

Effetto delle *Bioglee solfuree* su lesioni psoriasiche

S. Mazzulla¹, R. Chimenti¹, S. Sesti¹, S. De Stefano², M. Morrone² e G. Martino¹

¹Dipartimento di Biologia Cellulare, Università della Calabria, Arcavacata di Rende (CS); ²Terme Luigiane, Guardia Piemontese, Acquappesa (CS), Italia

Riassunto

Obiettivo: Lo scopo del lavoro è stato quello di indagare l'efficacia delle *Bioglee solfuree* su pazienti affetti da lesioni psoriasiche. Lo studio è stato condotto utilizzando la matrice organica, prodotta dal metabolismo della microflora che si accresce sui piani di scorrimento delle acque ipertermali solfuree ad alto grado solfidrometrico (1-2) e sui fanghi termali delle Terme Luigiane di Guardia Piemontese-Acquappesa (CS). Tale matrice fa parte di una comunità ecologica del tipo "Sulphuretum", costituita prevalentemente da cianobatteri e solfobatteri (3). Per valutare la riduzione della lesione sono stati presi in considerazione alcuni parametri tipici delle più comuni lesioni psoriasiche quali: desquamazione, eritema cutaneo e prurito.

Pazienti e Metodi: Lo studio è stato eseguito su 20 pazienti aventi lesioni psoriasiche, che avevano dato il loro consenso informato. È stata valutata la riduzione dei parametri su esposti in seguito ad applicazione topica del preparato termale, due volte al giorno, per un ciclo di 12 giorni. Le indagini sono state eseguite immediatamente prima e alla fine del trattamento utilizzando metodiche di analisi d'immagine.

Risultati: L'analisi d'immagine ha permesso di constatare una diminuzione dei parametri considerati alla fine del ciclo di terapia. I risultati ottenuti mostrano una riduzione significativa dell'intensità della desquamazione, dell'eritema e del prurito.

Conclusioni: Si può ipotizzare che l'efficacia del trattamento sia dovuta a sostanze protettive della cute biosintetizzate dalle *Bioglee*, quali ad es. caroteni, vitamine idro e liposolubili, fitosteroli (3,9,14), che contribuiscono all'azione complessiva antinfiammatoria in sinergia con la componente minerale presente nel mezzo termale.

Parole chiave: *Acqua sulfurea, fitosteroli, psoriasi*

Introduzione

La psoriasi

La psoriasi è una malattia cutanea cronica-recidivante, a carattere eritemato-squamoso, caratterizzata da un'aumentata attività mitotica epidermica ad eziologia tutt'ora sconosciuta. L'estensione dell'interessamento

Abstract

Effect of sulphurous *Bioglea* on psoriasis

Objective: The efficacy of biological sulphurous *Bioglea* on psoriasis was investigated using an organic matrix derived from the metabolism of microflora growing in shallow hyper thermal waters possessing high sulphur concentrations and in thermal mud at Guardia Piemontese-Acquappesa (CS) (1,2). Such a matrix forms part of the "Sulphuretum" ecological matrix which is dominated by cyanobacteria and sulfobacteria (3). The effect of this matrix on psoriasis was evaluated through the typical symptoms such as desquamation, cutaneous erythema and itching.

Methods: The study was carried out on 20 patients which gave informed consent, suffering from psoriasis. Image analysis was used to monitor the intensity of psoriatic lesions prior to and at the conclusion of the therapy which consisted of topical applications of the thermal matrices twice a day for 12 days.

Results: Image analysis illustrated a reduction in the intensity of psoriatic lesions at the conclusion of the therapy with significant reductions in desquamation, erythema and itching.

Conclusions: The anti-psoriatic action of the thermal matrix used in this study may be attributable to the substances such as carotene, hydro and lipo-soluble vitamins and naturally occurring phytosterols (3,9,14). These substances may not only be anti-inflammatory but may also work synergistically with the mineral components of the thermal matrix to attenuate the symptoms of psoriasis.

Key words: *Phytosterols, psoriasis, sulphurous water*

cutaneo può variare da aree localizzate di modeste dimensioni fino al coinvolgimento di tutta la superficie corporea. L'evoluzione è imprevedibile e spontaneamente subisce riacutizzazioni, miglioramenti e talvolta anche persistenti remissioni.

Rappresenta il 5-7% di tutte le affezioni dermatologiche con un'incidenza media nella popolazione di circa il 2% (4).

Meccanismi d'azione delle bioglee

Nel nostro laboratorio è stata estratta e purificata la frazione organica derivante dal metabolismo del "Sulphuretum" (9,14). Tale frazione dimostra di possedere azione protettiva da agenti che inducono danno ossidativo; ciò è confermato dalla presenza di livelli significativi di caroteni, Vitamina A e tocoferoli (14). Inoltre la presenza di fitosteroli, fosfolipidi, terpeni e sulfoglicolipidi fa sì che la frazione abbia anche attività antinfiammatoria (9), mentre lo zolfo e gli idroderivati agiscono sulla cute come riduttori per sottrazione di ossigeno determinando un'azione cheratolitica e cheratoplastica. Pertanto, ai fini terapeutici della psoriasi, è particolarmente importante l'interazione tra le Bioglee, lo zolfo e la cinetica cellulare epidermica. Studi di cinetiche enzimatiche condotte nel nostro laboratorio (15) sulla predetta frazione organica, hanno dimostrato un aumento dei livelli di rigenerazione del GSH (glutazione ridotto) rispetto a cinetiche di riferimento. È noto che il GSH è in grado di ridurre gli idroperossidi e i perossidi organici ad acqua e GSSG (glutazione disolfuro), composti nettamente più stabili (5), svolgendo pertanto una spiccata azione contro i radicali liberi. Inoltre l'aumento del livello di concentrazione ematica del GSH stimola il turnover cellulare nella cute, promuovendone la cheratinizzazione (6), specie se si considera la sinergia con le attività biologiche dei composti dello zolfo sullo strato spinoso, presente nella frazione studiata. Grazie alla maggiore disponibilità biologica dello zolfo nelle Bioglee, sia in termini di dispersione della frazione organica che in concentrazione (7), è possibile ottenere anche accentuate proprietà esfolianti e cheratolitiche dello strato corneo, che concorrono ad un ripristino dello stato fisiologico della cute. Nelle applicazioni topiche, il normale pH cutaneo fra 3 e 5 favorisce la trasformazione dello zolfo in idrogeno solforato, che viene assorbito per la sua diffusibilità e solubilità nei lipidi inducendo intensa iperemia, vasodilatazione periferica ed aumento della permeabilità capillare, con aumento della circolazione locale. La presenza nel preparato di fitosteroli (β -sitosterolo, campesterolo e stigmasterolo) aventi concentrazioni pari a $0,45 \text{ mg/g} \pm 0,046$, oltre ad aumentare il grado d'idratazione e lo strato lipidico sulla pelle (8), possono considerarsi come una possibile alternativa ai cortisonici nella riduzione dell'effetto infiammatorio (9). Le reazioni infiammatorie, sono collegate ad aumenti di concentrazione dei leucotrieni nella pelle e i fitosteroli intervengono nei meccanismi biochimici che dall'acido arachidonico portano alla sintesi dei leucotrieni, manifestando effetto antinfiammatorio per l'inibizione della fosfolipasi. La loro azione antinfiammatoria si attua con lo stesso meccanismo dei cortisonici (FAS), senza però presentarne gli effetti collaterali in quanto non sono metabolizzati allo stesso modo. Infatti, i cortisonici (10) sono metabolizzati nel fegato, nel corticosurrene, nei muscoli, nel cervello ed, in grado minore, in altri organi, mediante processi d'idrossilazione, di ossidazione, di riduzione di doppi legami, di gruppi chetonici o di degradazione di catene laterali, con formazione di metaboliti del tutto o pressochè inattivi, (il cui accumulo, anzi, può determinare gli effetti collaterali). I fitosteroli, invece,

grazie alla minore complessità strutturale, circolano semplicemente nel flusso ematico, e giungono a livello epatico, dove sono immagazzinati in vescicole biliari, e rapidamente secreti nella bile. Successivamente sono rilasciati ad intermittenza nel duodeno e incorporati nelle feci per mezzo delle quali sono eliminati (11). È da considerare inoltre che i livelli di concentrazione dello iodio nel preparato ($6 \mu\text{g/g} \pm 0,6$), ma soprattutto di agenti antiossidanti (carotenoidi, vitamine lipo e idrosolubili, polifenoli) esplicano sulla cute e sulle mucose sia azione revulsiva e antisettica sia azione antiangioproliferativa (12). L'azione antisettica è efficace contro batteri e funghi, è probabilmente dovuta a processi di ossidazione, e iodazione dei componenti protoplasmatici, ed a inibizione di taluni processi enzimatici essenziali al metabolismo dei microrganismi (13).

Lo scopo del lavoro è stato quello di indagare l'efficacia delle Bioglee solfuree su pazienti affetti da lesioni psoriasiche. Lo studio è stato condotto utilizzando la matrice organica, prodotta dal metabolismo della microflora che si accresce sui piani di scorrimento delle acque ipertermali solfuree ad alto grado solfidrometrico (1-2) e sui fanghi termali delle Terme Luigiane di Guardia Piemontese-Acquappesa (CS). È stato conseguentemente individuato un protocollo sperimentale, che prevede l'applicazione topica a temperatura ambiente del composto elaborato dal "Sulphuretum", per una valutazione d'efficacia su 20 soggetti affetti da varie lesioni psoriasiche.

Pazienti e Metodi

La casistica comprende 10 soggetti di sesso maschile e 10 di sesso femminile di età compresa tra 11 e 76 anni affetti da psoriasi (Tabella 1-2).

Tabella 1. Statistiche descrittive dei dati generali

| | |
|-------------|----------|
| N° Casi | 20 |
| Età Media | 48,25 |
| Età Minima | 11 |
| Età Massima | 76 |
| Maschi | 10 (50%) |
| Femmine | 10 (50%) |

I criteri di selezione dei pazienti sono stati i seguenti:

- non assunzione di farmaci da due settimane prima e durante il trattamento termale;
- assenza di abuso di alcool e droghe.

I pazienti selezionati per il protocollo sperimentale sono stati sottoposti all'applicazione topica del preparato ogni 8 ore, due volte al giorno, per un ciclo di 12 giorni. Durante la visita medica d'accettazione e al termine del ciclo terapeutico sono stati presi in considerazione i seguenti parametri: prurito, desquamazione ed eritema. Essi sono espressi con una scala nominale a 4 variabili: assente = 0; lieve = 1; moderato = 2; grave = 3. All'inizio e alla fine del ciclo terapeutico sono state effettuate l'analisi d'immagine dei fotogrammi delle parti lese e l'elaborazione statistica con il Test di Simmetria e del "Chi Quadrato" (15).

Tabella 2. Generalità dei componenti la casistica

| Caso | Soggetti | Età | Sesso | Localizzazione delle lesioni psoriasiche | Variante clinica |
|------|----------|-----|-------|---|---|
| 1 | B.I. | 42 | F | Ginocchia, Gomiti | Psoriasi classica |
| 2 | B.L. | 41 | F | Cavo ascellare | Psoriasi inversa |
| 3 | B.B. | 54 | M | Malleolo Dx | Psoriasi classica |
| 4 | D.A. | 28 | F | Regione Sacrale, Arcata Sopraccigliare Dx | Psoriasi classica |
| 5 | D.E. | 65 | M | Gomiti, Mani, Unghie | Psoriasi classica con onicopatia psoriasica |
| 6 | I.L. | 52 | F | Coscia Sx, Ginocchia | Psoriasi classica |
| 7 | I.A. | 64 | M | Superficie estensoria arti, Mani, Coscia Dx | Psoriasi classica |
| 8 | L.D. | 50 | F | Coscia Dx, Ginocchia | Psoriasi classica |
| 9 | M.G. | 72 | M | Superficie estensoria arto superiore Sx, Mani | Psoriasi classica |
| 10 | O.G. | 36 | M | Superficie estensoria arto superiore dx, Mani, Unghie | Psoriasi classica con onicopatia psoriasica |
| 11 | O.L. | 43 | M | Gamba Dx e Sx | Psoriasi classica |
| 12 | P.C. | 32 | F | Braccio Dx | Psoriasi classica |
| 13 | P.E. | 42 | F | Dorso Piede Sx e Dx | Psoriasi classica |
| 14 | P.A. | 46 | F | Mani, Piedi | Psoriasi palmo-plantare |
| 15 | P.F. | 11 | M | Ginocchio Dx | Psoriasi classica |
| 16 | R.T. | 71 | M | Avambraccio Sx, Mani | Psoriasi classica |
| 17 | I.G. | 58 | M | Mani, Piedi | Psoriasi palmo-plantare |
| 18 | Z.F. | 76 | F | Pieghe inuinali | Psoriasi inversa |
| 19 | N.P. | 41 | F | Cavo ascellare | Psoriasi inversa |
| 20 | M.S. | 41 | F | Mani, Piedi | Psoriasi palmo-plantare |

Preparazione del medicamento topico

Il medicamento è stato preparato utilizzando la matrice organica, derivante dalla microflora. Essa è stata omogenata a 0°C in un apparecchio di Potter-Elvehjem (cinque cicli a 300 RPM), in modo da raggiungere una consistenza di crema semifluida, tale da consentire una migliore applicazione topica del preparato. Il medicamento è stato distribuito in provette monouso da 10 ml, conservato a 4°C ed utilizzato nelle prime 24 ore dalla raccolta.

Applicazione topica del preparato

Il trattamento è stato eseguito su pazienti precedentemente informati sugli effetti biologici, gli eventuali possibili vantaggi terapeutici e la modalità di applicazione del medicamento. Il preparato è stato applicato,

distribuendo 2 mg/cm² sulla cute lesa e il prodotto è stato spalmato mediante guanti in lattice monouso, in modo da formare uno strato il più possibile omogeneo su tutta la superficie trattata. La parte è stata successivamente protetta da garza sterile in modo da non influire sulla TEWL (Transepidermal Water Loss) o perspiratio insensibilis.

Analisi d'immagine

Per valutare l'efficacia terapeutica del trattamento, superando la soggettività del ricercatore, è stata eseguita l'analisi d'immagine sui pazienti della casistica, ai quali sono stati effettuati dei fotogrammi delle parti lese (Fig. 1, 2), alle stesse condizioni di illuminazione e di esposizione, con apparecchio fotografico NIKON serie FE, munito di obiettivo 3,5/100 mm. La pellicola utiliz-



Fig. 1. Esempio di fotogramma utilizzato per l'analisi di immagine. Vista anteriore degli arti inferiori di soggetto maschile (caso n. 12 Tab. 2) al primo giorno di trattamento.



Fig. 2. Esempio di fotogramma utilizzato per l'analisi di immagine. Vista anteriore degli arti inferiori di soggetto maschile (caso n. 12 Tab. 2) al termine del trattamento.

zata è una KODAK extachrome 64 ASA, sviluppata secondo le indicazioni della casa produttrice.

L'analisi di immagine è stata effettuata utilizzando il programma NIH Image 1.60 per MacOs e consente di calcolare parametri come forma, numero, densità ottica di ogni parte identificabile dell'immagine di partenza. NIH Image è in grado di convertire l'immagine in una matrice di elementi (pixel). Questa tecnica, consente una descrizione dettagliata dell'immagine, attraverso un set descrittivo di dati memorizzati e successivamente impiegati per le operazioni di misura dei parametri d'interesse. Il metodo utilizzato è quello delle densità parziali o density slice, che consiste nello stabilire un range di pixel entro il quale rientrano gli oggetti di interesse, mentre i pixel aventi un valore superiore o inferiore sono considerati appartenenti allo sfondo dell'immagine da analizzare. Nelle immagini si selezionano le grandezze da misurare.

Esse sono:

- Area, che rappresenta l'area della lesione in pixel
- Integrale di densità o, che è la somma dei valori di grigio dopo che è stato sottratto lo sfondo secondo la formula: $ID=N(\text{Media-Sfondo})$ dove N è il numero di pixel nella selezione e Sfondo è il valore di grigio modale.

I risultati sono stati riportati come media ed errore standard e sono state considerate significative le differenze che presentavano un $p < 0,05$ al test di T di Student.

Tabella 3. Valutazione di efficacia terapeutica dopo 12 giorni di terapia

| Caso | Desquamazione | | Eritema | | Prurito | |
|------|---------------|------|---------|------|---------|------|
| | Prima | Dopo | Prima | Dopo | Prima | Dopo |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 |
| 5 | 2 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 6 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| 7 | 1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 8 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 9 | 3 | 2 | 2 | 1 | 0 | 0 |
| 10 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 11 | 1 | 0 | 1 | 0 | 3 | 2 |
| 12 | 3 | 2 | 3 | 2 | 3 | 2 |
| 13 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 |
| 14 | 3 | 1 | 2 | 1 | 1 | 0 |
| 15 | 2 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 |
| 16 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 17 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| 18 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 19 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| 20 | 2 | 1 | 3 | 1 | 1 | 0 |

La valutazione d'efficacia è espressa in una scala di valori compresi tra 0 e 3

Legenda: 0 = assente
1 = lieve
2 = moderato
3 = grave

Risultati

I risultati sperimentali ci consentono di constatare che il trattamento con la matrice organica prodotta dal metabolismo della microflora, è efficace verso tutti i parametri considerati.

L'efficacia è stata confermata dai parametri obiettivi nel corso della visita di accettazione, in seguito all'analisi di immagine eseguita sui casi trattati e alle successive elaborazioni statistiche effettuate all'inizio e alla fine del trattamento. In Tab. 2 è stata valutata l'efficacia terapeutica dopo 12 giorni di trattamento. Su 20 casi trattati, 19 hanno risposto positivamente al trattamento.

Valutazione d'efficacia terapeutica mediante analisi d'immagine

Allo scopo di effettuare una valutazione oggettiva delle aree e delle intensità delle lesioni psoriasiche sono stati analizzati fotogrammi relativi alle suddette lesioni.

I fotogrammi convertiti in pixel ed analizzati con la tecnica delle densità parziali descritta in materiali e metodi, hanno consentito di valutare la variazione dell'ampiezza delle aree lese al termine del ciclo terapeutico. La figura 3 mostra le variazioni dei parametri valutati mettendo in evidenza una riduzione dell'intensità dei seguenti parametri: desquamazione, eritema e prurito.

In particolare, nella figura 4, si osserva una riduzione media dell'ampiezza delle aree di lesione relative ai 20 casi trattati e nella figura 5 si osserva una riduzione media dell'intensità dei parametri desquamazione ed eritema relativi ai casi trattati.

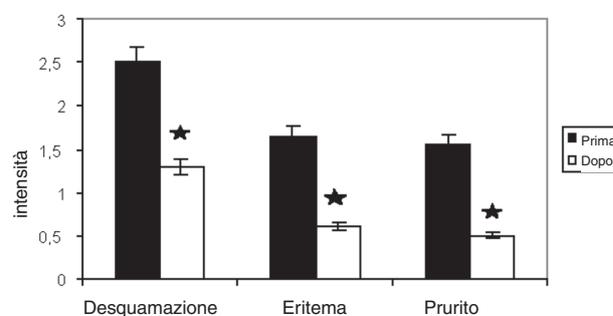


Fig. 3. Valutazione media di efficacia terapeutica prima e dopo il trattamento. $H p < 0,01$ rispetto ai valori obiettivi prima del ciclo terapeutico

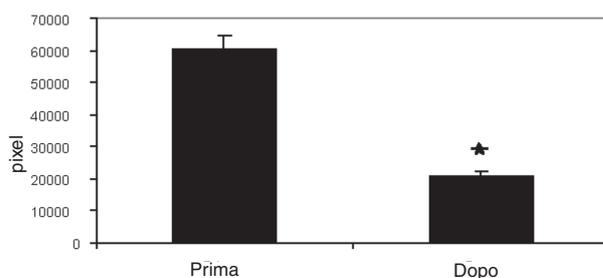


Fig. 4. Variazioni medie delle aree delle lesioni relative ai 20 casi prima e dopo il trattamento analizzate mediante analisi d'immagine $H p < 0,01$ rispetto ai valori obiettivi prima del ciclo terapeutico.

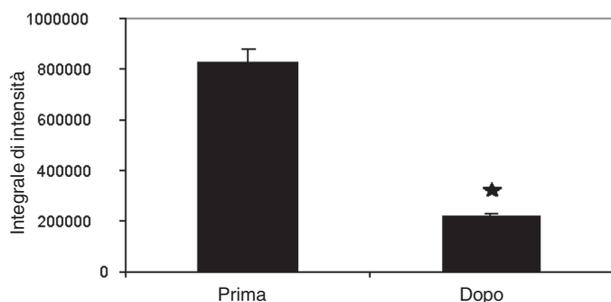


Fig. 5. Variazioni medie delle intensità delle lesioni relative ai 20 casi prima e dopo il trattamento analizzate mediante analisi d'immagine. $H p < 0,01$ rispetto ai valori obiettivi prima del ciclo terapeutico.

Elaborazione statistica

Come si può notare nelle tabelle (4, 5, 6) le variazioni dei segni e dei sintomi dei 20 casi trattati prima e dopo il ciclo di applicazione del composto naturale, valutati con il Test di Simmetria e del "Chi Quadrato" (16),

Tabella 4. Confronto prima e dopo il trattamento con Test di Simmetria

| | | Desquamazione Prima | | | |
|------------------|---|---------------------|----------|----------|----------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 |
| D o p o | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 0 | 6 | 2 |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |

$\chi^2 = 31,25$

$P < 0,0002$

Tabella 5. Confronto prima e dopo il trattamento con Test di Simmetria

| | | Eritema Prima | | | |
|------------------|---|---------------|----------|----------|----------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 |
| D o p o | 0 | 1 | 5 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 1 | 9 | 1 |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |

$\chi^2 = 29,3434$

$P < 0,0005$

Tabella 6. Confronto prima e dopo il trattamento con Test di Simmetria

| | | Prurito Prima | | | |
|------------------|---|---------------|----------|----------|----------|
| | | 0 | 1 | 2 | 3 |
| D o p o | 0 | 5 | 3 | 4 | 0 |
| | 1 | 0 | 0 | 4 | 0 |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| | 3 | 0 | 0 | 0 | 1 |

$\chi^2 = 26,667$

$P < 0,0015$

sono significativi ($P < 0,05$). Nelle tabelle sono evidenziati in corsivo grassetto i casi invariati al di sopra di essi sono i casi migliorati al di sotto di essi quelli peggiorati.

Discussione

In considerazione dell'effetto sinergico della componente minerale con la frazione organica, nell'applicazione topica per il trattamento delle lesioni psoriasiche, si può ragionevolmente ipotizzare che l'incremento della velocità e del volume di flusso a livello microcircolatorio cutaneo, è in grado di migliorare la detersione metabolica e il ripristino dello stato fisiologico della cute. Ciò è probabilmente dovuto all'assorbimento per via intradermica dei principi attivi e non all'eventuale azione occlusiva del medicamento, né al calore in quanto il trattamento viene eseguito a temperatura ambiente. La metodica tende a minimizzare l'aumento della TEWL, che, se presente, contribuisce tuttavia a potenziare i fenomeni d'attivazione vascolare del derma e dell'ipoderma. I risultati ottenuti ci consentono di affermare che il trattamento proposto è in grado di ridurre la lesione psoriasica per effetto della presenza di composti ad efficacia antinfiammatoria quali i fitosteroli, terpeni e sulfoglicolipidi (9). Lo zolfo e gli idroderivati solforosi agiscono sulla cute come riduttori per sottrazione d'ossigeno, determinando anche un effetto vasocostrittivo, con diminuzione dell'edema e del prurito (13). L'applicazione della suddetta proposta terapeutica, ci ha consentito di costatare nel 95% dei casi un miglioramento dei parametri considerati, che consente di aumentare la qualità della vita di pazienti affetti da lesioni psoriasiche.

Bibliografia

1. Federici PC: Le acque salutarie della Calabria "acque del cosentino". Parma: La Nazionale tip Ed, 1970
2. Talenti M, Borgioli M: Lo stato del solfo nelle acque di Guardia Piemontese (CS). La Clin Term 6(1): 3-4, 1953
3. Mazzulla S, De Stefano S: Bioglee presenti nelle acque ipertermali solfuree salso bromo iodiche delle Terme Luigiane usate nelle terapie ionoforetiche. Med Clin e Term 39: 63-69, 1997
4. Buxton PK: Dermatologia 1. Milano: Editiemme, 1989
5. Sidney PC, Nathan OK: Methods in Enzymology. Orlando: Acad Press, 1984
6. Marmo E: Farmacologia Generale e Speciale. Torino: Edizioni UTET, 1991
7. Messina B, Grossi F: Elementi di Idrologia Medica. Roma: Ed Universo, 1988
8. Wachter R, Salka B, Magnet A. Phytosterols: Cosm & Toil 110: 31-34, 1995
9. Mazzulla S, De Seta R, Bruno R, Pitrelli G, Martino G: Frazione insaponificabile e fitosteroli da matrice organica di fanghi termali: loro potenziale efficacia nella fangoterapia. La Clin Term 2: 65-74, 2001
10. Corbella A: Applicazione dei fitosteroli come Principi Attivi. Cosm News 117: 419-421, 1997
11. Bouic PJD: Plant sterols and sterolins: a review of their immunomodulating properties. Altern Med Rew 4: 170-177, 1999

12. Weninger W, Rendl M, Mildner M, et al.: Retinoids down-regulate vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor production by normal human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 111 (5): 907-11, 1998
13. Federici PC: *Prolegomeni di Chimica e Farmacologia Idrologica.* Parma. Ed Oppini, 1979
14. Mazzulla S, Menniti M, Bruno R, et al.: Composizione della matrice organica di fanghi termali: contenuto di b-carotene, vitamina A, vitamina E. *Med Clin e Term* 49: 331-336, 2002
15. Favaro M: Attività antiossidante della microflora da acque termali solfuree salso bromo iodiche. Tesi di Laurea sperimentale in Fisiologia Generale-Facoltà di SMFN Univ della Calabria - Anno Acc 1999/2000
16. Murray R Spiegel: *Theory and Problems of Statistics.* McGraw-Hill Book Company, New York