

Dalle alghe ai “functional foods”

M. Vadalà, B. Palmieri

Dipartimento Chirurgico, Medico, Odontoiatrico e di Scienze Morfologiche con Interesse Trapiantologico Oncologico e di Medicina Rigenerativa, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

Riassunto

Negli ultimi anni vi è stato un crescente interesse nutraceutico per le alghe in diverse formulazioni nutraceutiche e farmaceutiche che ad oggi conferiscono notevoli benefici per la salute e rappresentano un'alternativa alla Medicina Moderna. Questa review approfondisce l'uso del cianobatterio *Spirulina*, delle microalghe *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, e delle macroalghe *Klamath*, *Ascophyllum*, *Lithothamnion*, *Chondrus*, *Hundaria*, *Glacilaria*, *Laminaria*, *Asparagopsis*, *Eisenia*, *Sargassum* in termini di produzione, componenti nutrizionali e documentati benefici per la salute. Gli obiettivi specifici di questo studio sono stati: 1) approfondimento delle diverse alghe attualmente utilizzate in nutraceutica; 2) descrizione delle loro caratteristiche, dei benefici nutrizionali e possibili effetti collaterali; 3) valutazione di un implemento di utilizzo nutraceutico. *Clin Ter* 2015; 166(4):e281-300. doi: 10.7417/CT.2015.1875

Parole chiave: alghe, antinfiammatorio, antiossidante, antitumorale, functional foods, immuno-modulatoria

Introduzione

L'interesse nel settore nutraceutico continua a crescere, alimentato anche da una progressiva attività di ricerca per identificare e caratterizzare l'utilizzo di ulteriori composti oltre che da una elevata domanda dei consumatori alla continua ricerca di cibi funzionali o “functional foods” che ne garantiscano l'immunità da svariati generi di malattie “endemiche” tra cui obesità e malattie cardiovascolari. Negli Stati Uniti, circa il 62% della popolazione adulta è classificato (sulla base dell'indice di massa corporea, BMI) “in sovrappeso” e più della metà di questa gente è classificata come francamente obesa (1). Anche le patologie cardio-vascolari continuano ad essere la causa primaria di morte, responsabile del 32% dei decessi negli Stati Uniti, seguite da cancro, osteoporosi e artrite che rimangono altamente prevalenti (2). Il termine nutraceutico, ibrido tra nutrizione e farmaceutica fu coniato nel 1989 da De Felice e dalla Fondazione per l'Innovazione in Medicina (3) e con tale termine si designa “qualsiasi sostanza che possa essere considerata un cibo o un alimento e che possa fornire benefici clinici, compresi la prevenzione e il trattamento della malattia” (<http://www.fimdefelice.org>). Secondo “l'International Food Information Council” (IFIC), gli alimenti funzionali sono “alimenti o componenti della dieta che possono fornire un beneficio per la salute” (4, 5). Il *Nutrition Business Journal* ha classificato gli alimenti funzionali come “alimenti arricchiti o concentrati che migliorano la salute o le prestazioni” (<http://www.nibr.novartis.com>) e afferma inoltre che con il termine nutraceutico si indica tutto ciò che viene consumato principalmente o soprattutto per motivi di salute. Sulla base di tale definizione, un alimento funzionale è una sorta di nutraceutico (6). Ad oggi sono stati stimati più di 470 prodotti funzionali e nutraceutici già in commercio con benefici clinici documentati (7). Tali prodotti nutraceutici rappresentano una buona proporzione del mercato globale (dai 30 a 60 miliardi di dollari annui) principalmente negli Stati Uniti, Giappone e Europa con una domanda di potenziale di mercato di oltre 197 miliardi di dollari e tra essi le alghe hanno un preciso ruolo storico ed economico.

Le alghe sono organismi autotrofi che hanno la caratteristica di crescere rapidamente, utilizzare in modo efficiente l'energia solare, fissare CO₂ atmosferica e produrre più biomassa per ettaro rispetto alle piante dotate di un sistema vascolare (8). L'interesse verso il loro utilizzo a scopo alimentare si è manifestato intorno agli anni 50, per il timore che l'aumento della popolazione mondiale potesse determinare una carenza alimentare ponendo esse rappresentare una fonte proteica a basso costo. Tali microrganismi producono vitamine fondamentali tra cui: A (retinolo), B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina), B₃ (niacina), B₆ (piridossina), B₉ (acido folico), B₁₂ (cobalamina), C (acido L-ascorbico), D (miscela di ergocalciferolo e colecalciferolo), E (tocoferolo), e H (biotina); elementi essenziali tra cui: potassio, zinco, iodio, selenio, ferro, manganese, rame, fosforo, sodio, azoto, magnesio, cobalto, molibdeno, zolfo e calcio; amminoacidi essenziali, omega 6 (acido arachidonico) e omega 3 (acido docosaesaenoico, acido eicosapentaenoico) (9). Le loro proprietà antiossidanti sono dovute alla presenza di carotenoidi (astaxantina, α e β -carotene); hanno inoltre un elevato contenuto di fibre (10) (Tab. 1).

I loro polisaccaridi (agar, alginati e carragenine) sono utilizzati come agenti addensanti nelle marmellate, gelatine, gelati, ecc. (11). Per contro, un fattore potenzialmente restrittivo per il consumo umano è l'elevato contenuto in acidi nucleici di alcune specie di alghe che può favorire lo sviluppo di malattie metaboliche quali iperuricemia, turbe del metabolismo glico-lipidico (12).

Abstract

From algae to “functional foods”

In the recent years, a growing interest for nutraceutical algae (tablets, capsules, drops) has been developed, due to their effective health benefits, as a potential alternative to the classic drugs. This review explores the use of cyanobacterium *Spirulina*, the microalgae *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, and the macroalgae *Klamath*, *Ascophyllum*, *Lithothamnion*, *Chondrus*, *Hundaria*, *Glacilaria*, *Laminaria*, *Asparagopsis*, *Eisenia*, *Sargassum* as nutraceuticals and dietary supplements, in terms of production, nutritional components and evidence-based health benefits. Thus, our specific goals are: 1) Overview of the algae species currently used in nutraceuticals; 2) Description of their characteristics, action mechanisms, and possible side effects; 3) Perspective of specific algae clinical investigations development. *Clin Ter* 2015; 166(4):e281-300. doi: 10.7417/CT.2015.1875

Key words: algae, anti-inflammatory, antioxidant, anti-tumoral, functional foods, immuno-modulatory

Studi sperimentali e clinici

Spirulina (Sp.)

La *Sp.*, di cui alleghiamo una tabella con le caratteristiche nutrizionali, ha diverse ipotesi di applicazioni cliniche non tutte suffragate in ambito di Evidence-Based Medicine, ma di cui comunque vale la pena dar conto (Tab. 2).

Sp.: Azione antinfiammatoria, immuno-modulatoria

In una prova randomizzata controllata con placebo (13), 36 soggetti (età 18-55 anni) con rinite allergica sono stati trattati giornalmente sia con placebo crossing over che con *Sp.* per 12 settimane previa suddivisione in tre gruppi: 1) alimentato con 1 g/die di *Sp.*; 2) alimentato con 2 g/die di *Sp.*; 3) trattato con placebo (capsule identiche contenenti materiale inerte). Sono state isolate le cellule mononucleate del sangue periferico prima e dopo il trattamento e successivamente misurate, mediante ELISA, i livelli di citochine [interleuchina-4 (IL-4), interferone- λ , interleuchina-2 (IL-2)], fondamentali nella regolazione delle IgE. Questo studio ha mostrato che una concentrazione pari a 2g/die di *Sp.* riduce in modo significativo i livelli di IL-4 (32%, p=0,0082). È ipotizzabile che la *Sp.* moduli le cellule T-helper nei soggetti allergici, impedendo la differenziazione delle cellule Th2 tramite l'inibizione dell'IL-4. Ishii et al. (14) hanno esaminato l'azione della *Sp.* sulla produzione di IgA su 127 pazienti sani (91 uomini e 36 donne) suddivisi in due gruppi; uno alimentato giornalmente con estratto algale ed uno alimentato, in maniera saltuaria. I risultati hanno evidenziato che il livello di IgA è significativamente più alto nel primo gruppo (p<0.05), ipotizzando un ruolo importante nell'immunità delle mucose, ma mancano al momento studi clinici. Quanto alla flogosi: Kumar et al (15) hanno somministrato *Sp.*, per via orale, a 24 ratti albini con artrite indotta da collagene, e suddivisi in 4 gruppi: 1) gruppo con artrite non trattato (controllo); 2) alimentato con 200 mg/die di *Sp.*; 3) alimentato con 400 mg/die di *Sp.*; 4) gruppo normale senza artrite (6 ratti). Al 35esimo giorno di trattamento, sono stati prelevati dei campioni di siero e misurati, tramite ELISA, i markers clinici di infiammazione artritica quali anticorpi anti-collagene, ipersensibilità di tipo ritardato (tipo IV), citochine pro-infiammatorie, interleuchina- β (IL-1 β) e interleuchina-6 (IL-6), dimostrando una significativa riduzione (p<0,001) dei suddetti valori, soprattutto delle citochine e dell'ipersensibilità di tipo IV nel gruppo 3. L'esame istopatologico delle articolazioni della zampa ha evidenziato una riduzione della sinovite nei gruppi 2 e 3. Sembra quindi incoraggiante, da questo unico dato sperimentale su un congruo campione di animali, accedere ad uno studio di efficacia clinica umana.

Sp.: Azione antivirale

Hayashi et al. (16) hanno studiato, in *vitro*, il polisaccaride Calcium Spirulan (Ca-Sp) estratto dall'alga. La biomassa algale (0.18 g/ml) è stata trattata con 10% di acido tricloroacetico e successivamente liofilizzata per ottenere il Ca-Sp (5 μ l). Le cellule tumorali immortalizzate Hela sono state inoculate con il virus HSV-1, trattate con Ca-Sp e incubate a 37°C. Al quinto giorno, è stato misurato (ELISA) l'antigene p24, che ha indicato una significativa attività antivirale del Ca-Sp (ED50= 155 μ g/ml), in grado di inibire il virus

Tabella 1. Contenuto nutrizionale di alghe rispetto ad alimenti comuni (% peso secco).

Prodotto	Proteine	Carboidrati	Lipidi
Lievito per il pane	39	38	1
Carne	43	1	34
Latte	26	38	28
Riso	8	77	2
Soia	37	30	20
Chlorella	51-58	12-17	14-22
Dunaliella	57-60	32-35	6-7
Spirulina	60-71	13-16	6-7
Haematococcus	50-60	26-30	4-6
Klamath	60-70	20-30	2-8
Ascophyllum	6-10	50-55	2-5
Lithothamnion	8-12	40-50	1-4
Chondrus	6-10	20-35	2-5
Hundaria	36-38	40-50	3-4
Glacilaria	6-9	20-25	3-5
Laminaria	7-10	20-23	2-5
Asparagopsis	12-37	46-76	1-3
Eisenia	15-20	50-60	1-2
Sargassum	12-22	45-60	2-4

Tabella 2. Profilo nutrizionale di Spirulina (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	17 g
	Clorofilla	3,30 g
	Lipidi	10,5 g
	Fibre	5 g
	Proteine	64,2 g
Minerali	Ferro	53,60 mg
	Calcio	168 mg
	Potassio	1,83 g
	Sodio	1,09 g
	Magnesio	250 mg
	Zinco	0,3 mg
	Manganese	0,5 mg
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	3,5 g
	Leucina	5,4 g
	Lisina	2,9 g
	Metionina	1,4 g
	Fenilalanina	2,8 g
	Treonina	3,2 g
	Triptofano	0,9 g
	Valina	4 g
Amminoacidi non essenziali	Alanina	4,7 g
	Arginina	4,3 g
	Acido aspartico	6,1 g
	Cisteina	0,6 g
	Istidina	0,1 g
	Acido glutammico	9,1 g
	Glicina	3,2 g
	Prolina	2,7 g
	Serina	3,2 g
	Tirosina	3 g
Vitamine	β-carotene	230 mg
	Pro-Vitamina A	213 mg
	Ficocianina	15,6 g
	Vitamina B1	1,92 mg
	Vitamina B2	3,44 mg
	Vitamina B3	14 mg
	Vitamina B5	0,94 mg
	Vitamina B6	0,49 mg
	Acido folico	0,01 mg
	Vitamina B12	0,32 mg
	Biotina	0,005 mg
	Vitamina E	100 mg
	Vitamina K	2,2 mg
Nutrienti	Clorofilla	2 g

HSV-1. Aychunie et al. (17) hanno aggiunto, *in vitro*, *Sp.* (0,3 e 1,2 µg/ml) a cellule umane T (Jurkat), cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) e cellule di Langerhans infettate con il virus HIV-III. I risultati forniti dai tests XTT, ELISA hanno evidenziato che l'aggiunta dell'estratto (<1 µg/ml) alle linee cellulari inibisce la replicazione del virus del 50% (EC50 = 24 µg/ml). Sebbene i meccanismi antivirali della *Sp.* debbano essere ancora chiariti, si può ipotizzare che l'inibizione della replicazione del virus sia dovuta all'associazione del Ca-Sp alla proteina CD4 dei linfociti T con conseguente interruzione delle interazioni tra CD4 e gp120 (proteina virale dell' HIV).

Sp. Azione sul metabolismo lipidico

Cheong et al. (18) hanno effettuato uno studio *in vivo* su 20 topi maschi, previa suddivisione in 4 gruppi (n=5 per ogni gruppo): il primo gruppo di controllo alimentato con una normale dieta per 12 settimane, i gruppi 2-3 e 4 alimentati con una dieta eterogenea

arricchita di colesterolo (0,5%) e di grassi saturi (2%) per 4 settimane. Successivamente, i gruppi 3 e 4 sono stati nutriti per altre 4 settimane con un'ulteriore dieta arricchita di *Sp.*, (1% e 5% rispettivamente). Gli esami lipidici sul siero hanno evidenziato: una riduzione del colesterolo totale nei gruppi 3-4 (953 e 837 mg/dL-1) rispetto al gruppo 2 (1.185 mg/dL-1); del colesterolo LDL nei gruppi 3-4 (441 e 352 mg/dL-1) rispetto al gruppo 2 (599 mg/dL-1) e dei trigliceridi nei gruppi 3-4 (33 e 23 mg/dL-1) rispetto al gruppo 2 (48 mg/dL-1). L'esame istopatologico del fegato ha riportato un aumento del volume del fegato nei topi del gruppo 2 (97,0±15) rispetto agli altri gruppi 1-3 e 4 (85,4±30,4, 95,4±13,1 e 95,8±9,8 rispettivamente), mentre l'esame all'aorta, eseguito per verificare il livello di aterosclerosi, ha dimostrato che l'area di lesione aterosclerotica (area IV positiva) era significativamente ridotta nei gruppi 3-4 (38,8% e 29,5%) a differenza del gruppo 2 (57,2%). Uno studio sperimentale simile è stato eseguito da Colla et al. (19): 15 conigli maschi sono stati suddivisi in 5 gruppi (n=5 per ogni gruppo), alimentati con una dieta standard, con una dieta iperlipidica (0,35% di colesterolo), con una dieta ricca di *Sp.* (5 g/kg), con una dieta standard il primo mese e con una dieta a base di *Sp.* per il secondo mese di trattamento, con una dieta ricca di grassi (100g di lardo), rispettivamente. Gli esami sul siero (4ml di campione) a 60gg di trattamento hanno evidenziato una significativa riduzione (p<0.0001) dei valori di colesterolo totale nel gruppo 3 (516±163 mg/dL-1) rispetto al gruppo 2 (1054±101 mg.dL-1) e un aumento dei valori di HDL sempre nel gruppo 3 (91±16 mg/dL-1) rispetto al gruppo 2 (73±31 mg/dL-1). I meccanismi d'azione della *Sp.* sull'aterosclerosi non sono ancora chiari, ma incoraggiano l'utilizzo di questo tipo di functional foods, in grado di ridurre i livelli di colesterolo e prevenire la progressione della patologia.

Sp.: Azione antitumorale

Mathew et al. (20) in uno studio randomizzato con placebo, hanno suddiviso 87 pazienti con leucoplachia causata dal tabagismo in due gruppi: uno (n=44) alimentato, per via orale, con capsule di *Sp.* (1 g/die) ed il secondo (n=43) alimentato con placebo (identiche capsule in forma e peso), entrambi per 12 mesi di trattamento. I tests clinici (test χ^2 , test di Wilcoxon-Mann-Whitney) hanno fornito dati statistici significativi a favore di un'azione di controllo del processo oncologico (p<0,05). È stata infatti osservata, nel gruppo 1, una risposta completa al trattamento (definita come totale scomparsa della lesione) del 46% per le lesioni di dimensioni inferiori a ≤ 2 cm e del 43% per le lesioni maggiori a >2 cm. Gli esami biochimici sul plasma eseguiti prima e dopo il trattamento non hanno mostrato un significativo aumento (p<0,05) sia del livello di retinolo (65,1 e 65,6 mg/dl e 65,1 e 65,6 mg/dl rispettivamente nei gruppi 1 e 2) che del livello di β-carotene (0,120 e 0,098 mg/dl e 0,098 e 0,096 mg/dl rispettivamente nei gruppi 1 e 2), a causa, probabilmente, del basso dosaggio di estratto algale. Uno studio *in vivo/vitro*, effettuato da Konickova et al. (21) ha approfondito l'azione dei composti tetrapirrolici (ficocianobulina e clorofillina) estratti dall'alga su linee cellulari di adenocarcinoma pancreatico umano PA-TU-8902. Tali cellule sono state incubate con i composti tetrapirrolici (0,2-5 µM) a 37°C per 20h e trapiantate su 107 topi. Dopo 7-10 gg, i topi sono stati suddivisi in due gruppi (n=6/cadauno): alimentati uno, per via orale, con estratto (0,5 g/die) ed l'altro con placebo, per 14gg. I tests (MTT, RT-qPCR, determinazione selenio e ROS) eseguiti su campioni di sangue hanno evidenziato una significativa riduzione (p=0,0006), a livello mitocondriale, delle specie reattive all'ossigeno (ROS) nel primo gruppo. L'esame istologico morfometrico sui tessuti tumorali ha registrato una riduzione (p<0,01) delle dimensioni del tumore, già dal terzo giorno successivo al trattamento algale, indicando una lenta progressione del tumore nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2. Tali risultati sperimentali suffragano l'ipotesi di efficacia dell'azione chemiopreventiva dell'alga che può derivare da una sinergia tra i diversi componenti della stessa biomassa, in particolar modo dei composti tetrapirrolici.

Sp.: Azione detossificante

41 pazienti (età: 18-58 anni) con intossicazione cronica da arsenico (diagnosticata dalla presenza di melanosmi e cheratosmi sulla cute), in una prova randomizzata in doppio cieco controllata con placebo, sono stati suddivisi in due gruppi: uno (n=24) alimentato con una miscela (250 mg di *Sp.* e 2 mg di zinco/2 volte al die) ed un altro (n=17) alimentato con placebo (identica miscela nella forma e colore/2 volte al die) per 16 settimane (22). Le visite dermatologiche e tests su campioni di capelli, sangue e urine, prima e dopo il trattamento, hanno mostrato una significativa (p<0,05) riduzione del grado di cheratosmi e melanosmi in diverse parti del corpo (schiena, addome, braccia, gambe) e del contenuto di arsenico (47,1%) nel cuoio capelluto dei pazienti del primo gruppo.

Sp.: Azione prebiotica

L'estratto algale a diverse concentrazioni (1, 5, 10 mg) è stato seminato in 100 ml di colture di batteri lattici (*Lactobacillus casei* MTCC1423, *Lactobacillus acidophilus* MTCC447 e *Streptococcus thermophilus* MTCC1938), successivamente incubate in condizioni anaerobiche a 37° per 48h (23). I tests (ANOVA, Dunnett) hanno dimostrato un massimo valore di crescita di *L.casei* (145,90%), *L.acidophilus* (171,67%), *S.thermophilus* (185,84%) a 10h di incubazione con concentrazione di 10mg di *Sp.* De Caire et al. (24) hanno approfondito lo stesso effetto, studiando la sospensione di *Sp.* sulla crescita nel latte di 4 lactobacilli (*Streptococcus thermophilus* TH4, *Lactobacillus delbruekii* YL1, *Lactobacillus lactis* C2 e *Lactobacillus acidophilus* LO1). Una frazione algale (3mg/ml) è stata aggiunta in un campione (0,6ml) di latte parzialmente scremato al 10% e trattata per 20 minuti a 100°C. Successivamente sono stati coltivati in questa sospensione latte-*Sp.* i 4 lactobacilli e incubati a 37°C. Le prove statistiche (Bartlett, Duncan) hanno determinato la crescita batterica a tempo 4, 8, 10, 20 h, inducendo un incremento di crescita di *L.lactis* (27%) a 4h e di *L.acidophilus* (22,8%) a 8h. Tale effetto è stato recentemente approfondito da Mocanu et al. (25), con l'aggiunta di *Sp.* a diverse concentrazioni (0,5% e 1%) alle colture industriali di 4 prodotti lattiero caseari (yogurt) contenenti latte (0,5%) e 2 lactobacilli (*Bifidobacterium animalis* ssp.Lactis BB12 e *Lactobacillus acidophilus* La5, 1%). Le analisi chimiche e microbiologiche hanno dimostrato che la biomassa algale aggiunta (1%) aumenta la crescita dei cocco-batteri BB12 (3,3 x 10⁷ CFU/ml). Esisterebbe quindi un'attività prebiotica della *Sp.* nei lactobacilli, e si potrebbe, perciò, ipotizzare l'utilizzo della stessa biomassa nel latte al fine di incrementare la produzione di tali batteri e di conseguenza inibire la crescita di batteri patogeni.

Chlorella (Ch.)

La *Ch.* è stata scoperta nel lago di Sakadas (Croazia) dal microbiologo MW Beijerinck. È un organismo unicellulare, di colore verde in quanto ricco di clorofilla (1-4%), composto da proteine, minerali, amminoacidi essenziali, vitamine tra cui la vitamina B₁₂, grassi, RNA,

Tabella 3. Profilo nutrizionale di *Chlorella* (quantitativo per 100 gr).

Macronutrienti	Carboidrati	20 g
	Clorofilla	7 g
	Lipidi	15 g
	Fibre	6 g
	Proteine	52 g
Minerali	Ferro	53 mg
	Calcio	94 mg
	Potassio	1,36 g
	Magnesio	264 mg
	Sodio	50 mg
	Fosforo	1,68 g
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	2,23 g
	Leucina	5,07 g
	Lisina	4,9 g
	Metionina	1,3 g
	Fenilalanina	2,91 g
	Treonina	2,8 g
	Triptofano	1,18 g
	Valina	3,23 g
Amminoacidi non essenziali	Alanina	4,55 g
	Arginina	3,67 g
	Acido aspartico	5,21 g
	Cisteina	7,9 g
	Istidina	1,2 g
	Acido glutammico	6,67 g
	Glicina	3,36 g
	Prolina	2,81 g
	Serina	2,37 g
	Tirosina	2,4 g
	Vitamine	α -carotene
β -carotene		76 mg
Vitamina B1		2,32 mg
Vitamina B2		5,02 mg
Vitamina B3		24,5 mg
Vitamina B5		1,92 mg
Vitamina B6		2,52 mg
Acido folico		560 μ g
Vitamina B12		8 μ g
Biotina		230 μ g
Colina		180 μ g
Inositolo		281 μ g
Vitamina C		70 mg
Vitamina D		37700 IU
Vitamina E		14,5 mg
Vitamina K	506 μ g	
Nutrienti	Acidi grassi insaturi	1377 mg
	Acidi grassi saturi	256 mg
	RNA	2950 mg
	DNA	280 mg
	Luteina	503 mg
	Xantofilla	138 mg
	GLA	6 mg
	Coenzima Q10	14 mg

DNA, fitonutrienti, carotenoidi (astaxantina, luteina), enzimi (quali la pepsina), polisaccaridi (Tab. 3). La luteina è una xantofilla (C₄₀H₅₆O₂), distinta dagli altri carotenoidi per la presenza di due gruppi ossidrilici negli anelli terminali. Previene e cura la degenerazione maculare in quanto subendo un uptake nella macula lutea (zona centrale della retina) (26), esplica in tale area degenerata la sua azione antiossidante, che unita a proprietà antinfiammatorie (27) può essere indirizzata anche all'antagonismo della cataratta. Sono note anche caratteristiche antitumorali (cancro epatico, al seno) (28,29), ipocolesterolemizzanti, procicatrizzanti, immuno-modulatorie (30).

Ch.: Azione antiossidante

Bengwayan et al. (31) hanno comparato spettroscopicamente in vitro l'azione del glutazione sintetico-GSH- e *Ch.* (entrambi a tre concentrazioni 250, 550, 750 mg), aggiunti a un omogenato (0,5 ml) di fegato di topo e indotto a perossidazione lipidica (con cloruro di ferro): la *Ch.* 750 mg inibisce significativamente la perossidazione lipidica ($p=0,005$) a differenza del GSH 750 mg ($p=0,011$). Vijayavel et al. (32) hanno suddiviso 18 topi con perossidazione lipidica indotta da naftalene (435 mg/kg peso corporeo) in 3 gruppi (n=6/ cadauno): 1) alimentati con olio di semi di mais (controllo), 2) alimentati con naftalene disciolto in olio di semi di mais, per via intraperitoneale; 3) trattati con *Ch.* (70 mg/kg) per via orale e con naftalene per via intraperitoneale, al die per 15 gg. Gli esami biochimici hanno evidenziato, nel siero, una significativa riduzione ($p<0,001$) della perossidazione lipidica (175,15 \pm 1,05) e un aumento del livello di antiossidanti (41,86 \pm 0,24) nel gruppo 3 rispetto al gruppo 2 (295,27 \pm 1,22 e 26,36 \pm 0,19, rispettivamente). Tali risultati potrebbero essere dovuti all'azione dell'acido ascorbico, presente nella *Ch.*, sul mantenimento del livello di glutazione, fondamentale nella regolazione del metabolismo cellulare.

Ch.: Azione immuno-modulatoria

Halperin et al. (33) hanno condotto uno studio randomizzato in doppio cieco su 124

pazienti (età media: 50 anni) sottoposti a vaccinazione antinfluenzale e suddivisi in tre gruppi: il primo (n=41) alimentato con *Ch.* (1 compressa di 200 mg/die), il secondo (n=41) alimentato con *Ch.* (1 compressa di 400 mg/die) ed il terzo (n=42) alimentato con placebo (1 compressa di cellulosa microcristallina, identica nel peso e nella forma) per 28 gg. Al 21esimo giorno, gli autori hanno somministrato a tutti i pazienti una dose di vaccino antinfluenzale (FluViral, Biochem Pharma®, Laval, Que) con copertura a tre sierotipi (H1N1 e H3N2 per il tipo A e uno per il tipo B). Gli esami immunologici hanno confermato un significativo aumento della risposta immunitaria nei gruppi 1 e 2 (28,2 e 22,2% rispettivamente). I partecipanti, con età ≤ 55 anni, del secondo gruppo hanno manifestato, un significativo livello di anticorpi contro l'influenza A e B ($p=0,047$ e $0,034$ al 21esimo e al 7esimo gg dalla vaccinazione, rispettivamente). L'obiettivo principale dello studio era la determinazione della risposta immunitaria al vaccino associato ad un consumo di biomassa, sono ancora necessari ulteriori studi clinici su altri modelli di rhinovirus, ma tali risultati ipotizzano un possibile utilizzo della *Ch.* come coadiuvante orale nel trattamento dell'influenza. Nakano et al. (34) hanno studiato l'azione della *Ch.* sul livello di agenti tossici ambientali (diossina, policlorobifenili) presenti, spesso ad alte concentrazioni, nel latte e sangue materno: 35 donne sane in gravidanza, residenti in Giappone, sono state suddivise in due gruppi: il primo controllo (n=17) e il secondo gruppo *Ch.* (n=18) alimentato con 6 g/die di estratto (10 compresse/tre volte al die, Sun Chlorella Corp., Kyoto, Giappone) dalla 12-18esima settimana di gestazione sino al parto. Gli esami (IgA nel latte materno, livello di ormoni tiroidei nel sangue) hanno evidenziato un significativo aumento ($p<0,05$) della concentrazione di IgA nel gruppo 2 (154,8 \pm 74,9 mg/dL) rispetto al gruppo 1 (105,9 \pm 77,7 mg/dL). Il test sulla tossicità equivalente (TEQ), ha confermato una significativa riduzione della concentrazione di diossine (policloro-dibenzo-p-diossine, dibenzofurano policlorurato, policlorobifenili) sia nel latte materno che nel sangue del secondo gruppo (0,554 \pm 0,216 pg/g) rispetto al controllo (0,951 \pm 0,423 pg/g). Il consumo di *Ch.* ha ridotto quindi, del 40%, il contenuto di agenti tossici assunti con il cibo e concentrati nel latte materno.

Ch.: Azione antitumorale

Azamai et al. (35) hanno studiato l'espressione della proteina regolatrice apoptotica su 48 ratti affetti da cancro epatico indotto da etionina (0,1%) e suddivisi in otto gruppi (n=6/ cadauno): primo alimentato con una dieta normale (controllo), secondo trattato con una dieta carente di colina, i gruppi 3-4-5 alimentati con differenti dosi di *Ch.* (50, 150, 300 mg/Kg di peso corporeo, rispettivamente), e i restanti gruppi 6-7-8 alimentati con la medesima dieta povera di colina e le medesime dosi di *Ch.*, per 3 mesi. Gli esami immunoistochimici (TUNEL) hanno evidenziato una significativa riduzione del numero di noduli epatici (67, 33, 17% nei gruppi 6-7-8, rispettivamente), dell'espressione della proteina anti-apoptotica Bcl-2 (75, 58, 33% nei gruppi 6-7-8, rispettivamente), con evidente blocco di tale espressione ad alti dosaggi di *Ch.* Allo stesso tempo, è stato osservato un incremento dell'espressione della proteina pro-apoptotica, Caspasi-8 (40.5, 64.5, 100% nei gruppi 6-7-8, rispettivamente). La *Ch.* in questi modelli sperimentali è risultata in grado di inibire la proliferazione cellulare (diminuendo l'espressione della Bcl-2) e indurre l'apoptosi (aumentando l'espressione della Caspasi-8) nelle cellule cancerogene del fegato. In uno studio randomizzato (36), 45 donne con cancro al seno sono state suddivise in tre gruppi cui è stato rispettivamente somministrato per 30 gg: 1) 1 capsula/die (Nature Made B Complex®, Otsuka Pharmaceutical Co, Giappone) contenente vitamina B₁ (15 mg), B₂ (12 mg), B₆ (10 mg), B₁₂ (15 μ g), niacina (10 mg), acido pantotenico (10 mg), acido folico (200 μ g), biotina (30 μ g), controllo, 2) 4 capsule/die (Biorinck Granule®, Chlorella Industry, Tokio) contenente *Ch.* in polvere (6000 mg), 3) tre porzioni liquide/die di *Ch.* (2400 mg/ml) (Biorinck BCEx 503®, Chlorella Industry, Tokio); I tests di autovalutazione sulla qualità della vita (Izumo, χ^2) hanno evidenziato una significativa ($p<0,01$) riduzione del livello di affaticamento, dei sintomi addominali (dolore, costipazione, diarrea) e un miglioramento della lucentezza dei capelli e dell'idratazione cutanea nel 9% (1/11) e nel 50% (6/12) dei soggetti dei gruppi 2 e 3, rispettivamente. Il questionario FACT-B, specifico per il cancro al seno (0 = nessun miglioramento, 4 = massimo risultato), ha mostrato una significativo punteggio ($p=0,042$) nei soggetti del gruppo 2 rispetto al primo gruppo. Questo studio è stato prevalentemente indirizzato a migliorare la qualità della vita di soggetti con il cancro al seno ed i risultati sono stati significativi, ma largamente incompleti.

Ch.: Azione anti-anemica

70 donne con anemia in gravidanza sono state suddivise in 2 gruppi: controllo (n=38) e gruppo *Ch.* (n=32) alimentato con 30 compresse/die (Sun Chlorella Corp., Kyoto, Japan), 10 compresse dopo ogni pasto; dal terzo mese di gestazione sino al parto (37). Gli esami clinici (RBC, HB, HT, MCV, MHC, U-P, U-GLU) eseguiti su campioni di sangue e urina, al termine di ogni trimestre, hanno espresso una significativo aumento del livello di emoglobina (>11 g/dL) e una significativa riduzione del contenuto di proteine (<2 mg/dL) nell'urina delle donne del gruppo *Ch.* rispetto al controllo. Inoltre, l'incidenza di edema alle gambe (segno di ipertensione indotta dalla gravidanza), risulta significativamente più basso durante il terzo trimestre (9.4% e 44.7% nei gruppi 2 e 1). Questi dati suggeriscono che l'alga riduce il rischio di anemia associato alla gravidanza, proteinuria ed edema, garantendo un consumo della stessa come risorsa principale di acido folico naturale, vitamina B₁₂ e ferro, utili per ridurre i sintomi di gestosi (quali cefalea, vertigini, nausea, vomito).

Ch.: Riduzione rischio cardiovascolare

24 pazienti con debole o moderata ipertensione (90-104 e 105-115 mmHg, rispettivamente), hanno assunto placebo (1°-2° mese) e *Ch.* (3°-4° mese) sia in compresse (10 g/die) che in forma liquida (100 ml/die) (38). I tests relativi alla misurazione della pressione sanguigna, parametri ematici, ECG, eseguiti alla fine del trattamento, hanno evidenziato una diminuzione della pressione diastolica (<90 mmHg) ed una significativa ($p=0,003$) riduzione del livello di colesterolo nel siero, in 6/24 soggetti.

Ch.: Azione ipolipemizzante

Lee et al. (39) hanno randomizzato 60 ratti Wistar maschi normolipemici in 6 gruppi alimentati con dieta standard contenente soia (7%), dieta standard e *Ch.* (5%), dieta standard e *Ch.* (10%), dieta iperlipidica (10% di grassi), dieta iperlipidica e *Ch.* (5%), dieta iperlipidica e *Ch.* (10%), rispettivamente per 9 settimane. Gli esami biochimici hanno confermato una significativa ($p<0,05$) diminuzione dei trigliceridi e del colesterolo totale sia nel siero che nel fegato dei gruppi 5-6 rispetto al gruppo 4 e un aumento ($\alpha=0,05$) degli stessi valori nelle feci dei gruppi 2-3 e 5-6 rispetto ai gruppi 1 e 4. Stesso effetto dimostrato in uno studio condotto da Chovancikova et al. (40) su 24 topi CD1 maschi normolipemici e suddivisi in 4 gruppi, cui hanno somministrato, per 10 settimane: una dieta standard, una dieta composta

dall'1% di *Ch.*, una dieta ricca di grassi (40%), e una dieta di grassi (40%) e *Ch.* (1%). Gli esami sul siero hanno sortito bassa concentrazione di trigliceridi ($1,26 \pm 0,35$ mmol/L) nel gruppo 2 rispetto ai gruppi 1 e 3 ($1,60 \pm 0,50$ e $1,81 \pm 0,48$ mmol/L, rispettivamente). Ciò probabilmente potrebbe essere dovuto ad una riduzione dell'assorbimento di grassi o ad una interruzione del circolo enteroepatico degli acidi biliari e qualora ciò venisse confermato, potrebbe essere rilevante esaminare l'effetto anche in una prova clinica umana.

Ch.: Studio di efficacia sulla fibromialgia

Merchant et al. (41) hanno somministrato a 18 pazienti con fibromialgia (17 donne e 1 uomo) 50 compresse/die contenenti 10g di *Ch.* (Sun Chlorella®, YSK International Corporation, Kyoto) e 100ml/die di estratto liquido (Wakasa Gold) per 2 mesi. I tests per la fibromialgia (FIQ, PAQ, CES-D, misurazione dei tender points) hanno confermato una significativa ($p=0,01$) riduzione del numero dei tender points (n. 32 pretrattamento, n.28 dopo il primo mese, n. 25 dopo il secondo mese), seguita ovviamente da una riduzione (22%) dell'intensità di dolore, nonché una migliore risposta al questionario CES-D con riduzione del livello di ansia/depressione (sintomo molto comune e ricorrente in questa patologia) del 28% rispetto alla prima visita. La riduzione del dolore potrebbe essere indotta dal contenuto di acido malico (200 mg) e idrossido di magnesio (50 mg) di questa alga.

Ch.: Studio sperimentale oftalmologico

Arnal et al. (42) hanno studiato, in vivo, l'effetto della luteina sola o combinata con insulina su 40 ratti con cataratta e diabete indotto, per via intraperitoneale, da streptomina (65 mg/kg). I ratti sono stati suddivisi in 5 gruppi (n=8 per ogni gruppo): 1) controllo; 2) alimentato, per via orale, con luteina (0.5 mg/kg); 3) gruppo con diabete non trattato; 4) trattato con insulina (50 UI/g) per via sottocutanea; 5) trattato con insulina e luteina; per 12 settimane. I risultati (esami biochimici su campioni di sangue, visita oftalmologica) hanno evidenziato una significativa riduzione ($p<0,05$) dello stress ossidativo nei gruppi 2-4-5 rispetto ai gruppi 1-3, dell'incidenza della cataratta nel gruppo 2 rispetto al gruppo 3 (6/24 e 13/24 occhi con cataratta, rispettivamente). Luteina ed insulina potrebbero dunque ritardare lo sviluppo della cataratta diabetica, con potenziata inibizione della perossidazione lipidica.

Dunaliella (*Dun.*)

La *Dun.* è una microalga di acqua salata e di un intenso colore rosso-arancio, dovuto alla presenza di carotenoidi (β -carotene, 9cis- β -carotene, 15dicis- β -carotene, 15cis- β -carotene, licopene) e di xantofille (astaxantina, zeaxantina, luteina, α e β -criptoxantina, violaxantina, echinenone) (Tab. 4). È ampiamente utilizzata come colorante in cibi naturali o come additivo in cosmetici.

Dun.: Azione ipolipemizzante

22 ratti femmine Sprague-Dawley con gastroenterite indotta da acido acetico (2 ml) per via intraperitoneale sono stati distinti in due gruppi e nutriti con una dieta contenente β -carotene (20 g) estratto da *Dun.*, e dieta standard (controllo); per 10 settimane (43). Gli esami istologici sui villi intestinali e biochimici [misura della mieloperossidasi (MPO), β -carotene, retinolo] hanno evidenziato che il β -carotene riduce significativamente ($p<0,05$) il livello MPO (enzima che misura l'intensità dell'infiammazione indotta da acido acetico) dei ratti del secondo gruppo, migliorando la risposta dell'organismo alle infiammazioni. Shaish et al. (44) hanno effettuato uno studio randomizzato in doppio cieco con placebo: Prima prova su 21 soggetti con dislipidemia (livello HDL <40 mg/dl e trigliceridi >200 mg/dl) trattati con fibrati (ciprofibrato, bezafibrato) e alimentati con 4 capsule/die (Nikken Sohonsa Corporation®, Gifu, Giappone) contenente, cadauna, 15mg di 9-cis- β -carotene; seconda prova su 20 soggetti (7 con ipertensione, 2 con precedente infarto al miocardio, 3 con insufficienza cardiaca, 8 con diabete mellito) sottoposti a trattamento farmacologico per sei settimane prima dello studio e suddivisi in due gruppi: 1) alimentato allo stesso modo del gruppo della prima prova (n=11); 2) controllo (n=11) con placebo (capsule di *Dun.* carente di β -carotene), per 6 settimane. Gli esami biochimici su campioni di plasma (livello di carotenoidi, lipoproteine) hanno mostrato un significativo incremento di α -carotene (69%) e β -carotene (312%) nei gruppi 1 di entrambe le prove, del livello HDL ($p=0,680$ e $0,317$ nei gruppi 1 delle prove 1-2, rispettivamente) e una riduzione (26,7%) del livello di trigliceridi nel plasma dei pazienti del primo gruppo. Tali risultati ipotizzano che un trat-

Tabella 4. Profilo nutrizionale di *Dunaliella* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	40,21 g
	Clorofilla	2,21 g
	Lipidi	18,02 g
	Fibre	2,10 g
	Proteine	25,67 g
	Minerali	Ferro
Calcio		148 mg
Potassio		6,5 g
Magnesio		6402 mg
Rame		0,3 g
Zinco		1 g
Fosforo		76,5 mg
Manganese		9,1 mg
Cromo		0,35 mg
Selenio		1,48 mg
Boro		27,81 mg
Cobalto		0,03 mg
Molibdeno		0,04 mg
Solfuro		2731 mg
Litio		0,92 mg
Vitamine		α -carotene
	β -carotene	2100 mg
Nutrienti	Luteina	97,6 mg
	Astaxantina	75,6 mg
	Zeaxantina	46,5 mg
	Criptoxantina	86,8 mg

tamento combinato di fibrati e *Dun.* ricca di 9-cis- β -carotene possa incrementare il livello HDL nel plasma e di conseguenza l'efficacia dei farmaci.

Dun.: Azione fotoprotettiva da raggi UV

Lee et al. (45) hanno somministrato, per 24 settimane, una dieta a base di carotenoidi (29,4 mg di β -carotene, 0,36 mg di α -carotene) a 22 soggetti (11 uomini e 11 donne) con eritema cutaneo indotto da esposizione UV (lampada Xenon 150 W). Gli esami biochimici hanno espresso un incremento del contenuto di α e β -carotene (da 0,07 a 0,36 μ g/ml e da 0,22 a 1,72 μ g/ml, rispettivamente) nel siero, e una significativa inibizione ($p<0,05$) della perossidazione lipidica. I carotenoidi infatti in quanto antiossidanti prevengono i danni cutanei legati agli UV.

Dun.: Azione epatoprotettiva

Harari et al. (46) hanno studiato l'azione del 9-cis- β -carotene su 60 topi maschi con steatosi epatica, indotta con una dieta iperlipidica, e suddivisi in 4 gruppi alimentati con una dieta normale (controllo), dieta contenente 9-cis- β -carotene (25%), dieta contenente 9-cis- β -carotene (50%), dieta a base di *Dun.* deficitaria di β -carotene. È stato riportato (PCR, cromatografia) che i topi del gruppo 3 hanno ridotto la concentrazione LDL (4.0 AUC) rispetto ai gruppi 1 e 4 (6,5 e 5,7 AUC). Il 9-cis- β -carotene contenuto nel composto ha ridotto la lesione aterosclerotica del 40-83% del gruppo 3 rispetto agli altri gruppi, con conseguente riduzione dell'infiammazione del fegato. Il carotenoide, in questo modello sperimentale si è rivelato in grado di ridurre l'espressione di fattori infiammatori quali IL-1 α , TLR2, E-selectina.

Dun.: Azione antitumorale

42 ratti albini maschi con fibrosarcoma, indotto da 20-metilcolantrene sono stati randomizzati in 7 gruppi: I) controllo sano, II) alimentato con 500 mg di *Dun.*, III) alimentato con 1g di *Dun.*, IV) alimentato con vitamina E (400 mg/kg peso corporeo), V) gruppo con fibrosarcoma indotto, VI) controllo alimentato con 500mg di *Dun.*, VII) controllo alimentato con 1g di *Dun.* (47). Dopo 45gg di trattamento, il gruppo III ha presentato una significativa ($p<0,001$) riduzione dei markers degli enzimi LDH, AST, ALT nel siero. Sul versante istologico si è evidenziato un incremento ($p<0,01$) dell'attività mitotica dei miofibroblasti ipotizzando un possibile ruolo del 9-cis- β -carotene nella riduzione del cancro. Sheu et al. (48) hanno studiato in vitro l'azione dell'estratto di *Dun.* con etanolo nella proliferazione e apoptosi delle linee cellulari umane A549 di carcinoma polmonare. Tali cellule sono state trattate con *Dun.* estratta rispettivamente con etanolo, esano e acqua (25 μ g/ml/caduna) a tempo 12, 24, 48 h e successivamente incubate a 37°C per 24-48 h. È stato confermato dalle prove molecolari, (HPLC, MTT, western blot, analisi citometrica, gel elettroforesi), che le cellule con *Dun.* estratta con etanolo hanno una significativa ($p<0,001$) attività antiossidante, è stata anche osservata un'inibizione della proliferazione cellulare a 24 h ($p<0,05$, 25.2%) e a 48 h ($p<0,01$, 48.3%), induzione di apoptosi cellulare del 27.7% ($p<0,01$), 30.7% ($p<0,01$), 38.7% ($p<0,001$) rispettivamente a tempo 12, 24, 48 h, nonché un incremento ($p<0,05$) dell'espressione dell'antigene tumorale p53 e della proteina p21 [inibitore delle chinasi ciclina-dipendenti 1 (CKI1)] a tempo 12, 24, 48 h, con conseguente arresto del ciclo cellulare G0/G1. Una dieta ricca di alimenti antiossidanti (quali la *Dun.*) potrebbe, quindi, essere efficace a prevenire il cancro.

Tabella 5. Profilo nutrizionale di *Haematococcus* (quantitativo per 100 gr).

Macronutrienti	Carboidrati	38 g
	Clorofilla	0,4 (rossa), 1,1 (verde) g
	Lipidi	13,8 g
	Proteine	23,6 g
Minerali	Ferro	0,73%
	Calcio	1,58%
	Magnesio	1,14 g
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,79 mg
	Leucina	1,67 mg
	Lisina	1,13 mg
	Metionina	0,40 mg
	Fenilalanina	0,90 mg
	Treonina	1,04 mg
	Triptofano	0,31 mg
	Valina	1,36 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	1,73 mg
	Arginina	1,07 mg
	Acido aspartico	1,89 mg
	Cisteina	0,19 mg
	Acido glutammico	2,19 mg
	Glicina	1,17 mg
	Prolina	0,89 mg
	Serina	0,94 mg
	Tirosina	0,52 mg
	β -carotene	0,054 mg
	Vitamina B1	0,00047 mg
	Vitamina B2	0,0017 mg
	Vitamina B3	0,0066 mg
	Vitamina B5	0,0014 mg
	Vitamina B6	0,00036 mg
	Acido folico	0,00029 mg
	Vitamina B12	0,00012 mg
Biotina	0,337 mg	
Nutrienti	Omega-3	0,18 mg
	Omega-6	0,29 mg

Haematococcus (Haem.)

Haem. è una microalga verde unicellulare, prodotta principalmente negli Stati Uniti, India e Israele ed utilizzata in nutraceutica, farmaceutica, cosmesi (49). È la principale fonte naturale di astaxantina (1,5-3%) (Tab. 5), che ha azione antiossidante (50), antinfiammatoria e antibatterica (51).

Haem.: Azione antiossidante

25 ratti maschi Wistar sono stati suddivisi in tre gruppi (n=5/cadauno) e trattati, per via gastrica, con *Sp.* (134mg/ratto), *Haem.* (33mg/ratto), *Botryococcus braunii* (328 mg/ratto), una dieta standard, controllo (52). L'HPLC-MS ha mostrato un elevato contenuto di carotenoidi nei ratti del secondo gruppo (2, 2, 3 e 0.35% nei gruppi 1-2 e 3 rispettivamente). Nei campioni di plasma del gruppo 2, a 4 h, si è rilevata una significativa attività antiossidante con incremento di catalasi, superossido dismutasi e perossidasi (52, 30, 66, 24 e 118.81%, rispettivamente). Questo studio conferma che la concentrazione di astaxantina nel plasma dei ratti sia circa 2-3 volte più alto rispetto al valore di β -carotene e luteina, ipotizzando, quindi, il possibile consumo di *Haem.* come principale risorsa di carotenoidi.

Haem.: Azione antinfiammatoria

Choi et al. (53) hanno somministrato diverse concentrazioni di astaxantina (1, 10, 100 μ M; rispettivamente) su cellule microgliali murine BV2 pretrattate con 100 μ g/ml lipolisaccaride di *E.coli* (LPS, Tween 20[®], Sigma). I tests (MTT, RT-PCR, Western Blot) dimostrano come l'astaxantina inibisca la produzione di ossido nitrico (NO) (33.79 \pm 0.61 μ M, 31.14 \pm 0.40 μ M, 30.22 \pm 0.80 μ M, rispettivamente) e l'espressione genica degli enzimi ossido nitrico sintasi (iNOS) e ciclossigenasi-2 (COX-2). L'attività regolatoria dell'astaxantina nella produzione di NO e prostaglandina E2 (PGE2), *in vivo/vitro* ha conseguito analoghi risultati (54): *in vivo*: 20 topi balb/Ca sono stati trattati, per via intraperitoneale, con 4mg/kg di LPS di *E.coli* O111:B4 e 40mg/kg di astaxantina ed *in vitro*: astaxantina (10, 30, 50, 100 μ M) è stata addizionata a linee cellulari umane di macrofagi RAW264.7 pretrattate con LPS (10 μ g/ml). Nelle prove molecolari (Western Blot, RT-PCR, ELISA, gel elettroforesi), effettuate dopo 12h, si è accertata una significativa (p<0.05) inibizione dei principali mediatori di processi infiammatori, quali NO, IL1- β , PGE2, fattore di necrosi tumorale α (TNF- α). L'astaxantina potrebbe quindi essere utilizzata per il trattamento di patologie infiammatorie croniche quali encefalite, meningite, artrite reumatoide, sepsi, aterosclerosi.

Haem.: Azione antimicrobica, azione gastroprotettiva

20 topi Balb/cA infettati con *H.pylori* (108 CFU) sono stati trattati, per via orale, con *Haem.* (200 mg/kg di peso corporeo al die) (55). Gli esami molecolari (PCR, ELISA) ed istopatologici (stomaco), eseguiti all'11esimo giorno, hanno evidenziato una significativa (p<0.02) riduzione della carica batterica della mucosa gastrica, con conseguente ridotta flogosi gastrica e un maggiore (p = 0.0002) rilascio di IL-4: da cui si deduce anche una sua azione immuno-modulatoria, in quanto determina un significativo equilibrio tra i linfociti Th1 e Th2 che riduce la carica batterica e l'infiammazione gastrica. Nishikawa et al. (56) hanno fornito tre tipi di astaxantina [due estratti dall'*Haem.*(Haem-asx) e uno dal lievito rosso *P.Rhodozyma* (Pha-asx)] a 50 ratti maschi Wistar con ulcera gastrica indotta da stress (acqua fredda a 20°C per 24 h) e suddivisi in 10 gruppi: A) alimentato con un alto dosaggio di Haem-asx (40 mg), B) dosaggio standard di Haem-asx (8 mg), C-D-E-F) dosaggio alto di Pha-asx (40 mg) ed i gruppi G-H-I alimentati con un dosaggio standard di Pha-asx (8 mg). Gli esami istologici sullo stomaco hanno mostrato una significativa (p<0.05) riduzione dei calibri dell'ulcera nei ratti nutriti con *Haem.* (10.2 \pm 4.2 e 6.4 \pm 4.4, rispettivamente nei gruppi A-B), ipotizzando l'azione dell'astaxantina nella prevenzione di patologie gastriche.

Haem.: Studio di efficacia sui disturbi cognitivi

96 soggetti sani (età compresa tra i 45 e i 64 anni) con riduzione della memoria sono stati suddivisi in tre gruppi (n=32/cadauno) alimentati con basso dosaggio di compresse di astaxantina (6mg/die), con alto dosaggio di astaxantina (6 mg/die) e con placebo (compresse identiche nella forma e peso), rispettivamente (57). I tests di valutazione delle funzioni cognitive (CogHealth, Groton Maze Learning Test), eseguiti dopo 12 settimane, hanno recuperato valori ottimali nei gruppi 1 e 2 (p < 0.05 e 0.01, rispettivamente). *Haem.* potrebbe trovare indicazione nel recupero di alterazioni o disfunzioni nelle funzioni cognitive, pur sottolineando l'insufficiente evidenza metodologica nel reclutamento stesso del campione.

Klamath (Klam.)

Klamath (detta anche AFA) è una macroalga verde-blu, originaria del lago Upper Klamath nel sud Oregon. Rappresenta la principale risorsa di ficocianine costituite da ficobiliproteine e ficocianobiline (Tab. 6).

Klam.: Azione antiossidante, antinfiammatoria

Sono state reclutate, in uno studio pilota (58), 22 donne (età: 47-54 anni) in menopausa, non trattate con terapia ormonale, cui è stata somministrata *Klam.* (2 compresse da 0,8 g/die) per due mesi. Il valore di malondialdeide (MDA), principale prodotto della perossidazione lipidica, misurato prima e dopo il trattamento, è diminuito significativamente (p<0.01). È stato registrato anche un incremento di luteina (+43%), α -carotene (+27%), β -carotene (+29%), retinolo (+18%), γ -tocoferolo (+28%), α -tocoferolo (+32%). Il livello ormonale (estradiolo E2, progesterone 17-OHP, cortisolo, prolattina PRL, ormoni tiroidei) delle donne, misurato mediante un test radioimmunologico, non ha riscontrato differenze significative prima e dopo la supplementazione di *Klam.*, mentre il test (Green scale) per la valutazione dei sintomi della menopausa ha evidenziato una significativa riduzione (p=0.0008) del punteggio nel post trattamento. Benedetti et al. (59) hanno osservato *in vitro* l'azione delle ficocianine (100 nM) sugli eritrociti di campioni umani, ottenuti da soggetti volontari sani, incubati per 15 minuti a 37°C e successivamente indotti ad emolisi ossidativa e perossidazione lipidica con 50 mM di diidrodicloruro di azobis (2-amidinopropane) (AAPH). Dagli esami sui campioni di plasma si evincono significativi risultati (p<0.05): riduzione del valore di emolisi del gruppo trattato con ficocianina rispetto al controllo e inibizione del livello di MDA. La ficocianina ha, quindi, ridotto la perossidazione lipidica e l'emolisi delle cellule trattate con AAPH, proteggendo le stesse dallo stress ossidativo. L'esame spettroscopico dell'estratto (150 nM di ficocianina) incubato con l'agente ossidante AAPH (50 mM) per 45 minuti a 37°C, ha mostrato una riduzione del valore di assorbanza della ficocianina (620

Tabella 6. Profilo nutrizionale di Klamath (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	18,75 g
	Clorofilla	1,8 g
	Lipidi	3,75 g
	Fibre	0,75 g
	Proteine	42,75 g
Minerali	Boro	14,1 mg
	Ferro	32,96 mg
	Calcio	1316 mg
	Cloro	44,18 mg
	Cromo	0,049 mg
	Potassio	1,128 mg
	Magnesio	206,8 mg
	Sodio	253,8 mg
	Fosforo	0,49 mg
	Rame	0,404 mg
	Fluoruro	3,57 mg
	Germanio	0,025 mg
	Cobalto	0,188 mg
	Iodio	0,049 mg
	Manganese	0,31 mg
	Nickel	0,49 mg
Selenio	0,063 mg	
Stagno	0,044 mg	
Titanio	4,38 mg	
Zinco	1,75 mg	
Acidi grassi	Omega-3	2773 mg
	Omega-6	564 mg
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	2726 mg
	Leucina	4888 mg
	Listina	3290 mg
	Metionina	658 mg
	Fenilalanina	2350 mg
	Treonina	3102 mg
	Triptofano	658 mg
	Valina	3008 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	4418 mg
	Arginina	3572 mg
	Acido aspartico	658 mg
	Cisteina	188 mg
	Istidina	846 mg
	Acido glutammico	376 mg
	Glicina	2726 mg
	Prolina	2726 mg
	Serina	2726 mg
	Tirosina	1598 mg
Vitamine	β -carotene	112,77 mg
	Vitamina B1	0,4418 mg
	Vitamina B2	5,38 mg
	Vitamina B3	0,015 mg
	Vitamina B5	0,64 mg
	Vitamina B6	1,043 mg
	Acido folico	0,094 mg
	Vitamina B12	0,752 mg
	Biotina	0,282 mg
	Colina	0,216 mg
	Inositolo	15,04 mg
	Vitamina C	629,80 mg
	Vitamina E	117,5 mg
	Vitamina K	70 μ g

nm) accompagnato dalla scomparsa del suo caratteristico colore blu. Spettroscopicamente si osserva un coinvolgimento diretto del cromoforo tetrapirrolico ficocianobiline nell'azione antiossidante della ficocianina; infatti, il colore blu brillante della proteina dipende in larga misura dalla natura chimica del suo cromoforo.

Klam.: Studio clinico sulla psoriasi

Sono stati reclutati, per uno studio preliminare (60) 10 soggetti (7 con psoriasi e 3 con dermatite seborroica “sebopsoriasi”), sottoposti ad un trattamento topico (0,4 mg/die corticosteroidi o 200 mg/die itraconozolo). Essi hanno assunto 3 compresse/die di *Klam.* per tre mesi. Le visite dermatologiche, eseguite ogni mese, hanno evidenziato una riduzione delle alterazioni cutanee nella parte inferiore e superiore delle palpebre e alle pieghe dei gomiti e delle ginocchia. È interessante osservare che, dopo 12 settimane, l'indice PASI (Psoriasis Area Severity Index) è stato ridotto del 50% (da 6,3 a 3,6), riscontrando una significativa riduzione della patologia in 9/10 casi. Dato del tutto trascurabile, causa l'inconsistenza del campione sullo sfondo di una descrizione semantica inadeguata al linguaggio clinico standard.

Klam.: Azione antidepressiva

11 pazienti con moderato livello di depressione (punteggio Self-rating Depression Scale-SDS= 51.6 \pm 6.8) sono stati trattati con 1g/die di *Klam.* ed 5 con identica depressione, utilizzati come controllo, hanno assunto 1 g/die in compresse di lattosio, per 60 gg (61). Non sono state registrate significative differenze tra prima e dopo il trattamento con lattosio (48,3 \pm 7,8 e 52,5 \pm 14,5, rispettivamente). Il punteggio SDS degli 11 pazienti trattati con *Klam.*, invece, è diminuito significativamente (52,1 \pm 6,3 e 46,1 \pm 7,0 rispettivamente prima e dopo il trattamento). I risultati non hanno evidenziato effetti collaterali a livello renale ed epatico ma solo una riduzione dei sintomi depressivi (insonnia, ansia, affaticamento cronico). Si sottolinea ulteriormente l'inconsistenza del campione oggetto dello studio e l'inadeguatezza dei metodi.

Klam.: Azione renoprotettiva, epatoprotettiva

Kuriakose et al. (62) hanno studiato l'azione renoprotettiva del *Klam.* su 30 ratti albini maschi di cui 24 con disfunzione renale indotta dall'agente chemioterapico cisplatino, e suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno): I. trattato con carbosimetilcellulosa sodica per 5 gg; II. trattato con cisplatino (5 mg/kg-1) per 5 gg; ed i gruppi III, IV, V trattati, rispettivamente 2 gg prima e 3 gg dopo il dosaggio dell'agente chemioterapico, con *Klam.* (50 mg/kg peso corporeo) estratta con etanolo a diverse concentrazioni (25, 50, 100 mg/kg-1). Gli esami enzimatici ed istopatologici sui reni hanno mostrato significativi risultati ($p<0.01$): il livello di creatinina e di nitriti nel siero, il livello di azoto ureico nel sangue e le attività enzimatiche (superossido dismutasi, catalasi, glutazione S-transferasi, glutazione perossidasi) sono aumentati significativamente nel gruppo II e ridotti nei gruppi III-IV-V. È stata anche osservata, nei gruppi trattati con *Klam.*, una riduzione ($p<0.01$) dei difetti morfologici renali quali edema interstiziale, necrosi epiteliale. Gli stessi autori (63) hanno approfondito, anche, l'azione epatoprotettiva su 40 ratti albini maschi, di cui 32 indotti ad epatopatia da paracetamolo (PCM, 3 g/kg peso corporeo) e suddivisi in 5 gruppi (n=8/cadauno): 1) trattato con acqua distillata; 2) alimentato, per via orale, con PCM (3 g/kg); 3) alimentato con PCM e *Klam.* (50 mg/kg) estratta con etanolo; 4) alimentato con PCM e *Klam.* (100 mg/Kg); 5) alimentato con PCM e silimarina (estratta dalla pianta *Cynara cardunculus*, 100 mg/Kg). Dopo 10gg, è risultata una significativa ($p<0.01$) riduzione dell'attività enzimatica (aspartato transaminasi, alanina ammino transferasi, gammaglutammiltransferasi, fosfatasi alcalina) nel siero dei ratti dei gruppi 3-4, nonché, un'inibizione della perossidazione lipidica nel gruppo IV, determinata da una diminuzione della concentrazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS) e dei dieni coniugati. Gli esami istopatologici del fegato dei ratti trattati con PCM e *Klam.* hanno mostrato una minore necrosi epatica centrolobulare. L'azione della ficocianina nell'estratto algale potrebbe essere responsabile dell'epato-nefro protezione.

Klam.: Azione immuno-modulatoria

In un trial randomizzato controllato con placebo, condotto da Jensen et al. (64): 21 volontari sani di età media 20-52 anni (di cui 5 consumatori abituali di AFA) hanno assunto, per via orale 1 compressa/die (1,5 g) di *Klam.* per 2 gg. Gli esami su campioni del sangue, eseguiti al momento della supplementazione e nelle 2h successive, hanno mostrato una maggiore mobilità di linfociti T (CD3+, CD4+, CD8+, C19+) e delle cellule B, con significativa riduzione ($p<0.03$) della proporzione dei linfociti NK (CD3-CD56+) rispetto al gruppo placebo. È stata osservata una migrazione del 40% delle cellule NK dai linfonodi ai diversi organi e tessuti, mentre il restante 60% ha aumentato il numero di adesioni cellulari, confermando l'effetto immuno-modulatore dell'alga. Pugh et al. (65) hanno approfondito tale effetto, identificando tre polisaccaridi purificati ed estratti da tre alghe (Immunulina, Immunon, Immurella in *Sp.* (35 g), *Klam.* (125 g), *Ch.* (35 g), rispettivamente) con etanolo al 70%. I tests (SEC, HPLC, rtPCR,) hanno mostrato un aumento pari al 50% dell'attività del complesso proteico NF-kB, determinata dall'attivazione dell'espressione della luciferasi, in tutti i campioni trattati con polisaccaridi, con un'attività dei macrofagi dieci volte maggiore di quella ottenuta ad una concentrazione massima (10 µg/ml) di LPS batterico. L'Immunon, che rappresenta il 2% del peso secco di *Klam.*, potrebbe essere il responsabile dell'azione immunopotenziante.

Tabella 7. Profilo nutrizionale di *Ascophyllum* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	5,79 g
	Lipidi	1,74 g
	Fibre	49,75 g
	Proteine	5,88 g
Minerali	Calcio	0,0135 g
	Potassio	0,0182 g
	Magnesio	0,00826 g
	Sodio	0,034 g
	Fosforo	0,69 g
Acidi grassi	Omega-3	169,1 mg
	Omega-6	512,9 mg
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,106 g
	Leucina	0,194 g
	Lisina	0,123 g
	Metionina	0,074 g
	Fenilalanina	0,114 g
	Treonina	0,128 g
	Triptofano	0,0472 g
	Valina	0,145 g
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,177 g
	Arginina	0,115 g
	Acido aspartico	0,327 g
	Cisteina	0,073 g
	Istidina	0,040 g
	Acido glutammico	0,400 g
	Glicina	0,154 g
	Prolina	0,178 g
	Serina	0,126 g
	Tirosina	0,0660 g
Vitamine	Vitamina B1	0,06 mg
	Vitamina B2	0,0100 mg
	Vitamina B3	11,8 mg
	Vitamina B9	57,2 µg
	Vitamina B12	0,093 µg
	Vitamina C	9,92 mg
	Vitamina E	2,70 mg

Ascophyllum (Asc.)

L'*Asc.* è un'alga bruna che cresce abbondantemente in Francia, Irlanda, Norvegia, Regno Unito e Canada. Contiene diversi composti bioattivi quali polisaccaridi, vitamine, peptidi e metaboliti secondari (florotannini) (Tab. 7). Attualmente viene utilizzata come fonte di alginati, fertilizzanti sia negli animali che nell'uomo. È presente in commercio nella sua forma pura o in formulazioni con l'aggiunta di altri nutrienti.

Asc.: Azione antiossidante

Abu et al. (66) hanno confrontato *in vitro* l'azione antiossidante dell'ascophyllan (polisaccaride estratto dall'alga) e del fucoidano (polisaccaride estratto dall'alga *Laminaria*). Diverse concentrazioni di ciascun polisaccaride (0-10-100-1000 µg/ml, rispettivamente) sono state trattate con 50 mM di EDTA ed incubate per 6h a 25°C. I tests (chemiluminescenza CL, spettroscopia di emissione atomica ICP-OES, radiazione UV) hanno evidenziato che entrambi i polisaccaridi hanno un'elevata attività antiossidante ($p<0.05$), determinata, probabilmente, dalla loro capacità di chelare lo ione Fe^{2+} . Il potere riducente dell'ascophyllan (400 kDa) è maggiore di quello del fucoidano (30 kDa) (18.63 ± 1.97 e 0.69 ± 0.07 mol di glucosio equivalente, rispettivamente). Tali risultati evidenziano che l'estratto *Asc.* potrebbe agire come agente riducente di superossido e radicali idrossilici e che entrambi i polisaccaridi potrebbero chelare il Fe^{2+} , in funzione della concentrazione presente (0,458-0,489 mg/g in ascophyllan e fucoidano). Jimenez et al (67) hanno approfondito l'effetto antiossidante dell'*Asc.* (5 g) estratto con acetone (150 ml), applicando 4 tests spettrofotometrici (DPPH, β -carotene/acido linoleico, dROMs, 2-Deossi-D-Ribosio) ed hanno dimostrato un'azione antiossidante dell'*Asc.* ($r^2=0,9241$), proporzionale ai polifenoli presenti. L'estratto è in grado di interferire con il legame 2-deossi-D-ribosio-Fe (o annullarlo) e di inattivare gli ioni Fe^{2+} rilasciati, inibendo la reazione di Fenton che costituisce una fonte di radicali liberi OH.

Asc.: Azione antimicrobica

Campioni (1 mL) contenenti *Asc.* (5 g) estratto con acetone (150 ml) sono stati trattati con sospensioni (20µl) di microrganismi (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus Aureus*, *E.coli*, *Enterococcus aerogenes*) e successivamente incubati a 37°C per 24h (67). Il test per l'inibizione dell'attività della tirosinasi ha mostrato un'inibizione pari al 65,6%, evidenziando un'elevata attività antimicrobica per i Gram positivi *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* ($MIC_{50}=0,25$ e $0,20$ mg/mL⁻¹ rispettivamente). Tale processo può essere dovuto ai gruppi idrossilici dei polifenoli presenti nell'*Asc.*, che riducono l'attività enzimatica, attraverso un legame idrogeno al sito specifico dell'enzima. In una prova sperimentale condotta da Braden et al (68), 200 manzi e vitelle infettati da *E.coli* enteroemorragico (EHEC-O157:H7) sono stati suddivisi in due gruppi (n=100/cadauno) alimentati con una dieta a base di mais contenente *Asc.* (2% peso secco), con una dieta contenente solo mais (controllo); per 14 gg. Gli esami sulle feci eseguiti prima e dopo il trattamento hanno mostrato una riduzione della concentrazione di EHEC-O157:H7 nel primo gruppo (9-11%).

Asc.: Azione immuno-modulatoria

Bahar et al. (69) hanno studiato l'azione immuno-modulatoria dell'*Asc.* nella mucosa colica di 6 suini. Una porzione di tessuto *ex vivo* del colon (1,5 x1,5 cm) è stata trattata con 10µg/ml LPS di *E.coli* (O111:B4®, Sigma), in presenza ed assenza di estratto algale (1 mg/ml) ed incubata a 37°C per 3h. Le tecniche molecolari (estrazione RNA, rtPCR) hanno evidenziato che l'*Asc.* ha inibito ($p<0.05$) l'espressione dei geni IL-6, interleuchina-8 (IL-8), TNF- α ($0,99 \pm 0,53$, $0,75 \pm 0,33$ e $1,01 \pm 0,17$, rispettivamente), confermando l'azione antinfiammatoria dell'alga.

Asc.: Azione prebiotica, regolazione metabolica

Gardiner et al. (70) hanno somministrato una dieta normale contenente *Asc.* a 360 suini randomizzati in 4 gruppi: 1) controllo, 2) nutrito con 3 g/die di *Asc.*, 3) nutrito con 6 g/die di *Asc.*, 4) nutrito con 9 g/die di *Asc.*; per 61 gg (periodo corrispondente al raggiungimento dell'optimum di peso corporeo, 95 kg). Gli esami microbiologici su tessuto *ex vivo* (colon, cieco, retto, ileo) hanno mostrato una significativa riduzione del numero ($p=0,130$) dei coliformi totali (*E.coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) del *Bifidobacterium* ($p=0,077$) e un aumento del *Lactobacillus* ($p=0,080$) nei gruppi 3-4. È stata osservata anche una lineare diminuzione ($p<0,05$) nel peso della carcassa dei suini all'aumentare della concentrazione di *Asc.*, probabilmente dovuto alle alte concentrazioni di polifenoli (80 g/kg) nell'estratto. Tali risultati ipotizzano che una supplementazione di *Asc.* nella dieta giornaliera potrebbe ridurre il numero di enterobatteri patogeni. In base a tale osservazione sarebbe possibile testare l'efficacia dell'alga come "antimicrobico naturale" in alternativa agli antibiotici utilizzati negli allevamenti di animali con uno stato di salute sub-ottimale o in scarse condizioni igieniche o esposti a patogeni quali *E.coli* o *S.Typhimurium*. Quanto alla regolazione metabolica, Hall et al. (71) hanno eseguito uno studio pilota, somministrando a 12 uomini sani (età: 18-65 anni) in sovrappeso (BMI ≥ 25 kg/m²) una colazione a base di uova e pane arricchito di estratto algale (20 g) per 3 gg. I tests (BodyStat 1500®, TFEQ-R18) eseguiti prima e dopo il trattamento hanno mostrato una significativa diminuzione ($p=0.007$) dell'apporto calorico ed un ritardo ($p=0,055$) del senso di fame (76 minuti dopo) dei soggetti che hanno consumato *Asc.* rispetto al pre-trattamento.

Asc.: Azione antitumorale

Linee cellulari umane HS-Sultan di linfoma sono state incubate, per 48h, con fucoidano a diverse concentrazioni (0, 100, 1000 µg/mL) (72). I saggi (FACS, MTT, Caspasi-3, Western Blot) hanno mostrato, con l'aggiunta di 100 µg/mL del polisaccaride nelle linee cellulari: un incremento tempo dipendente della frazione sub-G1 (0h=1.1%, 24h=4%, 36h=28.7%, 48h=89%) e dell'espressione della Caspasi-3 (9,2 e 37,7% a 24 e 48h, rispettivamente) nonché una diminuzione della fosforilazione dell'enzima glicogeno sintasi chinasi (GSK, inibitore specifico della Caspasi-3). Tali risultati hanno evidenziato che il polisaccaride induce direttamente l'apoptosi cellulare attraverso l'attivazione della Caspasi-3 e la riduzione del potenziale mitocondriale a 24 h dal trattamento con fucoidano. Uno studio *in vivo/vitro*, invece, è stato condotto da Jiang et al. (73): 18 topi maschi portatori di sarcoma-180 sono stati suddivisi in due gruppi: 8 hanno assunto 500 mg/kg/die *Asc.* per via orale; e 10 hanno assunto 50 mg/kg/die *Asc.* per via intra-peritoneale. Gli esami biochimici (HPLC, ELISA) hanno mostrato un significativo ($p<0,05$) aumento dei livelli del TNF α e dell'interleuchina-12 (IL-12) ed una riduzione delle sezioni tumorali ($68,7\pm 6,8\%$ e $42,4\pm 24,8\%$, $41,4\pm 16,1\%$ e $25,8\pm 26,8\%$ rispettivamente nei gruppi 1-2). Tali risultati ipotizzano il potenziale utilizzo antitumorale dell'*Asc.*, dovuto all'azione immuno-modulatoria delle cellule NK, presenti in concentrazione leggermente più elevata nel gruppo dei topi alimentati per via orale.

Asc.: Azione sul diabete e sulla coagulazione

50 topi maschi con diabete di tipo II indotto da streptozotocina (110 mg/kg), per via endovenosa sono stati suddivisi in 5 gruppi (n=10/cadauno): 1) controllo, 2) diabetico non trattato, 3) nutrito con polifenoli estratti dall'Asc. (200 mg), 4) nutrito con una frazione polifenolica purificata (28 g), 5) nutrito con Ascophyllan (200 mg/kg), 6) nutrito, con l'antidiabetico metformina (250 mg/kg); per 4 settimane (74). Gli esami biochimici su campioni di siero hanno mostrato una significativa riduzione ($p<0,05$) del livello di glucosio nei gruppi 3-4 a partire dal 14esimo giorno e del livello di colesterolo totale nei gruppi 2-3-4 ($1,93 \pm 0,22$ mmol/L, $1,99 \pm 0,24$ mmol/L e $2,00 \pm 0,14$ mmol/L, rispettivamente). Dagli esami istopatologici sul fegato è stata osservata una normalizzazione del livello di glicogeno ($6,49 \pm 1,6$ mg/g) nel gruppo 3, mentre negli altri gruppi non sono stati riscontrati significativi risultati. I polifenoli (tra i quali florotannini, responsabili dell'inibizione dell' α -glucosidasi) contenuti in quest'alga potrebbero ridurre il rischio di diabete in soggetti intolleranti al glucosio. Riguardo l'azione anti-coagulante e anti-trombotica, Mauray et al. (75) hanno effettuato uno studio in *vivo/vitro*, iniettando, per via endovenosa, il fucooidano ($3,75 \mu\text{g}/\text{ml}$) su 20 conigli, 10 minuti prima dell'induzione di trombosi. Una dose di $1,8$ mg/kg di fucooidano ha inibito (dell'80%) la formazione di trombi (stesso effetto osservato ad una dose di $0,1$ mg/kg di eparina) ed ha avuto una durata maggiore rispetto all'eparina (30 e 15 minuti rispettivamente). Il tempo di trombina (TCT, test del fattore di coagulazione del sangue) è stato significativamente prolungato (73 sec = Asc., 53 sec. = eparina, 29 sec = controllo, rispettivamente), confermando, di conseguenza, un possibile utilizzo del fucooidano come farmaco antitrombotico.

Lithothamnion (Lith.)

Il *Lith.* è un'alga rossa, nota anche come *Phymatolithon calcareum* (Pallas), originaria della costa sud-occidentale dell'Irlanda e della costa nord-occidentale dell'Islanda. Contiene sostanze minerali, (tra cui il Calcio e Magnesio, componenti principali), vitamine e aminoacidi (Tab. 8).

Lith.: Prevenzione osteoporosi

43 topi C57BL/6 (21 maschi e 22 femmine di 3-4 settimane d'età) sono stati suddivisi in 3 gruppi (n: 11, 15, 17/cadauno), alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi (4,76% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati), una dieta iperlipidica arricchita di *Lith.* (4,49% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati ed estratto algale) e con una dieta standard (3,9% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati), rispettivamente (76). Dopo 15 mesi di trattamento sono stati eseguiti sia esami immunochimici (TRAP5b, PiNP, osteocalcina) su campioni di plasma che istopatologici (micro-CT) su tessuto *ex vivo* di femore e tibia. I risultati hanno mostrato che il primo gruppo ha manifestato una riduzione nella mineralizzazione della matrice cartilaginea a livello corticale ($1,45 \pm 0,22$) e del volume osseo ($0,02 \pm 0,01$) a livello trabecolare, il secondo gruppo, invece, alimentato con una dieta a base algale ha migliorato la struttura ossea ($4,56 \pm 0,39$) a livello corticale, manifestando elevati livelli di fosfatasi acida tartrato resistente (TRAP) pari a 20 ng/ml e di peptide ammino-terminale

del collagene di tipo 1 (P1NP) pari a 25 ng/ml rispetto agli altri gruppi 1 e 3 (9 e 11 ng/ml e 21 e 20 ng/ml rispettivamente). Tale dato è interessante per possibili sviluppi clinici su questo principio attivo.

Lith.: Azione antitumorale

5 linee cellulari umane con carcinoma al colon (CBS, Moser, Fet, HCT-116, SW480) sono state trattate con estratto (0,6 mg/ml) ed incubate a 37°C per 3gg (77). I tests (Immunoblot, immunofluorescenza) hanno mostrato che l'estratto (corrispondente approssimativamente a $1,4$ mM Ca^{2+}) inibisce la crescita di 4/5 linee cellulari, con valori più alti nella linea cellulare HCT-116 (70%) e più bassi nella linea cellulare SW480 (28%). L'alga contiene anche un elevato livello di Mg^{2+} ($3,15$ g/mg), onde il modificato bilancio Ca^{2+} : Mg^{2+} potrebbe giocare un ruolo nel meccanismo citostatico.

Chondrus (Chond.)

Chond. detta anche *Carrighenani* o muschio d'Irlanda o lichene, è un'alga rossa, originaria del Nord Atlantico. È la principale fonte di carragenina (λ e κ -carragenina), costituita da legami glicosidici α -1,3 e β -1,4 di unità di D-galattosio e 3,6-anidro-L-galattosio (3,6-AG) (Tab.9). Ciò che differenzia la carragenina dagli altri polisaccaridi è il numero (15-40%) e la posizione dei gruppi solfati. È stata dimostrata una correlazione tra il contenuto di solfati della λ -carragenina e un'elevata attività antiossidante, ipotizzando il consumo del polisaccaride per prevenire lo stress ossidativo (78). Alcuni tipi di carragenina (λ e κ -carragenina) inducono una potente attivazione dei macrofagi, con conseguente aumento di citochine ad attività pro-infiammatoria, mentre altre ne controllano l'attività fagocitaria (79). L'efficacia della carragenina nelle varie applicazioni terapeutiche dipende, fondamentalmente, dalle sue proprietà reologiche (alta viscosità e basso peso molecolare). È ampiamente utilizzata come alimento additivo nei prodotti lattiero-caseari (crema di formaggio, latte scremato, ricotta, yogurt) e nei dessert (creme, gelati, frullati) (80).

Chond.: Azione immuno-modulatoria

Liu et al. (81) hanno effettuato uno studio in *vivo/vitro* per dimostrare l'effetto immunitario della carragenina su un organismo modello di *Caenorhabditis elegans* (verme nematode) infettato con un ceppo PA14 di *Pseudomonas aeruginosa*. 100 vermi, infettati con il ceppo PA14, sono stati coltivati in un terreno di coltura adatto (NGM), trattati con *Chond.* a diverse concentrazioni (0, 250, 500, 750 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ed incubati a 37°C per 8 h. Le prove (determinazione proteasi totale, proteasi alcalina, elastasi, acido cianidrico, ficocianina, sideroforo) hanno evidenziato che il *Chond.* inibisce l'espressione trascrizionale "quorum sensing" della *Pseudomonas a.* ed induce la risposta immunitaria mediante l'attivazione di 14 geni (irg-1, irg-2, F49F1.6, hsf-1, K05D8.5, F56D6.2, C29F3.7, F28D1.3, T20G5.7, F38A1.5, ZK6.7, lys-1, spp-1, abf-1), riducendo la possibilità di morte del nematode del 28%. Questo studio su modello animale suffraga l'ipotesi di azione immuno-modulatoria del *Chond.*, ma richiede studi più approfonditi sul meccanismo d'azione.

Tabella 8. Profilo nutrizionale di Lithothamnion (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	0,60 g
	Lipidi	1,30 g
	Fibre	0,2 g
	Proteine	2,20 g
Minerali	Calcio	32,6 g
	Potassio	0,022 g
	Magnesio	3,15 g
	Sodio	0,013 g
	Fosforo	0,40 g
	Silicio	2,5 g
Acidi grassi	Omega-3	125,1 mg
	Omega-6	320,9 mg
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,86 g
	Leucina	0,35 g
	Lisina	0,85 g
	Metionina	0,054 g
	Fenilalanina	0,124 g
	Treonina	0,112 g
	Triptofano	0,0321 g
	Valina	0,123 g
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,123 g
	Arginina	0,09 g
	Acido aspartico	0,287 g
	Cisteina	0,052 g
	Istidina	0,032 g
	Acido glutammico	0,320 g
	Glicina	0,122 g
	Prolina	0,143 g
	Serina	0,09 g
Tirosina	0,023 g	
Vitamine	Vitamina B1	0,02 mg
	Vitamina B2	0,054 mg
	Vitamina B3	9,8 mg
	Vitamina B9	43,2 μg
	Vitamina B12	0,054 μg
	Vitamina C	6,92 mg
	Vitamina E	1,50 mg

Tabella 9. Profilo nutrizionale di Chondrus (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	5,80 g
	Lipidi	1,60 g
	Fibre	65,60 g
	Proteine	3,30 g
Minerali	Calcio	0,10 g
	Potassio	0,018 g
	Magnesio	0,4 g
	Sodio	0,009 g
	Fosforo	0,50 g
Acidi grassi	Omega-3	122,1 mg
	Omega-6	300,9 mg
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,81g
	Leucina	0,20 g
	Lisina	0,78 g
	Metionina	0,032 g
	Fenilalanina	0,112 g
	Treonina	0,105 g
	Triptofano	0,0306 g
	Valina	0,116 g
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,121 g
	Arginina	0,04 g
	Acido aspartico	0,284 g
	Cisteina	0,048 g
	Istidina	0,028 g
	Acido glutammico	0,317 g
	Glicina	0,121 g
	Prolina	0,132 g
	Serina	0,06 g
	Tirosina	0,021 g
Vitamine	Vitamina B1	0,04 mg
	Vitamina B2	0,056 mg
	Vitamina B3	9,5 mg
	Vitamina B9	43,1 μg
	Vitamina B12	0,049 μg
	Vitamina C	6,80 mg
Vitamina E	1,30 mg	

Chond.: Azione antitumorale

Cellule tumorali H-22 sono state impiantate in 65 topi ICR e dopo 24h, gli autori hanno somministrato per via orale una miscela di λ -carragenina (PC-4) e dell'agente chemioterapico antitumorale fluorouracile (5-fu), a diverse concentrazioni per 7gg (82). I topi sono stati randomizzati in 6 gruppi alimentati con dieta standard (controllo), dieta arricchita di 25 mg/kg⁻¹ di 5-fu, dieta arricchita di 100 mg/kg⁻¹ di PC4, dieta arricchita di 50mg/kg⁻¹ di PC4, dieta contenente 100 + 25 mg/kg⁻¹ (PC4 e 5-fu rispettivamente), dieta contenente 50 + 25mg/kg⁻¹ (PC4 e 5-fu rispettivamente). È stato riportato che la λ -carragenina aumenta l'attività antitumorale del 5-fu, con un'elevata proliferazione dei linfociti nei gruppi 5-6 alimentati con la miscela. Gli stessi autori (83) hanno eseguito uno studio simile per studiare l'azione antitumorale della λ -carragenina a diverso peso molecolare (9, 3, 15 kDa). Altri tipi di tumore ceppo S180 e H22 sono stati impiantati in 70 topi ICR, successivamente alimentati con carragenina estratta dal *Chond.* (200 mg/kg⁻¹/die) per 7gg. I risultati hanno evidenziato che i livelli di attività delle cellule NK e dei linfociti dei gruppi nutriti con la biomassa algale sono significativamente più alti rispetto a quelli del controllo. La carragenina ha quindi azione antitumorale con danno cellulare immuno-polisaccaride-mediato.

Hundaria (Hund.):

L'alga *Hund.*, nota come alga *Wakame*, è un'alga bruna originaria dei mari giapponesi. Dal profilo nutrizionale (Tab. 10), è possibile osservare l'elevato contenuto (196 μ g) di acido folico, nonché di calcio, magnesio e ferro. È la principale fonte di acido alginico, un polimero composto da acido D-mannuronico e L-galuronico, strutturalmente simile alla pectina. È presente nel settore nutraceutico in forma di fogli essiccati, usati nella preparazione di sushi, stufati ed insalate.

Hund.: Azione anticoagulante

20 volontari sani di entrambi i sessi (età: 23-58 anni) sono stati reclutati per uno studio pilota, randomizzati in due gruppi (n=10/cadauno) ed alimentati con 3 capsule/die a base di legumi (3g), controllo, con 3 capsule/die contenenti fucoidano (3 g) estratto dall'*Hund.*, per 12gg (84). I tests sulla coagulazione (Berichrom Antitrombina III[®], Dade Actin FSL, Liquid Anti-Xa) eseguiti su campioni di plasma prima e dopo il trattamento hanno mostrato un significativo aumento (p=0,01) del tempo parziale di tromboplastina attivata (a-PTT) (da 28,41 mg/l a 34,01mg/l, rispettivamente) e del livello di anti-trombina III (AT-III) (da 113,5% a 117% dopo 4gg di trattamento) nel gruppo 2; nonché una riduzione (p=0,04) del tempo di coagulazione della trombina (TT). Il fucoidano estratto dall'alga ha quindi una modesta ma significativa azione anticoagulante, da tenere presente tra i side effects cumulativi negli utenti abituali di tale alimento.

Hund.: Azione anti-ipertensiva

24 ratti con moderata ipertensione (pressione sistolica >160 mmHg) sono stati suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno) e trattati ognuno, per via gastrica, con uno dei 4 peptidi inibitori dell'enzima di conversione dell'Angiotensina-II, dipeptil-carbossipeptidasi (ACE, 10mg/die/kg peso corporeo di Tyr-His, Lys-Tyr, Phe-Tyr e Ile-Tyr) estratto dall'alga *Hund.* (60 g) per 7 gg. La misurazione della pressione sistolica e diastolica (strumento UR-5000[®], Eda Co.,Tokyo) eseguita all'inizio ed ogni 3h fino al termine del trattamento, ha mostrato una significativa riduzione della pressione del sangue (p<0,01 e p=0,05 per la pressione sistolica e diastolica, rispettivamente). Questo studio sperimentale (85) indirizza ad un possibile utilizzo anti-ipertensivo del composto.

Gracilaria (Grac.):

Grac. è un'alga rossa, originaria della Malesia e Tailandia, rappresenta la principale fonte di "agar-agar" (36%), un polisaccaride usato come gelificante naturale, chimicamente strutturato come polimero costituito da unità di D-galattosio (Tab.11). Esso ha un alto contenuto in mucillagini (65%) e carragenina ed è impiegato nella preparazione di dessert nonché in microbiologia nella preparazione di terreni di coltura per batteri e miceti.

Grac.: Azione epatoprotettiva

24 ratti albini Wistar maschi con epatotossicità indotta da aflatoxina B₁ (AFB1) prodotta da *Aspergillus parasiticus*, sono stati suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno) e trattati con

una dieta standard (controllo), con AFB1, con AFB1 e *Grac.* (250 mg/kg⁻¹) e con AFB1 e silimarina, miscela epatoprotettiva (silibina, silidianina, silicristina) estratta dalla pianta *Silybum marianum* (100 mg/kg⁻¹), rispettivamente per 30 gg (86). Gli esami biochimici su campioni di siero hanno evidenziato una significativa (p<0,05) riduzione del valore delle transaminasi (SGOT-SGPT), LDH e fosfatasi alcalina (ALP) nel gruppo 3 rispetto al gruppo 2 non trattato.

Grac.: Azione antinfiammatoria ed antinocicettiva

L'azione antinfiammatoria e antinocicettiva dei polisaccaridi solforati è stata approfondita (87) su 36 topi maschi Swiss e Wistar, i quali sono stati trattati inizialmente, per via sottocutanea, con un antinfiammatorio corticosteroide "dexametasona" (1 mg/kg) e 1h dopo con carragenina (700 μ g/ml) diluita in soluzione salina, che è stata iniettata sotto cute nella zampa posteriore dei ratti al fine di indurre una reazione infiammatoria acuta con comparsa di edema. Successivamente i topi sono stati randomizzati in 6 gruppi: 1) controllo, 2-3) trattati con farmaci analgesici: morfina e indometacina (5 mg/kg cadauno), rispettivamente; 4-5-6) con *Grac.* a diverse concentrazioni (3, 9, 27 mg/kg, rispettivamente). I tests nocicettivi (Hot-Plate[®], Writhing, Formalin) che misurano la latenza delle risposte comportamentali a stimoli nocivi quali fonte di calore, sostanze chimiche (acido acetico, formaldeide) hanno mostrato un significativo (p<0,05) punteggio nei gruppi 4-5-6, evidenziando un'elevata azione antinocicettiva della *Grac.* È stata osservata anche una riduzione dell'edema indotto da carragenina nei gruppi 2 e 3 (47,0% e 66,6%, rispettivamente), già a 3h dal trattamento. La stimolazione con agenti chimici determina il rilascio di mediatori (istamina, serotonina, citochina, prostaglandine) e potremmo ipotizzare che l'effetto antinocicettivo della *Grac.* sia probabilmente correlato all'inibizione di tali mediatori. Allo stesso modo i risultati ottenuti dal test sulla piastra riscaldante sono probabilmente correlati ai recettori di attivazione degli oppioidi (μ , κ e σ) e/o ad un aumento degli oppiacei endogeni (endorfine), indicando un'interazione tra l'alga e il sistema oppioide, di grande interesse nell'area del dolore ove vi è una continua richiesta di nuovi composti a limitata tossicità.

Grac.: Azione antiastenica

40 topi Kunming, in una prova sperimentale (88), sono stati randomizzati in 4 gruppi (n=10/cadauno) ed a 3 di questi è stata somministrata *Grac.* a diverse concentrazioni (20, 40, 80 mg/kg, rispettivamente), per 30 gg. Gli esami biochimici su campioni di sangue hanno confermato un significativo (p<0,05) aumento del valore LDH, del livello di glicogeno e della concentrazione di glucosio, nonché una riduzione di acido lattico rispetto al controllo. I tests molecolari (qPCR, Western Blot), hanno, inoltre, evidenziato un significativo (p<0,01) aumento dell'espressione genica di GLUT4 e AMPK nei gruppi trattati. In conclusione possiamo affermare che *Grac.* eserciti un'azione antiastenica nei topi, determinata da una regolazione dei geni GLUT4 e AMPK (fondamentali nel trasporto energetico) e da un aumento della concentrazione di glicogeno, che durante l'attività fisica rappresenta la principale fonte di energia per le cellule muscolari, ottenuta dalla conversione, a livello epatico, del glicogeno in glucosio che viene successivamente trasportato nel sangue.

Laminaria (Lam.):

Lam. detta anche *kombu* o *Haidai* o *Kelp*, è un'alga rossa originaria della Cina e del Giappone e nota per il suo contenuto di alginati e fucoidani (38%) che hanno proprietà antinfiammatorie e antiossidanti (Tab.12). È presente in commercio, sotto forma di fogli essiccati, per il trattamento di stress, obesità e insonnia.

Lam.: Studio sull'efficacia di una combinazione dell'alga con prebiotico

49 topi Balb/c con colite ulcerosa indotta, per via orale, da Sodio Destrano Solfato (DSS, 5% disciolto in acqua) sono stati randomizzati in 7 gruppi (n=7/cadauno): 1) controllo; 2-3) nutriti, per via orale, con estratto algale (100 e 300 mg/kg, rispettivamente); 4) con 300 mg/kg di miscela di tre Lactobacilli (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*) definita "DUO"; 5-6) con la combinazione di *Lam.* (100 e 300 mg/kg) + DUO (300 mg/kg); 7) gruppo non trattato; per 7gg (89). Gli esami biochimici hanno mostrato una significativa riduzione del livello di IL-1 β (p<0,001) nei gruppi 3 e 4 rispetto al controllo; di IL-6 ed interleuchina-17 (IL-17) (p<0,05) nei gruppi 2-4-5-6, nonché dell'IL-12 (p<0,05) nel gruppo 6 rispetto al controllo e del TNF- α (p<0,05) nei gruppi 3-6 rispetto sempre al controllo. Dall'esame endoscopico, è stato osservato una riduzione dell'edema della mucosa intestinale nei topi dei gruppi 5-6 rispetto agli altri gruppi. L'analisi istologica di una sezione di colon ha confermato un miglioramento (p<0,01) della superficie epiteliale e delle ghiandole intestinali (cripte di Lieberkuhn) nei gruppi 3-5-6 rispetto al controllo. Da questo studio sperimentale, possiamo dedurre l'efficienza di una combinazione algalactobacilli in processi infiammatori, con conseguente riduzione di citochine infiammatorie e dei sintomi clinici (edema, presenza di sangue nelle feci), si potrebbe quindi approfondire tale effetto in studi clinici su pazienti con patologie infiammatorie intestinali (IBD) quali appunto colite ulcerosa, morbo di Crohn.

Lam: Azione di controllo dell'aumento di peso corporeo

Jang et al. (90) hanno studiato l'azione della *Lam.* su 36 ratti Sprague-Dawley con obesità indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi e suddivisi in 6 gruppi (n=6/cadauno): 1) alimentato con una dieta standard (11,5% di grassi), 2) dieta iperlipidica (45% di grassi), 3-4-5) dieta iperlipidica + *Lam.*, estratta con etanolo, a diverse concentrazioni (100, 200 e 400 mg/kg, rispettivamente), 6) dieta iperlipidica + catechine (100 mg/kg) estratte dal tè verde. Dopo un trattamento di 6 settimane, è stata registrata una riduzione (47%) del peso corporeo dei ratti dei gruppi 5-6 rispetto al gruppo non trattato. Gli esami biochimici su campioni di plasma hanno mostrato una riduzione (39,6%, 38,1%, 85,5%, e 27,2%, rispettivamente) dei valori di trigliceridi, colesterolo totale, LDL ed acidi grassi ed un aumento (65,7%) del livello di HDL; nei ratti del gruppo 5 rispetto al primo gruppo. Gli esami molecolari (rtPCR, Western Blot), su sezioni *ex vivo* di tessuto epatico, muscolare scheletrico ed adiposo, hanno confermato un aumento dell'espressione genica dell'enzima PPAR α , coinvolto nella lipogenesi del tessuto adiposo, ed una riduzione dell'espressione genica di ACC2, inibitore dell'ossidazione degli acidi grassi nel tessuto muscolare scheletrico.

Il calo di peso potrebbe essere dovuto all'azione della *Lam.* sull'espressione genica di enzimi importanti nella regolazione del metabolismo lipidico, con aumento di quelli deputati all'ossidazione dei grassi e una diminuzione di quelli deputati alla sintesi dei trigliceridi, tuttavia sono necessari ulteriori studi sia preclinici che clinici.

Tabella 10. Profilo nutrizionale di *Hundaria* (quantitativo per 100 gr).

Macronutrienti	Carboidrati	9,14 g
	Lipidi	0,64 g
	Fibre	0,5 g
	Proteine	3,03 g
Minerali	Calcio	150 mg
	Magnesio	107 mg
	Sodio	872 mg
	Fosforo	80 mg
	Ferro	2,18 mg
	Zinco	0,38 mg
	Manganese	1,4 mg
Vitamine	Vitamina B1	0,06 mg
	Vitamina B2	0,23 mg
	Vitamina B3	1,6 mg
	Vitamina B5	0,697 mg
	Vitamina B9	196 μ g
	Vitamina C	3 mg
	Vitamina E	1 mg
	Vitamina K	5,3 μ g

Tabella 11. Profilo nutrizionale di *Gracilaria* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	5,80 g
	Lipidi	1,60 g
	Fibre	65,60 g
	Proteine	3,30 g
Minerali	Calcio	651 mg
	Ferro	95,6 g
	Potassio	0,018 g
	Magnesio	0,4 g
	Sodio	0,009 g
	Fosforo	0,50 g
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,45 mg
	Leucina	0,65 mg
	Lisina	0,28 mg
	Fenilalanina	0,55 mg
	Treonina	0,56 mg
	Valina	0,52 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,64 mg
	Arginina	0,72 mg
	Acido aspartico	0,82 mg
	Acido glutammico	0,93 mg
	Glicina	0,6 mg
	Prolina	0,43 mg
	Serina	0,55 mg
	Tirosina	0,32 mg
Vitamine	Vitamina B3	2,9 mg
	Vitamina B8	32 µg
	Vitamina D	2 µg
	Vitamina E	0,5 mg

Tabella 12. Profilo nutrizionale di *Laminaria* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	24 g
	Lipidi	1,1 g
	Fibre	33,2 g
	Proteine	8,7 g
Minerali	Calcio	800 mg
	Potassio	4600 mg
	Magnesio	700 mg
	Fosforo	120 mg
	Sodio	2300 mg
	Manganese	0,4 mg
	Ferro	5,9 mg
	Zinco	3,9 mg
	Iodio	433 mg
	Amminoacidi essenziali	Isoleucina
Leucina		0,43 mg
Lisina		0,24 mg
Metionina		0,70 mg
Fenilalanina		0,43 mg
Treonina		0,82 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,50 mg
	Arginina	0,67 mg
	Acido aspartico	0,78 mg
	Cisteina	0,85 mg
	Istidina	0,9 mg
	Acido glutammico	0,32 mg
	Glicina	0,34 mg
	Prolina	0,27 mg
	Serina	0,47 mg
	Tirosina	0,58 mg
Vitamine	Vitamina B3	2,9 mg
	Vitamina B8	32 µg
	Vitamina D	2 µg
	Vitamina E	0,5 mg

Asparagopsis (Aspar.)

L'alga *Aspar.* è un'alga rossa, originaria dell'Oceano Atlantico, distinta in due specie: *A. taxiformis* ed *armata*. È la principale fonte di polisaccaridi (glucomannano e chitosano) che hanno proprietà antibatteriche, ma ha anche un elevato contenuto di sali minerali, principalmente magnesio (Tab. 13).

Aspar.: Azione antibatterica

In uno studio *in vivo* (91), l'estratto algale è stato somministrato, per via orale, a 40 crostacei decapodi marini "*Penaeus monodon Fabricius*" con vibriosi indotta da 4 specie di Vibrioni: *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* e *Photobacterium damsela*, ($5 \times 10^2 + 5 \times 10^3$ CFU/cadauno) e suddivisi in 4 gruppi (n=10/ca): alimentati con 285, 575, 850, 1150 mg/kg⁻¹ di *Aspar.*, rispettivamente per 21-35-27 e 43 gg. I tests statistici (% di mortalità, % indice di sopravvivenza-PSI-), hanno mostrato una significativa riduzione (13,25%) dell'infezione nei gruppi 1-2-3-4 rispetto al controllo, nonché un significativo aumento (80,9%) dell'indice PSI nel gruppo 4 rispetto agli altri gruppi. Possiamo dedurre che il dosaggio moderato (850 mg/kg⁻¹) di *Aspar.* sia ottimale nel trattamento di infezioni da Vibrioni nei crostacei, ipotizzando un possibile ruolo dell'alga nell'allevamento di tali specie ittiche utilizzate principalmente nella cucina asiatica ma esportate anche in Europa e USA.

Eisenia (Eis.)

L'alga *Eis.*, detta anche "arame", è un'alga bruna, originaria della Penisola di Ise Shima (Giappone). Dalla tabella 14, si evince che l'alga ha un elevato contenuto di sali minerali (iodio e calcio) e di polisaccaridi (florotannini). È utilizzata nella cucina vegana, principalmente nella preparazione di tofu, tempeh.

Eis.: Studio di efficacia sugli agenti patogeni di acne vulgaris

4 colture batteriche di *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Propionibacterium acnes* (KCTC1927, KCTC1370, KCTC1637, KCTC3314) sono state trattate con *Eis.* (200 mg/mL⁻¹) estratta con metanolo (MeOH, 10Lx3) e frazionata con i solventi exano, diclorometano, acetato di etile ed n-butanol, rispettivamente (92). Dopo un periodo di incubazione a 37°C per 24h, il test *in vitro* di sensibilità ed efficacia (Test di Kirby-Bauer) ha mostrato un'attività antibatterica dell'estratto frazionato con acetato di etile (EtoAc) per *S. aureus* ed *epidermidis* (alone di 10 mm a 1 mg per disco, alone di 16-20 mm a 5 mg per disco, rispettivamente). È stato anche osservato che l'estratto EtoAc ha inibito la crescita di *P. acnes* ad un'identica concentrazione MIC (concentrazione minima inibitoria) e MBC (concentrazione minima battericida) di 128 µg/mL⁻¹. Tali risultati possono essere dovuti all'azione dei polifenoli (florotannini) predominanti nell'estratto frazionato con etilacetato. Mancano totalmente studi *in vivo* sull'azione battericida nella dermatologia acneica.

Sargassum (Sarg.)

Sarg. (Sargasso) nota come alga Hijiki, è un'alga bruna, appartenente alla classe Phaeophyceae ed originaria del Mar di Sargassi, da cui prende il nome. Il colore marrone è dovuto all'elevato contenuto di xantofille (fucoxantina). È la principale fonte di sali minerali (calcio, magnesio) (Tab. 15).

Tabella 13. Profilo nutrizionale di *Asparagopsis* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	76 g
	Lipidi	3 g
	Fibre	33,2 g
	Proteine	37 g
Minerali	Magnesio	500 mg
	Calcio	8000 ppm
	Fosforo	800 mg
	Sodio	300 mg
	Manganese	155 ppm
	Ferro	350 ppm
	Zinco	3 ppm
	Iodio	550 ppm
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	0,34 mg
	Leucina	0,26 mg
	Lisina	0,15 mg
	Metionina	0,50 mg
	Fenilalanina	0,39 mg
	Treonina	0,65 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	0,30 mg
	Arginina	0,47 mg
	Acido aspartico	0,67 mg
	Cisteina	0,78 mg
	Istidina	0,6 mg
	Acido glutammico	0,32 mg
	Glicina	0,28 mg
	Prolina	0,23 mg
	Serina	0,35 mg
	Tirosina	0,58 mg
Vitamine	Vitamina B3	85 ppm
	Vitamina B6	106 ppm
	Vitamina B12	10 ppm
	Vitamina C	998 ppm
	Vitamina E	1,55 ppm

Tabella 14. Profilo nutrizionale di *Eisenia* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	6,14 g
	Lipidi	0,42 g
	Fibre	0,7 g
	Proteine	4,20 g
Minerali	Calcio	200 mg
	Magnesio	120 mg
	Sodio	598 mg
	Fosforo	60 mg
	Ferro	1,97 mg
	Zinco	0,23 mg
	Manganese	1,05 mg
	Iodio	15 mg
Vitamine	Vitamina B1	0,02 mg
	Vitamina B2	0,10 mg
	Vitamina B3	1,2 mg
	Vitamina B5	0,54 mg
	Vitamina B9	172 mg
	Vitamina C	1,5 mg
	Vitamina E	1 mg
	Vitamina K	3,2 µg

Sarg.: Azione antiossidante

54 ratti albini maschi sono stati randomizzati in 9 gruppi (n=6/cadauno) alimentati con 1) una dieta normale, controllo; 2) una dieta iperlipidica (1% di colesterolo +0.2% acidi biliari) al fine di indurre ipercolesterolemia, 3) una dieta ricca di grassi; 4-5-6) una dieta contenente grassi e l'alga rossa *Aspar.*, per via gastrica, (400-600-800 ppm/kg peso corporeo), rispettivamente; 7-8-9) una dieta ricca di grassi e di *Sarg.*, per via gastrica, (400-600-800 ppm/kg peso corporeo), rispettivamente (93). Gli esami biochimici su campioni di sangue e siero, eseguiti dopo un trattamento di 10 settimane, hanno evidenziato una significativa ($p<0.05$) riduzione del valore di colesterolo totale, di LDL nei gruppi nutriti con gli estratti algali *Aspar.* e *Sarg.*, nonché un aumento del livello HDL particolarmente nei gruppi 5 e 8 (24.87 ± 0.35 e 25.71 ± 0.78 mg/dl, rispettivamente). Questo studio sperimentale conferma l'azione antiossidante di due alghe marine, probabilmente dovuta all'azione dei polisaccaridi (fucooidani) e dei polifenoli.

Sarg.: Studio sperimentale sul diabete di tipo II

Motshakeri et al. (94) hanno studiato l'azione del *Sarg.* su 42 ratti Sprague-Dawley maschi, di cui 36 con diabete di tipo 2, indotto da una dieta ricca di carboidrati raffinati con elevato indice glicemico e di grassi saturi, somministrata per 16 settimane, e da streptozotocina (35 mg/kg), iniettata per via intraperitoneale. I ratti sono stati suddivisi in 6 gruppi (n=6/cadauno), di cui il primo funge da controllo non trattato e gli altri trattati con 150 mg/kg⁻¹ di *Sarg.* estratto con etanolo, con 300 mg/kg⁻¹ di *Sarg.* estratto con etanolo, con 150 mg/kg⁻¹ di *Sarg.* estratto con acqua, con 300 mg/kg⁻¹ di *Sarg.* estratto con acqua, con il farmaco metmorfin (250 mg); per 22 gg (una volta al die). Gli esami su campioni di sangue e su tessuto *ex vivo* di pancreas, fegato e rene hanno confermato una significativa ($p<0.05$) riduzione del valore di glucosio nei gruppi 2-3-4-5 rispetto al controllo e della percentuale di cellule danneggiate nei gruppi 2-4-6 rispetto al gruppo non trattato. I gruppi 3 e 5, invece, pur manifestando un significativo miglioramento a livello pancreatico, hanno sviluppato delle moderate lesioni a livello renale ed epatico. Possiamo ipotizzare, dunque che l'estratto algale a basso dosaggio (150 mg/kg⁻¹) abbia un'azione protettiva a livello renale, epatico e pancreatico nei ratti con diabete, probabilmente associata ai polisaccaridi solfati (fucooidani) presenti nel suo profilo nutrizionale. Al contrario, un elevato dosaggio (300 mg/kg⁻¹) di *Sarg.* potrebbe essere tossico sia per i reni che per il fegato.

Sarg.: Azione antitumorale

De Sousa et al. (95) hanno impiantato, sotto cute, linee cellulari tumorali di sarcoma 180 (5×10^5 cell/500 µl) in 185 topi Swiss femmine e somministrato, dopo 24h, per via intraperitoneale o orale, alginati estratti da *Sarg.* a bassa (5,26 dL/g) ed alta (9,10 dL/g) viscosità o l'agente chemioterapico antitumorale fluorouracile (5FU). I topi sono stati randomizzati in 9 gruppi: 1) trattato con 5FU (25 mg/die); 2-3-4-5) trattati, per via orale e per via intraperitoneale, con alginati a bassa viscosità (50 e 100 mg/die, rispettivamente); 6-7-8-9) trattati, per via orale e per via intraperitoneale, con alginati ad alta viscosità (50 e 100 mg/die, rispettivamente), per 7 gg. È stato riportato, dagli esami istopatologici su sezioni di tessuto *ex vivo* di fegato, milza e reni, che la somministrazione per via orale di entrambi gli alginati inibisce la crescita del sarcoma 180 (51,8%, 74,8%, 66,2%, 88,8% nei gruppi 2-4-6-8, rispettivamente). Il trattamento con estratto algale (gruppi 2-5-6-9) ha comportato, tuttavia, una significativa ($p<0,05$) alterazione del volume degli organi (reni, fegato e milza) rispetto al gruppo 9, confermando la tossicità dell'alga ad alto dosaggio. I risultati mostrano dunque una significativa azione antitumorale del *Sarg.*, probabilmente dovuta all'attività immuno-modulatoria degli alginati, ma evidenziano anche l'effetto tossicologico dell'estratto ad alte dosi.

Conclusioni

Il principale obiettivo delle ricerche sui "functional foods" consiste nell'identificare la correlazione causale tra uno specifico alimento e il beneficio sulla salute, basata su studi *in vitro* su linee cellulari, modelli animali e studi clinici umani. Di conseguenza, è necessario approfondire estensivamente la conoscenza individuale e complessiva dei principi attivi per ogni componente nutrizionale e le basi biochimiche e fisiopatologiche degli squilibri metabolici o delle vere e proprie malattie che tali composti naturali sono in grado di mo-

Tabella 15. Profilo nutrizionale di *Sargassum* (quantitativo per 100 gr)

Macronutrienti	Carboidrati	57 g
	Lipidi	24 g
	Fibre	17 g
	Proteine	17 g
Minerali	Potassio	3670 mg
	Magnesio	760 mg
	Calcio	7760 mg
	Fosforo	200 mg
	Sodio	74 mg
	Manganese	0,0060 mg
	Zinco	0,0020 mg
	Iodio	550 ppm
Amminoacidi essenziali	Isoleucina	22,8 mg
	Leucina	56,4 mg
	Lisina	27,2 mg
	Metionina	10,7 mg
	Fenilalanina	13,4 mg
	Treonina	16 mg
	Valina	21,8 mg
Amminoacidi non essenziali	Alanina	53,64 mg
	Arginina	16,36 mg
	Acido aspartico	56,06 mg
	Cisteina	167,65 mg
	Istidina	12,58 mg
	Acido glutammico	61,49 mg
	Glicina	14,78 mg
	Prolina	39,03 mg
	Serina	24,7 mg
Tirosina	20,58 mg	
Vitamine	Vitamina B3	92 ppm
	Vitamina B6	106 ppm
	Vitamina B12	11 ppm
	Vitamina C	1097 ppm
	Vitamina E	1,29 ppm

dificare. L'utilizzo delle alghe come "functional foods" per prevenire e trattare numerose patologie (quali infezioni virali, malattie cardio-vascolari e cancro) è senza dubbio di crescente interesse (96). La *Sp.* ha un elevato contenuto proteico (60-70% del suo peso secco), di cui il 90% è digeribile, rappresentando quindi un'ottima fonte proteica soprattutto nei casi di malnutrizione. La *Ch.* dal punto di vista nutrizionale e clinico, ha un ampio spettro di nutrienti che possono curare una svariata gamma di patologie, anche complesse quali la fibromialgia (97). La *Dun.* con un contenuto di nutrienti più elevato rispetto alla *Ch.* e alla *Sp.* (clorofilla due volte maggiore, minerali otto volte maggiore e antiossidanti dieci volte maggiore), previene i danni cutanei da raggi UV, e la degenerazione maculare. Recentemente è stata eseguita un'indagine di mercato su 328 consumatori di un prodotto commerciale a base di astaxantina estratta da *Haem.* (Astafactor®, Mera Pharmaceuticals, Inc, USA) per svariate applicazioni cliniche (gastrite, prostatite, artrite reumatoide, asma, diabete, osteoartrite, infiammazione post-operatoria, gengivite, colite ulcerosa, dolori mestruali) al fine di identificare i benefici dell'alga, è stato chiesto loro di paragonare l'efficacia di tali prodotti con 26 farmaci antinfiammatori da prescrizione e 62 da banco (tra cui aspirina, ibuprofene). I risultati hanno mostrato un'efficacia dell'*Haem.* del 92% e del 76% rispetto ai farmaci da prescrizione e da banco, rispettivamente. Tali dati pur esplicativi di una certa tendenza ad accreditare la nutrizione tra le cure degne di attenzione sono da interpretare con cautela in quanto non si può affatto escludere l'effetto placebo ed il bias della propensione individuale. Esistono in commercio molti estratti naturali che aumentano l'attività dei linfociti-T, quali il Tè verde e il Ginkgo Biloba, ma solo l'alga *Klam.* per quanto noto dalle ricerche fino ad ora espletate, stimola la chemiotassi dei linfociti-T verso i tessuti danneggiati da infezioni virali. I polifenoli (florotannini) estratti dall'*Asc.* hanno un potere antiossidante e antinfiammatorio, favoriscono il rilascio di citochine e stimolano l'enzima SIRT1, che deacetila le proteine sirtuine coinvolte nella regolazione cellulare in risposta allo stress ossidativo, il che consente di ipotizzare anche un'azione antiaging, utile in dermatologia e cosmetologia (98). La carragenina, estratta dal *Chondr.* è utilizzata come additivo gelificante, addensante e come agente stabilizzante (E407) ed è ingrediente di dessert, salse e carne lavorata, esplicitando già quindi il suo potenziale effetto tra gli alimenti di consumo routinario. Accenniamo in chiusura anche ai warnings di salubrità in termini di coltivazione e ambiente: le alghe si differenziano per le procedure di raccolta e le condizioni di conservazione. La concentrazione in nutrienti dipende dall'ambiente di coltivazione (altitudine, temperatura, pH, esposizione al sole) che influenza notevolmente la composizione lipidica. La *Sp.*, coltivata principalmente in acque salate, ha un profilo minerale diverso da alghe coltivate in acqua dolce quali l'alga *Klam.*, tra cui in primis il tenore in iodio. Sotto il profilo tossicologico poi occorre distinguere tra tossicità innata ed esogena, quest'ultima causata dalla contaminazione durante la coltivazione e la lavorazione del prodotto (99). Riguardo alla tossicità innata, Salazar et al. (100) hanno effettuato uno studio su 10 ratti, a cui hanno somministrato per via orale *Sp.* ad alte concentrazioni (10%, 20%, 30%) per 13 settimane. Gli esami ematochimici hanno dimostrato che una dieta ricca di biomassa algale e somministrata per un lungo periodo non ha alcun effetto tossico. Tale contributo è senza dubbio numericamente irrisorio e non raggiunge gli standard numerici minimi per acquisire informazioni certe, comunque non vi sono prove di una tossicità umana per assunzioni moderate di questi prodotti a medio e lungo termine. Un ulteriore studio (101) ha confermato la non tossicità della *Ch.* in seguito a somministrazione per via orale dell'alga ad alte dosi (circa 8 volte superiori alla dose terapeutica raccomandata per l'uomo) su 70 ratti per 15-30 gg. Kuroiwa et al. (102) hanno condotto uno studio di tossicità sui carotenoidi della *Dun.*, somministrando a quattro gruppi di ratti F344 alte dosi dell'alga in polvere (352, 696, 1420, 2750 mg/die per i maschi e 370, 748, 1444, 2879 mg/die per

le femmine) per 90 gg. Gli esami istopatologici e il peso degli organi non hanno rilevato particolari condizioni tossicologiche, fatta eccezione per un aumento di Ca²⁺, P (1,25% e 2,5%) e una diminuzione del K (5%) nei maschi. In uno studio clinico (103), 33 soggetti volontari sani hanno assunto, a random, astaxantina estratta da *Haem.*, ad alte e basse dosi (19.25mg e 3.85mg, rispettivamente) per 29 giorni. Gli esami clinici eseguiti prima, durante e dopo il trattamento non hanno riscontrato effetti collaterali o casi di intossicazione. Almeida et al. (104) hanno studiato la tossicità di *Lith.*, somministrando, per via orale, un prodotto utilizzato anche dall'uomo (Vitality50+®, Phosther Algamar LTDA) ad elevato dosaggio (2000 mg/kg) su 5 ratti Wistar per 13 gg. Le osservazioni cliniche eseguite i primi 5, 15, 30 minuti ed ogni ora per i successivi gg non hanno mostrato tracce di tossicità né significative differenze a livello comportamentale e perdita di peso, ma anche in questo caso sottolineiamo l'inconsistenza numerica del campione.

Quanto al potenziale rischio di tossicità esterna, invece, questo deriva dalla contaminazione con cianotossine chiamate epatotossine che comprendono 6 varianti di nodularine e oltre 80 varianti di microcistine, queste ultime sono eptapeptidi monociclici a basso peso molecolare, generate da cianobatteri (*Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Planktothrix*, *Nostoc* e *Oscillatoria*) presenti nelle acque lacustre, marine e potabili. Le microcistine sono costituite da tre D-amminoacidi; due L-amminoacidi variabili X e Y e l'Adda, un amminoacido aromatico responsabile della tossicità. Le nodularine sono pentapeptidi prodotti dal cianobatterio *Nodularia*, contenenti l'Adda e con struttura analoga a quella delle microcistine. La struttura molecolare di questi peptidi li rende stabili alle alte temperature (40°C) e a pH estremi. Le microcistine, rilasciate in ambiente acquatico, in seguito alla degradazione enzimatica da parte dei cianobatteri, agiscono a livello epatico come inibitori delle fosfatasi proteiche 1 e 2A (PP1 e PP2A) e attivatori della fosfolipasi A2 e della ciclossigenasi. Entrano nell'organismo usando come sistema di trasporto gli acidi biliari, e successivamente si accumulano nel fegato, nello stomaco e nei reni. Ad alte dosi (tox acuta) provocano emorragia intraepatica centrolobulare, ed a basse dosi (tox ripetuta) ipertrofia epatica (105). Studi hanno evidenziato che le microcistine e le nodularine, a lungo termine, possono essere dei promotori tumorali (viscere epatico, apparato gastrointestinale, strutture epiteliali) (106,107). Tali tossine sono state rilevate anche in integratori alimentari contenenti *Sp.*, *Ch.*, *Klam.* (108). Heussner et al. (109) hanno effettuato uno studio *in vitro* sulla citotossicità di 18 integratori alimentari (10 a base di *Klam.*, 5 a base di *Sp.*, 3 a base

di *Ch.*) venduti in Germania. I risultati hanno evidenziato un'alta citotossicità in tutti i prodotti e la presenza di microcistine solo nei prodotti a base di *Klam.*, basse concentrazioni di microcistine (0.01–0.2 µg g⁻¹) che però possono provocare effetti collaterali quali diarrea, nausea, vomito, febbre e reazioni allergiche. Ulteriore citotossicità può derivare dalla capacità delle alghe di assorbire metalli pesanti quali piombo, mercurio, arsenico determinando una contaminazione nel prodotto dell'ordine del µg g⁻¹. La maggior parte delle alghe rosse e brune marine quali *Hund.*, *Grac.*, *Lam.*, *Aspar.*, *Eis.* e *Sarg.* hanno una concentrazione di arsenico inferiore a 54 mg/kg⁻¹ di peso secco ed il 5-10% di questo è organico ed è presente sotto forma di arseno-zuccheri (110). Yasui et al. (111) hanno osservato che la cottura di tali alghe riduce la concentrazione di arsenico del 89-92% (peso umido). I tenori massimi di alcuni contaminanti nelle alghe come functional foods, stabiliti dal regolamento (CE) n. 1881/2006, sono <0.1mg/kg⁻¹ per il mercurio e 3mg/kg⁻¹ per piombo e cadmio. Per converso talune alghe (*Ch.*, *Sp.*) possono anche essere utilizzate come indicatori della qualità dell'acqua, in quanto in presenza di acqua contaminata la crescita diminuisce per poi arrestarsi (112). Basandoci sugli ultimi dati, possiamo concludere che le alghe utilizzate commercialmente come "functional foods" non hanno una rilevante tossicità se coltivate correttamente e consumate in quantità moderate, soprattutto da pazienti con insufficienza epatica di vario grado. In questa rassegna, abbiamo descritto comparativamente il profilo nutrizionale delle principali alghe, discutendo le loro potenziali applicazioni cliniche. Come si può desumere dallo schema riassuntivo degli studi sperimentali (Tab. 16), ci sarebbero possibili sviluppi di potenziale terapeutico per tutte le alghe descritte; gli studi clinici (Tab. 17), sono tuttavia largamente insufficienti in quanto privi di un prodotto di confronto, fatta eccezione per alcuni valutati con un disegno che includeva almeno l'effetto placebo. In base alla revisione della letteratura da noi effettuata, possiamo ragionevolmente confermare, ad oggi, la safety per la salute umana nel consumo moderato del cianobatterio *Sp.*, delle microalghe *Ch.*, *Dun.*, *Haem.* e delle macroalghe *Klam.*, *Asc.*, *Lith.*, *Chond.*, *Hund.*, *Grac.*, *Lam.*, *Aspar.*, *Eis.* e *Sarg.* come "functional foods", senza significativi effetti collaterali. L'uso dell'alga tal quale risulterebbe quindi più vantaggioso rispetto al consumo dei singoli principi attivi se orientato correttamente sul piano clinico e del counseling nutrizionale; il riscontro di efficacia è comunque condizionato a costanza e regolarità, anche periodica assunzione, onde si richiedano requisiti di appetibilità e palatabilità tali da renderne gradevole, in qualità di cibo, l'assunzione per medi-lunghi periodi.

Tabella 16. Schema riassuntivo degli Studi Sperimentali

SPIRULINA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Composti tetrapirrollici	In vivo: 24 ratti con artrite indotta da collagene e suddivisi in 4 gruppi.	1) controllo, 2) dieta normale, 3) 200 mg/die di <i>Sp.</i> , 4) 400 mg/die di <i>Sp.</i> per 35 gg.	Riduzione dei valori di IL-1β, IL-6 (p<0.001).	Azione antinfiammatoria	Kumar et al. 2010
	-In vitro: Linee cellulari tumorali Hela infettate con il virus HSV-1,	-5 µl di Ca-Sp;	-Significativa attività antivirale del Ca-Sp (ED50= 155 µg/ml);	Azione antivirale	Hayashi et al. 1996
	-In vitro: Linee cellulari Jurkat, PBMC, Langerhans infettate con il virus HIV-III B.	-0,3 e 1,2 µg/ml di <i>Sp.</i>	-Inibizione della replicazione del virus del 50% (EC50= 24 µg/ml).		Ayehunie et al. 1998
	-In vivo: 20 topi con aterosclerosi indotta da una dieta iperlipidica e suddivisi in 4 gruppi (n=5);	-1) Controllo, 2) dieta iperlipidica, gruppi 3-4 dieta iperlipidica arricchita di <i>Sp.</i> , (1% e 5%) per 12 settimane;	-Riduzione del colesterolo totale (953 e 837 mg/dL-1); del colesterolo LDL (441 e 352 mg/dL-1) e dei trigliceridi (33 e 23 mg/dL-1) nei gruppi 3-4; aumento del volume del fegato nei topi del gruppo 2 (97.0±15), riduzione della lesione aterosclerotica nei gruppi 3-4 (38.8% e 29,5%).	Azione ipolipemizzante	Cheong et al. 2009
	-In vivo: 15 conigli suddivisi in 5 gruppi (n=5/cadauno).	-1) dieta standard, 2) dieta iperlipidica (0,35% di colesterolo), 3) dieta ricca di <i>Sp.</i> (5 g/kg), 4) dieta standard il primo mese e con una dieta a base di <i>Sp.</i> per il secondo mese, 5) dieta ricca di grassi (100g di lardo) per 60gg.	-Significativa riduzione (p <0.0001) dei valori di colesterolo totale (516±163 mg/dL-1) ed aumento dei valori di HDL (91±16 mg/dL-1) nel gruppo 3.		Colla et al. 2008
	In vitro/vivo: Linee cellulari di adenocarcinoma pancreatico umano PA-TU-8902 trattate con composti tetrapirrollici e trapiantate su 107 topi suddivisi in due gruppi (n=6/cadauno).	0.2-5 µM di composti tetrapirrollici (Studio in vitro), 1) 0.5g/die di <i>Sp.</i> , 2) placebo, per 14gg (Studio in vivo).	Significativa riduzione dei ROS (p=0.0006), a livello mitocondriale, nel gruppo 1 e riduzione (p<0.01) delle dimensioni del tumore.	Azione antitumorale	Mathew et al. 1995
	-In vitro: Colture di batteri lattici trattate con estratto algale.	-1.5, 10 mg di <i>Sp.</i> , 100 ml colture di batteri lattici;	-Massimo valore di crescita di <i>L.casei</i> (145,90%), <i>L.acidophilus</i> (171,67%), <i>S.thermophilus</i> (185,84%) a 10h di incubazione con concentrazione di 10mg di <i>Sp.</i> ,	Azione prebiotica	Browmik et al. 2009
	-In vitro: Crescita di una sospensione di <i>Sp.</i> e di 4 lactobacilli nel latte,	-3mg/ml di <i>Sp.</i> , 0.6 ml di latte parzialmente scremato al 10%,	-Incremento di crescita di <i>L.lactis</i> (27%) a 4h e di <i>L.acidophilus</i> (22,8%) a 8h;		De Caire et al. 2000
-In vitro: Crescita di una sospensione di <i>Sp.</i> e 2 lactobacilli in 4 yogurts contenenti latte allo 0,5%.	-0,5% e 1% di <i>Sp.</i> ,	-Incremento della crescita dei cocobatteri BB12 (3.3 x 10 ⁷ cfu/ml).		Mocanu et al. 2013	

CHLORELLA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Astaxantina, luteina	-In vivo/vitro: Crescita di GSH e Ch. in un omogenato (0.5ml) di fegato di topi indotti a perossidazione lipidica con cloruro di ferro; -In vivo: 18 topi con perossidazione lipidica indotta da naftalene (435mg/kg peso corporeo) suddivisi in 3 gruppi (n=6/cadauno).	-250, 550, 750 mg di GSH e di Ch., -1)controllo, alimentato per via intraperitoneale con naftalene disciolto in olio di semi di mais; 2)alimentato con Ch.(70 mg/kg) per via orale, 3)alimentato con naftalene per via intraperitoneale; per 15 gg.	-Inibizione della perossidazione lipidica ($\alpha=0.005$) ad una concentrazione Ch.750mg; -Significativa riduzione ($p<0.001$) della perossidazione lipidica (175.15 ± 1.05) e aumento del livello di antiossidanti (41.86 ± 0.24) nel gruppo 3 rispetto al gruppo 2 (295.27 ± 1.22 e 26.36 ± 0.19)	Azione antiossidante	Bengwayan et al. 2010 Vijayavel et al. 2007
	In vivo: 48 ratti affetti da cancro epatico indotto da etionina (0.1%) e suddivisi in cinque gruppi (n=6/cadauno);	1) controllo, 2) gruppo con cancro epatico non trattato e gruppi 3-4-5 alimentati con differenti dosi di Ch. (50,150,300 mg/Kg), e i restanti gruppi 6-7-8 alimentati con la medesima dieta povera di colina e le medesime dosi di Ch., per 3 mesi.	Significativa riduzione del numero di noduli epatici (67, 33,17% nei gruppi 6-7-8), dell'espressione della proteina Bcl-2 (75, 58.33, 0% nei gruppi 6-7-8); un incremento dell'espressione della proteina Caspasi-8 (40.5, 64.5, 100% nei gruppi 6-7-8).	Azione antitumorale	Azamai et al. 2009
	-In vivo: 60 ratti con lipidemia e suddivisi in 6 gruppi; -In vivo: 24 topi con lipidemia e suddivisi in 4 gruppi.	-1)alimentato con dieta contenente soia (7%), 2)con Ch. (5%), 3) con Ch. (10%), 4)con dieta iperlipidica (10% di grassi), 5) con dieta iperlipidica e Ch. (5%), 6) con dieta iperlipidica e Ch. (10%), per 9 settimane; -1)alimentato con dieta standard, 2) una dieta composta dall'1% di Ch., 3) una dieta ricca di grassi (40%), 4) una dieta di grassi e Ch., per 10 settimane.	-Significativa ($p<0.05$) diminuzione dei trigliceridi e del colesterolo totale sia nel siero che nel fegato dei gruppi 5-6 rispetto al gruppo 4 e un aumento ($\alpha=0.05$) degli stessi valori nelle feci dei gruppi 2-3 e 5-6 rispetto ai gruppi 1 e 4. -Diminuzione della concentrazione di trigliceridi (1.26 ± 0.35 mmol/L) nel gruppo 2 rispetto ai gruppi 1 e 3 (1.60 ± 0.50 e 1.81 ± 0.48 mmol/L)	Azione ipolipemizzante	Lee et al. 2008 Chovancikova et al. 2001
	In vivo: 40 ratti con cataratta e diabete indotto, per via intraperitoneale, da streptomicina (65 mg/kg) e suddivisi in 5 gruppi (n=8/cadauno).	1) controllo, 2) alimentato, con luteina (0.5mg/kg), 3) gruppo con diabete non trattato, 4) trattato con insulina (50UI/g) per via sottocutanea, 5) trattato con insulina e luteina; per 12 settimane	Significativa riduzione ($p<0.05$) dello stress ossidativo nei gruppi 2-4-5 rispetto ai gruppi 1-3, dell'incidenza della cataratta nel gruppo 2 rispetto al gruppo 3.	Azione oftalmologica	Arnal et al. 2008
DUNALIELLA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
β -carotene	In vivo: 22 ratti con gastroenterite indotta da acido acetico (2ml) per via intraperitoneale e suddivisi in due gruppi;	1) dieta contenente β -carotene (20g), 2)controllo; per 10 settimane.	Significativa ($p<0.05$) riduzione del livello MPO del gruppo 2.	Azione ipolipemizzante	Lavy et al. 2002
	In vivo: 60 topi con steatosi epatica, indotta con una dieta iperlipidica e suddivisi in 4 gruppi	1) controllo, 2) alimentato con una dieta contenente 9-cis- β -carotene (25%), 3) alimentato con una dieta contenente 9-cis- β -carotene (50%), 4) alimentato con una dieta a base di Dun. deficitaria di β -carotene.	Riduzione della concentrazione LDL (4.0 AUC) del gruppo 3 rispetto ai gruppi 1 e 4 (6.5 e 5.7 AUC), riduzione della lesione aterosclerotica del 40-83% del gruppo 3 rispetto agli altri gruppi.	Azione epatoprotettiva	Harari et al. 2008
	-In vivo: 42 ratti con fibrosarcoma, indotto da 20-metilcolantrene e suddivisi in 7 gruppi;	I)controllo sano, II)alimentato con 500mg di Dun., III) alimentato con 1g di Dun., IV)alimentato con vitamina E (400mg/kg), V)gruppo con fibrosarcoma indotto, VI) controllo alimentato con 500mg di Dun.,VII)controllo alimentato con 1g di Dun; per 45gg di trattamento	-Significativa ($p<0.001$) riduzione dei markers degli enzimi LDH, AST, ALT nel siero del gruppo III ed un incremento ($p<0.01$) dell'attività mitotica dei miofibroblasti	Azione antitumorale	Raja et al. 2007
	-In vitro: Linee cellulari umane A549 di carcinoma polmonare inoculate con Dun.	-Dun. estratta rispettivamente con etanolo, esano e acqua (25 μ g/ml/caduna) a tempo 12,24,48h	-Significativa ($p<0.001$) attività antiossidante, inibizione della proliferazione cellulare a 24h ($p<0.05$, 25,2%) e a 48h ($p<0.01$, 48,3%), induzione di apoptosi cellulare del 27,7% ($p<0.01$), 30,7% ($p<0.01$), 38,7% ($p<0.001$) a tempo 12,24,48h, nonché un incremento ($p<0.05$) dell'espressione dell'antigene tumorale p53 e della proteina p21 a tempo 12,24,48h.		Sheu et al. 2008

HEMATOCOCCUS					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Astaxantina	In vivo: 25 ratti suddivisi in tre gruppi (n=5/cadauno)	1) <i>Sp.</i> (134mg/ratto), 2) <i>Haem.</i> (33mg/ratto), 3) <i>Botryococcus braunii</i> (328mg/ratto), 4) controllo	-Elevato contenuto di carotenoidi (2, 2.3 e 0.35% nei gruppi 1-2 e 3), significativa attività di antiossidanti (52.30, 66.24 e 118.81%),	Azione antiossidante	Rao et al. 2010
	-In vitro: Cellule microgliali murine BV2 pretrattate con 100µg/ml LPS di <i>E.coli</i> ed trattate con astaxantina.	-1, 10, 100µM di astaxantina;	-Inibizione della produzione di NO (33.79±0.61µM, 31.14±0.40µM, 30.22±0.80µM,) e dell'espressione genica degli enzimi iNOS e COX-2.	Azione antinfiammatoria	Choi et al. 2008
	-In vivo/vitro: 20 topi trattati con LPS ed astaxantina e linee cellulari umane di macrofagi RAW264.7 pretrattate con LPS (10µg/ml).	-In vivo: 4mg/kg di LPS di <i>E.coli</i> O111:B4 e 40mg/kg di astaxantina e in vitro: 10,30,50,100 µM di astaxantina	-Significativa (p<0.05) inibizione dei principali mediatori di processi infiammatori.		Lee et al. 2003
	In vivo: 20 topi infettati con <i>H.pylori</i> trattati, per via orale, con <i>Haem.</i>	200mg/kg di peso corporeo al giorno di <i>Haem.</i>	Significativa (p<0.02) riduzione della carica batterica della mucosa gastrica, con conseguente diminuzione del grado di infiammazione nello stomaco e un maggiore (p=0.0002) rilascio di IL-4.	Azione antimicrobica	Bennedsen et al. 1999
	In vivo: 50 ratti con ulcera gastrica indotta da stress e suddivisi in 10 gruppi.	A) <i>Haem</i> -asx (40mg), B) <i>Haem</i> -asx (8mg), i gruppi C-D-E-F alimentati con <i>Pha</i> -asx (40mg) ed i gruppi G-H-I alimentati con <i>Pha</i> -asx (8mg).	Significativa (p<0.05) riduzione dei calibri dell'ulcera nei ratti nutriti con <i>Haem.</i> (10.2±4.2 e 6.4±4.4, rispettivamente nei gruppi A-B)	Azione gastroprotettiva	Nishikawa et al. 1997
KLAMATH					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Ficocianina	In vitro: Eritrociti umani, trattati con ficocianine e indotti ad emolisi ossidativa e perossidazione lipidica con 50mM di AAPH	100nM di ficocianine	Significativa (p<0.05) riduzione del valore di emolisi del gruppo trattato con ficocianina rispetto al controllo e inibizione del livello di MDA	Azione antiossidante, antinfiammatoria	Benedetti et al. 2004
	-In vivo: 30 ratti di cui 24 con disfunzione renale indotta da cisplatino, e suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno);	-I. trattato con carbosil-metilcellulosa sodica per 5 gg, II. trattato con cisplatino (5mg/kg-1) per 5 gg.; ed i gruppi III, IV, V trattati, rispettivamente 2 gg prima e 3 gg dopo il dosaggio dell'agente chemioterapico, con <i>Klam.</i> (50mg/kg) estratta con etanolo a diverse concentrazioni (25,50,100 mg/kg-1)	-Il livello di creatinina e di nitrati nel siero, il livello di azoto ureico nel sangue e le attività enzimatiche sono aumentati significativamente (p<0.01) nel gruppo II e ridotti nei gruppi III-IV-V, osservata anche una riduzione (p<0.01) dei difetti morfologici renali quali edema interstiziale, necrosi epiteliale;	Azione renoprotettiva, epatoprotettiva	Kuriakose et al. 2010
	-In vivo: 40 ratti, di cui 32 indotti ad epatopatia da PCM (3g/kg) e suddivisi in 5 gruppi (n=8/cadauno):	-1) trattato con acqua distillata, 2) alimentato, per via orale, con PCM (3g/kg), 3) alimentato con PCM e <i>Klam.</i> (50mg/kg) estratta con etanolo, 4) alimentato con PCM e <i>Klam.</i> (100mg/Kg), 5) alimentato con PCM e silimarina (100mg/Kg); per 10 gg.	-Una significativa (p<0.01) riduzione dell'attività enzimatica nel siero dei ratti dei gruppi 3-4, nonché, un'inibizione della perossidazione lipidica nel gruppo IV, determinata da una diminuzione della concentrazione delle sostanze reattive all'acido tiobarbiturico (TBARS) e dei dieni coniugati.		Kuriakose et al. 2010
	In vitro: tre polisaccaridi sono estratti da alghe con etanolo al 70% e purificati	35g di <i>Sp.</i> , 125g di <i>Klam.</i> , 35g di <i>Ch.</i>	Un aumento pari al 50% dell'attività del complesso proteico NF-κB, determinata dall'attivazione dell'espressione della luciferasi in tutti i polisaccaridi	Azione immunomodulatoria	Pugh et al. (2001)
ASCOPHYLLUM					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Florotannini	-In vitro: ascophyllan e fucoidano sono estratti da due alghe	-0-10-100-1000µg/ml di ascophyllan (estratto da <i>Asc.</i>) e di fucoidano (estratto dall'alga <i>Laminaria japonica</i>);	-Elevata attività antiossidante (p<0.05) in entrambi i polisaccaridi;	Azione antiossidante	Abu et al. 2013
	-In vitro: <i>Asc.</i> è estratto con acetone (150ml)	-5g di <i>Asc.</i>	-un'attività antiossidante dell' <i>Asc.</i> , rappresentata da una relazione lineare (r ² =0.9241) tra la presenza di polifenoli e di radicali liberi		Jimenez et al. 2010
	-In vitro: Sospensioni (20µl) di microrganismi sono trattati con <i>Asc.</i> estratto con acetone (150ml);	- 5g di <i>Asc.</i>	-un'elevata attività antimicrobica per i Gram positivi <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> (MIC _α = 0.25 e 0.20 mg/mL-1);	Azione antimicrobica	Jimenez et al. 2009
	-In vivo: 200 manzi e vitelle infettati da <i>E.coli</i> enteroemorragico e suddivisi in due gruppi (n=100/cadauno).	-1) alimentato con una dieta a base di mais contenente <i>Asc.</i> (2% peso secco), 2) con una dieta contenente solo mais (controllo); per 14gg;	-Riduzione della concentrazione di EHEC- O157:H7 nel gruppo 1 (9-11%).		Braden et al. 2004
	In ex-vivo: colon di 6 suini trattati con 10µg/ml LPS di <i>E.coli</i> , in presenza ed assenza di estratto algale.	1 mg/ml di <i>Asc.</i>	l' <i>Asc.</i> ha inibito (p<0.05) l'espressione dei geni IL-6, IL-8, TNF-α (0.99 ± 0.53, 0.75 ± 0.33 e 1.01 ± 0.17),	Azione immunomodulatoria	Bahar et al, 2012
In vivo: 360 suini sani	1) controllo, 2) 3g/die di <i>Asc.</i> , 3) 6g/die di <i>Asc.</i> , 4) 9g/die di <i>Asc.</i> ; per 61gg;	Una significativa riduzione del numero (p=0.130) dei coliformi totali e del <i>Bifidobacterium</i> (p=0.077) e un aumento del <i>Lactobacillus</i> (p=0.080) nei gruppi 3-4;	Azione prebiotica	Gardiner et al. 2007	

	-In <i>vitro</i> : Linee cellulari umane HS-Sultan di linfoma incubate, per 48h, con fucoidano; -In <i>vivo</i> : 18 topi portatori di sarcoma-180 e suddivisi in due gruppi:	-0, 100, 1000 µg/mL di fucoidano; -8 topi trattati con 500mg/kg/die Asc. per via orale; e 10 con 50mg/kg/die Asc. per via intraperitoneale.	-Un incremento tempo dipendente della frazione sub-G1 (0h=1,1%, 24h=4%, 36h=28.7%, 48h=89%) e dell'espressione della caspasi-3 (9.2 e 37.7% a 24 e 48h, rispettivamente) nonché una diminuzione della fosforilazione dell'enzima glicogeno sintasi chinasi -GSK- (inibitore specifico della Caspasi-3); -Un significativo (p<0.05) aumento dei livelli del TNFα e dell'IL-12 ed una riduzione delle sezioni tumorali (68.7±6.8% e 42.4±24.8%, 41.4±16.1% e 25.8±26.8% nei gruppi 1-2).	Azione antitumorale	Aisa et al. 2005 Jiang et al. 2014
	-In <i>vivo</i> : 50 topi con diabete di tipo II indotto da streptozotocina (110mg/kg), per via endovenosa e suddivisi in 5 gruppi (n=10/cadauno). -In <i>vivo</i> : 20 conigli, trattati con fucoidano, per via endovenosa, 10 minuti prima dell'induzione di trombosi.	-1) controllo, 2) diabetico non trattato, 3) nutrito con polifenoli (200 mg), 4) nutrito con polifenoli purificati (28g), 5) nutrito con Ascophyllan (200mg/kg), 6) nutrito, con metformina (250mg/kg); per 4 settimane. -3,75 µg/ml di fucoidano	-Una significativa riduzione (p<0.05) del livello di glucosio nei gruppi 3-4, del livello di colesterolo totale nei gruppi 2-3-4 (1.93 ± 0.22 mmol/L, 1.99 ± 0.24 mmol/L e 2.00 ± 0.14 mmol/L, rispettivamente); una normalizzazione del livello di glicogeno (6.49 ± 1.6 mg/g) nel gruppo 3. -Inibizione (dell'80%) della formazione di trombi, durata maggiore del fucoidano rispetto all'eparina (30 e 15 minuti rispettivamente). Il TCT è significativamente prolungato (73sec=Asc., 53sec.=eparina, 29s=controllo),	Azione sul diabete e sulla coagulazione	Zhang et al. 2007 Mauray et al. 1995
LITHOTHAMNION					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Calcio, Magnesio	In <i>vivo</i> : 43 topi C57BL/6 (21 maschi e 22 femmine di 3-4 settimane d'età) suddivisi in 3 gruppi (n: 11, 15, 17/cadauno).	1) dieta ad alto contenuto di grassi (4,76% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati), 2) dieta iperlipidica arricchita di <i>Lith.</i> (4,49% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati ed estratto algale) e 3) con una dieta normale (3,9% kcal/g di proteine, grassi, carboidrati),	Una riduzione nella mineralizzazione della matrice cartilaginea a livello corticale (1.45±0.22) e del volume osseo (0.02±0.01) a livello trabecolare nel primo gruppo. Il secondo gruppo, invece, ha migliorato la struttura ossea (4.56±0.39) a livello corticale, manifestando elevati livelli di fosfatasi acida tartrato resistente (TRAP) pari a 20 ng/ml e di peptide ammino-terminale del collagene di tipo 1 (P1NP) pari a 25ng/ml rispetto agli altri gruppi 1 e 3 (9 e 11 ng/ml e 21 e 20 ng/ml).	Prevenzione osteoporosi	Aslam et al. 2010
	In <i>vitro</i> : 5 linee cellulari umane con carcinoma al colon (CBS, Moser, Fet, HCT-116, SW480) sono state trattate con estratto algale ed incubate a 37°C per 3gg.	-0,6mg/ml di <i>Lith.</i>	I tests (Immunoblot, immunofluorescenza) hanno mostrato che l'estratto inibisce la crescita di 4/5 linee cellulari, con valori più alti nella linea cellulare HCT-116 (70%) e più bassi nella linea cellulare SW480 (28%).	Azione antitumorale	Aslam et al, 2009
CHONDRUS					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
λ-carragenina, κ-carragenina	In <i>vivo/vitro</i> : 100 organismi modello di <i>Caenorhabditis elegans</i> , infettati con il ceppo PA14 di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , sono stati coltivati nel terreno di coltura NGM, trattati con <i>Chond.</i> ed incubati a 37°C per 8h.	- <i>Chond.</i> a diverse concentrazioni (0, 250, 500, 750µg/ml)	Il <i>Chond.</i> inibisce l'espressione trascrizionale "quorum sensing" della <i>Pseudomonas a.</i> ed induce la risposta immunitaria mediante l'attivazione di 14 geni, riducendo la possibilità di morte del nematode del 28%.	Azione immuno-modulatoria	Liu et al, 2013
	-In <i>vivo/vitro</i> : Cellule tumorali H22 sono state impiantate in 65 topi ICR e dopo 24h dall'inoculazione, gli autori hanno somministrato per via orale una miscela di λ-carragenina (PC-4) e dell'agente chemioterapico antitumorale fluorouracile (5-fu), a diverse concentrazioni per 7gg.	-6 gruppi di topi alimentati con dieta standard (controllo), dieta arricchita di 25mg/kg-1 di 5-fu, dieta arricchita di 100mg/kg-1 di PC4, dieta contenente 100 + 25mg/kg-1 (PC4 e 5-fu rispettivamente), dieta contenente 50 + 25mg/kg-1 (PC4 e 5-fu rispettivamente).	-La λ-carragenina aumenta l'attività antitumorale del 5-fu, con un'elevata proliferazione dei linfociti nei gruppi 5-6 alimentati con la miscela.	Azione antitumorale	-Zhou et al. 2005
	-In <i>vivo/vitro</i> : Cellule tumorali S180 e H22 sono state impiantate in 70 topi ICR ed alimentati con carragenina per 7gg.	-λ-carragenina a diverso peso molecolare (9.3, 15 kDa); <i>Chond.</i> (200mg/kg-1/die)	-I livelli di attività delle cellule NK e dei linfociti dei gruppi nutriti con la biomassa algale sono significativamente più alti rispetto a quelli del gruppo di controllo.		-Zhou et al, 2004

HUNDARIA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Alginati, fucoidano	In vivo: 24 ratti con moderata ipertensione (pressione sistolica >160 mmHg) sono stati suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno).	Ogni gruppo trattato, per via gastrica, con uno dei 4 peptidi inibitori dell'enzima di conversione dell'Angiotensina-II (10mg/die/kg peso corporeo di Tyr-His, Lys-Tyr, Phe-Tyr, e Ile-Tyr) estratto dall'alga <i>Hund.</i> (60g) per 7 gg.	Una significativa riduzione della pressione del sangue (p<0.01 e 0.05 per la pressione sistolica e diastolica, rispettivamente).	Azione anti-ipertensiva	Suitsuna et al, 2004
GRACILARIA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Agar-agar	In vivo: 24 ratti albini Wistar con epatotossicità indotta da aflatoxina B1 (AFB1) prodotta da <i>Aspergillus parasiticus</i> , sono stati suddivisi in 4 gruppi (n=6/cadauno).	Gruppi trattati con una dieta standard (controllo), con AFB1, con AFB1 e <i>Grac.</i> (250 mg/kg-1) e con AFB1 e silimarina, estratta dalla pianta <i>Silybum marianum</i> (100mg/kg-1), rispettivamente per 30gg.	Una significativa (p<0.05) riduzione del valore delle transaminasi (SGOT-SGPT), LDH e fosfatasi alcalina (ALP) nel gruppo 3 rispetto al gruppo 2 non trattato.	Azione epatoprotettiva	Manoharan et al. 2008)
	In vivo: 36 topi maschi Swiss e Wistar, sono stati trattati, per via sottocutanea, con dexametasone e 1h dopo con carragenina, che è stata iniettata sotto cute nella zampa posteriore dei ratti al fine di indurre una reazione infiammatoria acuta con comparsa di edema.	Dexametasone (1mg/kg), carragenina (700µg/ml) diluita in soluzione salina, 1 topi sono stati suddivisi in 6 gruppi: 1) controllo, 2-3) trattati con farmaci analgesici: morfina e indometacina (5mg/kg cadauno), rispettivamente; 4-5-6) con <i>Grac.</i> (3,9,27 mg/kg, rispettivamente).	Un significativo (p<0.05) punteggio nei gruppi 4-5-6, evidenziando un'elevata azione antinocicettiva della <i>Grac.</i> E' stata osservata anche una riduzione dell'edema indotto da carragenina nei gruppi 2 e 3 (47% e 66,6%, rispettivamente), già a 3h dal trattamento.	Azione antinfiammatoria e antinocicettiva	Coura et al,2011
	In vivo: 40 topi Kunming sono stati randomizzati in 4 gruppi (n=10/cadauno) ed a 3 di questi è stata somministrata <i>Grac.</i> per 30gg.	<i>Grac.</i> a diverse concentrazioni (20,40,80 mg/kg, rispettivamente),	Un significativo (p<0.05) aumento del valore LDH, del livello di glicogeno e della concentrazione di glucosio, nonché una riduzione di acido lattico rispetto al controllo. Un significativo (p<0.01) aumento dell'espressione genica di GLUT4 e AMPK nei gruppi trattati.	Azione anti-astenica	Shao et al,2013
LAMINARIA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Alginati, fucoidani	In vivo/vitro: 49 topi Balb/c con colite ulcerosa indotta, per via orale, da DSS (5% disciolto in acqua) e randomizzati in 7 gruppi (n=7/cadauno).	1) controllo, 2-3) nutriti, per via orale, con estratto algale (100 e 300 mg/kg, rispettivamente), 4) con 300 mg/kg di miscela di tre Lactobacilli "DUO", 5-6) con la combinazione di <i>Lam.</i> (100 e 300mg/kg) + DUO (300mg/kg), 7) gruppo non trattato; per 7gg.	Una significativa riduzione del livello di IL-1β (p<0.001) nei gruppi 3 e 4 rispetto al controllo; di IL-6 ed IL-17 (p<0.05) nei gruppi 2-4-5-6, nonché dell'IL-12 (p<0.05) nel gruppo 6 rispetto al controllo e del TNF-α (p<0.05) nei gruppi 3-6 rispetto sempre al controllo. E' stata osservata una riduzione dell'edema della mucosa intestinale nei topi dei gruppi 5-6 rispetto agli altri gruppi. Nonchè un miglioramento (p<0.01) della superficie epiteliale e delle ghiandole intestinali (cripte di Lieberkuhn) nei gruppi 3-5-6 rispetto al controllo.	Efficacia di una combinazione dell'alga con prebiotico	Ko et al. 2014;
	In vivo: 36 ratti Sprague-Dawley con obesità indotta da una dieta ad alto contenuto di grassi e suddivisi in 6 gruppi (n=6/cadauno).	1) alimentato con una dieta normale (11,5% di grassi), 2) dieta iperlipidica (45% di grassi), 3-4-5) dieta iperlipidica + <i>Lam.</i> , estratta con etanolo, a diverse concentrazioni (100, 200 e 400 mg/kg, rispettivamente), 6) con dieta iperlipidica + catechine (100 mg/kg) estratte dal tè verde per 6 settimane,	E' stata registrata una riduzione (47%) del peso corporeo dei ratti dei gruppi 5-6 rispetto al gruppo non trattato, una riduzione (39.6%, 38.1%, 85.5%, e 27.2%, rispettivamente) dei valori di trigliceridi, colesterolo totale, LDL ed acidi grassi ed un aumento (65.7%) del livello di HDL; nei ratti del gruppo 5 rispetto al primo gruppo. Un aumento dell'espressione genica dell'enzima PPARα ed una riduzione dell'espressione genica di ACC2.	Azione di controllo dell'aumento di peso corporeo	Jang et al. 2013;

ASPARAGOPSIS					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Glucomannano e chitosano	In vivo: l'estratto algale è stato somministrato, per via orale, a 40 crostacei decapodi marini " <i>Penaeus monodon Fabricius</i> " con vibriosi indotta da 4 specie di Vibrioni: <i>V. harveyi</i> , <i>V. alginolyticus</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> e <i>Photobacterium damsela</i> , ($5 \times 10^2 + 5 \times 10^2$ CFU /cadauno) e suddivisi in 4 gruppi (n=10/cad.)	Alimentati con 285, 575, 850, 1150 mg/kg-1 di <i>Aspar.</i> , rispettivamente per 21-35-27 e 43gg.	Una significativa riduzione (13.25%) dell'infezione nei gruppi 1-2-3-4 rispetto al controllo, nonché un significativo aumento (80.9%) dell'indice PSI nel gruppo 4 rispetto agli altri gruppi.	Azione anti-batterica	Manilal et al, 2011
EISENIA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Florotannini, Calcio, Iodio	In vitro: 4 colture batteriche di <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Propionibacterium acnes</i> (KCTC1927, KCTC1370, KCTC1637, KCTC3314) sono state trattate con <i>Eis.</i> ed incubate a 37°C per 24h.	<i>Eis</i> (200 mg/mL-1) estratta con metanolo (MeOH, 10Lx3) e frazionata con i solventi exano, diclorometano, acetato di etile ed n-butanolo, rispettivamente	Una significativa attività antibatterica dell'estratto frazionato con acetato di etile (EtoAc) per <i>S. aureus</i> ed <i>epidermidis</i> (alone di 10mm a 1mg per disco, alone di 16-20 mm a 5mg per disco, rispettivamente). È stato anche osservato che l'estratto EtoAc ha inibito la crescita di <i>P. acnes</i> ad un'identica concentrazione MIC e MBC di 128 µg/mL ⁻¹ .	Azione sugli agenti patogeni di <i>acne vulgaris</i>	Lee et al, 2014
SARGASSUM					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Calcio, Magnesio	In vivo: 54 ratti albini sono stati randomizzati in 9 gruppi (n=6/cadauno).	Alimentati con: 1) una dieta normale ed utilizzato come controllo, 2) dieta iperlipidica (1% di colesterolo +0,2% acidi biliari) al fine di indurre ipercolesterolemia, 3) dieta ricca di grassi, 4-5-6) dieta ricca di grassi e con l'alga rossa <i>Aspar.</i> , per via gastrica, (400-600-800ppm/kg peso corporeo),rispettivamente; 7-8-9) dieta ricca di grassi e con <i>Sarg.</i> , per via gastrica, (400-600-800ppm/kg peso corporeo), rispettivamente; per 10 settimane.	Una significativa (p<0.05) riduzione del valore di colesterolo totale, di LDL nei gruppi nutriti con gli estratti algali <i>Aspar.</i> e <i>Sarg.</i> , nonché un aumento del livello HDL particolarmente nei gruppi 5 e 8 (24.87 ± 0.35 e 25.71 ± 0.78 mg/dl, rispettivamente).	Azione antiossidante	Abd El Mageid et al, 2009
	In vivo: 42 ratti Sprague-Dawley, di cui 36 con diabete di tipo 2, indotto da una dieta ricca di carboidrati raffinati con elevato indice glicemico e di grassi saturi, somministrata per 16 settimane, e da streptozotocina (35 mg/kg), iniettata per via intraperitoneale;	Sono stati suddivisi in 6 gruppi (n=6/cadauno): 1) controllo non trattato, 2) trattato con 150mg/kg ⁻¹ di <i>Sarg.</i> estratto con etanolo, 3) trattato con 300 mg/kg ⁻¹ di <i>Sarg.</i> estratto con etanolo, 4) trattato con 150 mg/kg ⁻¹ di <i>Sarg.</i> estratto con acqua, 5)trattato con 300 mg/kg ⁻¹ di <i>Sarg.</i> estratto con acqua, 6) trattato con il farmaco metmorfin (250mg); per 22 gg (una volta al di).	Una significativa (p<0.05) riduzione del valore di glucosio nei gruppi 2-3-4-5 rispetto al controllo e della percentuale di cellule danneggiate nei gruppi 2-4-6 rispetto al gruppo non trattato. I gruppi 3 e 5, invece, pur manifestando un significativo miglioramento a livello pancreatico, hanno sviluppato delle moderate lesioni a livello renale ed epatico.	Azione sul diabete di tipo II	Motshakeri et al. 2014;
	In vivo/vitro: Linee cellulari tumorali di sarcoma 180 (5×10^5 cell/500µl)sono state impiantate, sotto cute, in 185 topi Swiss femmine e somministrato, dopo 24h, per via intraperitoneale o orale, alginati estratti da <i>Sarg.</i> a bassa (5.26dL/g) ed alta (9.10dL/g) viscosità o l'agente chemioterapico 5FU.	I topi sono stati randomizzati in 9 gruppi: 1)trattato con 5FU (25mg/die), 2-3-4-5) trattati, per via orale e per via intraperitoneale, con alginati a bassa viscosità (50 e 100 mg/die, rispettivamente), 6-7-8-9) trattati, per via orale e per via intraperitoneale, con alginati ad alta viscosità (50 e 100 mg/die, rispettivamente), per 7 gg.	La somministrazione per via orale di entrambi gli alginati ha inibito la crescita del sarcoma 180 (51,8%, 74,8%, 66,2%, 88,8% nei gruppi 2-4-6-8, rispettivamente). Il trattamento con estratto algale (gruppi 2-5-6-9) ha comportato, tuttavia, una significativa (p<0.05) alterazione del volume degli organi (reni, fegato e milza) rispetto al gruppo 9, confermando la tossicità dell'alga ad alto dosaggio.	Azione antitumorale	De Sousa et al. 2007;

Tabella 17. Schema riassuntivo degli Studi clinici

SPIRULINA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Composti tetrapirrolici	-Randomizzato con placebo: 36 soggetti con rinite allergica suddivisi in 3 gruppi (n=12/cadauno),	-1)1g/die di <i>Sp.</i> , 2)2g/die di <i>Sp.</i> , 3)placebo;	-Riduzione della concentrazione di IL-4 (p= 0.0082),	Azione immuno-modulatoria	Mao et al. 2005;
	-127 pazienti sani (91 uomini e 36 donne).	-1)1g/die di <i>Sp.</i> (n=63), 2)1g/3 volte a settimana (n=64).	-Aumento del valore delle IgA nel primo gruppo (p <0.05).		Ishii et al. 1999
	Randomizzato con placebo: 87 pazienti con leucoplachia causata dal tabagismo;	1)alimentato con capsule di <i>Sp.</i> (1g/die) (n=44), 2) alimentato con placebo (n=43), entrambi per 12 mesi;	Risposta completa al trattamento del 46% per le lesioni di dimensioni inferiori a ≤ 2 cm e del 43% per le lesioni maggiori a >2cm nel gruppo 2.	Azione antitumorale	Mathew et al. 1995
	Randomizzato in doppio cieco controllato con placebo: 41 pazienti con intossicazione cronica da arsenico e suddivisi in due gruppi.	1) alimentato con una miscela (250 mg di <i>Sp.</i> e 2 mg di zinco/2volte al die) (n=24), 2) alimentato con placebo (n=17), per 16 settimane.	Significativa (p<0.05) riduzione del grado di cheratosi e melanosmi in diverse parti del corpo e del contenuto di arsenico (47,1%) nel cuoio capelluto dei pazienti del gruppo 1.	Azione detossificante	Misbahuddin et al. 2006
CHLORELLA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Astaxantina, luteina	-Randomizzato in doppio cieco : 124 pazienti sottoposti a vaccinazione anti-influenzale;	-1) alimentato con 200mg/die di <i>Ch.</i> (n=41), 2) alimentato con 400mg/die di <i>Ch.</i> (n=41), 3) alimentato con placebo (n=42) per 28gg;	-Significativo aumento del livello di anticorpi contro l'influenza A e B (p=0.047 e 0.034) e significativo aumento della risposta immunitaria nei gruppi 1 e 2 (28,2 e 22,2%);	Azione immuno-modulatoria	Halperin et al. 2003
	-35 donne in gravidanza sane, residenti in Giappone.	-1)controllo (n= 17); 2) alimentato con 6g/die di <i>Ch.</i> (n =18)	-Significativo aumento (p<0.05) della concentrazione di IgA nel gruppo 2 (154.8±74.9 mg/dL) e significativa riduzione della concentrazione di diossine sia nel latte materno che nel sangue del gruppo 2 (0.554±0.216 pg/g)		Nakano et al. 2006
	Randomizzato: 45 donne con cancro al seno e suddivise in tre gruppi:	1)controllo alimentato con 1 capsula/die del prodotto <i>Nature Made B Complex</i> ; 2) alimentato con 6000 mg/die di <i>Ch.</i> in polvere, 3) alimentato con 2400ml/die di <i>Ch.</i> ; per 30 gg.	Significativa (p<0.01) riduzione del livello di affaticamento, dei sintomi addominali e un miglioramento della lucentezza dei capelli e dell'idratazione cutanea nel 9% e nel 50% dei soggetti dei gruppi 2 e 3, significativo punteggio del test FACT-B (p=0.042) nel gruppo 2 .	Azione antitumorale	Noguchi et al. 2014
	70 donne in gravidanza e con anemia suddivise in 2 gruppi.	1)controllo (n=38), 2) alimentato con 30 compresse/die di <i>Ch.</i>	Significativo aumento del livello di emoglobina (>11 g/dL) e significativa riduzione del contenuto di proteine (<2 mg/dL) nell'urina del gruppo <i>Ch.</i> e riduzione dell'edema alle gambe durante il terzo trimestre (9,4% nel gruppo 2).	Azione anti-anemica	Nakano et al. 2010
	Randomizzato con placebo: 24 pazienti con debole o moderata ipertensione.	Placebo (1-2° mese) e <i>Ch.</i> (3-4° mese) sia in compresse (10g/die) che in forma liquida (100ml/die)	Diminuzione della pressione diastolica (< 90mmHg) e significativa (p=0.003) riduzione del livello di colesterolo nel siero, in 6/24 soggetti.	Riduzione rischio cardiovascolare	Merchant et al. 1998
	18 pazienti con fibromialgia	50 compresse/die contenenti 10g di <i>Ch.</i> e 100ml/die di estratto liquido per 2 mesi.	Significativa (p= 0.01) riduzione del numero dei tender points, riduzione (22%) dell'intensità di dolore, riduzione del livello di ansia/depressione del 28% rispetto alla prima visita.	Riduzione sintomi fibromialgia	Merchant et al. 2000
DUNALIELLA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
β-carotene	Randomizzato in doppio cieco con placebo: 21 soggetti con dislipidemia trattati con fibrati e 20 soggetti (7 con ipertensione, 2 con precedente infarto al miocardio, 3 con insufficienza cardiaca, 8 con diabete mellito) suddivisi in due gruppi.	Prima prova: alimentati con 4 capsule/die contenenti 15mg di 9-cis-β-carotene; seconda prova: 1)gruppo (n=11) alimentato allo stesso modo del gruppo della prima prova; 2) controllo (n=11) alimentato con placebo, per 6 settimane	Significativo incremento di α-carotene (69%) e β-carotene (312%) nei gruppi 1 di entrambe le prove, del livello HDL (p=0.680 e 0.317 nei gruppi 1 delle prove 1-2) e una riduzione (26.7%) del livello di trigliceridi nel plasma dei pazienti del gruppo 1.	Azione ipolipemizzante	Shaish et al. 2006
	22 soggetti con eritema cutaneo indotto da esposizione UV.	Una dieta a base di carotenoidi (29,4mg di β-carotene, 0,36mg di α-carotene) per 24 settimane.	Un incremento del contenuto di α e β-carotene (da 0.07 a 0,36 μg/ml e da 0,22 a 1,72 μg/ml) nel siero, significativa inibizione (p<0.05) della perossidazione lipidica.	Azione fotoprotettiva da raggi UV	Lee et al. 2000
HAEMATOCOCCUS					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Astaxantina	Randomizzato in doppio cieco con placebo : 96 soggetti sani con lievi disturbi della memoria e suddivisi in tre gruppi (n=32/cadauno)	1)alimentato con basso dosaggio di astaxantina (6mg/die), 2)alimentato con alto dosaggio di astaxantina (6mg/die) e 2)alimentato con placebo, per 12 settimane	Valori ottimali nei tests di valutazione delle funzioni cognitive nei gruppi 1 e 2 (p<0.05 e p<0.01, rispettivamente).	Riduzione disturbi cognitivi	Katagiri et al. 2012 *

KLAMATH					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Ficocianina	22 donne in menopausa, non trattate con terapia ormonale,	2 compresse da 0,8g/die di <i>Klam</i> , per due mesi,	Riduzione del valore MDA ($p<0.01$), incremento di luteina (+43%), α -carotene (+27%), β -carotene (+29%), retinolo (+18%), γ -tocoferolo (+28%), α -tocoferolo (+32%).	Azione antiossidante, anti-infiammatoria	Scoglio et al. 2009 *
	10 soggetti (7 con psoriasi e 3 con dermatite seborroica "sebopsoriasi") sottoposti ad un trattamento topico	3 compresse/die di <i>Klam</i> . per tre mesi.	Riduzione dell'indice PASI del 50% (da 6.3 a 3,6), riscontrando una significativa riduzione della patologia in 9/10 casi .	Riduzione sintomi psoriasi	Cavalchini et al. 2009*
	16 pazienti con moderato livello di depressione	1g/die in compresse di <i>Klam</i> . a 11 pazienti ed 1g/die in compresse di lattosio a 5 pazienti, utilizzati come controllo, per 60 gg.	Riduzione del punteggio SDS negli 11 pazienti trattati con <i>Klam</i> . (52.1 \pm 6.3 e 46.1 \pm 7.0, rispettivamente prima e dopo il trattamento)	Azione antidepressiva	Tsunoo et al. 2011*
	Randomizzato controllato con placebo: 21 volontari sani;	1 compressa(1.5g)/die di <i>Klam</i> . per 2gg.	Una maggiore mobilità di linfociti T e delle cellule B, con significativa riduzione ($p<0.03$) della proporzione dei linfociti NK (CD3-CD56+) rispetto al gruppo placebo,	Azione immuno-modulatoria	Jensen et al. 2000
ASCOPHYLLUM					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Florotannini	Studio pilota: 12 uomini sani in sovrappeso.	Una colazione a base di uova e pane arricchito di estratto algale (20g) per 3 gg	Una significativa diminuzione ($p=0.007$) dell'apporto calorico ed un ritardo ($p=0.055$) del senso di fame (76 minuti dopo) dei soggetti che hanno consumato Asc. rispetto al pre-trattamento.	Azione regolazione metabolica	Hall et al. 2010
HUNDARIA					
Principio attivo quantitativamente prevalente	Studio	Dosaggio	Risultati	Possibili sviluppi di utilizzo terapeutico	Referenze
Alginati, fucoidano	Studio pilota: 20 volontari sani suddivisi in due gruppi (n=10/cadauno), questi hanno seguito una dieta per 12gg, ingerendo 3 capsule al die	1) alimentato con capsule a base di legumi (3g) che funge da controllo, 2)alimentato con capsule contenenti fucoidano (3g) estratto dall' <i>Hund</i> .	Un significativo aumento ($p=0.01$) del tempo parziale di tromboplastina attivata (a-PTT) (da 28,41mg/l a 34,01mg/l, rispettivamente) e del livello di anti-trombina III (AT-III) (da 113,5% a 117% dopo 4gg di trattamento) nel gruppo 2; nonché una riduzione ($p=0,04$) del tempo di coagulazione della trombina (TT).	Azione anticoagulante	Irhimeh et al. 2009

*Risultati non scientificamente attendibili per metodologia ed inconsistenza del campione inadeguati agli standard clinici.

Dichiarazione

Dichiaro che non vi sono conflitti d'interesse e che l'iconografia è inedita e originale.

Bibliografia

- Keservani RK, Kesharwani RK, Vyas N, et al. Nutraceutical and functional food as future food: a review. *Der Pharmacia Lettle*. 2010; 2(suppl.1):106-16
- Wildman REC, Kelley M. Handbook of Nutraceuticals and Functional foods. New York, Taylor & Francis Group. 2007
- Kalra EK. Nutraceutical-definition and introduction. *AAPS PharmSci* 2003; 5(suppl.3): E25
- Miller EG, Gonzales-Sanders AP, Couvillon AM, et al. Inhibition of oral carcinogenesis by green coffee beans and limonoid glucosides. In: Huang, M-T, Osawa, T, Ho, C-T and Rosen (eds). *Food Phytochemicals for Cancer Prevention I: Fruits and Vegetables*, Am Chem Society, Washington, 1994; 220-9
- Fong CH, Hasegawa S, Herman Z, et al. Limonoid glucosides in commercial citrus juices. *J. Food Sci* 1990; 54:1505-6
- Taiz L, Cruz S, Zeiger E. *Plant Physiology*. 5nd ed. In Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA, 1998; 770-82
- Eskin M, Tamir S. *Dictionary of Nutraceuticals and Functional Foods*. New York, Taylor & Francis Group, 2006
- Shay EG. Diesel fuel from vegetable oils: Status and opportunities. *Biomass aBioenergy* 1993; 4 (suppl.4):227-42
- Simoons FJ. *Food in China: A cultural and historical inquiry*. Florida. CRC.1990
- Plaza M, Cifuentes A, Ibanez E. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends Food Sci Technol* 2008; 19(suppl.1):31-9
- Kovac DJ, Simeunovic JB, Babic OB, et al. Algae in food and feed. *Food and Feed Research* 2013; 40(suppl1):21-31
- Becker W. Microalgae for aquaculture: the nutritional value of microalgae for aquaculture. In Richmond A. (eds). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and applied Phycology* 2004; 380-91
- Mao TK, Van de Water J, Gershwin ME. Effects of a Spirulina-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. *J Med Food* 2005; 8(suppl1):27-30
- Ishii K, Katoch T, Okuwaki Y et al. Influence of dietary Spirulina platensis on IgA level in human saliva. *Kag Nutr Un* 1999; 30:27-33
- Kumar N, Kumar P, Singh S. Immunomodulatory effect of dietary Spirulina platensis in type II collagen induced arthritis in rats. *Res J Pharmaceutical Biol Chem Sci* 2010; 877
- Hayashi T, Hayashi K. Calcium spirulan, an inhibitor of enveloped virus replication, from a blue-green alga Spirulina platensis. *J Nat Prod* 1996; 59(suppl 1):83-7
- Ayehunie S, Belay A, Baba TW, et al. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of Spirulina platensis (*Arthrospira platensis*). *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;

- 18(suppl 1): 7-12
18. Cheong SH, Kim MY, Sok DE, et al. Spirulina prevents atherosclerosis by reducing hypercholesterolemia in rabbits fed a high-cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 2010; 56(suppl 1):34-40
 19. Colla LM, Baisch ALM, Costa JAV. Spirulina platensis Effects on the levels of total cholesterol, HDL and triacylglycerols in rabbits fed with a hypercholesterolemic diet. *Brazilian Arch Biol Technology* 2008; 51(suppl 2):405-11
 20. Mathew B, Sankaranarayanan R, Nair PP, et al. Evaluation of chemoprevention of oral cancer with Spirulina fusiformis. *Nutr Cancer* 1995; 24(suppl 2):197-202
 21. Konickova R, Vankova K, Vanikova J, et al. Anti-cancer effects of blue-green alga Spirulina platensis, a natural source of bilirubin-like tetrapyrrolic compounds. *Ann Hepatol* 2014; 13(suppl 2):273-83
 22. Misbahuddin M, Islam AZ, Khandker S et al. Efficacy of spirulina extract plus zinc in patients of chronic arsenic poisoning: a randomized placebo-controlled study. *Clin Toxicol* 2006; 44(suppl 2):135-41
 23. Bhowmik D, Dubey J, Mehra S. Probiotic Efficiency of Spirulina platensis - Stimulating Growth of Lactic Acid Bacteria. *World J Dairy Food Sci* 2009; 4(suppl 2):160-3
 24. De Caire GZ, Parada JL, Zaccaro MC, et al. Effect of Spirulina platensis biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. *World J Microbiol Biotechnol* 2000; 16:563-5
 25. Mocanu GD, Botez E, Nistor OV, et al. Influence of Spirulina platensis biomass over some starter culture of lactic bacteria. *Agr Proc and Tech* 2013; 19(suppl 4):474-9
 26. Shibata S, Natori Y, Nishihara T, et al. Antioxidant and anti-cataract effects of Chlorella on rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Nutr Sci Vitaminol* 2003; 49(suppl 5):334-9
 27. Guzman S, Gato A, Lamela M, et al., Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from Chlorella stigmatophora and Phaeodactylum tricornutum. *Phytother Res* 2003; 17(suppl 6):665-70
 28. Konishi F, Tanaka K, Himeno K, et al. Antitumor effect induced by a hot water extract of Chlorella vulgaris (CE): resistance to Meth-A tumor growth mediated by CE-induced polymorphonuclear leukocytes. *Cancer Immunol Immunother* 1985; 19:73-8
 29. Tanaka K, Tomita Y, Tsuruta M, et al., Oral administration of Chlorella vulgaris augments concomitant antitumor immunity. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1990; 12(suppl 2):277-91
 30. Bewicke D, Potter BA. Chlorella, the Emerald Food. California. Ronin Publishing Inc.1984
 31. Bengwayan PT, Laygo JC, Allyn E, et al. A comparative study on the antioxidant property of Chlorella (Chlorella sp.) Tablet and Glutathione Tablet. *E-Int Sci R J* 2010; 2(suppl 1):25-36
 32. Vijayavel K, C. Anbuselvam C, Balasubramanian MP. Antioxidant effect of the marine algae Chlorella vulgaris against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Mol Cell Biochem* 2007; 303(suppl 2):39-44
 33. Halperin SA, Smith B, Nolan C et al. Safety and immunoenhancing effect of a chlorella-derived dietary supplement in healthy adults undergoing influenza vaccination: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *CMAJ* 2003; 169:111-7
 34. Nakano S, Takekoshi H, Nakano M. Chlorella (Chlorella pyrenoidosa) supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin a concentrations in breast milk. *J Med Food* 2007; 10(suppl 1):134-42
 35. Azamai MES, Sulaiman S, Yusof YAM. Chlorella vulgaris triggers apoptosis in hepatocarcinogenesis-induced rats. *J Zhejiang Univ Sci B* 2009; 10(suppl 1):14-21
 36. Noguchi, N, Maruyama I, and Yamada A. The influence of chlorella and its hot water extract supplementation on quality of life in patients with breast cancer. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 1-15
 37. Nakano S, Takekoshi H, Nakano M. Chlorella pyrenoidosa supplementation reduces the risk of anemia, proteinuria and edema in pregnant women. *Plant Foods Hum Nutr* 2010; 65(suppl.1): 25-30
 38. Merchant RE, Andre CA, Wise CM. Nutritional supplementation with Chlorella pyrenoidosa for Fibromyalgia Syndrome: a double-blind placebo-controlled, crossover study. *Musculoskel Pain* 2001; 9 (suppl 4):37-54
 39. Lee HS, Park HJ, Kim MK. Effect of Chlorella vulgaris on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. *Nutr Res Pract* 2008; 2(suppl 4):204-10
 40. Chovanciková M, Simek V. Effects of high-fat and Chlorella vulgaris feeding on changes in lipid metabolism in mice. *Biol Bratislava* 2001; 56(suppl 6):661-6
 41. Merchant RE, Carmack CA, Wise CM. Nutritional supplementation with Chlorella pyrenoidosa for patients with fibromyalgia syndrome: a pilot study. *Phytother Res* 2000; 14(suppl.3):167-73
 42. Arnal E, Miranda M, Almansa I et al. Lutein prevents cataract development and progression in diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009; 247(suppl 1):115-20
 43. Lavy A, Naveh Y, Coleman R et al., Dietary Dunaliella bardawil, a beta-carotene-rich alga, protects against acetic acid-induced small bowel inflammation in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2003; 9(suppl 6):372-9
 44. Shaish A, Harari A, Hananshvili L et al. 9-cis beta-carotene-rich powder of the alga Dunaliella bardawil increases plasma HDL-cholesterol in fibrat-treated patients. *Atheroscler* 2006; 189(suppl 1):215-21
 45. Lee J, Jiang S, Levine N et al. Carotenoid Supplementation reduces erythema in human skin after simulated solar radiation exposure. *Proc. Soc. Exp Biol Med* 2000; 223(suppl 2):170-4
 46. Harari A, Harats D, Marko D et al. A 9-cis beta-carotene-enriched diet inhibits atherogenesis and fatty liver formation in LDL receptor knockout mice. *J Nutr* 2008; 138(suppl 10):1923-30
 47. Raja R. Protective effect of Dunaliella salina (Volvocales, Chlorophyta) against experimentally induced fibrosarcoma on wistar rats. *Microbiol Res* 2007; 162(suppl 2):177-84
 48. Sheu MJ, Huang GJ, Wu CH et al. Ethanol extract of Dunaliella salina induces cell cycle arrest and apoptosis in A549 human non-small cell lung cancer cells. *In Vivo* 2008; 22(suppl 3): 369-78
 49. Guerin M, Huntley ME, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol* 2003; 21(suppl 5):210-6
 50. Fassett RG, Coombes JS. Astaxanthin in cardiovascular health and disease. *Molecules* 2012; 17(suppl 2):2030-48
 51. Bennedsen M, Wang X, Willén R, et al. Treatment of H. pylori infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunol Lett* 1999; 70:185-9
 52. Ranga Rao A, Ravishankar GA, Sarada R. Characterization of microalgal carotenoids by mass spectrometry and their bioavailability and antioxidant properties elucidated in rat model. *J Agric Food Chem* 2010; 58(suppl15):8553-9
 53. Choi SK, Park YS, Choi DK et al. Effects of astaxanthin on the production of NO and the expression of COX-2 and iNOS in LPS-stimulated BV2 microglial cells. *J Microbiol Biotechnol* 2008; 18(suppl12):1990-6
 54. Lee SJ, Bay SK, Lee KS et al. Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I(kappa)B kinase-dependent NF-kappaB activation. *Mol Cells*, 2003; 16(suppl 1):97-105
 55. Bennedsen M, Wang X, Willén R et al. Treatment of H. pylori infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. *Immunol Lett* 1999; 70(suppl 3):185-9
 56. Nishikawa YMY, Ichimura M, Tatsumi K, et al. Effects of Astaxanthin and Vitamin C on the Prevention of Gastric Ulcerations in Stressed Rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 2005; 51:135-41
 57. Katagiri M, Satoh A, Tsuji S et al. Effects of astaxanthin-rich Haematococcus pluvialis extract on cognitive function: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Biochem Nutr* 2012; 51(suppl 2):102-7
 58. Scoglio SBS, Canino C, Santagni S, et al. Effect of a 2-month treatment with Klamini1, a Klamath algae extract, on the general well-being, antioxidant profile and oxidative status of postmenopausal women. *Gynecological Endocrinology* 2009; 25(suppl 4):235-40
 59. Benedetti, S. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga Aphanizomenon flos-aquae. *Life Sci* 2004; 75(suppl 19):2353-62
 60. Cavalchini A, Scoglio S. Complementary treatment of psoriasis with an AFA-Phycocyanins product: a preliminary 10-Cases Study. *Intern Med J* 2009; 16(suppl 3):221-4
 61. Tsunoo A. Klamini®, an algae-derived supplement, for depression. Report, Japon: 2011; 1-11
 62. Kuriakose GC, Kurup M. Evaluation of Renoprotective Effect of Aphanizomenon flos-aquae on Cisplatin-Induced Renal Dysfunction in Rats. *Renali Failure* 2008; 30(suppl 7):717-25
 63. Kuriakose GC, Kurup M. Antioxidant and hepatoprotective activity of Aphanizomenon flos-aquae Linn against paracetamol intoxication in rats. *Ind J Exp Biol* 2010; 48:1123-30
 64. Jensen GS, Ginsberg DI, Huerta P et al. Consumption of Aphanizomenon flos-aquae has Rapid Effects on the Circulation and function of Immune Cells in Humans. *JAMA* 2000; 2(suppl 3): 59-65
 65. Pugh N, Ross SA, ElSohly MA et al. Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from Spirulina platensis, aphanizomenon flos-aquae and Chlorella pyrenoidosa. *Planta Med* 2001; 67(suppl 8):737-42
 66. Abu JZ. In vitro antioxidant activities of sulfated polysaccharide ascophyllan isolated from Ascophyllum nodosum. *Int J Biol Macromol* 2013; 59:305-12
 67. Jimenez JT, O'Connell S, Lyons H, et al. Antioxidant, antimicrobial, and tyrosinase inhibition activities of acetone extract of Ascophyllum nodosum. *Versita* 2010; 64(suppl 4):434-42
 68. Braden KW, Blanton JR, Allen VG, et al. Ascophyllum nodosum supplementation: A preharvest intervention for reducing Escherichia coli O157:H7 and Salmonella spp. in feedlot steers. *J Food Prot* 2004; 9:1824-8
 69. Bahar B, O'Doherty JV, Hayes M, et al. Extracts of brown seaweeds can attenuate the bacterial lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory response in the porcine colon ex vivo. *J Anim Sci* 2012; 90:46-8
 70. Gardiner GE, Campbell AJ, O'Doherty JV, et al. Effect of Ascophyllum nodosum extract on growth performance, digestibility, carcass characteristics and selected intestinal microflora populations of grower-finisher pigs. *Animal Feed Sci and Tech* 2008;141(suppl 3-4):259-73
 71. Hall AC, Fairclough AC, Mahadevan K, et al. Ascophyllum nodosum enriched bread reduces subsequent energy intake with no effect on post-prandial glucose and cholesterol in healthy, overweight males. A pilot study. *Appetite* 2012; 58 (suppl 1):379-86
 72. Aisa Y, Miyakawa Y, Nakazato T, et al. Fucoidan induces apoptosis of human HS-sultan cells accompanied by activation of caspase-3 and down-regulation of ERK pathways. *Am J Hematol* 2005; 78(suppl 1):7-14
 73. Jiang Z, Abu R, Isaka S et al. Inhibitory effect of orally-administered sulfated polysaccharide ascophyllan isolated from ascophyllum nodosum on the growth of sarcoma-180 solid tumor in mice. *Anticancer Res* 2014; 34(suppl4):1663-7
 74. Zhang J, Tiller C, Shen J, et al. Antidiabetic properties of polysaccharide- and polyphenolic-enriched fractions from the brown seaweed Ascophyllum nodosum. *Can J Physiol Pharmacol* 2007; 85(suppl 11):116-23
 75. Mauray S, Sternberg C, Theveniaux J et al. Venous antithrombotic and anticoagulant activities of a fucoidan fraction. *Thromb Haemost* 1995; 74(suppl 5):1280-5
 76. Aslam MN, Bergin I, Varani J et al. A mineral-rich extract from the red marine algae Lithothamnion calcareum preserves bone structure and function in female mice on a Western-style diet. *Calcif Tissue Int* 2010; 86(suppl 4):313-24
 77. Aslam MN, Bhagavathula N, Paruchuri T, et al. Growth-inhibitory effects of a mineralized extract from the red marine algae, Lithothamnion calcareum, on Ca(2+)-sensitive and Ca(2+)-resistant human colon carcinoma cells. *Cancer Lett* 2009; 283(suppl 2):186-92
 78. Rocha de Souza MC, Marques CT, Leite EL, et al. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *J Appl Phycol* 2007; 19(suppl 2):153-60
 79. Van Rooijen N, Sanders A. Elimination, blocking, and activation of macrophages: three of a kind? *J Leukoc Biol* 1997; 62(suppl 6):702-9
 80. Zacharopoulos VR, Phillips DM. Vaginal formulations of carrageenan protect mice from herpes simplex virus infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4c(suppl 4):465-8
 81. Liu J, Hafting J, Prithiviraj B et al. Components of the cultivated red seaweed Chondrus crispus enhance the immune response of Caenorhabditis elegans to Pseudomonas aeruginosa through the pmk-1, daf-2/daf-16, and skn-1 pathways. *Appl Environ Microbiol* 2013; 79(suppl 23):7343-50
 82. Zhou G, Sun Y, Xin H et al. In vivo antitumor and immunomodulation activities of different molecular weight lambda-carrageenans from Chondrus ocellatus. *Pharmacol Res* 2004; 50(suppl 1):47-53
 83. Zhou G, Sheng W, Yao W, et al. Effect of low molecular lambda-carrageenan from Chondrus ocellatus on antitumor H-22 activity of 5-Fu. *Pharmacol Res* 2006; 53(suppl 2):129-34
 84. Irhimeh MR, Fitton JH, Lowenthal RM. Pilot clinical study to evaluate the anticoagulant activity of fucoidan. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2009; 20(suppl7):607-10
 85. Suetsuna K, Maekawa K, Chen JR. Antihypertensive effects of Undaria pinnatifida (wakame) peptide on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Biochem* 2004; 15(suppl.5): 267-72
 86. Manoharan N, Sampathkumar B, Dheeba B, et al. Potential hepatoprotective effect of aqueous extract of Gracilaria corticata in AFB1 induced Hepatotoxicity in Wistar Rats. *J Biol Sci* 2008; 8(suppl 8):1352-5
 87. O Coura C, De Araujo IWF, O Vanderlei ES. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of sulphated polysaccharides from the red seaweed Gracilaria cornea. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2012; 110(suppl 4):335-41
 88. Shao JT, Wang MY, and Zheng LB. Antifatigue effect of in mice. *Exp Ther Med* 2013; 6(suppl 6):1512-6
 89. Ko SJ, Youngmin B, Bae J et al. Protective effect of Laminaria japonica with probiotics on murine colitis. *Mediators Inflamm* 2014; 14:1-10
 90. Jang WS, Choung SY. Antiobesity Effects of the Ethanol Extract of Laminaria japonica Are-shoung in High-Fat-Diet-Induced Obese Rat. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 13: 1-26
 91. Manilal A, Selvin J, Shiney G. In vivo therapeutic potentiality of red seaweed, Asparagopsis (Bonnemaisoniales, Rhodophyta) in the treatment of Vibriosis in Penaeus monodon Fabricius. *Saudi J Biol Sci* 2012; 19(suppl 2):165-75
 92. Lee JH, Eom SH, Lee EH, et al. In vitro antibacterial and synergistic effect of phlorotannins

- isolated from edible brown seaweed *Eisenia bicyclis* against acne-related bacteria. *e-Algae*, the Korean Society of Phycology 2014; 29(suppl 1):47-55
93. Abd El Mageid MM, Salama NA, Saleh MAM, et al. Antioxidant and antimicrobial characteristics of red and brown algae extracts. 4th Conference on Rec Tech in Agriculture 2009; 1-13 (Letter)
94. Motshakeri M, Ebrahimi M, Goh YM et al. Effects of Brown Seaweed (*Sargassum polycystum*) Extracts on Kidney, Liver, and Pancreas of Type 2 Diabetic Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 14:1-11
95. De Sousa APA, Torres MR, Pessoa C, et al. In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 tumor by alginates from brown seaweed *Sargassum vulgare*. *Elsevier* 2007; 69:7-13
96. Bishop WM, Zubeck HM. Evaluation of Microalgae for use as Nutraceuticals and Nutritional Supplements. *Nutr Food Sci* 2012; 2(suppl 5):1-6
97. Sansawa H, Takahashi M, Tsuchikura S, et al. Effect of *Chlorella* and its fractions on blood pressure, cerebral stroke lesions, and life-span in strokeprone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 2006; 52:457-66
98. Dutot M. Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-senescence activities of a phlorotannin-rich natural extract from brown seaweed *Ascophyllum nodosum*. *Appl Biochem Biotechnol* 2012; 167(suppl 8):2234-40
99. Tang G, Suter PM. Vitamin A, Nutrition, and Health Values of Algae: *Spirulina*, *Chlorella*, and *Dunaliella*. *J Pharm Nutr Sci* 2011; 1:111-8
100. Salazar M, Martinez E, Madrigal E et al. Subchronic toxicity study in mice fed *Spirulina maxima*. *J Ethnopharmacol* 1998; 62(suppl 3):235-41
101. National Institute of Nutrition Tarnake. Preclinical toxicity of *Chlorella Vulgaris* E-25 subacute studies in fischer strain of rats. Hyderabad 2000; 26-48
102. Kuroiwa Y, Nishikawa A, Imazawa T et al. A subchronic toxicity study of *dunaliella carotene* in F344 rats. *Food Chem Toxicol* 2006; 44(suppl 1):138-45
103. Merapharmaceuticals Inc. *Haematococcus pluvialis* and astaxanthin safety for human consumption. 1999; 8-10 (Letter)
104. Almeida F, Schiavo LV, Vieira AD et al. Gastroprotective and toxicological evaluation of the *Lithothamnion calcareum* algae. *Food Chem Toxicol* 2012; 50(suppl 5):1399-404
105. Zurawell RW, Chen H, Burke JM, Prepas EE. Hepatotoxic Cyanobacteria: A Review of the Biological Importance of Microcystins in Freshwater Environments. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 2005, 8(suppl.1), 1-37.
106. Nishiwaki-Matsushima R, Nishiwaki S, Ohta T, Yoshizawa S, Suganuma M, Harada KI, Watanabe M, Fujiki H. Structure-function relationships of microcystins, liver tumor promoters, in interaction with protein phosphatase. *J. Cancer Res.*, 1991, 82, 993-996.
107. Fujiki H, Suganuma M. Tumor promoters-microcystin-LR, nodularin and TNF- and human cancer development. *Anticancer Agents Med Chem*, 2011, 11(suppl.1), 4-18
108. Gallo P. Contaminazione da biotossine in prodotti ittici e integratori alimentari, in *Ingredienti Alimentari. XI Report* 2012; 6-11 (Letter)
109. Heussner AH, Marzija L, Fastner J, et al. Toxin content and cytotoxicity of algal dietary supplements. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 265(suppl 2):263-71
110. Holdt SL, Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal Appl. Phycol* 2011; 23:543-97
111. Yasui A, Tsutsumi C, Toda S. Selective determination of inorganic arsenic (III), (V) and organic in biological materials by solvent extraction atomic absorption spectrophotometry. *Agric Biol Chem* 1978; 42:2139-45
112. Kim CJ, Jung YH, Ko SR et al. Raceway cultivation of *Spirulina platensis* using underground water. *J Microbiol Biotechnol* 2007; 17(suppl 5):853-7