



## ESTRÉS OXIDATIVO... ADIÓS

*Un estudio in vitro, sobre las propiedades antioxidantes del integrador nutricional Cellfood, demuestra su eficacia protectora frente a los daños oxidativos, causados a las biomoléculas y células.*

**. Por Simona Catalani, Serena Benedetti, Francesco Palma, Franco Canestrari\***

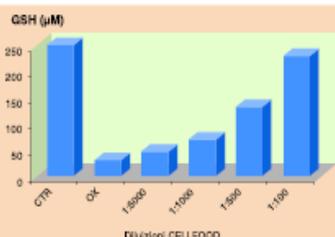


Figura 1 - Aumento della concentrazione di glutatione in presenza di CELLFOOD

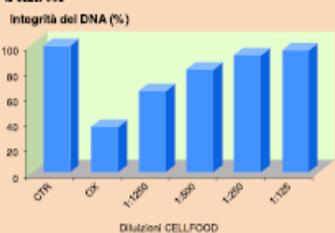


Figura 2 - Aumento dell'integrità del DNA in presenza di CELLFOOD

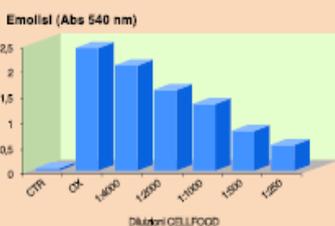


Figura 3 - Decremento dell'emodisi eritrocitaria in presenza di CELLFOOD

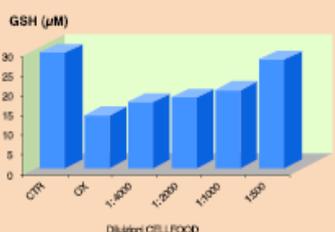


Figura 4 - Aumento della concentrazione di GSH eritrocitaria in presenza di CELLFOOD



Figura 5 - Decremento della formazione di radicali liberi linocitari in presenza di CELLFOOD

**El estrés oxidativo** –el desequilibrio entre la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO) y mecanismos de defensas antioxidantes- es causa de reacciones citotóxicas, que llevan a procesos de envejecimiento celular y a la aparición de desórdenes crónico-degenerativos, tales como neoplasias, aterosclerosis y degeneraciones del sistema nervioso (1). En los últimos años el tradicional enfoque terapéutico de estas patologías, se ha abierto cada vez más a la aportación de los suplementos antioxidantes, entre los cuales, el integrador natural Cellfood (marca registrada). Cellfood (CF), conocido también como Deutrosulfazyme, es una fórmula altamente concentrada que contiene 78 elementos y minerales en forma iónica y coloidal, presentes en trazas, combinados con 34 enzimas y 17 aminoácidos, todo esto en suspensión en una solución de sulfato de deuterio (2). Estudios conocidos indican que CF es particularmente efectivo como integrador nutricional de acción antioxidante. En primer lugar, la eficacia de CF se ha demostrado en el tratamiento de la fibromialgia, un síndrome en el cual el estrés oxidativo, generado por disfunciones mitocondriales, tiene un papel etiopatogénico fundamental (3). En el estudio se ha observado que, respecto al placebo, CF atenúa de forma significativa la sintomatología dolorosa, la debilidad muscular y, en general, las molestias asociadas a la disminución del tono humoral. En segundo lugar, la eficacia de CF se ha verificado en atletas profesionales, con buenos resultados, tanto durante las fases de entrenamiento, como durante las prestaciones agonísticas.

Teniendo en cuenta que el ejercicio físico intenso está asociado a una gran producción de (ERO), los efectos positivos de CF podrían estar asociados también, en este caso, a su acción antioxidante.

Por consiguiente, para entender mejor los mecanismos de acción que determinan la eficacia del integrador en cuestión, se han investigado *in vitro* los efectos protectivos de CF frente al daño oxidativo, ya sea en sistemas acelulares como las biomoléculas glutatión (GSH) y ADN, como en sistemas celulares, tales como los glóbulos rojos (RBC) y los linfocitos. Se han utilizado, como fuentes de radicales libres, tres oxidantes fisiológicos como el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido hipocloroso (HOCl) y radicales peroxi (ROO).

### **Materiales y métodos**

La protección de CF (escala de diluciones testadas 1:5000-1:1000) en relación de la oxidación de los grupos tiólicos del GSH por parte de los tres oxidantes, ha sido valorada con espectrofotómetro a 412 nm (5). La valoración de los efectos protectivos de CF (escala de diluciones testadas 1:1250-1:125) respecto al daño oxidativo en el ADN en presencia de los agentes oxidantes, ha sido efectuada mediante el análisis electroforético (6). En el caso de los RBC, la eficacia protectora de CF (escala 1:4000-1:250) en relación con la hemólisis oxidativa, ha sido determinada midiendo la hemoglobina liberada a 540 nm (7), mientras que la protección de CF en las relaciones de la depleción del GSH eritrocitario por parte de los oxidantes, se ha valorado a 412 nm (5). En fin, la protección de CF (escala de diluciones 1:1000-1:62,5) en relación con el estrés oxidativo en los linfocitos, se ha valorado mediante la sonda fluorescente DCFH-DA (cuanto mayor es la fluorescencia emitida, mayor es la oxidación celular) (8)

### **Resultados**

En cuanto se refiere a las biomoléculas, los agentes oxidantes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HOCl y ROO, son causa de una fuerte oxidación de los grupos tiólicos del GSH, llevando a una significativa reducción en la mezcla de reacción (Figura 1); al mismo tiempo, ocasionan una fuerte reducción de la integridad de la molécula del ADN (Figura 2). Cuando la oxidación se origina en presencia de CF, se observa un aumento dosis-dependiente, tanto de la concentración del GSH, que de la integridad del ADN. En cuanto se refiere a los sistemas celulares, la oxidación de los RBC provoca una fuerte lisis celular con liberación de hemoglobina e incremento de la absorción a 540 nm (Figura 3); cuando la oxidación se origina en presencia de CF, se evidencia una reducción dosis-dependiente de la hemólisis eritocitaria. La oxidación de los RBC induce también a una depleción de los niveles intracelulares de GSH (Figura 4); en presencia de CF se observa una inhibición dosis-dependiente del consumo de GSH. En el caso de los linfocitos, los agentes oxidantes inducen un fuerte aumento del estrés oxidativo intracelular (Figura 5); cuando la oxidación se origina en presencia de CF se evidencia una reducción dosis-dependiente de la acumulación celular de radicales libres.

### **Comentarios**

En este estudio se han investigado, por primera vez, las propiedades antioxidantes *in vitro* de CF, valorando su eficacia protectora frente a tres agentes oxidantes fisiológicos, como el peróxido de hidrógeno, radicales peroxi y ácido hipocloroso. Los resultados obtenidos demuestran que CF protege eficazmente el GSH de la oxidación y, como consecuencia, de su desgaste en presencia de radicales libres. De esta forma CF permite preservar un antioxidante fundamental dirigido al mantenimiento del equilibrio redox intracelular. El efecto protector de CF se extiende también al ADN, reduciendo los efectos genotóxicos de los agentes oxidantes. Este fenómeno puede tener también gran relevancia en el caso del ADN mitocondrial, que está directamente expuesto a la acción de los ERO producidos durante la respiración celular. De hecho, se ha demostrado que el daño oxidativo causado al ADN mitocondrial está implicado en el proceso del envejecimiento fisiológico y

en algunos desórdenes degenerativos (9). Por lo tanto, la suplementación con CF podría desempeñar un papel protector en todos aquellos desórdenes asociados a las disfunciones mitocondriales, como se ha observado ya en la fibromialgia (3). Siendo particularmente susceptibles al daño oxidativo, también los eritrocitos han sido elegidos como modelo de estudio para valorar las propiedades antioxidantes de CF. Como resultado, se ha destacado que CF protege eficazmente los RBC de la lisi oxidativa, preservando al mismo tiempo, las defensas antioxidantes eritrocitarias (el GSH) de la depleción. Dicha protección tiene lugar, tanto en relación con los oxidantes intracelulares (como peróxido de hidrógeno y radicales peroxi) como en relación con aquellos generados por los neutrófilos, como el ácido hipocloroso. Estas evidencias pueden tener una importancia relevante en el ámbito deportivo, de hecho, durante el ejercicio físico intenso se produce una mayor cantidad de ERO derivados, tanto del incrementado metabolismo eritrocitario, como por la activación leucocitaria (neutrófilos) (10). Puesto que los mecanismos eritrocitarios de protección son limitados, se pueden acumular lesiones oxidativas con la consecuente lisis celular y la insurgencia de un estado anémico (11). La protección de CF en cuanto al daño oxidativo a los RBC podría ser, de hecho, un instrumento útil para contrarrestar la anemia del atleta y podría explicar algunos de los efectos positivos de CF en atletas profesionales (4).

En fin, la acción protectora de CF ha sido investigada en los linfocitos, células involucradas en la respuesta inmunitaria, que normalmente están sujetos a estrés oxidativo *in vitro*. También en este modelo experimental se ha observado que CF es capaz de reducir, significativamente, la formación de ERO intracelulares inducida por los tres oxidantes.

## Conclusiones

Los datos aparecidos en este estudio, confirman la acción protectora antioxidante de Cellfood, convirtiéndolo en un válido integrador nutricional en la prevención y en el tratamiento de numerosas condiciones fisiopatológicas, ligadas al estrés oxidativo, desde el envejecimiento hasta la anemia, en el ámbito deportivo, desde el síndrome de la fibromialgia hasta el riesgo cardiovascular, desde los desórdenes neurodegenerativos al cáncer.

. REPRODUCCIÓN RESERVADA

\* Departamento de Ciencias Biomoleculares, Sección de Bioquímicas Clínica, Universidad de Urbino “Carlo Bo”

## Bibliografía

\* Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. New York: Oxford University Press; 1999.

\* Dyer DS. CELLFOOD. Vital cellular nutrition for the new millennium. Feedback Books Inc; 2000.

\* Nieddu ME, Menza L, Baldi F, Frediani B, Marcolongo R. Efficacy of Cellfood's therapy (deutrosulfazyme) in fibromyalgia. *Reumatismo* 2007;59:316-21.

\* Milić R., Djordjević S. Cycling performance and Cellfood. In: Loland SBØK, Fasting K, Hallén J, Ommundsen Y, Roberts G, Tzolakidis E, editors. Book of Abstracts of the 14th Annual Congress of the European College of Sport Science. Oslo: Gamlebyen Grafiske AS; 2009, p. 230.

\* Hu ML. Measurement of protein thiol groups and glutathione. *Methods Enzymol* 1994; 233: 380

\* Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning. A laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor; 1989.

- \* Kwak, C. S., Mun, K. C., and Suh, S. I. (2002) Production of oxygen free radicals and of hemolysis by cyclosporine. *Transplant. Proc.* 34, 2654–2655
- \* Myhre O, Andersen JM, Aarnes H, Fonnum F. Evaluation of the probes 2',7' –dichlorofluorescein diacetate, luminol, and lucigenin as indicators of reactive species formation. *Biochem Pharmacol* 2003;65:1575-82.
- \* Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999;283:1482-8.
- \* Santos-Silva A, Rebelo MI, Castro EM, Belo L, Guerra A, Rego C, et al. Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clin Chim Acta* 2001;306:119-26.
- \* Robinson Y, Cristancho E, Böning D. Intravascular hemolysis and mean red blood cell age in athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38:480-3. Figura 5 – Decremento della formazione di radicali liberi linfocitari in presenza di CELLFOOD