

Stato antiossidante e perossidazione lipidica in risposta alla supplementazione con microalga Klamath

¹Serena Benedetti, ²Stefano Scoglio, ³Franco Capuani, Sonia Francogli, ¹Silvia Pagliarani, ¹Franco Canestrari
¹Istituto di Chimica Biologica "G.Fornaini", Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", ²Centro di Ricerche Nutritive, Urbino
³Centro Ricerche in Bioclimatologia Medica – Biotecnologie e Medicine Naturali –Università degli Studi di Milano

INTRODUZIONE

Durante il normale ciclo vitale cellulare si generano radicali liberi, quelle specie chimiche capaci di una esistenza indipendente, in cui un elettrone non appaiato occupa un orbitale atomico o molecolare esterno, e si trova quindi ad un livello energetico elevato che può risultare, in particolari condizioni, di elevata reattività ed instabilità. I radicali liberi rimangono nei limiti fisiologici finché non si innesca uno "stress ossidativo" dovuto allo sbilanciamento tra il pool di sostanze ossidanti e le difese antiossidanti.

Tra queste ultime ricordiamo sia le difese primarie quali gli enzimi superossido dismutasi (SOD), glutat-tione perossidasi (GSH-Px) e catalasi e le proteine transferrina, ferritina e ceruloplasmina (che sequestrano il ferro ed il rame in quanto attivatori delle reazioni radicaliche), che secondarie quali tutte quelle molecole (tra cui le vitamine antiossidanti) che sono in grado di arrestare le reazioni già innescate dai radicali. Lo stress ossidativo rappresenta quindi un danno per la cellula ed ha un ruolo importante nella genesi di molte malattie, da quelle cardiovascolari ai tumori e alle malattie degenerative (1, 2).

Gli studi scientifici degli ultimi anni, partendo dal presupposto che il mantenimento di adeguati livelli ematici di antiossidanti sia alla base della prevenzione dagli effetti nocivi dei radicali liberi, hanno messo in evidenza da un lato il fatto che gli antiossidanti siano in grado di interagire con azione sinergica ed efficacia decisamente maggiore a quella dimostrata dal singolo antiossidante che invece, sbilanciando il sistema redox, potrebbe produrre ulteriori danni (3), e dall'altro l'importanza della biodisponibilità da fonti naturali.

La nostra attenzione sulla biodisponibilità da fonti naturali ci ha portato ad intraprendere gli studi in oggetto su soggetti volontari sani supplementati con "Phycozym" sfruttando in tal modo le potenzialità intrinseche dell'alga verde-azzurra *Aphanizomenon Flos Aquae* arricchita in ficocianine ("Phycoplus"), unitamente all'effetto dei probiotici presenti quali l'*Acidophilus* DDS-1 che oltre a possedere requisiti superiori ad altri ceppi batterici per efficacia e resistenza nell'ambiente intestinale (4) - come dimostrano i risultati degli studi pubblicati dal Journal of American Nutraceutical Association - ha messo in evidenza anche una attività antitumorale da esperimenti su animali (5). Anche recentemente studi di cancerogenesi nei ratti alimentati con diete arricchite di prebiotici come l'inulina arricchita con oligofruztosio in combinazione con probiotici come il *Lactobacillus Rhamnosus* ed il *Bifidobacterium Lactis* confermano questo effetto protettivo verso il cancro del colon (6).

Non meno importante è la presenza dei prebiotici come le maltodestrine fermentate ("Protexil"), che offrono il nutrimento per batteri amici come l'*Acidophilus* e il *Bifidus*, ed agiscono favorevolmente sui processi digestivi riducendo, grazie alla presenza di enzimi digestivi, il carico proprio dell'intestino in particolare del pancreas e disimpegnando i leucociti intestinali dai processi digestivi, quella che circa un secolo fa Virchow definiva la "leucocitosi digestiva". In tal modo consentono al sistema immunitario di focalizzare la propria azione sulla prevenzione dell'insorgenza delle malattie piuttosto che sulla digestione.

Le alghe verdi-azzurre hanno la specificità di possedere oltre che il fotosistema I presente anche nei vegetali un fotosistema II esclusivo di questo tipo di cianobatteri, composto dalle ficocianine (proteine solubili in acqua) organizzate in complessi sopramolecolari chiamati ficobilisomi (7, 8). Le ficocianine, che rappresentano il maggior costituente, vengono anche dette ficobiliproteine per alcune analogie strutturali e funzionali del loro pigmento cromoforo a catena tetrapirrololica: la ficocianobilina è infatti simile per struttura chimica alla bilirubina e come quest'ultima possiede la proprietà di "scavenger" delle specie reattive dell'ossigeno *in vivo* (9, 10). Le ficocianine già estratte da varie cianobatteri ed adoperate nelle tecniche immunologiche di marcatura fluorescente per le indagini cellulari (11) attualmente sono oggetto di studio per le caratteristiche capacità antiossidanti come evidenziato da esperimenti *in vitro* (12).

Il mantenimento dell'omeostasi degli antiossidanti ematici è fondamentale per il ruolo che queste sostanze chemioprotettive svolgono nei meccanismi cellulari deputati a controllare lo stress ossidativo visto il coinvolgimento dei radicali liberi nella eziopatogenesi di molte malattie, da quelle infiammatorie croniche a quelle degenerative, compresa la patologia neoplastica.

Partendo quindi dal presupposto che il cibo è da considerarsi il primo farmaco solo nel caso che sia in grado di apportare tutti i macronutrienti ed i micronutrienti dei quali l'organismo ha bisogno per gli scopi essenziali alla vita, è oggi sempre più frequente il riscontro di carenze di tali elementi dovute a una varietà di cause che per necessità limitiamo ad una alimentazione non equilibrata, agli stimoli nocivi da parte dell'ambiente e ai processi industriali che manipolando gli alimenti possono ridurre la presenza degli elementi essenziali. Ecco quindi l'importanza di integrare le carenze presunte e/o accertate con l'assunzione di integratori vitaminici e antiossidanti, di acidi grassi essenziali e di aminoacidi da fonti naturali come le alghe verdi-azzurre che possiedono una densità nutrizionale notevole per quanto concerne i macro e micronutrienti.

Abbiamo studiato l'efficacia dell'integrazione con il Phycozym con la composizione sopracitata, in volontari sani, in assenza di patologie accertate clinicamente, richiedendo agli interessati di sottoporsi ad un prelievo ematico per l'acquisizione dei più comuni parametri di laboratorio utilizzati nell'accertamento della funzionalità di apparati e sistemi sia prima che dopo supplementazione; lo stato delle difese immunitarie è stato valutato con l'immunofenotipizzazione linfocitaria che quantificando le sottopopolazioni linfocitarie offre una possibilità di indagare questo complesso apparato. In aggiunta a tali determinazioni abbiamo svolto indagini di biochimica clinica speciale miranti alla valutazione dei livelli plasmatici di antiossidanti e della malonildialdeide (MDA) quale indice della lipoperossidazione.

L'importanza di tale studio, visto anche le scarse informazioni disponibili in letteratura sull'uomo, è sia quello di verificare gli effetti nutrizionali su una popolazione sana che la possibilità, utilizzando tali informazioni, di estendere le indagini a pazienti affetti da patologie su base infiammatoria o che riconoscono nell'infiammazione cronica una possibile componente eziopatogenetica quali il cancro, spostando quindi l'attenzione su quanto sopra detto del cibo come farmaco entrando quindi nell'ottica della nutrizione.

Sono infatti ormai segnalati in letteratura con studi *in vitro* o su animali da esperimento gli effetti protettivi delle ficocianine dal danno ossidativo (9, 10, 12), quelli antinfiammatori per inibizione selettiva della COX-2 (13), antibatterici ed antivirali, oltre a quelli anticancerogeni ed antimutageni (14). Accanto a queste evidenze, in considerazione dell'alto contenuto in carotenoidi delle alghe sono ipotizzabili quelli protettivi sulla cute come fotoprotettori per via sistemica come già in passato evidenziato(15), e sull'occhio sia a carico della retina che nella protezione dagli effetti negativi età-correlati sulla degenerazione maculare(16), e per la presenza di vitamine del gruppo B, folati e della B12 peculiarmente presenti e facilmente disponibili nelle alghe ed in parte prodotte dai probiotici facenti parte della composizione del Phycozym, si può pensare alla prevenzione della malattie cardiovascolari.

Tali meccanismi protettivi possono essere riconducibili sia all'azione antiaterogena per la presenza di acidi grassi essenziali polinsaturi omega 3 nel controllo dell'omeostasi lipidica come già descritto (17) che alla modulazione della sintesi dell'omocisteina, analita frequentemente riscontrato elevato in soggetti cardiopatici (18) alla cui produzione concorrono vie metaboliche strettamente dipendenti dai livelli di vitamine del gruppo B e B12 in particolare.

Ed infine non meno rilevanti grazie al contenuto di acidi grassi essenziali sono gli effetti modulanti positivi sui cosiddetti eicosanoidi "buoni", questi superormoni che controllano le risposte ormonali e vengono dagli stessi ormoni controllati da tempo noti (19) ma ancora troppo poco studiati vista la rapida scomparsa dopo aver espletato l'effetto biologico che è molto rapido considerato che si parla di pochi secondi.

SOGGETTI e METODI

Sono stati reclutati per questo studio pilota 8 soggetti sani, 4 maschi e 4 femmine, di età compresa tra 23 e 63 anni, nella cui storia clinica e all'anamnesi non vi erano fatti clinici significativi per patologie gastrointestinali, diabete mellito o altre serie patologie. Tutti i soggetti non seguivano regimi alimentari particolari con restrizioni dietetiche e/o caloriche, non erano vegetariani o altro e durante la supplementazione non veniva suggerita nessuna restrizione alimentare o modifica negli stili di vita.

Dall'esame obiettivo al quale sono stati sottoposti prima di procedere alla sperimentazione, previo consenso, e dalla raccolta dei dati anamnestici non sono emerse positività cliniche se non dei disturbi frequentemente presenti in buona parte della popolazione, su verosimile base neurovegetativa, quali sporadici episodi dispeptici, vaghi problemi dell'alvo, cefalea, sensazione di pesantezza post-prandiale, saltuari fenomeni algici a carico delle articolazioni non accompagnati da pregressa positività strumentale, episodi di sindrome premestruale.

Per il test è stato utilizzato il "Phycozym" composto di microalghe Klamat, "Phycoplus" (concentrato di ficocianine), "Protexil" (maltodestrine fermentate) e *L.Acidophilus* DDS-1 nelle proporzioni rispettive di mg

200-100-100-100 a costituire il contenuto di ogni capsula da 500 mg; per l'integrazione, che ha avuto inizio il giorno 0, i soggetti hanno assunto 9 capsule al giorno ripartite nei tre pasti principali.

I prelievi di sangue in vacutainer eparinizzati, venivano fatti al tempo 0, a 1 mese e a 3 mesi di supplementazione e suddivisi in due aliquote: una aliquota era analizzata presso il Laboratorio Analisi dell'Ospedale di Urbino per i più comuni analiti: esame emocromocitometrico con sistema automatico e principio COULTER (impedenziometrico), assetto proteico e lipidico con sistema automatico e principio della chimica allo stato secco (Dry Chemistry), test enzimatici di funzionalità epatica, cardiaca, renale, profilo tiroideo mediante apparecchi automatizzati con principi immunonefelometrici e chemiluminescenti ed avvalendosi del citofluorimetro per l'immunofenotipizzazione linfocitaria.

Una aliquota è stata utilizzata per valutare i livelli della lipoperossidazione tramite dosaggio della malonildialdeide (MDA) e quello degli antiossidanti presi in considerazione: GSH (glutazione ridotto), vitamina E (α-tocoferolo) e vitamina A (retinolo). I campioni di sangue sono stati processati mediante centrifugazione a 3000 r.p.m. per 10 minuti a +4°C ed il plasma ottenuto è stato stoccato a -20°C per le sopradescritte analisi.

Dosaggio della MDA

La MDA plasmatica è stata misurata spettrofotometricamente a 535 nm in accordo con la metodica del TBARS (dall'inglese "thiobarbituric acid-reactive substances") (20).

Dosaggio del GSH

Il dosaggio si basa sulla riduzione da parte del GSH del disulfide DTNB (acido 5,5'-ditiobis 2-nitrobenzoico) (21). Nella forma ridotta il DTNB (c.e.m. $13600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) sviluppa un forte colore giallo che viene misurato a 412 nm.

Dosaggio di retinolo e α-tocoferolo

I livelli plasmatici di vitamina E (α-tocoferolo) e vitamina A (retinolo) sono stati determinati tramite HPLC (JASCO CORPORATION, Tokyo, Japan) (22) utilizzando una colonna ALLTIMA C18 (5 μm, 250 mm x 4.6 mm i.d.; Alltech, Italia) preceduta da un precolonna ALLTECH (7,5 x 4.6 mm i.d). I profili cromatografici sono stati analizzati con l'impiego del software Borwin 1,5 (JASCO CORPORATION, Tokyo, Japan).

Al termine della sperimentazione i soggetti venivano ricontrollati clinicamente avvalendosi di un esame obiettivo che è risultato negativo.

RISULTATI

Non si sono riscontrate differenze significative a carico dei comuni parametri laboratoristici esaminati prima e dopo la supplementazione eccetto che valori lievemente modificati rispetto a quelli di riferimento in quattro dei soggetti come riportato in Tabella 1.

E' interessante l'osservazione che dopo l'integrazione, gli analiti riportati sono tutti rientrati nel range di normalità ad evidenziare da un lato l'assenza di effetti collaterali dall'altro l'efficacia di modulazione che questo tipo di integrazione riesce a portare su sistemi ed apparati diversi ripristinando un controllo omeostatico come ad esempio a carico dei lipidi, con un aumento delle HDL del 13% e una diminuzione dei trigliceridi pari al 14% (dati non mostrati).

I livelli di riferimento iniziali di MDA come indice della lipoperossidazione pari a $14.35 \pm 1.15 \mu\text{mol/ml}$ sono diminuiti del 35.5% fino a 9.25 ± 2.66 dopo 1 mese di supplementazione come riportato in Fig.1, mentre aumentano i livelli plasmatici degli antiossidanti glutazione ridotto (+16.8%, Fig.2) e retinolo (+60%, Fig.3). I valori di α-tocoferolo non subiscono variazioni significative (da $35.7 \pm 5.2 \mu\text{mol/l}$ a $35.9 \pm 7.5 \mu\text{mol/l}$ al termine dello studio).

Infine, i risultati dell'analisi immunofenotipica, non mostrati, evidenziano un controllo dell'integrazione sul sistema immunologico con la normalizzazione del rapporto CD4/CD8 in un caso e sul ripristino del range di riferimento del numero di linfociti CD 16 (NK) in un altro caso.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il primo significativo risultato che questo studio ha evidenziato è l'efficacia di modulazione che Phycozym sembra in grado di apportare tenuto conto che nessun parametro alimentare o stile di vita è stato fatto variare.

Esaminando più dettagliatamente i risultati si può ipotizzare che l'effetto epatoprotettivo già riscontrato sperimentalmente su animali da laboratorio, ratti precedentemente intossicati con R-(+) pulegone e quindi supplementati con C-ficocianina isolata da *Spirulina platensis* (23), siano presenti anche *in vivo* come dimostra il ritorno nel range di riferimento del valore di SGPT (glutammico-piruvico transaminasi), enzima epatico ritenuto ottimo biomarcatore di epatotossicità. Si può ritenere che la ficocianina presente sia in grado di esercitare un controllo positivo come scavenger radicalico assumendo essa stessa un ruolo di antiossidante sinergicamente alle altre vitamine antiossidanti presenti nelle alghe verdi-azzurre.

Il ritorno alla normalità dei valori plasmatici di Vitamina B12 conferma da un lato la biodisponibilità ed il più fisiologico rilascio della stessa dalla fonte algale; infatti, le alghe Klamath si sono dimostrate molto ricche di questo principio nutrizionale così importante per svariate reazioni biochimiche in grado di controllare a loro volta processi fondamentali come la stessa emopoiesi. La conferma arriva dal ripristino dei valori ematici quali il numero dei globuli rossi e l'ematocrito come riportato sempre in Tabella 1 nel soggetto esaminato. E' ipotizzabile che gli stessi effetti ipocolesterolemici siano da attribuire sia alla composizione di acidi grassi essenziali polinsaturi (PUFA) che entrano nel metabolismo degli eicosanoidi spostando l'equilibrio verso quelli benefici, che alla stessa vitamina B12 in quanto coenzima di tappe fondamentali del metabolismo dei grassi (24) in sincronia con il controllo della formazione di lipoproteine ossidate modulando lo "stress ossidativo" con le sostanze antiossidanti.

La vitamina B12 attraverso il metabolismo dell'omocisteina può prevenire il suo accumulo e quindi avere effetti protettivi per le cardiopatie, inoltre attraverso la trasformazione dell'omocisteina in metionina, interviene anche nella trasformazione dei folati esercitando quindi un ruolo fondamentale nel ciclo cellulare con possibili effetti anticancerogeni. Stretto legame si innesca tra la carenza di B12, che può creare in circolo l'omocisteina nitrosilata che facilita la produzione di radicali liberi, ed i livelli di antiossidanti quali in particolare la vitamina A; ecco quindi anche l'importanza del riscontro dopo supplementazione con Phycozym di incrementi plasmatici di retinolo come si evidenzia nella figura 3.

Per quanto riguarda gli effetti sulla funzionalità del sistema immunitario oltre a quelli già riportati in letteratura sulla ricircolazione delle cellule immunitarie fra i vari distretti anatomici dovuti all'alga verde azzurra *Aphanizomenon Flos Aquae* (25), si aggiungono quelli esercitati direttamente dai probiotici e dai prebiotici percentualmente presenti nel Phycozym che ristabilendo l'eubiosi intestinale possono agire positivamente sulle "cellule M" facenti parte degli aggregati linfoidi del tessuto linfoide intestino-associato (GALT), primo apparato immunitario di difesa verso agenti esterni e microrganismi. Le cellule M giocano un ruolo fondamentale nella produzione di IgA intestinali che rivestono i batteri della normale flora intestinale proteggendola.

Sono sempre più disponibili informazioni sull'anatomia del sistema immunitario ma poco è noto sugli effetti di un sistema troppo attivato o poco attivato anche alla luce dell'insorgenza di patologie come quelle autoimmuni. In tale direzione si sta facendo sempre più strada anche il concetto del "mimetismo molecolare" inteso come similitudine molecolare tra antigeni batterici o virali e le proteine di alcuni distretti corporei tale da confondere la risposta immunitaria che finisce con l'aggregare il "self". Per tale ragione si può cogliere con molto ottimismo l'idea che si possa modulare il sistema immunitario agendo con sostanze naturalmente presenti in questi sistemi cellulari senza rafforzarlo o deprimerlo farmacologicamente.

La conferma delle capacità antiossidanti del complesso adoperato per l'indagine (Phycozym) è ulteriormente rafforzata sia dalla riduzione della lipoperossidazione evidenziata con il decremento dei livelli plasmatici di MDA e con l'incrementato livello di glutatione ridotto come rilevabile nelle fig. 1 e 2; dati confortanti in tale senso vengono anche dai primi risultati di indagini ancora in corso sulle capacità antiossidanti proprie delle ficocianine ancora non pubblicate.

In conclusione, da questa indagine pilota emergono dati interessanti sul fatto che la presenza sia degli elementi nutrizionali presenti nelle alghe verdi-azzurre Klamath che delle ficocianine nel Phycoplus unitamente agli effetti benefici già noti che esercitano i probiotici e i prebiotici permettono di ipotizzare una vasta gamma di azioni che possono abbracciare sia il campo nutrizionale che quello terapeutico al quale saranno indirizzati gli sforzi futuri.

L'approccio attuale dello studio pur in presenza di un numero limitato di casi, ci è sembrato metodologicamente corretto anche dal punto di vista etico, poiché ci ha permesso di escludere qualsiasi effetto collaterale.

le possibilmente attribuibile alla integrazione, sempre più convinti che l'organismo umano sia in grado di prelevare da tali fonti tutti gli elementi che gli necessitano per mantenere l'omeostasi generale e quindi per mantenersi in buona salute.

BIBLIOGRAFIA

1. Sies H: Oxidative Stress. Oxidant and Antioxidants – London, Academic Press 1991
2. Galli F, Canestrari F, Bellomo G: Pathophysiology of Oxidative Stress and Its Implication in Uremia and Dialysis – *Contrib. Nephrol*, Basel, Karger, Vol 127, 1-31, 1999
3. Gey KF – *Nutr Biochem* –6: 206-236 (1995)
4. Lee H: Anticarcinogenic effects of *L. acidophilus* and N-nitroso-bis(2-oxopropyl) amine induced colon tumor in rats- *Appl. Nutr*, 48:59-66, 1996
5. Murthy M: Delineation of Beneficial Characteristics of Effective Probiotics – *JANA*, Vol 3, 38-43, 2000
6. Femia AP, Luceri C, Dolara P, Giannini A, Biggeri A, Salvadori M, Clune Y, Collins KJ, Paglierani M, Caderni G: Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Carcinogenesis*, 23 (11), 1953-60, 2002.
7. Zolla L, Bianchetti M. High-performance liquid chromatography coupled on-line with electrospray ionization mass spectrometry for the simultaneous separation and identification of the *Synechocystis* PCC 6803 phycobilisome proteins. *J Chromatogr A* 2001 Apr 6;912(2):269-79
8. Viskari PJ, Colyer CL. Separation and quantitation of phycobiliproteins using phytic acid in capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *J Chromatogr A* 2002 Oct 4;972(2):269-76
9. Bhat VB, Madyastha KM. C-phycoerythrin: a potent peroxyl radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Aug 18;275(1):20-5.
10. Romay C, Armesto J, Ramirez D, Gonzalez R, Ledon N, Garcia I. Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae. *Inflamm Res*. 1998 Jan;47(1):36-41.
11. Stryer L and Glazer AN: Fluorescent conjugate for analysis of molecule and cells – United States Patent, 4, 859, 582, 1989
12. Romay C, Gonzalez R. Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxyl radicals. *J Pharm Pharmacol*. 2000 Apr;52(4):367-8.
13. Reddy CM, Bhat VB, Kiranmai G, Reddy MN, Reddanna P, Madyastha KM. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by C-phycoerythrin, a biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Nov 2;277(3):599-603.
14. Bhat VB, Madyastha KM. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis*: protection against oxidative damage to DNA. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001 Jul 13;285(2):262-6.
15. Mathews-Roth M.M A clinical trial of the effects of oral beta-carotene on the responses of human skin to solar radiation. *J. Invest. Dermatol.* 1972, 59, 349-353.
16. Schalch W Carotenoids in the retina. Free radicals and aging, 1992 Ed I Emerit and B. Chance Birkhauser Verlag, Basel Switzerland
17. Simopoulos AP Omega 3 fatty acids in health and disease and in growth and development, 1991, *Am. J. Clin. Nutr.* 54, 438-463.
18. Arnesen E serum total homocysteine concentrations and coronary heart disease. 1995, *Int. J. Epidemiol.*, 24:704-709.
19. Bell R.M, Exton JH and Prescott SM Lipid Second Messengers, 1996 Handbook of Lipid Research, Vol 8, Plenum Press, New York.
20. J.A. Buege, S.D. Aust, Microsomal lipid peroxidation, *Methods Enzymol.*, 1978; LII: 302-310
21. E. Beutler, Red cell metabolism. A manual of Biochemical methods, Grune and Stratton, New York, 1975, 131-134
22. G.W. Burton, A. Webb, K.U. Ingold, A mild, rapid and efficient method of lipid extraction for use in determining vitamin E/lipids ratios, *Lipids*, 1985; 20: 29-39
23. Vadiraja BB, Gaikwad NW, Madyastha KM. Hepatoprotective effect of C-phycoerythrin: protection for carbon tetrachloride and R-(+)-pulegone-mediated hepatotoxicity in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Aug 19;249(2):428-31
24. Nishimura JS Succinyl -CoA synthetase structure-function, relationships and other considerations. 1986 *Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol.* 58, 141-172.
25. Gitte SJ Consumption of *Aphanizomenon flos-aquae* has rapid effects on the circulation and function of immune cells in humans-2000, *JANA* Vol 2.3:50-57

TABELLE E FIGURE

Tabella 1: Miglioramento di alcuni parametri ematochimici durante la supplementazione di Phycozym.

PARAMETRI	BASALE	1 MESE PHYCOZYM	3 MESI PHYCOZYM	VALORI DI RIFERIMENTO
1 GPT	73	59	55	7-56 U/L
2 Linfociti	53.8	40.7	35.9	20-45 %
3 Vitamina B12	188.0	194.0	214.0	200-950 pg/ml
4 Globuli rossi	4,35	4,74	4,77	4.5-5.8 milioni x mmc
5 Ematocrito	36,4	41,8	41,5	38-52 %

Fig. 1: Diminuzione dei livelli di MDA plasmatici (-35%) dopo 1 mese di supplementazione di Phycozym

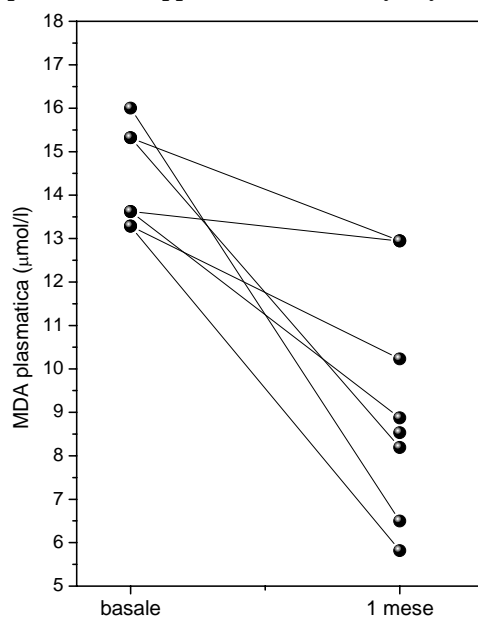


Figura 2: Aumento dei livelli di GSH plasmatico (+16.8%) dopo 1 mese di supplementazione con Phycozym.

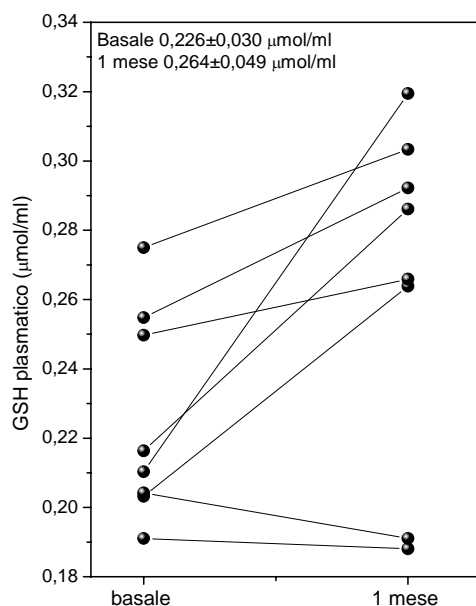


Figura 3: Aumento dei livelli plasmatici di retinolo (+60%) durante la supplementazione di Phycozym

