widespread disease. *Bulletin of the National Health Federation* 1972;18:6-9
- [16] <http://www.omim.org/entry/240400>
- [17] Stone I. Megascorbie therapy of the disease called leukemia. *Cancer Control*. 1974;2:1-4
- [18] Stone I. My daily megascorbie regime for full health and long life. *Better Nutrition*; 1977
- [19] Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds; Subcommittee on Upper Reference Levels of Nutrients; Subcommittee on Interpretation and Uses of DRIs; Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes; Food and Nutrition Board; Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. 2000. 529 p. ISBNs: Paperback: 978-0-309-06935-9 Hardcover: 978-0-309-06949-6
- [20] Lefer PL. Megavitamin therapy. *Journal of the American Medical Association*. 1975; 234:149
- [21] Pauling L. Are recommended daily allowances for vitamin C adequate? Review. *PNAS USA*. 1974;71:4442-4446
- [22] Pauling L. Vitamin C. *Science*. 1972;177(4055):1152
- [23] Pauling L. Evolution and the need for ascorbic acid. *PNAS USA*. 1970;7:1643-1648
- [24] Pauling L. Vitamin C and common cold. *Journal of the American Medical Association*. 1971;216:332
- [25] Pauling L. The significance of the evidence about ascorbic acid and the common cold. *Review. PNAS USA*. 1971;68:2678-2681
- [26] Pauling L. Vitamin C therapy of advanced cancer. *The New England Journal of Medicine*. 1980;302:694-695
- [27] Harakeh S, Jarwalla RJ, Pauling L. Suppression of human immunodeficiency virus replication by ascorbate in chronically and acutely infected cells. *PNAS USA*. 1990;87: 7245-7249
- [28] Levine M, Conry-Cantilena C, Wang Y, Welch RW, Washko PW, Dhariwal KR, et al. Vitamin C pharmacokinetics in healthy volunteers: Evidence for a recommended dietary allowance. *PNAS USA*. 1996; 93:3704-3709
- [29] Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewit SM, Kaz A, et al. Vitamin C pharmacokinetics: Implications for oral and intravenous use. *Annals of Internal Medicine*. 2004;140:533-537
- [30] Chen Q, Espey MG, Sun AY, Pooput C, Kirk KL, Krishna MC, et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *PNAS USA*. 2008; 105:11105-11109
- [31] Chen Q, Espey MG, Sun AY, Lee JH, Krishna MC, Shacter E, et al. Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo. *PNAS USA*. 2007;104:8749-8754
- [32] Chen Q, Espey MG, Krishna MC, Mitchell JB, Corpe CP, Buettner G, et al. Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: Action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *PNAS USA*. 2005;102:13604-13609
- [33] Halliwell B. Vitamin C: Poison, prophylactic or panacea? *Trends in Biochemical Sciences*. 1999;24:1255-1259

como factor principal en la prevención y el tratamiento de la leucemia. En sus palabras, "en un leucémico, el estrés bioquímico del proceso de la enfermedad ha reducido las reservas corporales de ácido ascórbico a niveles muy bajos ... Cualquier ácido ascórbico que circula en la sangre se ha eliminado y bloqueado en el número excesivo de glóbulos blancos que contiene en la sangre. El nivel plasmático de ácido ascórbico suele ser cero o cercano al mismo. Un nivel cero en el plasma sanguíneo significa que los tejidos del cuerpo no reciben este metabolito tan importante. El ácido ascórbico contenido en los leucocitos no está disponible para los tejidos. Los tejidos se encuentran en una condición de escorbuto bioquímico y esto explica por qué estos tejidos agotados son tan susceptibles a la hemorragia característica de la leucemia y las infecciones que matan a muchas de las leucemias. Un leucémico no sólo sufre de leucemia, sino también de un caso grave de escorbuto bioquímico. Para corregir esta condición, el ácido ascórbico tiene que ser administrado en dosis lo suficientemente grandes, no sólo para saturar el exceso de células blancas de la sangre, sino para proporcionar niveles adecuados en el plasma de la sangre y los tejidos de modo que el al leucémico gravemente enfermo se le dará una oportunidad para combatir la enfermedad. Esta puede requerir la administración de ácido ascórbico a una tasa de 25 o más gramos por día, como se señala en el siguiente caso de leucemia tratada con niveles megascórbicos de ácido ascórbico." [3].

## 13. Observaciones finales

La razón detrás del uso de altas dosis de vitamina C en el tratamiento de la leucemia aguda es fuerte y muy bien fundamentada. En resumen:

- a. Los pacientes leucémicos, casi invariablemente muestran una severa deficiencia de este nutriente;
- b. Si bien actualmente se supone que destruye las células cancerosas al inducir daño pro-oxidante, la vitamina C también es muy efectiva como antioxidante al inhibir el factor inducible por hipoxia (HIF);
- c. La explicación mecánica de la patogenia de la leucemia mieloide incluye la posibilidad de que una deficiencia de vitamina pueda inducir la transformación neoplásica de los precursores mieloides, a través de una regulación positiva del HIF y la consiguiente cascada de genes de cáncer dependientes de HIF;
- d. Aunque sea administrada por infusión intravenosa, en la mayoría de los ensayos clínicos realizados hasta el momento, la vitamina C parece ser eficaz para combatir el cáncer, incluso cuando se administra por vía oral;
- e. La vitamina C es muy bien tolerada, y no tiene ningún efecto adverso o indeseado;
- f. Los datos experimentales *in vitro* muestran inequívocamente el efecto citotóxico de la vitamina C contra la leucemia.
- g. Como se muestra en nuestro estudio sobre líneas celulares leucémicas y normales, la vitamina C puede matar casi todos los tipos de células derivadas de la leucemia mieloide aguda y crónica, sin causar ningún daño a sus células CD34+ homólogas normales;
- h. La vitamina C es un compuesto natural y es muy barato.

¿Realmente necesitamos más información o evidencia para comenzar los ensayos clínicos sobre la vitamina C en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda y crónica?

## Reconocimientos

En este capítulo se ha realizado, en parte, gracias al apoyo financiero de la "Fundación de la Fábrica de Células Pescara".

## Conflictos de intereses

Ninguno para declarar.

- [34] Carr AC, Frei B. Does vitamin C act as pro-oxidant under physiological conditions? *The FASEB Journal*. 1999;13:1007-1024.
- [35] Hacisevki A. An overview of ascorbic acid biochemistry. *Journal of the Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2009;38:233-255.
- [36] Yun J, Mullarky E, Lu C, Bosch KN, Kavalier A, Rivera K, et al. Vitamin C selectively kills KRAS and BRAF mutant colorectal cancer cells by targeting GAPDH. *Science*. 2015;350:1391-1396.
- [37] Savini I, Rossi A, Pierro C, Avigliano L, Catani MV. SVCT1 and SVCT2: Key proteins for vitamin C uptake. *Amino Acids*. 2008;34:347-355.
- [38] Vera JC, Rivas CI, Fischbarg J, Golde DW. Mammalian facilitative hexose transporters mediate the transport of dehydroascorbic acid. *Nature*. 1993;364:79-82.
- [39] Tian W, Wang Y, Xu Y, Guo X, Wang B, Sun L, et al. The hypoxia-inducible factor renders cancer cells more sensitive to Vitamin C-induced toxicity. *The Journal of Biological Chemistry*. 2014;289:3339-3351.
- [40] Yun J, Rago C, Cheong I, Pagliarini R, Angenendt P, Rajagopalan H, et al. Glucose deprivation contributes to the development of KRAS pathway mutations in tumor cells. *Science*. 2009;5947:1555-1559.
- [41] Sheu JJC, Guan B, Tsai FJ, Hsiao EYT, Chen CM, Seruca R, et al. Mutant BRAF induces DNA strand breaks, activates DNA damage response pathway, and up-regulates glucose transporter-1 in nontransformed epithelial cells. *The American Journal of Pathology*. 2012;180:1179-1188.
- [42] Van der Reest J, Gotlieb E. Anti-cancer effects of vitamin C revisited. *Cell Research*. 2016;26:269-270.
- [43] Uetaki M, Tabata S, Nakasuka F, Soga T, Masaru Tomita M. Metabolomic alterations in human cells by vitamin C-induced oxidative stress. *Scientific Reports*. 2015;5:1-9.
- [44] Benade L, Howard T, Burk D. Synergistic killing of Ehrlich ascites carcinoma cells by ascorbate and 3-amino-1, 2, 4-triazole. *Oncology*. 196293:33-43.
- [45] Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histology and Histopathology*. 1997;12:525-535.
- [46] Cavanagh EMV, Honegger AE, Hofer E, Bordenave RH, Bullorsky EO, Chasseing NA. Higher oxidation and lower antioxidant levels in peripheral blood plasma and bone marrow plasma from advanced cancer patients. *Cancer*. 2002;94:3247-3251.
- [47] Mojić M, Bogdanović Pistor J, Maksimović-Ivančić D, Jones DR, Stanić M, Mijatović S, et al. Extracellular iron diminishes anticancer effects of vitamin C: An in vitro study. *Scientific Reports*. 2014;4:5955. DOI: 10.1038/srep05955.
- [48] Du J, Cullen JJ, Buether GR. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012;1826:443-457.
- [49] López-Lázaro M. Dual role of hydrogen peroxide in cancer: Possible relevance to cancer chemoprevention and therapy. *Cancer Letters*. 2007;252:1-8.
- [50] Lisanti MP, Martinez-Ontschoom UE, Lin Z, Pavlides S, Whitaker-Menezes D, Pestell RG. Hydrogen peroxide fuels aging, inflammation, cancer metabolism and metastasis. *Cell Cycle*. 2011;10:2440-2449.
- [51] Padayatty SJ, Levine M. Reevaluation of ascorbate in cancer treatment: Emerging evidence, open minds and serendipity. *Journal of the American College of Nutrition*. 2000;19:423-425.
- [52] Robinson AR, Hunsberger A, Westall FC. Suppression of squamous cell carcinoma in hairless mice by dietary nutrient variation. *Mechanisms of Ageing and Development*. 1994;76:201-214.
- [53] Hofer A. The discovery of Vitamin C: Albert Szent-Gyorgyi, M.D. Ph.D. 1893-1986. *Journal of Orthomolecular Medicine*. 1989;4:24-26.
- [54] Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Reevaluation of prolongation of survival times in terminal human cancer. *PNAS USA*. 1978;75:4538-4542.
- [55] Pauling L. Vitamin homeostasis in the brain and megavitamin therapy. *The New England Journal of Medicine*. 1977;297:790-791.
- [56] Pauling L. Diet, nutrition, and cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1977; 30:661-663.
- [57] Cameron E, Pauling L. Supplemental ascorbate in the supportive treatment of cancer: Prolongation of survival times in terminal human cancer. *PNAS USA*. 1976;73:3685-3689.
- [58] Cameron E, Campbell A. The orthomolecular treatment of cancer. Clinical trial of high dose ascorbic acid supplements in advanced human cancer. *Chemico-Biological Interactions*. 1974;9:285-315.
- [59] Murata A, Morishige F, Yamaguchi H. Prolongation of survival times of terminal cancer patients by administration of large doses of ascorbate. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research Supplement*. 1982; 23:101-113.
- [60] Hickey S, Roberts H, Miller NJ. Pharmacokinetics of oral ascorbate liposomes. *JNEM*. 2008. DOI: 10.1080/13590840802305423.
- [61] Cathcart RF. The method of determining proper doses of vitamin c for the treatment of disease by titrating to bowel tolerance. *Orthomol Psychiatry*. 1981;10:125-132.
- [62] Hickey S, Roberts H. The real story of Vitamin C and cancer. *Journal of Metals*. 2008; 23:133-138.
- [63] Poirier MC. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. *Nature Reviews Cancer*. 2004;4:630-637.
- [64] Sharma RA, Farmer PB. Biological relevance of adduct detection to the chemoprevention of cancer. *Clinical Cancer Research*. 2004;10:4901-4912.
- [65] Gao P, Zhang H, Dinavahi R, Li F, Xiang Y, Raman V, et al. HIF-dependent antitumorigenic effect of antioxidants in vivo. *Cancer Cell*. 2007;12:230-238.
- [66] Mastrangelo D, Massai L, Fioritoni G, Iacone A, Di Bartolomeo P, Accorsi P, et al. Megadoses of sodium ascorbate efficiently kill HL60 cells in vitro: Comparison with arsenic trioxide. *Journal of Cancer Therapy*. 2013;4:1366-1372.
- [67] Monti DA, Mitchell E, Bazzan AJ, Litman S, Zabrecky G, Yeo CJ, et al. Phase I evaluation of intravenous ascorbic acid in combination with gemcitabine and Erlotinib in patients with metastatic pancreatic cancer. *PLoS One*. 2012;7:e29794.
- [68] Stephenson CM, Levin RD, Spector T, Lis CG. Phase I clinical trial to evaluate the safety, tolerability, and pharmacokinetics of high-dose intravenous ascorbic acid in patients with advanced cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. 2013;72:139-146.
- [69] Mastrangelo D, Massai L, Lo Coco F, Noguera NI, Borgia L, Fioritoni G, et al. Cytotoxic effects of high concentrations of sodium ascorbate on human myeloid cell lines. *Annals of Hematology*. 2015;94:1807-1816.
- [70] Lowry OH, Bessey OA, Brock MJ, Lopez JA. The interrelationship of dietary, serum, white blood cell, and total body ascorbic acid. *The Journal of Biological Chemistry*. 1946;166:111-119.
- [71] Wilson C. Clinical pharmacological aspects of ascorbic acid. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1975;25:354-376.
- [72] Lykkefeldt J. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography using subtraction methods: Reliable reduction with tris[2-carboxyethyl] phosphine hydrochloride. *Analytical Biochemistry*. 2000;282:89-93.
- [73] Emadi-Konjin P, Verjeeza Z, Levin AV, Adeli K. Measurement of intracellular vitamin C levels in human lymphocytes by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC). *Clinical Biochemistry*. 2005;38:450-456.
- [74] Michels AJ, Hagen TM, Frei B. Human genetic variation influences Vitamin C homeostasis by altering Vitamin C transport and antioxidant enzyme function. *Annual Review of Nutrition*. 2013;33:45-70.
- [75] Bozonet SM, Carr AC, Pullar JM, Vissers MCM. Enhanced human neutrophil Vitamin C status, chemotaxis and oxidant generation following dietary supplementation with Vitamin C-rich sun-gold kiwifruit. *Nutrients*. 2015;7:2574-2588. DOI: 10.3390/nu7042574.
- [76] Corpe CP, Lee JH, Kwon O, Eck P, Narayanan J, Kirk KL, et al. 6-Bromo-6-deoxyl-ascorbic acid: An ascorbate analog specific for Na<sup>+</sup>-dependent vitamin C transporter but not glucose transporter pathways. *The Journal of Biological Chemistry*. 2005;280:5211-5220.
- [77] Washko PW, Wang Y, Levine M. Ascorbic acid recycling in human neutrophils. *The Journal of Biological Chemistry*. 1993;268:15531-15535.
- [78] Aprelikova O, Chandramouli GVR, Wood M, Vasselli JR, Riss J, Maranchie JK, et al. Regulation of HIF prolyl hydroxylases by hypoxia-inducible factors. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2004;92:491-501.
- [79] Nagy MA. HIF-1 is the commander of gateways to cancer. *Journal of Cancer Science & Therapy*. 2011;3:035-040. DOI: 10.4172/1948-5956.1000054.
- [80] Semenza GL, Nejfelt MK, Chi SM, Antonarakis SE. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3' to the human erythropoietin gene. *PNAS USA*. 1991;88:5680-5684.
- [81] Schoield CJ, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2004;5:343-354.
- [82] Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51:1000-1013.
- [83] Knowles HJ, Raval RR, Harris AL, Ratcliffe PJ. Effect of ascorbate on the activity of hypoxia-inducible factor in cancer cells. *Cancer Research*. 2003;63:1764-1768.
- [84] Kuiper C, Vissers MCM. Ascorbate as a co-factor for Fe- and 2-oxoglutarate dependent dioxygenases: Physiological activity in tumor growth and progression. *Frontiers in Oncology*. 2014;4:1-11.
- [85] Kuiper C, Molenaar IG, Dachs GU, Currie MJ, Sykes PH, Vissers MC. Low ascorbate levels are associated with increased hypoxia-inducible factor-1 activity and an aggressive tumor phenotype in endometrial cancer. *Cancer Research*. 2010;70:5749-5758.
- [86] Kuiper C, Dachs GU, Munn D, Currie MJ, Robinson BA, Pearson JF. Increased tumor ascorbate is associated with extended disease-free survival and decreased hypoxia-inducible factor-1 activation in human colorectal cancer. *Frontiers in Oncology*. 2014;4: 1-10. DOI: 10.3389/fonc.2014.00010.
- [87] Warburg O. Über den stoffwechsel der carcinomzelle. *Klinische Wochenschrift*. 1925; 4:534-536.
- [88] Justus CR, Sanderlin EJ, Yang LV. Molecular connections between cancer cell metabolism and the tumor microenvironment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16:11055-11086.
- [89] Huang D, Li C, Zhang H. Hypoxia and cancer cell metabolism. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2014;46:214-219. DOI: 10.1093/abbs/gmt148.

- [90] Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via 58 protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular and Cellular Biology*. 1992;12:5447-5454
- [91] Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor-1 is a basic-helix-loop-helix-Pas heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *PNAS USA*. 1995;92: 5510-5514
- [92] Schindl M, Schoppmann SF, Samonigg H, Hausmaninger H, Kwasny W, Gnant M, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 is associated with an unfavorable prognosis in lymph node-positive breast cancer. *Clinical Cancer Research*. 2002;8:1831-1837
- [93] Mouriaux F, Sanschagrin F, Diorio C, Landreville S, Comoz F, Petit E, et al. Increased HIF-1α expression correlates with cell proliferation and vascular markers CD31 and VEGF-A in uveal melanoma. *IOVS*. 2014;55:1277-1283. DOI: 10.1167/iovs.13-13345
- [94] Kim BW, Cho H, Chung JY, Conway C, Ylaya K, Kim JH, et al. Prognostic assessment of hypoxia and metabolic markers in cervical cancer using automated digital image analysis of immunohistochemistry. *Journal of Translational Medicine*. 2013;11:185. DOI: 10.1186/1479-5876-11-185
- [95] Masoud GN, Li W. HIF-1a pathway: Role, regulation and intervention for cancer therapy. *Acta Pharmacol Sin B*. 2015;5:378-389. DOI: 10.1016/j.apbs.2015.05.007
- [96] Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*. 2003;3:721- 732. DOI: 10.1038/nrc1187
- [97] Poon E, Harris AL, Ashcroft M. Targeting the hypoxia-inducible factor (HIF) pathway in cancer. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2009;11:e26. DOI: 10.1017/S1462399409001173
- [98] Muz B, de la Puente P, Azab F, Luderer M, Azab AK. The role of hypoxia and exploitation of the hypoxic environment in hematologic malignancies. *Molecular Cancer Research* 2014;12:1347-1354. DOI: 10.1158/1541-7786
- [99] Migliavacca J, Percio S, Valsecchi R, Ferrero E, Spinelli A, Ponzoni M, et al. Hypoxia inducible factor-1a regulates a pro-invasive phenotype in acute monocytic leukemia. *Oncotarget*. 2016;7:53540-53577
- [100] Coltell N, Percio S, Valsecchi R, Cutano R, Guarnerio J, Ponzoni M, et al. HIF factors cooperate with PML-RARalpha to promote acute promyelocytic leukemia progression and relapse. *EMBO Molecular Medicine*. 2014;6:640-650
- [101] Percio S, Coltell N, Grisanti S, Bernardi R, Patini LA. HIF-1 network reveals characteristics of epithelial-mesenchymal transition in acute promyelocytic leukemia. *Genome Medicine*. 2014;6:84. DOI: 10.1186/s13073-014-0084-4
- [102] Valsecchi R, Coltell N, Belloni D, Ponente M, Ten Hacken E, Scielzo C, et al. HIF-1a regulates the interaction of chronic lymphocytic leukemia cells with the tumour microenvironment. *Blood*. 2016;127:1987-1997. DOI: 10.1182/blood-2015-07-657056
- [103] Gao XN, Yan F, Lin J, Gao L, XL L, Wei SC, et al. AML1/ETO cooperates with HIF1a to promote leukemogenesis through DNMT3a transactivation. *Leukemia*. 2015;29:1730-1740
- [104] Forristal CE, Brown AL, Helwani FM, Winkler IG, Nowlan B, Barbier V, et al. Hypoxia inducible factor (HIF)-2a accelerates disease progression in mouse models of leukemia and lymphoma but is not a poor prognosis factor in human AML. *Leukemia*. 2015;29:2075-2085
- [105] Kawada H, Kaneko M, Sawanobori M, Uno T, Matsuzawa H, Nakamura Y, et al. High concentrations of l-ascorbic acid specifically inhibit the growth of human leukemic cells via downregulation of HIF-1a transcription. *PLoS One*. 2008;3:e62717
- [106] Wang Y, Liu Y, Matek SN, Zheng P, Liu Y. Targeting HIF1a eliminates cancer stem cells in hematological malignancies. *Cell Stem Cell*. 2011;8:399-411. DOI: 10.1016/j.stem.2011.02.006
- [107] Frolova O, Samudio I, Benito JM, Jacamo R, Kornblau SM, Markovic A, et al. Regulation of HIF-1a signaling and chemoresistance in acute lymphocytic leukemia under hypoxic conditions of the bone marrow microenvironment. *Cancer Biology & Therapy*. 2012;13:858-870
- [108] Chen H, Shen Y, Gong F, Jiang Y, Zhang R. HIF-a promotes chronic myelogenous leukemia cell proliferation by upregulating p21 expression. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2015;72:179-183. DOI: 10.1007/s1203-014-0434-2
- [109] Zhang H, Li H, Xi HS, Li S. HIF1a is required for survival maintenance of chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood*. 2012;119:2595-2607
- [110] Rouault-Pierre K, Lopez-Onieva L, Foster K, Anjos-Afonso F, Lamriñá-García I, Serrano-Sánchez M, et al. HIF-2a protects human hematopoietic stem/progenitors and acute myeloid leukemic cells from apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Cell Stem Cell*. 2013;13:549-563
- [111] Wellmann S, Guschmann M, Griethe W, Eckert C, Stackelberg A, Lotaz C, et al. Activation of the HIF pathway in childhood ALL, prognostic implications of VEGF. *Leukemia*. 2004;18:926-933
- [112] Elias H, Verma A. Activation of hypoxia signaling is marker of poor prognosis in myelodysplasia. *Leukemia & Lymphoma*. 2012;53:2337-2338
- [113] Deynoux M, Sunter N, Hérault O, Mazurier F. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in leukemias. *Frontiers in Oncology*. 2016;6:41. DOI: 10.3389/fonc.2016.00041
- [114] Rasmussen KD, Helin K. Role of TET enzymes in DNA methylation, development, and cancer. *Genes & Development*. 2016;30:733-750
- [115] Yin R, Mao SQ, Zhao B, Chong Z, Yang Y, Zhao C, et al. Ascorbic acid enhances Tetmediated 5-methylcytosine oxidation and promotes DNA demethylation in mammals. *Journal of the American Chemical Society*. 2013;135:10936-10403
- [116] Chen J, Guo L, Zhang L, Wu H, Yang J, Liu H, et al. Vitamin C modulates TET1 function during somatic cell reprogramming. *Nature Genetics*. 2013;45:1504-1509
- [117] Blaschke K, Ebata KT, Karimi MM, Zepeda-Martínez JA, Goyal P, Mahapatra S, et al. Vitamin C induces Tet-dependent DNA demethylation in ESCs to promote a blastocyst-like state. *Nature*. 2013;500:222-226
- [118] Mingay M, Chaturvedi A, Bilenky M, Cao Q, Jackson L, Hui T, et al. Vitamin C-induced epigenomic remodeling in IDH1 mutant acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2017;1-10. DOI: 10.1038/leu.2017.171
- [119] Austria R, Semenzato A, Betero A. Stability of vitamin C derivatives in solution and topical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 1997;15:795-801
- [120] Takamizawa S, Maehata Y, Imai K, Senoo H, Sato S, Hata RI. Effects of ascorbic acid and ascorbic acid 2-phosphate, a long-acting vitamin C derivative, on the proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells. *Cell Biology International*. 2004;28:255-265
- [121] Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, Yoshimi A, Martin G, Wang J, et al. Restoration of TET2 function blocks aberrant self-renewal and leukemia progression. *Cell*. 2017;170:1-17
- [122] <http://www.ascopost.com/issues/february-1-2013/cost-of-cancer-drugs-what-price-forwhat-benefit/>
- [123] <http://chronicdisease.uchicago.edu/files/2014/09/Conti-pricing-trends-9-9-2014.pdf>
- [124] Wilson MK, Baguley BC, Wall C, Jameson MB, Findaly MP. Review of high-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*. 2014;10:22-37
- [125] Unlu A, Kirca O, Ozdogan M, Nayir E. High-dose vitamin C and cancer. *Journal of Oncological Science*. 2016;1:10-12
- [126] Nandal S, Ghalaut P, Shekhawat H, Nagar P, Ghalaut R, Meena B. High-dose intravenous vitamin C as an anticancer agent—A literature review. *IJARESM*. 2014;6211:7
- [127] Jacobs C, Huton B, Ng T, Shorr R, Clemons M. Is there a role for oral or intravenous ascorbate (Vitamin C) in treating patients with cancer? A systematic review. *The Oncologist*. 2015;20:210-223
- [128] Goodman A. Vitamin C and cancer AIMS Medical Science. 2013;41-51
- [129] Friz H, Flower G, Weeks L, Cooley K, Callachan M, McGowan J, et al. Intravenous Vitamin C and cancer: A systematic review. *Integrative Cancer Therapies*. 2014;13:280-300. DOI: 10.1177/1534735414534463
- [130] Creagan ET, Moertel CG, O'Fallon JR, Schut AJ, O'Connell MJ, Rubin J, et al. Failure of high-dose vitamin C (ascorbic acid) therapy to benefit patients with advanced cancer. A controlled trial. *The New England Journal of Medicine*. 1979;301:687-690
- [131] Moertel CG, Fleming TR, Creagan ET, Rubin J, O'Connell MJ, Ames MM. High-dose vitamin C versus placebo in the treatment of patients with advanced cancer who have had no prior chemotherapy. A randomized double-blind comparison. *The New England Journal of Medicine*. 1985;312:137-141
- [132] <http://www.doctoryourself.com/vitc.html>
- [133] Duconge J, Miranda-Massari JR, Gonzalez MJ, Jackson JA, Warnock W, Riordan NH. Pharmacokinetics of vitamin C: Insights into the oral and intravenous administration of ascorbate. *Puerto Rico Health Sciences Journal*. 2008;27:7-19
- [134] Hickey DS, Roberts HJ, Cathcart RF. Dynamic low: A new model for ascorbate. *Journal of Metals*. 2005;20:237-244
- [135] Carreau A, El Hafny-Rahbi B, Matejk A, Grillon C, Kieda C. Why is the partial oxygen pressure of human tissues a crucial parameter? Small molecules and hypoxia. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2011;15:1239-1253
- [136] Malo C, Wilson JX. Glucose modulates Vitamin C transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles. *The Journal of Nutrition*. 2000;130:63-69
- [137] Washko P, Levine M. Inhibition of ascorbic acid transport in human neutrophils by glucose. *The Journal of Biological Chemistry*. 1992;267:23568-23574
- [138] Agathocleous M, Meacham CE, Burgess RJ, Piskounova E, Zhao Z, Crane GM, Cowin BL, Bruner E, Murphy MM, Chen W, Spangrude GJ, Hu Z, DeBernardini RJ, Morrison SJ. Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis. *Nature*. Sep 28 2017;549(7673):476-481. DOI: 10.1038/nature23876. Epub 2017 Aug 21

# ALTAS DOSIS DE VITAMINA C



## Protección al más alto nivel

La combinación de ácido ascórbico más bicarbonato sódico, forma un anión ascorbato con pH fisiológico. La disolución inyectable de Bio C se compone casi exclusivamente de un anión ascorbato. Ascorbato de sodio. Esto significa que la disolución es idónea para la administración parenteral en dosis elevadas ya que tiene un pH fisiológico y osmolalidad fisiológica. Es libre de preservantes y estabilizantes. Además cuenta con 2 presentaciones para cada necesidad terapéutica.

encuéntrala en:

[www.farmaciasamaruka.com](http://www.farmaciasamaruka.com)  
[info@farmaciasamaruka.com](mailto:info@farmaciasamaruka.com)



farmacias  
**AMARUKA**

#Proteccionalmasaltonivel



# BioRegeneradores

FITHOM  
pharma



Respiratorio

Renal

Hepático

Prostático

## Regeneración Celular



## Natural

encuéntralos en:

[www.farmaciasamaruka.com](http://www.farmaciasamaruka.com)  
[info@farmaciasamaruka.com](mailto:info@farmaciasamaruka.com)



farmacias  
**AMARUKA**

#BioRegeneradores

