

# **Effets des algues bleu-vert et de ses extraits sur la prolifération des cellules souches adultes humaines in vitro:**

Jacques PRUNIER

Etude préliminaire

Douglas R. Shytle 1,3,5, Jun Tan Jared 5, Ehrhart Adam 5, J. Smith 5 , Cyndy D. Sanberg 3, Paul R. Sanberg 1,3,5, Jerry Anderson 4, C. Paula Bickford 1,3,5

1 Centre d'excellence sur le vieillissement et de régénération du cerveau, Service de Neurochirurgie, USF, Tampa, FL, USA

2 Département de psychiatrie, USF, Tampa, FL, USA

3 Therapeutics Natura, Inc Tampa, FL, U.S.A.

4 Santé Simplicity, Klamath Falls, OR, U.S.A.

5 James A. Haley Veterans Hospital, Tampa, FL, USA

Source de l'aide: Cette recherche a été soutenue par Natura Therapeutics, Inc et Simplicity Health, Inc

## **Résumé**

### **Contexte:**

les cellules souches adultes sont connues pour avoir une capacité réduite de restauration dès que nous vieillissons et sont plus vulnérables au stress oxydatif résultant d'une diminution de la capacité du corps à se guérir. Nous avons déjà signalé qu'une formulation exclusive nutraceutiques, NT-020, favorise la prolifération des cellules souches hématopoïétiques de l'homme in vitro et protège les cellules souches du stress oxydatif chronique lorsqu'il est administré à des souris in vivo. Parce que les rapports précédents suggèrent que les algues bleu-vert, *Aphanizomenon flos-aquae* (AFA) peuvent moduler la fonction immunitaire chez les animaux, nous avons cherché à étudier les effets de AFA sur les cellules souches humaines dans les cultures.

### **Matériel / Méthodes:**

Deux produits ont été utilisés pour l'extraction:

AFA (AFA-W) et AFA concentré (AFA-C). Les extractions à l'eau et l'éthanol ont été réalisées afin d'isoler les composés actifs pour les expériences de cultures cellulaires.

Pour l'analyse de la prolifération cellulaire des cellules de moelle osseuse, des cellules CD34 + ont été cultivées sur des plaques de 96 puits et traités pendant 72 heures avec divers extraits.

Un test MTT a été utilisé pour estimer la prolifération cellulaire.

### **Résultats:**

Nous rapportons ici que l'ajout d'un extrait alcoolique de concentré AFA augmente encore l'action proliférative des cellules souches du NT-020 lorsqu'il est incubé avec des cellules humaines adultes de moelle osseuse ou CD34 + progéniteurs hématopoïétiques humains en culture.

L'extrait d'algue seul avait seulement produit une activité modérée dans les essais de ces souches de prolifération cellulaire.

### **Conclusions:**

Cette étude préliminaire suggère que le NT-020, plus l'extrait de la CAF à l'éthanol peut agir pour favoriser la prolifération des populations de cellules souches humaines.

Les cellules souches sont présentes dans de nombreux organes de l'adulte humain, y compris la moelle osseuse, le sang périphérique, le cordon ombilical, le sang, la rate, la pulpe dentaire, les tissu adipeux et le cerveau.

Ces cellules souches sont à l'étude pour leur potentiel d'utilisation des tissus transplantés et dans le traitement de maladies telles que les cancers, les maladies neuro-dégénératives, le diabète, les accidents vasculaires cérébraux, les infarctus du myocarde, la sclérose latérale amyotrophique (SLA) et la maladie de Parkinson [1-7]. Peu d'efforts ont toutefois été réalisés dans le renforcement des cellules souches endogènes adultes comme moyen pour favoriser la guérison.

Au cours du vieillissement, les cellules souches adultes sont connus pour avoir un taux réduit de capacité de régénération [8,9] et sont plus sensibles au stress l'oxydatif [10] entraînant une diminution de la capacité de l'organisme de se guérir. Par exemple, les satellites des cellules souches neurales du muscle, cellules et progéniteurs endothéliaux montrent tous la réduction de prolifération chez les personnes âgées et cela peut jouer un rôle dans les pathologies de maladies liées à l'âge [11-14]. Dans les maladies cardiovasculaires par exemple, il existe une corrélation entre une réduction des cellules sanguines périphériques progénitrices endothéliales et de nombreux facteurs de risques de maladie cardio-vasculaire [15,16]. Les cellules souches neurales sont des cellules aussi soumises à une diminution de la capacité proliférative dû au vieillissement et certains ont émis l'hypothèse que des baisses dans la neurogenèse dû au vieillissement sont liées au déclin cognitif [17-19]. Toutefois, de plus en plus la bibliographhie indique que certains nutriments, vitamines, et flavonoïdes pourraient jouer un rôle important dans la prolifération et le maintien d'un remplacement continu des cellules souches nécessaires à la santé et à l'auto-renouvellement des cellules souches dans le sang, le cerveau et autres tissus.

Il semble que certains nutriments, vitamines et flavonoïdes pourraient jouer un rôle important dans le maintien de l'auto-renouvellement des cellules souches et stimuler la prolifération et la différenciation des progéniteurs engagés nécessaires au remplacement continu des cellules matures dans le sang, le cerveau et d'autres tissus. En outre, il peut être possible d'utiliser certaines produits naturels, seuls ou en synergie, pour la traitement des affections où le remplacement de cellules souches semble justifié. Nous avons récemment étudié la capacité de divers composés naturels pour stimuler la prolifération des cellules souches humaines provenant de la moelle osseuse (cellules CD34 +) et cellules souches du sang périphérique (CD133 +) in vitro [20]. Plus précisément, nous avons montré qu'une combinaison particulière d'extrait de bleuet, extrait de thé vert, carnosine, et de vitamine D3, une formule exclusive de nutraceutiques connus sous le nom scientifique de NT-020, a démontré une activité synergique dans la promotion proliférative des cellules souches hématopoiétiques humaines en culture [21]. En outre, dans une étude de suivi, nous avons constaté que NT-020 réduit le stress oxydatif induit, réduit l'apoptose des neurones murins et des cellules microgliales in vitro [21]. La culture cellules souches de moelle osseuse de souris au NT-020 par voie orale pendant 2 semaines présentaient une réduction dose-dépendance du stress oxydatif induit par la mort cellulaire. Ces études précliniques montrent que les formulations de neutraceutiques comme le NT-020, peuvent agir pour promouvoir la guérison par le biais d'une interaction avec les populations de cellules souches [21]. Des études avec NT-020 ont montré qu'ils favorisent la migration des cellules souches du cerveau de la niche de cellules souches sur le site de la blessure dans un modèle animal.

Le NT-020 a été montré dans une étude contrôlée pour prévenir des dommages de l'ischémie de 70% par rapport aux conditions de contrôle. Sur ces mêmes animaux il a été démontré qu'il y avait une augmentation du nombre de cellules souches neurales dans les niches de cellules souches de la zone sous-ventriculaire et sur le site de blessure dans le striatum. Ces données ont démontré que NT-020 favorise la prolifération des cellules souches dans la niche et la

migration des ces cellules de tissus endommagés [22]. Une classe supplémentaire de composés a également été suggéré pour avoir une activité dans la promotion de la fonction des cellules souches. Classifiées comme cyanobactéries, les algues bleu-vert (Aphanizoménon Flos Aquae (AFA)) sont riches en phycocyanine, ce qui donne une pigmentation bleu. La grande quantité de chlorophylle donne la couleur vert vif. D'autres caroténoïdes supplémentaires présents contribuent à la pigmentation riche en bleu des algues vertes. Les algues bleu-vert ont également démontré les effets sur la fonction des cellules immunitaires, y compris l'augmentation des mononucléaires, fraction des cellules [18], qui est la fraction qui contient des cellules souches adultes.

Dans des études plus étendues, une fraction d'un polysaccharide dénommé "Immolina" isolé par extraction à l'éthanol de l'algue bleu-vert a été trouvé comme un puissant stimulateur permettant l'augmentation de cytokines et l'expression de gènes codant sur les membres d'une famille de cytokines chimiotactiques qui stimulent la circulation des leucocytes et régule la migration des leucocytes du sang vers les tissus [25,26].

Le but de la présente étude était de déterminer les effets des extraits à l'eau ou à l'éthanol de la CAF sur la prolifération des cellules souches humaines adultes lorsqu'ils sont administrés seuls ou en combinaison avec NT-020 in vitro.

**Matériel et Méthodes Réactifs :**

Tous les composés ont été ajoutés à des cultures de cellules comme décrit dans les sections de résultats.

Deux produits AFA ont été utilisés pour l'extraction:

AFA (AFA-W) et AFA concentré (AFA-C) qui ont été généreusement donnés par Simplicity. La paroi cellulaire de l'AFA concentrée est éliminée à l'aide d'un procédé exclusif (Simplicity Health), ce qui concentre le matériel intracellulaire.

L'AFA est récoltée et traitée conformément aux normes de la FDA (Pratiques de Fabrication et réglementation de l'Oregon Ministère de l'Agriculture)

L'AFA subit des tests de qualité strictes d'assurance de la présence d'éléments indésirables, y compris les toxines, pesticides, métaux lourds, et de micro-organismes préjudiciables

Les réactifs sont dissous aux ultrasons dans de l'eau distillée pendant 15 minutes et stérilisés par filtration avec un filtre 45 mn avant application.

Pour les cultures cellulaires d'extractions à l'éthanol les préparations d'AFA ont également été étudiées. Les réactifs ont été dissous dans l'éthanol à 70%, vortexés pendant 40 secondes et incubées à 65 degrés Celsius pendant 2 heures. Les extraits ont été centrifugés à 1000 tr / min pendant 2 minutes, le surnageant a été recueilli. Ce processus a été répété puis les surnageants réunies et séchées. L'extrait sec a été pesé et remis en suspension dans l'eau, filtré, stérilisé et utilisé pour des expériences de culture cellulaire. Les extractions MTT pour l'analyse de la prolifération cellulaire des cellules de moelle osseuse ou CD34 + humaines (AllCells, Inc) ont été cultivés sur 96 plaques (5 × 104/well) contenant 100 µL de milieu complet (RPMI 1640 d'un milieu supplémenté avec 5% FCS). Ces cellules ont été traitées pendant 72 heures avec différents extraits d'une large gamme de doses (62,5 ng / ml à 500 ng / mL) avec ou sans NT020 (une formulation exclusive de bleuet, de thé vert, carnosine et de la vitamine D3 précédemment décrit) [20]. Cette méthode et l'utilisation des doses ont été jugée optimales dans les précédentes études [20] et les avons donc utilisées pour les essais d'AFA dans la présente étude.

Cinq heures avant la fin du traitement, 20 µL de solution de MTT (kit MTT, Sigma) a été ajouté à chaque lot. Ces plaques ont ensuite été incubées dans une étuve à CO<sub>2</sub> à 37 ° C pendant 5 heures et les essais de culture réalisés avec aiguille et seringue. 200 µL de DMSO a été ajouté à chaque puits avec aspiration et refoulement afin de dissoudre les cristaux. Ces plaques ont été remis à l'étuve à 37 ° C pendant 5 minutes, transférées au lecteur de plaque afin de mesurer l'absorbance à 550 nm.

Les données ont été représentées en pourcentage moyen de prolifération relative définies comme O.D. Lecture des cellules de contrôle de chaque numéro traité et normalisé. (absence de traitement). Ce test mesure la fonction mitochondriale et reflète donc la santé et la prolifération cellulaires. Les analyses ont été réalisées en double aveugle pour chaque individu et l'expérience a été répétée au moins 4 fois pour déterminer la reproductibilité.

Analyse statistique.

La signification statistique des données a été évaluée en utilisant un two tailed et Student-test. Le critère de rejet de l'hypothèse nulle hypothèse a été  $P < 0,05$ .

## Résultats

Effets de l'AFA seul sur la prolifération de moelle osseuse humaine.

Comme le montre la figure 1, lorsque plusieurs extraits d'AFA ont été ajoutés à des cellules de moelle osseuse en culture à des doses entre 62,5 et 500 ng / ml pendant 72 heures AFA-W et AFA-C à une concentration mesurée, nous constatons une plus grande efficacité avec la plus grande concentration d'AFA-W (~ 25% plus de contrôle) des cellules souches de moelle des os, prolifération mesurée par MTT que l'AFA-C (<20% pour le contrôle).

Pour des augmentations de la prolifération en dessous de 10% les contrôle ne sont pas considérés comme importants. Il semble n'y avoir guère de différence sur les mesures de la prolifération si l'AFA a été extrait de l'eau ou à l'éthanol (E).

Effets de la CAF combinée au NT020 sur la prolifération de moelle osseuse de l'homme.

Lorsque la dose de 500 ng / ml d'extraits a été combinée avec NT020 (500 ng / ml), l'extrait à l'éthanol de la CAF-C semble avoir des effets additifs sur la prolifération des cellules de moelle osseuse tel que mesuré par le test MTT.

## **Effets de la CAF seul sur le CD 34 + et sur la prolifération des cellules souches osseuses humaines**

Divers extraits de la CAF ont été incubées avec des cellules CD34 + pendant 72 heures à des doses allant de 62,5 ng / ml à 500 ng / ml AFA-W et AFA-C (à des doses de 250 ng / ml à 500 ng / ml) et ont eu des effets pour promouvoir la prolifération des cellules CD34 + au-dessus des conditions de contrôle avec un maximum de 14%. Les doses inférieures à 250 ng / ml n'ont eu aucun effet significatif.

Les augmentations inférieures à 10% n'ont pas été considérées comme significatives.

Effets de la CAF combinée au NT020 sur la santé humaine et la prolifération des cellules souches CD34 +

Lorsque les doses de 500ng / ml de différents extraits AFA ont été combinées avec NT020 (500 ng / ml), il semble que l'extrait à l'éthanol de la CAF-W à des effets additifs sur la CD34 + pour la prolifération des cellules souches humaines mesurée par un test MTT.

## Discussion

Les résultats de cette étude préliminaire pré-clinique démontre d'avantage la notion que les composés naturels ont la capacité de stimuler la prolifération des cellules souches humaines en culture [20]. NT-020 de 70% au-dessus des références, ce qui soutient nos recherches précédentes avec cette formulation [20,21].

L'eau et les extraits de l'éthanol de la CAF démontrent que le produit seul a des effets modérés sur la prolifération des cellules de moelle osseuse et des effets représentatifs seulement à haute doses sur les cellules CD34 + in vitro.

Un extrait à l'éthanol de la CAF à des effets additifs sur la prolifération des cellules CD34 + lorsqu'il est combiné au NT-020. Comme indiqué précédemment, Aphanizomenon flos-aquae (AFA) contient de nombreux composés qui peuvent être responsables d'avantages pour la

santé. Par exemple, une fraction d'un polysaccharide dénommée «Immolina" isolé par extraction à l'éthanol à partir d'algues bleu-vert a été trouvé comme un puissant stimulateur provoquant une augmentation de cytokines et l'expression des gènes codant pour les membres d'une famille de cytokines chimiotactiques qui stimulent la circulation des leucocytes et réglemente la migration des leucocytes du sang vers les tissus [25,26].

Dans une autre étude, on a observé que la consommation AFA à une augmentation de la surveillance immunitaire du plomb[18].

La phycoyanine, une composante de l'AFA, a démontré une activité antioxydante prooxynitrite de récupération afin d'inhiber la cyclo-oxygénase 2, et a donc le potentiel de réduire l'inflammation [27-31]. En outre, le bêta-glucane Maitake (MBG) est un polysaccharide extrait du corps de fruits du champignon *Grifola frondosa*, largement utilisé pour traiter le cancer en Asie.

Récemment, Lin et al., (2004) a signalé que le MBG améliore les cellules de moelle osseuse de souris in vitro dans l'hématopoïèse et protège cellules de moelle osseuse de la doxorubicine (DOX) toxicité [32].

Une étude de suivi par ce groupe a constaté que MBG œuvres afin de renforcer la prolifération des cellules souches par la promotion de granulocytes colony-stimulating factor (GM-CSF), et la production [33].

Une mise en garde à retenir pour cette étude est que la méthode utilisés pour mesurer les cellules viables dans ce manuscrit reflète l'activité de certaines enzymes dans la mitochondrie et est donc seulement une mesure indirecte du nombre de cellules. Il est possible que l'effet d'accroître le nombre des mitochondries par cellule ou fonction mitochondriale pourrait produire des résultats similaires, mais ce serait encore tenir compte du renforcement des fonctions cellulaires, qui serait le résultat souhaité.

Les futures études devraient être effectuées afin d'évaluer les effets de la CAF en utilisant des épreuves plus spécifiques du nombre de cellules pour délimiter les effets sur la prolifération par rapport à l'augmentation de l'activité métabolique. En outre, il convient de noter que de nombreux composants favorisant la prolifération des cellules souches sont des polysaccharides qui peuvent se solubiliser dans l'une ou l'autre des extractions aqueuse ou à l'éthanol. Les méthodes d'extraction sont donc des conditions susceptibles d'influer sur le montant des composants actifs. Des recherches pourraient délimiter les molécules actives dans cet extrait aux fins d'une validation de la caractérisation. Une mise en garde supplémentaire rapporte que les données que nous présentons ici pour la prolifération des cellules souches de moelle osseuse avec le NT-020 est inférieur à celui précédemment publiés [20].

Il existe là plusieurs raisons possibles de cet écart.

Une possibilité est que le donateur des cellules de moelle osseuse a été un fournisseur différent de l'étude précédente;

Une seconde raison possible est la variabilité des donateurs. Ces deux possibilités pourraient entraîner des variations dans les nombres des divers types de cellules présentes dans la moelle osseuse utilisées dans les deux études comme la moelle osseuse est une population cellulaire mixte qui contient des cellules hématopoïétiques matures ainsi que d'un petit nombre y compris des cellules souches CD34 +,.

Les données présentées dans cette étude du sang périphérique de cellules isolée dérivées CD34 + étaient similaires à celles déjà publié [20]. Les CD34 + sont une population plus définie que des progéniteurs hématopoïétiques et peuvent donc refléter plus fidèlement les effets sur la fonction des cellules souches.

## Conclusions

Cette étude démontre pour la première fois que l'extrait à l'éthanol AFA-C, étudié en

association avec NT-020 avait un effet additif sur les cellules de moelle osseuse humaines et CD34 + de cellules souches in vitro.

Si l'on examine seulement les différents extraits de l'AFA ils ont des effets modestes pour promouvoir la prolifération des cellules souches de la moelle osseuse ou les cellules souches CD34 + de l'homme in vitro. Ce préliminaire suggère que les études précliniques du NT-020, plus un extrait concentré par l'éthanol de la CAF peut favoriser la prolifération et la santé des populations de cellules souches humaines

#### Références:

1. Sanberg PR, Willing AE, Garbuzova-Davis S et al: Navigation réparation cellulaire pour le système nerveux central. *Neurosurg Clin* 2008; 55: 133-37
2. Brinton RD, Wang JM: potentiel thérapeutique de la neurogenèse pour la prévention et le rétablissement de la maladie d'Alzheimer: alloprégnanolone comme preuve de concept agent neurogène. *Res Alzheimer Curr*, 2006; 3: 185-90
3. Yu G, Borlongan CV, Stahl et al CE: la transplantation d'ombilical humain cellules de sang de cordon pour la réparation d'infarctus du myocarde. *Med Sci Monit* 2008; 14 (10): RA163-72
4. Alberti E, Los M, R et al Garcia: une survie prolongée et d'expression des marqueurs neuronaux par les cellules souches des os dérivées de la moelle transplantée dans lésions cérébrales. *Med Sci Monit* 2009; 15 (2): BR47-54
5. Parc DH, DJ Eve, Borlongan CV et al: De la base de l'application de thérapie cellulaire, un tremplin pour la conquête de la neurodégénérescence: A rapport de la réunion. *Med Sci Monit* 2009; 15 (2): RA23-31
6. Parc DH, Borlongan CV, Eve DJ, Sanberg PR: Le domaine émergent de la ingénierie cellulaire et tissulaire. *Med Sci Monit* 2008; 14 (11): RA206-20
7. Abdel Aziz MT, El-Asmar MF, Haidara M et al: Effet de l'os marrowderived cellules souches mésenchymateuses sur les complications cardiovasculaires chez les diabétiques rats. *Med Sci Monit* 2008; 14 (11): BR249-55
8. Anglais D: L'espoir et le battage des cellules souches non embryonnaires d'. *J Hematother Res les cellules souches*, 2003; 12: 253-54
9. Semba RD, Margolick JB, Long S et al: sous-ensembles des cellules T et de mortalité dans les femmes âgées vivant dans la collectivité. *ExpGerontol*, 2005; 40: 81-87
10. Ito K, Hirao A, F et al Arai: Loi sur les espèces réactives de l'oxygène par p38 MAPK de limiter la durée de vie des cellules souches hématopoïétiques. *Nat Med*, 2006; 12: 446-51
11. Hattiangady B, Shetty AK: le vieillissement ne modifie pas le nombre ou le phénotype de la tige putative des cellules progénitrices / dans la région neurogène de la hippocampe. *Vieillessement Neurobiol*, 2008; 29: 129-47
12. Conboy GI, Conboy MJ, Paris AJ et al: Le rajeunissement des souches ans cellules par l'exposition à un environnement jeune systémique. *Nature*, 2005; 433: 760-64
13. Dimmeler S, Vasa-Nicotera M: le vieillissement des cellules souches: de prescription pour capacité de régénération? *JAmCollCardiol*, 2003; 42: 2081-82
14. Kuhn HG, Ckinson-H Anson, Gage FH: la neurogenèse dans le gyrus denté du rat adulte: diminution liée à l'âge de la prolifération des progéniteurs neuronaux. *JNeurosci*, 1996; 16: 2027-33
15. JM Hill, Zalos G, Halcox JP et al: progénitrices endothéliales circulantes cellules, la fonction vasculaire, et le risque cardiovasculaire. *N Engl J Med*. 2003;

348: 593-600

16. Vasa M, Fichtlscherer S, A et al Aicher: Nombre et migrateurs activité des progéniteurs endothéliaux inversement corrélée avec le risque facteurs de la maladie coronarienne. *Res Circ*, 2001; 89: E1-E7
17. Taupin P: neurogenèse adulte dans le système nerveux central des mammifères: La fonctionnalité et le potentiel d'intérêt clinique. *Med Sci Monit* 2005; 11 (7): RA247-52
18. Jensen G, D Ginsberg, Huerta P et al: Une nouvelle approche nutritionnelle la mobilisation du système immunitaire. *JANA*, 2000; 2: 50-58
19. Bizon JL, Lee HJ, Gallagher M: Neurogenèse dans un modèle de rat de liées à l'âge le déclin cognitif. *Le vieillissement des cellules*, 2004; 3: 227-34
20. Bickford PC, Tan J, et al Shytle RD: nutraceutiques synergie promouvoir la prolifération des cellules souches humaines. *Cellules souches Dev*, 2006; 15: 118-23
21. Shytle RD, Ehrhart J, Tan J et al: Le stress oxydatif des neurones, hématopoïétique, et les cellules souches: la protection par des composés naturels. *Rajeunissement Res* 2007; 10: 173-78
22. T Yasuhara, Hara K, Maki M et al: la supplémentation alimentaire exerce neuroprotecteurs effets dans le modèle accident vasculaire cérébral ischémique. *Rajeunissement Res* 2008; 11: 201-14
23. Vila J, Gemma C, C Hudson et al: Spiulina protège contre le LPS-induite diminution de la neurogenèse. *Society for Neuroscience Abstracts*, 2005
24. Vila J, Gemma C, C Hudson et al: effets de l'administration spirulina à long terme sur neurogenèse hippocampique chez le rat âgé. *Société pour la Abstracts Neuroscience*, 2006
25. Grzanna R, Polotsky A, Phan PV et al: Immolina, un haut poids moléculaire fraction polysaccharidique de la spiruline, favorise l'expression des chimiokines dans l'homme monocytaire THP-1 cellules. *J Altern Complement Med*, 2006; 12: 429-35
26. Pugh N, Ross SA, et al ElSohly HN: Isolement de trois molécule élevé préparations de polysaccharides de poids avec l'activité immunostimulante puissante de *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae* et *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta Med* 2001; 67: 737-42
27. Benedetti S, Benvenuti F, S et al Pagliarani: propriétés antioxydantes de la phycocyanine une nouvelle extrait de l'*Aphanizomenon* algue bleu-vert *flos-aquae*. *Life Sci* 2004; 75: 2353-62
28. Benedetti S, Rinalducci S, F Benvenuti et al: Purification et caractérisation de la phycocyanine de l'*Aphanizomenon* algue bleu-vert *flos-aquae*. *Sci Chromatogr J B Analyt Technol Biomed Life*, 2006, 833: 12-18
29. Bhat VB, Madyastha KM: C-phycocyanine: un puissant trésor peroxy radical in vivo et in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 275: 20-25
30. Bhat VB, Madyastha KM: la récupération de peroxy nitrite par la phycocyanine et phycocyanobiline de *Spirulina platensis*: Protection contre l'oxydation dommages à l'ADN. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 285: 262-66
31. Reddy MC, Subhashini J, et al Mahipal SV: C-phycocyanine, une sélectifs de la cyclooxygénase-2 inhibiteur, induit l'apoptose dans lipopolysaccharide stimulée

macrophages RAW 264.7. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003; 304: 385-92

32. Lin h, elle YH, Cassileth BR et al: Maitake bêta-glucane MD-fraction augmente la formation de colonies de la moelle osseuse et réduit la toxicité doxorubicine in vitro. *Immunopharmacol Int*, 2004, 4: 91-99

33. Lin H, Cheung SW, Nesin M et al: Amélioration du cordon ombilical hématopoïèse des cellules sanguines par la bêta-glucane maitake est médiée par des granulocytes de stimulation des colonies de production des facteurs. *Clin Immunol vaccins*, 2007; 14: 21-27

34. Schaeffer DJ, Malpas PB, Barton LL: L'évaluation des risques de la microcystine dans alimentaires *Aphanizomenon flos-aquae*. *Environ Saf Ecotoxicol*, 1999; 44: 73-80

*Med Sci Monit* 2010; 16 (1): BR1-5 Shytle RD et al - Les algues bleu-vert et les cellules souches