



Chemoprewencyjne właściwości mikroalg z rodzaju *Chlorella*

Chemopreventive properties of microalgae of the *Chlorella* genus

Weronika Rzeska^{1,B-D,F}, Marta Kinga Lemieszek^{2,A,C-F} ✉

¹ Szkoła Doktorska, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

² Zakład Biologii Medycznej, Instytut Medycyny Wsi w Lublinie, Polska

A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych, D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Rzeska W, Lemieszek MK. Chemoprewencyjne właściwości mikroalg z rodzaju *Chlorella*. Med Og Nauk Zdr. doi:10.26444/monz/221443

■ Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. W ostatnich latach mikroalgi z rodzaju *Chlorella* zyskują na popularności ze względu na szybki przyrost biomasy, zdolność do wzrostu w ekstremalnych warunkach oraz zróżnicowany wachlarz substancji bioaktywnych. Stanowią one cenne źródło składników odżywczych o wysokiej biodostępności i zróżnicowanym profilu biochemicznym, co sprawia, że są szeroko wykorzystywane w przemyśle spożywczym. Dodatkowo różnorodność zawartych w nich związków bioaktywnych o udowodnionych właściwościach antyoksydacyjnych, immunomodulacyjnych, przeciwbakteryjnych, przeciwwirusowych oraz przeciwnowotworowych czy regeneracyjnych przykuwa uwagę przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego.

Metody przeglądu. W artykule przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat chemoprewencyjnych właściwości preparatów na bazie mikroalg z rodzaju *Chlorella*. Przegląd obejmuje prace oryginalne, dostępne w bazach PubMed i Google Scholar.

Opis stanu wiedzy. Możliwość wykorzystania preparatów na bazie *Chlorella spp.* w chemoprewencji nowotworów była analizowana przede wszystkim w hodowlach komórkowych oraz badaniach na zwierzętach. Większość prezentowanych doniesień naukowych skupia się na bezpośrednim wpływie wspomnianych preparatów na żywotność i proliferację komórek nowotworowych oraz możliwość modulacji kluczowych z punktu widzenia kancerogenezy procesów biologicznych tj. cykl komórkowy, apoptoza, stres oksydacyjny oraz przekazywanie sygnałów w szlakach związanych z nowotworzeniem. Omówiono również rolę *Chlorella spp.* jako potencjalnego adiuwanta w onkoterapii, a także cytoprotektanta łagodzącego niepożądane efekty chemioterapii.

Podsumowanie. Przedstawiony przegląd najważniejszych wyników badań *in vitro* i *in vivo* wskazuje na znaczny potencjał chemoprewencyjny preparatów z *Chlorella spp.*

Słowa kluczowe

modele *in vitro*, *Chlorella*, mikroalgi, chemoprewencja nowotworów, modele *in vivo*

■ Abstract

Introduction and Objective. In recent years, microalgae of the *Chlorella* genus have been gaining popularity due to their rapid biomass growth, ability to grow in extreme conditions, and diverse range of bioactive substances. They constitute a valuable source of nutrients with high bioavailability and a diverse biochemical profile, due to which they are widely used in the food industry. Furthermore, the variety of bioactive compounds contained within them, with proven antioxidant, immunomodulatory, antibacterial, antiviral, anticancer and regenerative properties, is attracting the attention of the pharmaceutical and cosmetics industries.

Review methods. This article presents the current state of knowledge on the chemopreventive properties of preparations based on microalgae of the *Chlorella* genus. The review includes original articles available in the PubMed and Google Scholar databases.

Brief description of the state of knowledge. The possibility of using preparations based on *Chlorella spp.* in cancer chemoprevention has been analysed primarily in cell cultures and animal studies. Most of the presented studies focus on the direct impact of these preparations on cancer cell viability and proliferation, as well as the potential for modulating biological processes crucial for carcinogenesis, such as the cell cycle, apoptosis, oxidative stress, and signalling in pathways associated with cancer. The role of *Chlorella spp.* as a potential adjuvant in oncology therapy and as a cytoprotectant mitigating the adverse effects of chemotherapy is also discussed.

Summary. The presented review of the most important *in vitro* and *in vivo* research findings indicates the significant chemopreventive potential of preparations based on *Chlorella spp.*

Key words

in vitro models, *Chlorella*, microalgae, cancer chemoprevention, *in vivo* models

✉ Adres do korespondencji: Marta Kinga Lemieszek, Zakład Biologii Medycznej, Instytut Medycyny Wsi w Lublinie, Jaczewskiego 2, 20-090 Lublin, Polska
E-mail: marta.lemieszek@gmail.com

Nadesłano: 9.02.2026; zaakceptowano do publikacji: 5.05.2026; publikacja online: 14.05.2026

WPROWADZENIE I CEL PRACY

Mikroalgi z rodzaju *Chlorella* zyskują w ostatnich latach na popularności ze względu na ich zróżnicowany wachlarz substancji bioaktywnych, szybki przyrost biomasy oraz

zdolność do wzrostu w ekstremalnych warunkach. Stanowią one cenne źródło składników odżywczych o wysokiej biodostępności i zróżnicowanym profilu biochemicznym, co sprawia, że są szeroko wykorzystywane w przemyśle spożywczym. Dodatkowo różnorodność zawartych w nich związków bioaktywnych o udowodnionych właściwościach antyoksydacyjnych, immunomodulacyjnych, przeciwbakteryjnych, przeciwwirusowych, jak również regeneracyjnych przykuwa uwagę przemysłu farmaceutycznego i kosmetycznego. Celem niniejszej publikacji był przegląd wyników badań nad możliwością wykorzystania mikroalg z rodzaju *Chlorella*, preparatów na ich bazie oraz czystych substancji z nich pozyskiwanych w chemoprewencji nowotworów.

Mikroalgi z rodzaju *Chlorella*

Mikroalgi z rodzaju *Chlorella* należą do jednokomórkowych zielenic, charakteryzujących się kulistym kształtem i brakiem wici. Ich nazwa powstała z połączenia dwóch słów: greckiego *chloros* – zielony oraz łacińskiego *ella* – mały. Ta nazwa znakomicie oddaje ich niewielkie rozmiary (od 2 do 8 μm) i najwyższą w świecie roślin zawartość chlorofilu (do 4%). *Chlorella spp.* występują zarówno w wodach słonych, jak i słodkich, jak również na powierzchni wilgotnej ziemi i korze drzew. W środowisku wodnym, jako mikroplankton, stanowią one pierwsze ogniwo łańcucha pokarmowego, a z uwagi na dużą zawartość chlorofilu i szybkie tempo wzrostu są jednym z głównych producentów tlenu w tych ekosystemach [1].

Rodzaj *Chlorella* został odkryty w 1890 roku przez Beijerinck, który opisał gatunek typowy *Chlorella vulgaris*. Od tego czasu wyizolowano ponad sto gatunków z różnych siedlisk i przypisano je do rodzaju *Chlorella*, głównie na podstawie podobieństw morfologicznych. Niestety większość z nich została błędnie zidentyfikowana i obecnie przenieśiona została do innych rodzajów. Aktualnie uznaje się, że *Chlorella* reprezentuje grupę morfologicznie podobnych gatunków o pochodzeniu polifiletycznym, a nie naturalny rodzaj. Z uwagi na kilkukrotne zmiany w taksonomii tych mikroalg podane w manuskrypcie nazwy gatunkowe należy traktować z rezerwą, gdyż odnoszą się one do danych podawanych przez hodowców i producentów żywności, a nie przez taksonomów [2].

Właściwości odżywcze mikroalg *Chlorella spp.*

Ze względu na bogactwo składników odżywczych *Chlorella spp.* uznawana jest obecnie za jeden z najbardziej obiecujących surowców biologicznych w kontekście produkcji żywności funkcjonalnej i suplementów diety. Zawartość białka w suchej masie *Chlorella spp.* sięga 65%, co znacznie przekracza zawartość tego makroskładnika w mięsie, jajkach czy roślinach strączkowych [3]. Białka te charakteryzują się korzystnym składem aminokwasów, gdyż zawierają wszystkie niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu, aminokwasy egzogenne. Porównywalna z białkami pochodzenia zwierzęcego wartość odżywcza białka z *Chlorella spp.* czyni te mikroalgi doskonałym alternatywnym źródłem białka w diecie roślinnej [4]. Komponenta białkowa okazała się również cennym nośnikiem przeciwnowotworowych właściwości *Chlorella spp.* [5–7]. Od 10 do 20% suchej masy *Chlorella spp.* stanowią lipidy, które charakteryzują się korzystnym profilem kwasów tłuszczowych – zawierają wysokie stężenia nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym kwasu linolowego (C18:2, n-6), α -linolenowego (C18:3, n-3) oraz oleinowego (C18:1, n-9). Taki skład lipidowy korzystnie

wpływa na gospodarkę lipidową organizmu człowieka, działając m.in. kardioprotekcyjnie [8], a – jak wykazały zaprezentowane poniżej badania – mają również znaczny potencjał przeciwnowotworowy [9]. Około 15–25% suchej masy *Chlorella spp.* stanowią węglowodany, z czego istotną część to polisacharydy o właściwościach prozdrowotnych. Wykazano, że polisacharydy ściany komórkowej *Chlorella spp.*, zawierające m.in. glukozaminę, ramnozę i galaktozę, skutecznie mobilizują układ odpornościowy do zwalczania infekcji oraz eliminacji komórek nowotworowych [10, 11]. Natomiast β -1,3-glukan odpowiedzialny jest za usuwanie wolnych rodników, których nadmiar może prowadzić do transformacji nowotworowej, będącej następstwem uszkodzeń DNA [12]. Warto również wspomnieć o zdolności polisacharydów *Chlorella spp.* do wiązania metali ciężkich i w konsekwencji do detoksykacji organizmu [4, 13]. Należy zaznaczyć, że *Chlorella spp.* jest również bogatym źródłem witamin i składników mineralnych. Zawiera ona znaczne ilości witamin z grupy B (w tym kobalaminy – witaminy B₁₂, rzadko występującej w produktach roślinnych), a także witamin C, E i K. Wśród składników mineralnych szczególnie istotne są żelazo, magnez, cynk i wapń, które odgrywają kluczową rolę w metabolizmie komórkowym [3, 13, 14]. Sięgające nawet do 4% suchej masy stężenie chlorofilu stanowi dodatkowo element wyróżniający *Chlorella spp.* spośród innych zielenic [15]. Chlorofil wraz z karotenoidami (takimi jak luteina, β -karoten czy zeaksantyna) dzięki właściwościom antyoksydacyjnym chronią komórki przed uszkodzeniami DNA i będącymi ich następstwem procesami nowotworzenia oraz starzenia [14, 16, 17]. Niezwykle interesującym, gdyż spotykanym jedynie u *Chlorella spp.*, składnikiem bioaktywnym jest czynnik wzrostu chlorelli (ang. *Chlorella Growth Factor*, CGF). CGF stanowi unikatową kompozycję substancji obecnych wyłącznie w jądrze komórkowym chlorelli. Głównymi składnikami CGF są kwasy nukleinowe (RNA i DNA), wolne aminokwasy, peptydy, polisacharydy w tym β -glukany, glikoproteiny, witaminy i minerały [18]. Oprócz klasycznej funkcji czynnika wzrostu wspierającego namnażanie komórek *Chlorella spp.* wykazano również jego immunomodulacyjne, hepatoprotekcyjne, hipotensyjne, kardioprotekcyjne oraz regeneracyjne właściwości [3, 13, 14, 19]. Ponadto w ostatnich latach pojawiły się również doniesienia o przeciwnowotworowym działaniu CGF [20].

W obliczu medialnego szumu, jaki w ostatnich latach generują produkty na bazie *Chlorella spp.*, warto podkreślić, że w Azji te mikroalgi były znane i stosowane od wieków jako rośliny lecznicze. Używano ich przede wszystkim jako środka oczyszczającego organizm z metali ciężkich i toksyn oraz preparaty wzmacniające organizm. Co ciekawe, dopiero w XX wieku mikroalgi *Chlorella spp.* zaczęły być postrzegane jako żywność. Po II wojnie światowej badano je jako potencjalne wysokobiałkowe rozwiązanie problemu głodu na świecie. Warto wspomnieć, że już w latach 60 XX wieku były one hodowane na skalę przemysłową. Do 1980 roku w Azji istniało 46 dużych fabryk produkujących ponad 1 tys. kg mikroalg miesięcznie (głównie *Chlorella vulgaris*), a w 1996 roku w samej Japonii sprzedano ok. 2000 ton *Chlorella spp.* [21]. Natomiast dane z 2024 roku mówią o globalnej rocznej produkcji *C. vulgaris* na poziomie 6 200 ton i prognozują dalszy systematyczny wzrost tego rynku, głównie dzięki rozwojowi farmaceutyków, nutraceutyków i kosmetyków na bazie *C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *C. ellipsoide* oraz *C. sorokiniana* [22].

METODY PRZEGLĄDU

Przełgądu literatury dokonano przy użyciu baz danych PubMed i Google Scholar. W wyszukiwaniu użyto terminów: „chlorella”, „cancer”, „chemoprevention”, „microalgae”, „in vitro models”, „in vivo models”, „supplementation”, „functional food” w różnych konfiguracjach. Wybrano prace oryginalne dotyczące przeciwnowotworowych właściwości preparatów na bazie mikroalg z rodzaju *Chlorella*. Kryterium włączenia była dostępność pełnego tekstu w języku angielskim, zgodność celu badań z koncepcją manuskryptu oraz klarowny opis wyników badania. Zaprezentowany w manuskrypcie przegląd literatury ma charakter narracyjny.

OPIS STANU WIEDZY

Nowotwory stanowią drugą po chorobach układu krążenia najczęstszą przyczynę zgonów na świecie [23]. Ograniczona skuteczność oraz liczne działania niepożądane tradycyjnych metod leczenia, takich jak chemioterapia czy radioterapia, wskazują na potrzebę poszukiwania alternatywnych strategii walki z nowotworami. Obiecującym podejściem mającym na celu zmniejszenie zachorowalności i śmiertelności poprzez opóźnienie i spowolnienie procesu nowotworzenia jest chemoprewencja. Jest to strategia zapobiegania powstawaniu nowotworów poprzez przyjmowanie nietoksycznych substancji syntetycznych lub naturalnych, które mogą zatrzymać lub spowolnić przebieg procesu nowotworzenia, a nawet wpłynąć na regresję już powstałych zmian [24]. W przeciwieństwie do chemioterapii, chemoprewencja ingeruje głównie we wczesne etapy procesu nowotworzenia – hamując inicjację, progresję oraz rozprzestrzenianie się nowotworu. Idealny środek chemoprewencyjny charakteryzuje się: 1) brakiem lub niską toksycznością dla organizmu; 2) znaczącą aktywnością przeciwnowotworową; 3) działaniem przeciwwzapalnym; 4) znanym mechanizmem działania; 5) dostępnością; 6) możliwością podania doustnego; 6) niskimi kosztami produkcji [25].

Kryteria te niewątpliwie spełnia żywność funkcjonalna, do której zaliczane są mikroalgi z rodzaju *Chlorella* ze względu na bogactwo składników odżywczych oraz substancji bioaktywnych o szerokim spektrum aktywności prozdrowotnych [26, 27]. W ostatnich latach wykazano, że ekstrakty i frakcje izolowane z *Chlorella spp.* wykazują wielokierunkowe działanie przeciwnowotworowe, obejmujące m.in. hamowanie proliferacji komórek nowotworowych, indukcję ich programowanej śmierci oraz wzmacnianie naturalnych mechanizmów odpornościowych organizmu do rozpoznawania i zwalczania komórek nowotworowych [28]. Badania *in vitro* i *in vivo* wskazują na zdolność *Chlorella spp.* do modulacji ekspresji genów związanych z cyklem komórkowym, angiogenezą i metastazą [29]. Udowodniono również, że kilka substancji izolowanych z mikroalg *Chlorella spp.* hamuje aktywności polimeraz DNA, zaburza ekspresję cyklin nadzorujących przebieg cyklu komórkowego i/lub hamuje przekazywanie sygnałów w szlakach kontrolujących podziały, przeżycie oraz rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych [7, 30].

W kolejnych podrozdziałach szczegółowo omówiono najważniejsze wyniki badań *in vitro* i *in vivo* wskazujące na chemoprewencyjne właściwości ekstraktów z *Chlorella spp.*, jak również czystych substancji izolowanych z tych mikroalg. Jednocześnie w tab. 1 przedstawiono podsumowanie najważniejszych wyników badań.

Preparaty na bazie komórek *Chlorella spp.*

Miyazawa i wsp. ocenili zdolność autoklawowalnych komórek *C. pyrenoidosa* (ACC – od ang. *autoclaved Chlorella cells*) do zapobiegania indukcji oraz hamowania rozwoju trzech wybranych typów nowotworów. Badania były prowadzone na myszach szczepu C57BL/6, C3H/He i DDD/1 z wykorzystaniem trzech linii komórek nowotworowych (EL-4 – mysie komórki białaczki, MM-2 – mysie komórki raka sutka, mysie komórki raka wysiękowego Ehrlicha). W modelu białaczki oceniano wpływ profilaktycznego podawania ACC przed indukcją nowotworu u myszy C57BL/6. ACC w dawce 1×10^6 komórek/mysz był podawany doustnie lub dootrzewnowo co drugi dzień, od 7. do 2. dnia poprzedzających indukcję nowotworu. Badany preparat podany doustnie lub dootrzewnowo wydłużył życie myszy z 20 do ponad 60 dni po indukcji guza odpowiednio u 73,0% oraz 66,7% zwierząt. U myszy C3H/He z rakiem sutka zbadano profilaktyczne działanie podawanego doustnie lub dootrzewnowo ACC w dawce 1×10^8 komórek/mysz. Schemat podawania preparatu był identyczny jak w modelu białaczki. Niemniej jednak korzystny wpływ ACC zaobserwowano jedynie po podaniu dootrzewnowym, które to doprowadziło do wydłużenia życia zwierząt z 20 do ponad 60 dni u 80% osobników. W przypadku guza Ehrlicha wszczepianego myszom DDD/1 zbadano wpływ ACC podawanego dootrzewnowo w dwóch schematach leczenia, tzn. przed (4 dawki) jak i po (4 dawki) indukcji guza. ACC w dawce 1×10^8 komórek/mysz skutecznie hamował wzrost guza niezależnie od momentu interwencji. Współczynnik zahamowania wzrostu nowotworu wynosił 0,49 oraz 0,57 w odpowiedzi na ACC podany odpowiednio przed oraz po wszczepieniu komórek nowotworowych [7].

Ocenę przeciwnowotworowych właściwości *C. pyrenoidosa* kontynuował zespół Kubatka i wsp., który przeprowadził badania na ludzkich komórkach raka piersi linii MCF-7 oraz w szczurzym modelu raka piersi indukowanym N-metylo-N-nitrozomocznikiem. Badania *in vivo* wykazały, że codzienna suplementacja diety zwierząt wysuszoną biomasą *C. pyrenoidosa* w stężeniu 30 g/kg paszy przez 15 tygodni (leczenie rozpoczęto na tydzień przed indukcją nowotworu) zmniejszyło częstość występowania guza do 61% i wydłużyło okres utajenia guza do 12,5 dnia w porównaniu ze zwierzętami na standardowej diecie. Analiza immunohistochemiczna komórek nowotworowych pobranych od szczurów po leczeniu *C. pyrenoidosa* wykazała wzrost o 73,5% poziomu kaspazy-7 o istotnym znaczeniu w procesie apoptozy [31]. W równoległym badaniu *in vitro* wykazano, że *C. pyrenoidosa* w szerokim zakresie stężeń (od 19,5 $\mu\text{g/ml}$ do 1,25 mg/ml) po 48-godz. inkubacji z komórkami raka piersi linii MCF-7 hamowały ich podziały, a po 72-godz. istotnie zmniejszały ich żywotność. Antyproliferacyjne działanie *C. pyrenoidosa* potwierdzono w analizie cytometrycznej, która wykazała zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G0/G1 oraz ujawniła indukcję apoptozy i nekrozy w odpowiedzi komórek MCF-7 na 48- i 72-godz. ekspozycję na badany preparat w stężeniu 156 $\mu\text{g/ml}$. W tych samych warunkach eksperymentu zaobserwowano również spadek potencjału wewnętrznej błony mitochondrialnej oraz wzrost wytwarzania reaktywnych form tlenu w komórkach MCF-7 po 24, 48 i 72 godzinach inkubacji z *C. pyrenoidosa* [31].

Wykazano również przeciwnowotworowe właściwości preparatów uzyskanych przez odwirowanie biomasy *C. vulgaris* w modelu raka wątroby wywołanego dietą ubogą w cholinę oraz 0,1% etioniną podawaną z wodą pitną.

Tabela 1. Podsumowanie wyników badań *in vitro* oraz *in vivo* dotyczących chemoprewencyjnych właściwości preparatów na bazie mikroalg z rodzaju *Chlorella* (wyniki badań przedstawiono w kolejności ich omawianie w manuskrypcie)

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
1. Preparaty na bazie całych komórek						
1.1	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	ACC – komórki <i>C. pyrenoidosa</i> po autoklawowaniu (120°C, 3 min.)	ACC w dawce 1×106 kom./mysz (białaczka) i 1 ×108 kom./myszy (rak sutka) podawany doustnie i dootrzewnowo co drugi dzień, od 7. do 2. dnia poprzedzających indukcję nowotworu ACC w dawce 1×108 kom./mysz podawane dootrzewnowo co drugi dzień, od 7. do 2. dnia poprzedzających wszczepienie guza Ehrlicha lub co drugi dzień w 4 dawkach po indukcji nowotworu	Model białaczki indukowanej podaniem myszom C57BL/6 komórek linii EL-4 Model raka sutka indukowanego podaniem myszom C3H/He komórek linii MM-2 Guz Ehrlicha wszczepiony podskórnie myszom DDD/1	Zwiększenie długości życia z 20 do ponad 60 dni po indukcji białaczki odpowiednio u 73,0% i 66,7% myszy po doustnym i dootrzewnowym podaniu ACC Zwiększenie długości życia z 20 do ponad 60 dni po indukcji raka sutka u 80,0% myszy po dootrzewnowym podaniu ACC. Zahamowanie wzrostu nowotworu odpowiednio o 49% i 57% po podaniu ACC przed oraz po wszczepieniu guza Ehrlicha	[7]
1.2	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Wysuszone komórki <i>C. pyrenoidosa</i>	Codzienna suplementacja diety <i>C. pyrenoidosa</i> w dawce 3%/paszy przez 15 tygodni (terapia została rozpoczęta na tydzień przed indukcją nowotworu)	Model raka piersi indukowanego N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów Sprague-Dawley	Zmniejszenie częstości występowania guzów do 61% i wydłużenie okres utajenia guza do 12,5 dnia Efekt proapoptotyczny – wzrost o 73,5% poziomu kaspazy 7 w odpowiedzi na leczenie <i>C. pyrenoidosa</i>	[31]
1.3	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Wysuszone komórki <i>C. pyrenoidosa</i>	Inkubacja komórek (24-godz., 48-godz. i 72-godz.) z preparatem w stężeniach: 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250; 500 i 1000 µg/ml	Ludzkie komórki raka piersi linii MCF-7	Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka piersi poprzez zmniejszenie ich aktywności metabolicznej (ekstrakt w stężeniach od 19,5 µg/ml do 1,25 mg/ml) oraz obniżenie syntezy DNA (ekstrakt w stężeniach od 4,9 µg/ml do 1,25 mg/ml) Zależny od czasu inkubacji wzrost liczby komórek apoptotycznych i nekrotycznych oraz z zatrzymanym cyklem komórkowym w fazie G0/G1 w hodowli MCF-7 w odpowiedzi na ekstrakt w stężeniu 156 µg/ml Zależne od czasu inkubacji zmniejszenie potencjałów błon mitochondrialnych w komórkach raka piersi w odpowiedzi na ekstrakt w stężeniu 156 µg/ml Zależne od czasu inkubacji nasilenie stresu oksydacyjnego w hodowli MCF-7 w odpowiedzi na ekstrakt w stężeniu 156 µg/ml	[31]
1.4	<i>Chlorella vulgaris</i>	Granulat z <i>C. vulgaris</i>	Codzienna suplementacja diety <i>C. vulgaris</i> w dawkach: 50, 150 i 300 mg/kg m. c. przez 4, 8 i 12 tygodni	Model raka wątroby indukowanego u szczurów Wistar dietą ubogą w cholinę oraz podawaną z wodą pitną 0,1% etionią	Przywracanie równowagi oksydacyjnej zaburzonej rozwojem nowotworu. Zależne od dawki oraz okresu suplementacji <i>C. vulgaris</i> zmniejszenie aktywności endogennych enzymów antyoksydacyjnych SOD i katalazy oraz zmniejszenie peroksydacji lipidów poprzez obniżenie poziomu malondialdehydu	[34]
1.5	<i>Chlorella vulgaris</i>	Granulat z <i>C. vulgaris</i>	Codzienna suplementacja diety <i>C. vulgaris</i> w dawkach: 50, 150 i 300 mg/kg m. c. przez 4, 8 i 12 tygodni	Model raka wątroby indukowanego u szczurów Wistar dietą ubogą w cholinę oraz 0,1% etioninę podawaną z wodą pitną	Zależna od dawki oraz czasu suplementacji <i>C. vulgaris</i> regresja guza. Suplementacja diety <i>C. vulgaris</i> w dawce 300 mg/kg m.c. spowodowała zmniejszenie rozmiarów guza o 20%, 67% i 83% odpowiednio po 4, 8 i 12 tygodniach terapii Zależne od dawki oraz od czasu podawania preparatów zahamowanie proliferacji oraz indukcja apoptozy zmienionych nowotworowo komórek wątroby	[33]
1.6	<i>Chlorella vulgaris</i>	Granulat z <i>C. vulgaris</i>	Codzienna suplementacja diety <i>C. vulgaris</i> w dawkach: 50, 150 i 300 mg/kg m. c. przez 4, 8 i 12 tygodni	Model raka wątroby indukowanego u szczurów Wistar dietą ubogą w cholinę oraz podawaną z wodą pitną 0,1% etionią	Niezależna od dawki oraz okresu suplementacji <i>C. vulgaris</i> supresja markerów nowotworowych wątroby: AFP, TGFβ, M2-PK i OV-6 Niezależna od dawki oraz okresu suplementacji <i>C. vulgaris</i> redukcja podwyższonego chorobą stężenia TGFβ w surowicy	[32]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
2. Ekstrakty wodne						
2.1	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	CGF-prf – ekstrahowana gorącą wodą bogata w białka frakcja z <i>C. pyrenoidosa</i>	CGF-prf w stężeniu 1 mg/mysz podawany doustnie i dootrzewnowo co drugi dzień, od 7. do 2. dnia poprzedzających indukcję nowotworu	Model białaczki indukowanej podaniem myszom C57BL/6 komórek linii EL-4 Model raka sutka indukowanego podaniem myszom C3H/He komórek linii MM-2	Zwiększenie długości życia z 20 do ponad 60 dni po indukcji białaczki odpowiednio u 73,0% i 66,7% myszy po doustnym i dootrzewnowym podaniu CGF-prf Zwiększenie długości życia z 20 do ponad 60 dni po indukcji raka sutka odpowiednio u 80 % i 70% myszy po doustnym i dootrzewnowym podaniu CGF-prf	[7]
2.2	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. pyrenoidosa</i> [42,3% węglowodany; 26,9% białka; 24,4% kwasy nukleinowe] Prawdopodobna substancja czynna CGF	Inkubacja komórek (24-godz., 48-godz. i 96-godz.) z ekstraktem w stężeniach: 10; 25; 50; 100; 250; 500 i 1000 µg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HT-29 Ludzkie komórki nabłonka jelita linii CCD841 CoN	Ekstrakt w całym zakresie analizowanych stężeń nie był cytotoksyczny dla komórek prawidłowych nabłonka jelita grubego i nie zaburzał ich aktywności metabolicznej Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka okrężnicy poprzez zmniejszenie ich aktywności metabolicznej (IC50: 25 µg/ml) oraz 2.3obniżenie syntezy DNA (IC50: 767 µg/ml)	[35]
2.3	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. pyrenoidosa</i> [42,3% węglowodany; 26,9% białka; 24,4% kwasy nukleinowe] Prawdopodobna substancja czynna CGF	Inkubacja komórek (24-godz., 48-godz. i 96-godz.) z ekstraktem w stężeniach: 2,5; 5; 10; 25; 50; 100; 250; 500 i 1000 µg/ml	Ludzkie komórki raka piersi linii T47D Ludzkie komórki fibroblastów skóry HSF	Ekstrakt w całym zakresie analizowanych stężeń nie wpływał na żywotność i proliferację ludzkich fibroblastów skóry Zależna od dawki cytotoksyczność (IC50: 1484 µg/ml) Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka piersi poprzez zmniejszenie ich aktywności metabolicznej (IC50: 319 µg/ml) oraz obniżenie syntezy DNA (IC50: 1175 µg/ml)	[36]
2.4	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. pyrenoidosa</i> [42,3% węglowodany; 26,9% białka; 24,4% kwasy nukleinowe] Prawdopodobna substancja czynna CGF	Inkubacja komórek (24-godz., 48-godz., 96-godz.) z ekstraktem w stężeniach: 50; 100; 250; 500 i 1000 µg/ml	Ludzkie komórki raka trzonu macicy linii KLE i HEC-1-B Komórki wyprowadzone od pacjentki z rakiem endometrium EDC	Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka endometrium poprzez obniżenie ich aktywności metabolicznej (IC50 EDC: 388,6 µg/ml; IC50 HEC-1-B: 95,3 µg/ml; IC50 KLE: 150,2 µg/ml) Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka endometrium poprzez inhibicję syntezy DNA (IC50 EDC: 2013,0 µg/ml; IC50 HEC-1-B: 619,7 µg/ml; IC50 KLE: 305,7 µg/ml) Zależne od dawki zmniejszenie inwazyjności komórek raka endometrium. 1 mg/ml ekstraktu zahamowało migrację komórek EDC, HEC-1-B i KLE odpowiednio o 20,8%, 40,0% i 43,6% Wzrastający wraz ze stopniem zróżnicowania nowotworu efekt cytotoksyczny. 1 mg/ml ekstraktu zwiększało uwalnianie LDH (marker uszkodzenia błon komórkowych) w komórkach EDC, HEC-1-B i KLE odpowiednio o 45%, 12% i 40% Zależna od dawki indukcja apoptozy w komórkach raka endometrium. 1 mg/ml ekstraktu zwiększało fragmentację DNA o 75% w komórkach KLE i HEC-1-B oraz o 32% w hodowli wyprowadzonej od pacjentki (EDC)	[37]
2.5	<i>Chlorella vulgaris</i>	Wodny ekstrakt <i>C. vulgaris</i> [44,3% białka; 39,5% węglowodany; 15,4% kwasy nukleinowe] Sugerowana substancja czynna CGF	Ekstrakt w dawkach 50, 100 i 200 mg/kg/mysz podawany doustnie przez 5 kolejnych dni	Myszy BALB/c z guzem Ehrlicha	Zwiększenie długości życia z 17 do 43, 42 i 45 dni myszy z guzem Ehrlicha leczonych ekstraktem w dawkach 50, 100 i 200 mg/kg/mysz Utrzymanie fizjologicznego poziomu progenitorowych makrofagów i granulocytów w trakcie rozwoju nowotworu	[38]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
2.6	<i>Chlorella vulgaris</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. vulgaris</i> izolowane gorącą wodą z mikroalg z japońskiej hodowli (CVJ) oraz wyhodowanych lokalnie – w Malezji (CVL)	24-godz. inkubacji komórek z ekstraktem w stężeniach od 100 µg/ml do 4 mg/ml	Ludzkie komórki raka wątroby linii HepG2 Ludzkie prawidłowe komórki wątroby linii WRL68	Zależne od dawki zahamowanie proliferacji analizowanych komórek przez CVL (IC50 HepG2: 1,6 mg/ml; IC50 WRL68: 1,7 mg/ml) Stymulacja proliferacji prawidłowych i nowotworowych komórek raka wątroby przez CVJ Indukcja apoptozy w komórkach raka wątroby HepG2. CVL w stężeniu 2 mg/ml oraz CVJ w stężeniu 3 mg/ml powodowały wzrost uszkodzeń DNA w komórkach HepG2 odpowiednio o 80% i 58%	[39]
2.7	<i>Chlorella vulgaris</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. vulgaris</i> izolowany gorącą wodą z mikroalg wyhodowanych lokalnie – w Malezji (CVL)	24-godz. inkubacji komórek z ekstraktem w stężeniach od 100 µg/ml do 4 mg/ml	Ludzkie komórki raka wątroby linii HepG2 Ludzkie prawidłowe komórki wątroby linii WRL68	Zależne od dawki zahamowanie proliferacji analizowanych komórek (IC50 HepG2: 1,6 mg/ml; IC50 WRL68: 1,7 mg/ml) Selektywna indukcja programowanej śmierci komórek w analizowanych hodowlach. 2 mg/ml ekstraktu indukowało apoptozę w komórkach linii HepG2, a w wyższych dawkach (3 i 4 mg/ml) również w komórkach prawidłowych linii WRL68. 2 mg/ml ekstraktu indukowało apoptozę u 70% komórek HepG2 i 15% komórek WRL68 2 mg/ml ekstraktu powodowało wzrost uszkodzeń DNA w komórkach HepG2 i WRL68 do 80% i 50%. 2 mg/ml ekstraktu zwiększało poziom proapoptotycznych białek p53 i Bax oraz aktywność kaspazy-3, jednocześnie obniżając poziom antyapoptotycznego białka Bcl2 w komórkach HepG2	[40]
2.8	<i>Chlorella vulgaris</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. vulgaris</i>	72 godz. inkubacja komórek z ekstraktem w stężeniu 100 µg/ml	Ludzkie komórki raka wątroby linii HepG2 Mysie komórki izolowane z guza Ehrlicha – EACC (ang. <i>Ehrlich ascites carcinoma</i>)	100 µg/ml ekstraktu zmniejszało żywotność komórek HepG2 i EACC i odpowiednio o 45% i 65% Redukcja stresu oksydacyjnego (analizy biochemiczne bez komponenty komórkowej); 100 µg/ml ekstraktu ujawniło zdolność do usuwania wolnych rodników ABTS i DPPH odpowiednio na poziomie 65% i 70%	[41]
2.9	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. sorokiniana</i> (ekstrakcja gorącą wodą)	24 godz. inkubacja komórek z ekstraktem w stężeniach: 15. 625, 12.5; 50; 100; 250; 500 i 1000 ng/ml	Ludzkie komórki niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549 i CL1-5	Zależny od dawki spadek żywotności analizowanych komórek raka płuca. 5-krotnie wyższa wrażliwość komórek CL1-5 niż komórek A549 na działanie ekstraktu Zależne od dawki zahamowanie cyklu komórkowego w fazie sub-G1 w hodowlach komórek raka płuca Zależna od dawki indukcja programowanej śmierci komórek w hodowlach A549 i CL1-5 poprzez zwiększenie aktywacji kaspazy 3 i 9, nasilenie degradacji PARP (polimerazy poli-ADP-rybozy), obniżenie poziomu proapoptotycznego białka Bax, obniżenie poziomu białek antyapoptotycznych (Bcl-2, Bcl-xl) oraz regulujących aktywność kaspaz białek z rodziny IAP (surwiwina i XIAP)	[43]
2.10	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Wodny ekstrakt <i>C. sorokiniana</i> (ekstrakcja gorącą wodą)	Ekstrakt w dawce 50 mg/kg m.c. podawany doustnie przez 11 kolejnych dni od 10. dnia po indukcji nowotworu	Model raka płuca indukowanego podaniem myszom BALB/c komórek linii CL1-5	Zahamowanie wzrostu guza – redukcja objętości guza z 750 ml do 250 ml	[43]
2.11	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. sorokiniana</i> (CSE)	7 dniowa inkubacja komórek szpiku z ekstraktem w stężeniach: 10, 100 i 500 µg /ml w obecności cis-platyny w stężeniu 4 µM 7 dniowa inkubacja komórek PBMC z ekstraktem w stężeniach: 25, 50 i 100 µg /ml w obecności cis-platyny w stężeniu 4 µM	Prawidłowe komórki szpiku izolowane z kości udowej myszy szczepu BALB/c Jednojądrowe komórki krwi obwodowej (PBMC) pozyskane od myszy BALB/c	Zależna od dawki ochrona komórek mieloidalnych przed mielotoksycznym działaniem cis-platyny. 500 µg/ml ekstraktu przywróciło do poziomu kontroli zdolność komórek szpiku do tworzenia kolonii obniżoną 4-krotnie przez cis-platynę. 100 µg/ml ekstraktu niwelowało antyproliferycyjne działanie cis-platyny względem komórek PBMC, powodując wzrost ich podziałów powyżej poziomu obserwowanego w kontroli	[42]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
2.12	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. sorokiniana</i> (CSE)	Inkubacja (24-godz., 48-godz., 72 godz.) komórek z ekstraktem w stężeniach: 6,25; 12,5; 50; 100 µg/ml w obecności cis-platyny w stężeniach 2 µM (THP-1) i 4 µM (HL-60)	Modele komórek mieloidalnych: HL-60 – ludzkie komórki białaczki promielocytowej THP-1 – ludzkie komórki ostrej białaczki monocytowej	Zależna od dawki ochrona modelowych komórek mieloidalnych przed toksycznym działaniem cis-platyny. Łączne podanie 100 µg/ml ekstraktu z cis-platyną zmniejszyło liczbę komórek apoptotycznych w hodowli HL-60 z 45,2% do 19,7%; a w hodowli THP-1 z 11,9% do 8,6% Ochrona modelowych komórek promielocytowych HL-60 przed indukowanymi cis-platyną zaburzeniami funkcjonowania mitochondriów. 100 µg/ml ekstraktu: przywracało masę mitochondriów zmieszoną przez ekspozycję na cis-Pt; hamowało podwyższoną cytotatystyką aktywność kaspazy 3; osłabiało indukowane cytotatystyką uwalnianie cytochromu c poprzez przywracanie fizjologicznego poziomu enzymów COX4 i TOM20	[42]
2.13	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Wodny ekstrakt z <i>C. sorokiniana</i> (CSE)	CSF w dawce 9,6 ml/kg/dzień podawany doustnie przez 7 kolejnych dni myszom wystawionym na działanie cis-platyny w dawce 5 mg/kg/dzień podawanej dootrzewnowo w w 1., 3., 5. i 7. dniu eksperymentu	Prawidłowe komórki szpiku izolowane z kości udowej myszy szczepu BALB/c wystawionych na działanie CSE i cis-platyny	Ochrona komórek mieloidalnych przed mielotoksycznym działaniem cis-platyny. CSE w dawce 9,6 ml/kg/dzień przeciwdziałał redukcji liczby komórek szpiku kostnego (hipokomórkowość) indukowanej cis-platyną	[42]
3. Ekstrakty na bazie rozpuszczalników organicznych						
3.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	Wodno-etanolowy ekstrakt z <i>C. vulgaris</i> otrzymany metodą ekstrakcji nadkrytycznym dwutlenkiem węgla	Inkubacja (24-godz., 48 godz.) komórek z ekstraktem w stężeniach: 20, 100 i 200 µg/ml	Ludzkie komórki niedrobnokomórkowego raka płuc linii A549, H1299, H1437	Zależne od dawki zmniejszenie żywotności komórek raka płuca. 200 µg/ml ekstraktu hamowało wzrost komórek H1437 o ok. 20%, a komórek A549 i H1299 o ok. 35% Odwrotnie proporcjonalne do czasu inkubacji zahamowanie zdolności komórek raka płuca do migracji. 200 µg/ml ekstraktu zmniejszyło migrację komórek o ok. 40% (H1299 i H1437), 45% (A549) po 24-godz. inkubacji oraz o 35% (H1299 i H1437) i 30% (A549) po 48-godz. inkubacji	[44]
3.2	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Ekstrakt z <i>C. pyrenoidosa</i> pozyskany z zastosowaniem mieszaniny dichlorometanu i metanolu w proporcji 2:1	48-godz. inkubacja komórek z ekstraktem w stężeniach 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400 i 800 µg/ml	Ludzkie komórki raka szyjki macicy linii HeLa	Zależny od dawki spadek żywotności komórek raka szyjki macicy (IC50: 570 µg/ml)	[45]
3.3	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Ekstrakt z <i>C. pyrenoidosa</i> pozyskany z zastosowaniem mieszaniny dichlorometanu i metanolu w proporcji 2:1	12 dni ekspozycji CAM na ekstrakt w stężeniach 25, 50 i 100 µg/jajko podawany razem z VEGF (50 µg/jajko)	Model błony-kosmówkowo-omoczniowej (CAM) zarodków kurzych <i>in ovo</i>	Efekt antyangiogeny. Ekstrakt w stężeniach 25, 50 i 100 µg/jajko hamował indukowany VEGF wzrost naczyń krwionośnych w obrębie błony kosmówkowo-omoczniowej (CAM) odpowiednio z 221% do 210%, 158% i 126% kontroli.	[45]
3.4	<i>Chlorella sorokiniana</i>	Ekstrakt metanolowy z <i>C. sorokiniana</i>	Inkubacji (24-godz., 48-godz.) komórek z ekstraktem w stężeniach: 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125; 250 i 500 µg/ml	Mysie komórki chłoniaka linii L5178Y-R Prawidłowe limfocyty izolowane z grasiccy myszy szczepu BALB/c	Zależne od dawki zmniejszenie żywotności komórek chłoniaka (IC50: 460 µg/ml) Indukcja apoptozy oraz nekrozy odpowiednio u 66% i 9% komórek chłoniaka w odpowiedzi na ekstrakt w stężeniu 500 µg/ml Indukcja programowanej śmierci komórek w hodowli L5178Y-R na drodze zależnej od kaspazy 3 i 7 Uszkodzenie błony komórkowej limfocytów grasiccy jedynie przez ekstrakt w najwyższym z badanych stężeń (26% efekt cytotoksyczny)	[27]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
4. Izolowane substancje						
4.1	<i>Chlorella minutissima</i>	Ekstrakt białkowy z <i>C. minutissima</i> (podgrzana do 60°C biomasa po alkalizacji 0,1 N NaOH)	24-godz. inkubacji komórek z ekstraktem w stężeniach: 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 45 µg/ml	Ludzkie komórki raka wątroby HepG2 Ludzkie komórki raka piersi linii MDA-MB231	Zależny od dawki spadek żywotności analizowanych komórek nowotworowych. 45 µg/ml ekstraktu zmniejszyło żywotność komórek raka piersi MDA-MB231 oraz raka wątroby HepG2 o ponad 20% Zależne od dawki obniżenie poziomu oraz aktywności metaloproteinaz w analizowanych komórkach nowotworowych. 25 µg/ml ekstraktu zmniejszyło poziom MMP1 w komórkach raka piersi oraz poziom MMP2 i MMP9 w komórkach raka wątroby odpowiednio o 15%, 55% i 30%. 25 µg/ml ekstraktu zmniejszyło aktywność MMP2 i MMP9 w komórkach raka wątroby odpowiednio o 40% i 48% Zależne od dawki wyciszenie ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej. 25 µg/ml ekstraktu zmniejszyło poziom mRNA <i>MMP1</i> w komórkach raka piersi oraz <i>MMP2</i> i <i>MMP9</i> w komórkach raka wątroby odpowiednio o 76%, 80% i 73%. Ekstrakt nie wpływał na poziom mRNA <i>TIMP1</i> , <i>TIMP2</i> , <i>TIMP3</i> , <i>TIMP4</i> w komórkach raka piersi oraz <i>TIMP1</i> , <i>TIMP2</i> i <i>TIMP4</i> w komórkach raka wątroby. 25 µg/ml ekstraktu nasiliło o 2,44 razy ekspresję <i>TIMP3</i> w komórkach raka wątroby	[5]
4.2	<i>Chlorella vulgaris</i>	EPS-CV – egzopolisacharyd z <i>C. vulgaris</i> [10 rodzajów monosacharydów z dominującym udziałem galaktozy (45,43%), glukozaminy (28,00%) i mannozy (10,60%)]	24-godz. inkubacja komórek z EPS-CV w stężeniach 0,15; 0,3 i 0,6 mg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT8	Zależny od dawki spadek żywotności komórek raka okrężnicy linii HCT8 (IC50: 3,14 mg/ml) Redukcja stresu oksydacyjnego (analizy biochemiczne bez komponenty komórkowej); usuwanie rodników DPPH (ED50: 1,86 mg/ml) oraz rodników hydroksylowych (0,5 mg/ml)	[10]
4.3	<i>Chlorella zofingiensis</i>	EPS-CZ – egzopolisacharyd z <i>C. zofingiensis</i> [11 rodzajów monosacharydów z dominującym udziałem mannozy (43,44%), galaktozy (30,08%) i glukozy (17,42%)]	24-godz. inkubacja komórek z EPS-CZ w stężeniach: 0,15; 0,3 i 0,6 mg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT8	Zależny od dawki spadek żywotności komórek raka okrężnicy linii HCT8 (IC50: 1,70 mg/ml) Redukcja stresu oksydacyjnego (analizy biochemiczne bez komponenty komórkowej); usuwanie rodników DPPH (ED50: 1,57 mg/ml) oraz rodników hydroksylowych (1,13 mg/ml)	[10]
4.4	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	EPS-CP egzopolisacharyd z <i>C. pyrenoidosa</i> [10 rodzajów monosacharydów z dominującym udziałem galaktozy (37,12%), arabinozy (18,96%) i glukozaminy (13,53%)]	24-godz. inkubacja komórek z EPS-CP w stężeniach: 0,15; 0,3 i 0,6; 0,75 i 1,5 mg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT8 i HCT116	Zależny od dawki spadek żywotności komórek raka okrężnicy. 0,6 mg/ml EPS-CP zmniejszało żywotność komórek HCT8 i HCT116 odpowiednio o 36% i 17% Zależne od dawki zahamowanie tworzenia kolonii przez komórki raka okrężnicy. 1,5 mg/ml EPS-CP ograniczyło powstawanie kolonii w hodowlach komórek HCT8 i HCT116 odpowiednio o 12% i 21% Redukcja stresu oksydacyjnego (analizy biochemiczne bez komponenty komórkowej); usuwanie rodników DPPH (ED50: 2,14 mg/ml) oraz rodników hydroksylowych (0,75 mg/ml)	[11]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
4.5	<i>Chlorella vulgaris</i>	CGF z <i>C. vulgaris</i>	24-godz. inkubacja komórek z CGF w stężeniach 50, 100, 150, 200, 250 i 300 µg/ml	Ludzkie komórki niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549 i NCI-H460 Ludzkie fibroblasty	250 µg/ml CGF zmniejszyło żywotność komórek linii A549 i NCI-H460 odpowiednio o 50% i 40%, jednocześnie stymulując wzrost fibroblastów o ponad 20% Zależny od dawki efekt genotoksyczny oraz proapoptotyczny w hodowlach komórek raka płuca	[20]
4.6	<i>Chlorella vulgaris</i>	Peptydy powstałe z hydrolizy pepsyną poprodukcyjnych odpadów białkowych z hodowli <i>C. vulgaris</i> (APWP)	72-godz. inkubacja komórek z frakcją peptydową w stężeniach: 7,6; 76 i 1560 ng/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii C2BBel Ludzkie komórki raka szyjki macicy linii HeLa Ludzkie komórki raka wątroby linii HepG2 Ludzkie komórki raka żołądka linii AGS Ludzkie embrionalne komórki fibroblastów płuca linii WI-38	Brak wpływu na ludzkie komórki raka okrężnicy linii C2BBel, raka wątroby linii HepG2 i raka szyjki macicy linii HeLa. Brak wpływu na prawidłowe embrionalne komórki fibroblastów płuc linii WI-38 Działanie antyproliferacyjne względem komórek raka żołądka linii AGS (IC50: 70,7 µg/ml). 36 µg/ml APWP zaburzało przebieg cyklu komórkowego w hodowli AGS, zwiększając o 8% pulę komórek w fazie S/G2-M Redukcja stresu oksydacyjnego (analizy biochemiczne bez komponenty komórkowej); APWP chronił przed utlenianiem lipidy oraz LDL odpowiednio o 26 razy i 6,5-rza skuteczniej niż Troloks	[6]
4.7	<i>Chlorella vulgaris</i>	Peptyd VE-CYGNRPQF MW 1309 Da	72-godz. inkubacji komórek z peptydem w stężeniach 9,93; 19,86 i 99,31 µM	Ludzkie komórki raka żołądka linii AGS Mysie makrofagi linii RAW264.7	Zależne od dawki hamowanie proliferacji komórek raka żołądka linii AGS (IC50: 256,4 µM) Hamowanie uwalnianie NO przez makrofagi stymulowane LPS (IC50: 42,4 µM)	[6]
4.8	<i>Chlorella marina</i>	Likopen (cis i trans 60:40) izolowany z <i>C. marina</i>	Inkubacja komórek (24-godz., 48-godz i 8 dni) z likopenem w stężeniach 20 i 50 µM	Ludzkie komórki raka prostaty linii PC-3 i DU-145	Zależny od dawki spadek żywotności komórek raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM zmniejszył żywotność komórek PC-3 i DU-145 odpowiednio o 61% i 68% Zależne od dawki zahamowanie proliferacji komórek raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM zahamował podziały komórek PC-3 i DU-145 odpowiednio o 49% i 57% Zależne od dawki zahamowanie tworzenia kolonii przez komórki raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM ograniczył zdolność komórek PC-3 i DU-145 do tworzenia kolonii odpowiednio o 68% i 70% Zależna od dawki indukcja programowanej śmierci w komórkach raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM indukował apoptozę u 84% komórek PC-3 Zależna od dawki fragmentacja DNA w komórkach raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM powodował 60-krotny wzrost długości ogona komety (marker genotoksyczności) w komórkach PC-3 Zależne od dawki zatrzymanie cyklu komórkowego w komórkach raka prostaty. Likopen w stężeniu 50 µM powodował wzrost liczby komórek PC-3 w fazie G0/G1 z 23,97% (kontrola) do 70,76%	[16]
4.9	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	Częściowo oczyszczony ekstrakt z <i>C. ellipsoidea</i> zawierający głównie karotenoidy (wiałaksantynę, anteraksantynę i zeaksantynę)	72-godz. inkubacja komórek z ekstraktem w stężeniach od 5 do 100 µg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT116	Zależne od dawki hamowanie proliferacji komórek raka okrężnicy (IC50: 40,73 µg/ml) Indukcja apoptozy	[17]
4.10	<i>Chlorella vulgaris</i>	Częściowo oczyszczony ekstrakt z <i>C. vulgaris</i> zawierający głównie karotenoidy (luteina)	72-godz. inkubacja komórek z ekstraktem w stężeniach od 5 do 100 µg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT116	Zależne od dawki hamowanie proliferacji komórek raka okrężnicy (IC50: 40,31 µg/ml) Indukcja apoptozy	[17]

Lp.	Gatunek	Substancja badana	Podawanie	Model	Efekt interwencji	Źródło
5. Modyfikacje						
5.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	Chlorella AuNRs BSA-Gel – <i>C. vulgaris</i> w połączeniu z nanopretami złota w żelu na bazie BSA-PEG	Iniekcja żelu do guza połączona z naswietlaniem laserem o długości fali 660 i 808 nm oraz podawaniem doksorubicyny	Model hipoksycznego guza piersi indukowanego podaniem myszom BALB/c komórek linii 4T1	Znaczna regresja nowotworu dzięki poprawie penetracji tlenu i doksorubicyny do wnętrza guza	[46]
5.2	<i>Chlorella protothecoides</i>	Olej z <i>C. protothecoides</i> w składzie kwas palmitynowy (C16: 0), kwas oleinowy (C18: 1), kwas linolowy (C18: 2), kwas eikozatrienowy (C20: 3) i kwas eikozapentaenowy (EPA) (C20: 5) SAE – czysty olej z mikroalgi bez enkapsulacji Nanocząsteczki oleju z mikroalgi w kapsułkach na bazie chitosanu (PCH) lub soli sodowej kwasu alginowego (PNA) wytworzonych metodą elektrorozpylania Nanocząsteczki oleju z mikroalgi w kapsułkach na bazie soli sodowej kwasu alginowego wytworzone metodą mikroemulsji (NPAL)	48-godz. inkubacji komórek z SAE w stężeniach: 25, 50 i 100 µg/ml PCH i PNA w stężeniach: 17,5; 35 i 70 µg/ml NPAL w stężeniach: 12,5; 25 i 50 µg/ml	Ludzkie komórki raka jelita grubego linii HCT116 Ludzkie komórki glejaka wielopostaciowego linii A172 Ludzkie komórki śródbłonka żyły pępowinowej HUVEC	Zwiększenie selektywności przeciwnowotworowego działania oleju z <i>C. protothecoides</i> poprzez jego enkapsulację Zależne od dawki zmniejszenie żywotności analizowanych komórek nowotworowych i prawidłowych. 50 µg/ml NPAL zmniejszył żywotność komórek glejaka A172, raka okrężnicy HCT116 oraz śródbłonka żyły pępowinowej HUVEC odpowiednio o 90%, 80% i 50% 70 µg/ml PCH zmniejszył żywotność komórek A172, HCT116 i HUVEC odpowiednio o 98%, 85% i 55%. 70 µg/ml PNA zmniejszył żywotność komórek A172, HCT116 i HUVEC odpowiednio o 95%, 85% i 30%	[9]

Źródło: [5–7, 9–11, 16, 17, 20, 27, 31–46].

W trzech niezależnych badaniach analizowano wpływ 4- 8- i 12-tygodniowej suplementacji *C. vulgaris* w dawkach: 50, 150 i 300 mg/kg na procesy promujące rozwój raka wątroby [32–34]. Wykonane przez Sulaiman i wsp. oznaczenia endogennych enzymów antyoksydacyjnych wykazały zdolność *C. vulgaris* do przywracania równowagi oksydacyjnej zaburzonej rozwojem nowotworu poprzez hamowanie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy we wszystkich analizowanych punktach czasowych oraz badanych stężeniach. Badacze zaobserwowali również spadek poziomu malondialdehydu (MDA – marker peroksydacji lipidów) po 4, 8 i 12 tygodniach suplementacji szczurów z rakiem wątroby preparatem *C. vulgaris* w stężeniach 150 i 300 mg/kg oraz po 8 i 12 tygodniach stosowania *C. vulgaris* w stężeniu 50 mg/kg. Przeprowadzone badania wykazały zdolność *C. vulgaris* do ochrony komórek wątroby przed kancerogennym działaniem etioniny poprzez kompensację wzmożonej aktywności endogennych enzymów antyoksydacyjnych i zmniejszanie peroksydacji lipidów [34]. Mukti i wsp. wykazali, że suplementacja diety *C. vulgaris* hamowała rozwój raka wątroby w sposób zależny od dawki oraz czasu leczenia. Korzystny wpływ preparatu w stężeniu 300 mg/kg był obserwowany już po 4 tygodniach leczenia (zmniejszenie rozmiarów guza o 19%), a najwyższą skuteczność odnotowano po 12 tygodniach terapii (zmniejszenie rozmiarów guza o 83%).

W przypadku niższych dawek istotne zahamowanie rozwoju raka wątroby zaobserwowano dopiero w 8 tygodniu leczenia (zmniejszenie rozmiarów guza odpowiednio o 17% i 50%). Przeciwnowotworowe właściwości *C. vulgaris* powiązane z zahamowaniem proliferacji komórek nowotworowych oraz indukcją apoptozy, a obserwowany efekt nasilał się wraz ze wzrostem stężenia preparatu oraz okresem jego podawania [33]. Ariffin i wsp. wykazali, że codzienna suplementacja diety szczurów z rakiem wątroby granulatem z *C. vulgaris* hamowała rozwój guza poprzez zmniejszanie w surowicy stężenia czynnika TGFβ (transformującego czynnika wzrostu β, regulującego wzrost, przeżycie oraz migrację komórek nowotworowych). Ograniczenie nadprodukcji TGFβ zaobserwowano po 4, 8 i 12 tygodniach codziennej suplementacji diety *C. vulgaris* w dawkach 50, 150 i 300 mg/kg. Niemniej jednak przywrócenie fizjologicznego poziomu TGFβ odnotowano jedynie po 4, 8 i 12 tygodniach podawania preparatu w dawce 300 mg/kg oraz po 8 i 12 tygodniach podawania preparatu w dawce 150 mg/kg. Analiza immunohistochemiczna potwierdziła zmniejszenie liczby komórek nowotworowych w odpowiedzi na suplementację *C. vulgaris*, czego oznaką był spadek poziomu markerów charakterystycznych dla raka wątroby, tj. AFP (alfa-fetoproteiny), izoenzymu M2-PK (kinazy pirogronianowej) oraz antygenu OV-6 specyficznego dla komórek owalnych. Korzystny wpływ suplementacji diety

C. vulgaris był obserwowany już od 4. tygodnia od podania preparatu we wszystkich analizowanych dawkach. Niemniej jednak zmniejszenie poziomu markerów raka wątroby do poziomu obserwowanego u zdrowych myszy odnotowano dopiero po 12 tygodniach codziennego podawania mikroalgi w analizowanych dawkach [32].

Wodne ekstrakty z mikroalg z rodzaju *Chlorella*

Zespół Miyazawa i wsp. nie poprzestał na analizie przeciwnowotworowych właściwości autoklawowalnych komórek *C. pyrenoidosa* i badania objęły również ocenę wpływu ekstrahowanych gorącą wodą frakcji z *C. pyrenoidosa* (CGF) na indukcję białaczki oraz raka sutka u myszy C57BL/6 i C3H/He. W badaniach użyto dwóch frakcji – bogatej w białko CGF-prf oraz pozbawianej tego makroskładnika CGF-pff. Obie frakcje w dawkach 1 mg/mysz były podawane doustnie lub dootrzewnowo co dwa dni, od 7 do 2 dnia przed podaniem mysich komórek białaczki EL-4 lub raka sutka MM-2. Przeprowadzone analizy wykazały, że CGF-prf podany doustnie wydłużał życie zwierząt z 20 do ponad 60 dni u 73% myszy z białaczką oraz u 80% myszy z rakiem sutka. W przypadku podania dootrzewnowego CGF-prf pozwalał osiągnąć ten sam efekt u 67% myszy z białaczką i 70% myszy z rakiem sutka. Analizowany równoległe w tych samych modelach badawczych i schematach leczenia CGF-pff nie wykazywał działania ochronnego. Wyniki te wskazują, że komponent białkowy *C. pyrenoidosa* może być kluczowy dla aktywności przeciwnowotworowej [7].

Wodne ekstrakty z *C. pyrenoidosa* znalazły się również w kręgu naszych zainteresowań naukowych w kontekście możliwości ich wykorzystania w chemoprewencji dwóch najpopularniejszych typów nowotworów, tj. raka okrężnicy [35] oraz raka piersi [36]. Przeciwnowotworowe właściwości ekstraktu w szerokim zakresie stężeń (od 2,5 do 1000 µg/ml) analizowano równoległe w ludzkich komórkach nowotworowych (komórki raka okrężnicy linii HT-29 i raka piersi linii T47D) oraz prawidłowych (komórki nabłonka jelita linii CCD841 CoN i fibroblasty skóry HSF). Przeprowadzone badania wykazały wysoką selektywność działania badanego preparatu, który w całym zakresie analizowanych stężeń nie wpływał na komórki prawidłowe – nie zaburzał ich aktywności metabolicznej ani nie powodował uszkodzenia ich błon komórkowych. Jednocześnie w sposób zależny od dawki ekstrakt hamował proliferację komórek raka piersi i raka okrężnicy. Komórki HT-29 były bardziej wrażliwe na działanie ekstraktu niż komórki T47D. Ekstrakt w stężeniu 1000 µg/ml zmniejszał aktywność metaboliczną komórek HT-29 o 81,7%, natomiast komórek T47D o 56,0%, przy czym zahamowanie syntezy DNA było na podobnym poziomie w obu badanych liniach (spadek o 47,8% w komórkach HT-29 i o 47,6% w komórkach T47D). Ponadto przeprowadzona w komórkach raka piersi ocena cytotoksyczności ekstraktu wykazała wzrost uszkodzeń błony komórkowej o 43,5% po ekspozycji komórek na preparat w stężeniu 1000 µg/ml. Warto wspomnieć, że ocena potencjału chemoprewencyjnego wodnego ekstraktu z *C. pyrenoidosa* w modelu raka okrężnicy obejmowała również porównanie jego aktywności z cytostatykami: 5-fluorouracylem i cis-platyną w stężeniach 10 µM. Analiza metabolizmu komórek HT-29 w odpowiedzi na badany ekstrakt wykazała, że w całym zakresie analizowanych stężeń hamował on podziały komórek skuteczniej niż cytostatyki. Zahamowanie syntezy DNA przez badany ekstrakt w stężeniach od 100 do 1000 µg/ml było silniejsze

niż odpowiedź na cis-platynę, ale słabsze niż efekt działania 5-fluorouracylu [35, 36]. Najnowsze badania naszego zespołu również dotyczyły wodnego ekstraktu z *C. pyrenoidosa* – tym razem w kontekście możliwości jego wykorzystania w chemoprewencji/leczeniu raka endometrium. Wykazaliśmy, że ekstrakt w całym zakresie analizowanych stężeń (od 50 do 1000 µg/ml) istotnie zmniejszał proliferację ludzkich komórek raka trzonu macicy linii KLE i HEC-1-B oraz komórek wyprowadzonych z raka endometrium EDC. Antyproliferycyjne działanie ekstraktu potwierdzono w dwóch niezależnych oznaczeniach, tj. w testach MTT i BrdU. Wyznaczone na podstawie wyników testu MTT, po 96 godz. inkubacji komórek z preparatem wartości IC50 wynosiły odpowiednio 388,6 µg/ml (EDC), 95,2 µg/ml (HEC-1-B) i 150,2 µg/ml (KLE). IC50 wyliczone na podstawie wyników testu BrdU, po 48 godz. inkubacji komórek z ekstraktem, wynosiły: 2013 µg/ml (EDC), 619,7 µg/ml (HEC-1-B) i 305,7 µg/ml (KLE). Przeprowadzone badania ujawniły również zdolność ekstraktu do redukcji inwazyjności komórek nowotworowych. Ekstrakt istotnie ograniczał migrację komórek raka endometrium, a obserwowany efekt wzrastał wraz z jego stężeniem. 1 mg/ml ekstraktu powodował zahamowanie migracji komórek EDC, HEC-1-B i KLE odpowiednio o 20,8%, 40,0%, 43,6%. Próba wyjaśnienia molekularnego mechanizmu przeciwnowotworowego działania wodnego ekstraktu z *C. pyrenoidosa* wykazała, że w szerokim zakresie stężeń (od 100 do 1000 µg/ml) indukował on apoptozę w komórkach raka trzonu macicy. Ekstrakt w stężeniu 1 mg/ml powodował nasilenie fragmentacji DNA o 75% w liniach komercyjnych oraz o 32% w hodowli wyprowadzonej od pacjentki. Co ciekawe, cytotoksyczne działanie preparatu było ściśle związane ze stopniem złośliwości nowotworu. W szerokim zakresie stężeń od 50 do 1000 µg/ml ekstrakt uszkadzał błony najbardziej zróżnicowanych komórek EDC, podczas gdy w hodowlach komórek linii KLE i HEC-1-B cytotoksyczne działanie preparatu odnotowano jedynie po podaniu go w najwyższych stężeniach, odpowiednio 500 i 1000 µg/ml oraz 1000 µg/ml [37].

Wodne ekstrakty z jednego z najpopularniejszych reprezentantów mikroalg z rodzaju *Chlorella*, tj. *C. vulgaris*, również były chętnie badane pod kątem właściwości chemoprewencyjnych. Justo i wsp. analizowali wpływ wodnego ekstraktu z *C. vulgaris* na odpowiedź immunologiczną i rozwój guza Ehrlicha u myszy BALB/C. Ekstrakty z *C. vulgaris* w dawkach 50, 100 lub 200 mg/kg były podawane doustnie przez pięć kolejnych dni, licząc od doby po dootrzewnowej iniekcji komórek Ehrlicha, która spowodowała mielosupresję oraz nadprodukcję progenitorowych granulocytów i makrofagów w śledzionie. Ekstrakt z *C. vulgaris* przywracał zaburzoną równowagę immunologiczną, zwiększając do poziomu kontroli ilość progenitorowych granulocytów i makrofagów w szpiku. Korzystny wpływ ekstraktu nie był zależny od jego dawki. W przypadku śledziony podwyższona rozwijającym się nowotworem ilość progenitorowych granulocytów i makrofagów nie uległa zmianie w odpowiedzi na badaną terapię. Co istotne, wykazano korzystny wpływ ekstraktu na długość życia myszy z guzem Ehrlicha, które bez leczenia umierały po 17 dniach od wszczepienia guza, natomiast dzięki terapii *C. vulgaris* w dawkach 50, 100 i 200 mg/kg przeżywały odpowiednio do 43, 42 i 45 dni. Ochronne działanie ekstraktu badacze wiązali z jego zdolnością do stymulacji produkcji oraz dojrzewania komórek immunokompetentnych [38].

Zespół Saad i wsp. również skupił się na *C. vulgaris*. W swoich badaniach porównali oni wpływ dwóch wodnych ekstraktów na bazie *C. vulgaris* pochodzącej z Malezji (CVL) oraz z Japonii (CVJ) na ludzkie komórki raka wątroby (HepG2) oraz prawidłowe komórki wątroby linii WRL68. Ekstrakt na bazie malezyjskiej mikroalgi istotnie zmniejszał podziały zarówno komórek nowotworowych (IC50: 1,6 mg/ml), jak i prawidłowych (IC50: 1,7 mg/ml), przy czym porównanie wartości IC50 wskazuje na niewielką selektywność jego działania. W przypadku ekstraktu z japońskiej mikroalgi badany preparat w szerokim zakresie stężeń (od 100 do 2000 µg/ml) stymulował proliferację zarówno komórek HepG2, jak i WRL68. Dalsze badania potwierdziły zdolność obu ekstraktów do indukcji programowanej śmierci komórek, wskazując jednak na wyższy potencjał proapoptotyczny preparatu na bazie malezyjskiej *C. vulgaris*. Poziom uszkodzeń DNA w komórkach linii HepG2 w odpowiedzi na oba ekstrakty w stężeniu 2 mg/ml wyniósł 80% w przypadku CVL i 58% po podaniu CVJ. Na podstawie uzyskanych wyników Saad i wsp. wysunęli wniosek, że lokalne hodowle mikroalgi *C. vulgaris* są lepszym źródłem preparatów o właściwościach przeciwnowotworowych w kontekście terapii raka wątroby [39]. Badania Saad i wsp. nad wodnym ekstraktem z *C. vulgaris* otrzymanym przy użyciu gorącej wody z mikroalgi hodowanej lokalnie (Malezja) kontynuował zespół Yusof i wsp. Prowadzone przez nich badania w prawidłowych i nowotworowych komórkach wątroby linii WRL68 i HepG2 wykazały antyproliferacyjne działanie ekstraktu, który powodował zahamowanie syntezy DNA o 50% odpowiednio w stężeniach 1,7 i 1,6 mg/ml. Selektywność ekstraktu potwierdziła analiza mikroskopowa komórek po 24-godz. inkubacji z CVL. Ekstrakt w stężeniu 2 mg/ml indukował apoptozę w komórkach linii HepG2, a w wyższych dawkach (3 i 4 mg/ml) również w prawidłowych komórkach WRL68. Ocena apoptozy za pomocą testu TUNEL wykazała, że badany ekstrakt dawał wyższy wskaźnik apoptozy (70%) w komórkach HepG2 w porównaniu z prawidłowymi komórkami wątroby WRL68 (15%). Kolejnych dowodów na selektywność działania CVL dostarczyły wyniki testu kometkowego. Ekstrakt w stężeniu 2 mg/ml powodował uszkodzenia DNA u 80% komórek HepG2 i 50% komórek WRL68. Wykryte przeciwnowotworowe właściwości ekstraktu powiązano z jego zdolnością (CVL w stężeniu 2 mg/ml) do zwiększenia poziomu proapoptotycznych białek p53 i Bax oraz aktywacji kaspazy-3, przy jednoczesnej supresji antyapoptotycznego białka Bcl2 [40]. Shanab i wsp. również wykazali znaczną cytotoksyczność wodnego ekstraktu z *C. vulgaris* wobec ludzkich komórek raka wątroby linii HepG2 oraz mysich komórek izolowanych z guza Ehrlicha linii EACC. Ich badania wykazały, że 72-godz. inkubacja komórek nowotworowych z ekstraktem w stężeniu 100 µg/ml powoduje spadek żywotności komórek EACC o blisko 65%, a komórek HepG2 o ok. 45%. Jednocześnie w dwóch niezależnych oznaczeniach (test DPPH i ABTS) badacze potwierdzili znaczny potencjał antyoksydacyjny ekstraktu, wiążąc go z obecnymi w preparacie związkami fenolowymi (2,9%) [41].

Ulubionym przedmiotem badań tajwańskich badaczy okazały się wodne ekstrakty z *C. sorokiniana* [42, 43]. Lin i wsp. badali wpływ 24-godz. ekspozycji ludzkich komórek niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549 i CL1-5 na wodny ekstrakt z *C. sorokiniana* w stężeniach od 15,625 do 1000 ng/ml. Naukowcy zaobserwowali zależny od dawki

spadek żywotności komórek A549 (od 125 ng/ml) i CL1-5 (od 50 ng/ml) oraz wskazujące na apoptozę zahamowanie cyklu komórkowego w fazie sub-G1 po podaniu ekstraktów w stężeniach 125 i 250 ng/ml. Analiza Western Blot wykazała, że ekspozycja komórek A549 i CL1-5 na ekstrakt w stężeniach 125 i 250 ng/ml zwiększa aktywację kaspazy 3 i 9 oraz degradację PARP (polimerazy poli-ADP-rybozy) z pominięciem aktywacji kaspazy 8. Ponieważ kolejne analizy ujawniły, że użycie inhibitora kaspazy 3 (ZDEVD) i inhibitora kaspazy 9 (Z-LEHD) zapobiega indukcji programowanej śmierci w analizowanych komórkach raka płuca w odpowiedzi na ekstrakt z *C. sorokiniana*, autorzy założyli, że wykryte proapoptotyczne właściwości preparatu są zależne od mitochondriów. W kolejnych doświadczeniach potwierdzili tę hipotezę. Wykazali, że ekstrakt w stężeniach 125 i 250 ng/ml obniżał poziom antyapoptotycznych białek Bcl-2, Bcl-xl oraz regulujących aktywność kaspaz białek z rodziny IAP (inhibitory białek apoptotycznych), tj. surwiwiny i XIAP. Jednocześnie odnotowali wzrost poziomu proapoptotycznego białka Bax. Ponadto odkryli, że ekstrakt powodował zmniejszenie potencjału błony mitochondrialnej komórek raka płuca, prowadząc do uwolnienia znacznych ilości cytochromu c – kluczowego induktora apoptozy [43]. Obiecujące wyniki analiz *in vitro* zachęciły zespół Lin i wsp. do kontynuacji badań na mysim modelu raka płuca. Naukowcy podawali doustnie ekstrakt w dawce 50 mg/kg myszom BALB/c z wszczepionymi podskórnie komórkami linii CL1-5 przez 11 kolejnych dni, rozpoczynając od 10. dnia po indukcji nowotworu. Przeprowadzone badania wykazały istotne zahamowanie wzrostu guza już po 5 dniach terapii, a w kolejnych dniach obserwowano dalszą regresję nowotworu. W 11. dniu leczenia wzrost guza został zahamowany o blisko 60%, czego oznaką było zmniejszenie jego objętości z 750 ml (kontrola) do 250 ml [43].

Kilka lat później kolejny zespół tajwańskich naukowców podjął się oceny możliwości wykorzystania wodnego ekstraktu z *C. sorokiniana* (CSE) jako mielooprotektanta w terapii z użyciem cis-platyny (cis-Pt). W pierwszym etapie badań określono cytotoksyczność ekstraktu oraz cis-Pt względem ludzkich komórek białaczki promielocytowej linii HL-60 oraz ludzkich komórek ostrej białaczki monocytowej linii THP-1 wykorzystywanych jako model prawidłowych komórek immunokompetentnych. Po 72-godz. inkubacji komórek z CSE zaobserwowano, że ekstrakt w całym zakresie analizowanych stężeń (od 6,25 do 100 µg/ml) nie był cytotoksyczny względem komórek HL-60 i THP-1. Natomiast cis-Pt w stężeniach 4 µM i 2 µM istotnie zmniejszała żywotność odpowiednio komórek HL-60 i THP-1. Dalsze badania wykazały, że CSE w stężeniach 25, 50 i 100 µg/ml skutecznie niwelował toksyczny wpływ cis-Pt na żywotność komórek HL-60 i THP-1, przede wszystkim dzięki przeciwdziałaniu programowanej śmierci komórek. Łączne podanie cytostatyku (4 µM w komórkach HL-60 i 2 µM w komórkach THP-1) i badanego ekstraktu w stężeniu 100 µg/ml zmniejszyło ilość komórek apoptotycznych w hodowli HL-60 z 45,2% do 19,7% a w hodowli THP-1 z 119,9% do 8,6% [42]. Badania kontynuowane na komórkach HL-60 ujawniły, że CSE w stężeniu 100 µg/ml chronił je przed apoptozą indukowaną cis-Pt poprzez hamowanie aktywacji kaspazy-3 na drodze zależnej od mitochondriów, co związane było z osłabieniem wywołanego cytostatykiem uwalniania cytochromu c oraz zwiększeniem obniżonego przez cis-Pt poziomu kluczowych białek mitochondrialnych tj. COXIV (oksydazy cytochromu

c, podjednostka 4) i TOM20 (translokazy zewnętrznej błony mitochondrialnej 20). Opisany protekcyjny efekt CSE odnotowano po 48-godz. inkubacji komórek HL-60, niemniej jednak już po 24-godz. zaobserwowano przywrócenie masy mitochondriów, która była znacznie obniżona po ekspozycji na cis-Pt [42]. Na kolejnym etapie badań zespół Lin i wsp. ocenił wpływ 7-dniowej inkubacji prawidłowych komórek szpiku oraz jednojądrowych komórek krwi obwodowej (PBMC) pozyskanych od myszy BALB/c z wodnym ekstraktem z *C. sorokiniana* (CSE). Ich badania wykazały istotny wzrost liczby kolonii makrofagów i granulocytów w odpowiedzi na ekstrakt w stężeniach 10, 100 i 500 µg/ml oraz nasilenie proliferacji PBMC po inkubacji z CSE w stężeniach 25, 50 i 100 µg/ml. Dodatkowo łączne podanie ekstraktu z cis-Pt w stężeniu 4 µM wykazało, że CSE w sposób zależny od dawki nasila proliferację PBMC zahamowaną ekspozycją na cytostatyki. Warto podkreślić, że badany ekstrakt, użyty samodzielnie, jak i w połączeniu z cis-Pt, powodował wzrost proliferacji PBMC znacznie powyżej poziomu obserwowanego w kontroli, co może sugerować jego immunostymulacyjne właściwości. Ostatni etap badań koncentrował się na prawidłowych komórkach szpiku izolowanych z kości udowej myszy szczepu BALB/c wystawionych uprzednio na działanie cis-Pt i CSE. Cytostatyki był podawany myszom dootrzewnowo w dawce 5 mg/kg/dzień w 1., 3., 5. i 7. dniu eksperymentu, a CSE w stężeniu 9,6 ml/kg/dzień był podawany doustnie przez 7 kolejnych dni. W 8. dniu eksperymentu myszy zostały uśmiercone celem izolacji komórek szpiku. Przeprowadzone badanie wykazało, że ekstrakt łagodził hipokomórkowość wywołaną cisPt. Uzyskane wyniki sugerują, że wodny ekstrakt z *C. sorokiniana* może chronić szpik kostny przed toksycznym działaniem cis-Pt, co ma istotne znaczenie w kontekście konwencjonalnych chemioterapii opartych na cytostatykach [42].

Ekstrakty na bazie rozpuszczalników organicznych z *Chlorella spp.*

Kolejną grupę badań stanowiły analizy chemoprewencyjnych właściwości ekstraktów z trzech najpopularniejszych gatunków *Chlorella spp.* (*C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa* i *C. sorokiniana*), uzyskane z wykorzystaniem rozpuszczalników organicznych.

Celem zwiększenia puli antyoksydantów Wang i wsp. przygotowali wodno-etanolowy ekstrakt z *C. vulgaris*, wykorzystując w tym celu unikatową metodę ekstrakcji nadkrytycznym dwutlenkiem węgla (SC-CO₂). Otrzymany w ten sposób preparat zawierał znaczne ilości polifenoli (13,40 mg/g liofilizatu), w tym flawonoidów (3,16 mg/g liofilizatu). Zwiększenie puli antyoksydantów miało doprowadzić do powstania skutecznego preparatu do walki z niedrobnokomórkowym rakiem płuca. Eksperymenty przeprowadzone na ludzkich komórkach raka płuca linii A549, H1299, H1437 wykazały, że badany ekstrakt w całym zakresie analizowanych stężeń (od 20 do 200 µg/ml) zmniejszał żywotność komórek nowotworowych. W najwyższym stężeniu powodował zahamowanie wzrostu komórek H1437 o ok. 20%, a komórek A549 i H1299 o ok. 35%. Ponadto ekstrakt w stężeniach 100 i 200 µg/ml istotnie zmniejszał inwazyjność komórek raka płuca, a obserwowany efekt był odwrotnie proporcjonalny do czasu inkubacji. Po 24 godz. inkubacji komórek z ekstraktem zaobserwowano zahamowanie ich migracji o ok. 40% (H1299 i H1437) i 45% (A549), a po 48 godz. o ok. 35% (H1299 i H1437) i 30% (A549) [44].

Kyadari i wsp. analizowali potencjał przeciwnowotworowy preparatu z *C. pyrenoidosa* ekstrahowanego mieszaniną dichlorometanu i metanolu w proporcji 2:1. Na pierwszym etapie zbadali wpływ ekstraktu na żywotność ludzkich komórek raka szyjki macicy linii HeLa po 48 godz. inkubacji z ekstraktem. Badany preparat w całym zakresie analizowanych stężeń (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400 i 800 µg/ml) zmniejszał żywotność komórek HeLa, a obserwowany efekt był zależny od dawki (IC₅₀: 570 µg/ml). Na drugim etapie przeanalizowali wpływ ekstraktu na proces angiogenezy indukowanej VEGF (czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyniowego) w błonie kosmówkowo-omoczniowej (CAM) u kurcząt *in ovo*. Po 12 dniach ekspozycji CAM na ekstrakt z *C. pyrenoidosa* w dawkach 25, 50 i 100 µg/jajko zaobserwowali zmniejszenie tworzenia naczyń krwionośnych indukowanych VEGF (50 µg/jajko) z 221% odpowiednio do 210%, 158% i 126% kontroli. Wykryty antyangiogeny wpływ ekstraktu na proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych ma kluczowe znaczenie w ograniczeniu wzrostu i rozprzestrzeniania się nowotworów, w tym powstawania przerzutów, czyniąc tę właściwość pożądaną cechą chemoprotektanta [45].

Reyna-Martinez i wsp. badali przeciwnowotworowe właściwości metanolowego ekstraktu z *C. sorokiniana* w mysim modelu chłoniaka. Ekstrakt w szerokim zakresie stężeń (od 7,8 do 250 µg/ml) nie był cytotoksyczny względem prawidłowych limfocytów izolowanych z grasicy myszy BALB/c, ale w najwyższym z badanych stężeń (500 µg/ml) zmniejszył żywotność limfocytów o 26%. Równoległe badania na mysich komórkach chłoniaka linii L5178Y-R wykazały efekt cytotoksyczny na poziomie 17% i 61% po 48-godz. inkubacji z ekstraktem w stężeniach 250 i 500 µg/ml (IC₅₀: 460 µg/ml). Dalsze analizy wykazały, że ekstrakt w stężeniu 500 µg/ml powodował fragmentację DNA w komórkach L5178Y-R już po 24-godz. inkubacji, a obserwowane zmiany były porównywalne z wynikami uzyskanymi z komórek inkubowanych z aktynomycyną D (20 µg/ml). Barwienie oranżem akrydyny i bromkiem etyldyny komórek L5178Y-R po 24-godz. inkubacji z ekstraktem w stężeniu 500 µg/ml ujawniło, że 66% komórek weszło na drogę programowanej śmierci, a 9% na ścieżkę nekrozy. Wykryte proapoptotyczne właściwości ekstraktu powiązane z jego zdolnością do stymulacji aktywności kaspazy 3 i 7 [27].

Substancje izolowane z *Chlorella spp.*

Badania Kunte i Desai skupiły się na ocenie wpływu ekstraktu białkowego z *Chlorella minutissima* na żywotność oraz zdolności do przerzutowania ludzkich komórek raka piersi i wątroby linii MDA-MB231 i HepG2. Wszystkie badania wykonano po 24-godz. inkubacji komórek z ekstraktem. Pozyskane z *C. minutissima* peptydy jedynie w najwyższych z analizowanych stężeń, tj. 30, 35, 40 i 45 µg/ml, zmniejszały żywotność komórek HepG2 i MDA-MB231, powodując zahamowanie ich wzrostu o ponad 20% przy stężeniu 45 µg/ml. Na kolejnym etapie badań autorzy oceniali wpływ ekstraktu w stężeniach niepowodujących istotnego spadku żywotności komórek raka piersi i wątroby na białka kluczowe z punktu widzenia zdolności nowotworów do przerzutowania, tj. MMP (metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej) oraz TIMP (tkankowe inhibitory metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej). Ekstrakt w stężeniach od 15 do 25 µg/ml obniżał poziom i aktywność MMP1 w komórkach MDA-MB231 oraz MMP2 i MMP9 w komórkach HepG2, a obserwowany efekt był zależny od dawki. Przy 25 µg/ml

ekstraktu poziomy MMP1, MMP2 i MMP9 spadły o ok. 85%, 45% i 70%. Aktywność MMP2 i MMP9 zmniejszyła się zaś odpowiednio do 60% i 52% (brak danych dla MMP1). Wyniki Western Blot znalazły odzwierciedlenie w analizie ekspresji genów kodujących badane MMP. Ekstrakt w stężeniach 20 i 25 µg/ml zmniejszył poziom mRNA metaloproteinaz do 26% i 24% (MMP1), 29% i 20% (MMP2) oraz 49% i 27% (MMP9). Analiza ekspresji *TIMP1/2/3/4* po inkubacji komórek raka piersi i wątroby z ekstraktem w stężeniach 20 i 25 µg/ml wykazała istotne statystycznie zmiany jedynie w przypadku *TIMP3* w komórkach HepG2. Poziom mRNA dla wskazanego białka wzrósł o 68% i 144% po podaniu ekstraktu we wskazanych stężeniach. Szczególne nadzieje autorzy pokładali w możliwości wykorzystania białkowego ekstraktu z *C. minutissima* w terapii raka wątroby dzięki wykrytemu bezpośredniemu działaniu cytotoksycznemu, jak również zdolności do nasilania ekspresji *TIMP3* przy jednoczesnym hamowaniu aktywności MMP-2 i -9 [5].

Z uwagi na przedmiot analizy niezwykle interesujące były dwa niezależne badania przeprowadzone przez zespół Zhang i wsp., którzy analizowali chemoprewencyjne właściwości egzopolisacharydów izolowanych z *C. zofingiensis* (EPS-CZ), *C. vulgaris* (EPS-CV) [10] i *C. pyrenoidosa* (EPS-CP) [11] względem ludzkich komórek raka okrężnicy linii HCT8 [10, 11] i HCT116 [11]. Preparaty w sposób zależny od dawki hamowały żywotność komórek raka jelita grubego. Żywotność komórek HCT8 po 24-godz. ekspozycji na EPS-CZ, EPS-CV i EPS-CP w stężeniu 0,6 mg/ml zmniejszyła się odpowiednio do 71,7%, 82,0% i 64,1%. W tych samych warunkach eksperymentu żywotność komórek HCT116 w odpowiedzi na EPS-CP wyniosła 82,8%. W przypadku preparatu na bazie *C. pyrenoidosa* ocenę jego potencjału chemoprewencyjnego rozszerzono o analizę wpływu na tworzenie kolonii. Po 24-godz. inkubacji komórek z EPS-CP w stężeniach 0,75 i 1,5 mg/ml zaobserwowano zahamowanie tego procesu odpowiednio o 5% i 11,5% w hodowli HCT8 oraz o 14,5% i 21% w hodowli HCT116. Wykryte przeciwnowotworowe właściwości analizowanych EPS badacze powiązali z istotnymi w kontekście prewencji nowotworów właściwościami antyoksydacyjnymi badanych preparatów. Wyznaczone na podstawie wyników testów biochemicznych (bez komponenty komórkowej) wartości ED50 dla usuwania wolnych rodników hydroksylowych oraz DPPH wyniosły odpowiednio: 1,13 mg/ml i 1,57 mg/ml (EPS-CZ), 0,5 mg/ml i 1,86 mg/ml (EPS-CV), 0,75 mg/ml i 2,14 mg/ml (EPS-CP). Warto podkreślić, że badania Zhang i wsp. należą do nielicznych, w których szczegółowo określono skład preparatów. EPS-CZ zawierał 11 rodzajów cukrów i pochodnych, przy czym dominującą część stanowiły mannoza (43,44%), galaktoza (30,08%) i glukoza (17,42%). EPS-CV składał się głównie z galaktozy (45,43%), glukozaminy (28,00%) i mannozy (10,60%). Natomiast EPS-CP składał się z 10 rodzajów monosacharydów, przede wszystkim z galaktozy (37,12%), arabinozy (18,96%) i glukozaminy (13,53%) [10, 11].

Kolejne badania koncentrowały się na CGF (czynnik wzrostu chlorelli). Zhang i wsp. zbadali wpływ CGF z *C. vulgaris* na żywotność ludzkich komórek niedrobnokomórkowego raka płuca linii A549 i NCI-H460. Przeprowadzone analizy wykazały, że CGF w stężeniach od 100 do 250 µg/ml istotnie zmniejszał żywotność badanych komórek nowotworowych, jednocześnie stymulując wzrost ludzkich fibroblastów. Żywotność komórek linii A549 obniżyła się o ok. 50%, a komórek NCI-H460 o ok. 40% po 24-godz. inkubacji z CGF

w stężeniu 250 µg/ml. W tych samych warunkach żywotność fibroblastów wzrosła o ponad 20%. Kolejne doświadczenia wykazały proapoptotyczne i genotoksyczne właściwości CGF w stężeniach 100, 200 i 300 µg/ml, co zdaniem autorów przemawia za użyciem tego preparatu w terapii niedrobnokomórkowego raka płuca [20]. W kontekście CGF warto wspomnieć, że ponad 70 lat od jego odkrycia przez japońskiego naukowca dr. Fujimaki, jego skład nie został dokładnie zdefiniowany. Brak standardu kompozycji chemicznej CGF wynika z faktu, że skład ten jest uzależniony od gatunku chlorelli, warunków hodowli i procesu ekstrakcji [18]. Jednak głównym kryterium wydaje się obecność mieszaniny kwasów nukleinowych, białek, polisacharydów i innych związków o niskiej masie cząsteczkowej, ekstrahowanych z komórek chlorelli wodą. W tym kontekście opisane powyżej chemoprewencyjne właściwości wodnych ekstraktów z *Chlorella spp.* można by wiązać z CGF [7, 35–43], a w przypadku prac naszego zespołu oraz Justo i wsp., które wykryły w wodnych ekstraktach znaczne ilości polisacharydów, białek i kwasów nukleinowych (wodny ekstrakt z *C. vulgaris*: 44,3% białka; 39,5% węglowodanów; 15,4% kwasów nukleinowych; wodny ekstrakt z *C. pyrenoidosa*: 42,3% węglowodanów; 26,9% białka; 24,4% kwasów nukleinowych), wydaje się to więcej niż prawdopodobne [35–38].

Z uwagi na wyjątkowy materiał wyjściowy warto wspomnieć również o pracy Sheih i wsp., którzy wykorzystali poprodukcyjne odpady białkowe z hodowli *C. vulgaris*. Chińscy badacze poddali wspomniane odpady hydrolizie pepsyną, uzyskując frakcję peptydową (ang. *algae protein waste peptide*, APWP) o MW poniżej 65 kDa, w której 90% składu stanowiły niskocząsteczkowe peptydy (MW pomiędzy 2 a 20 kDa). APWP w porównaniu z produktem wyjściowym niepoddanym hydrolizie charakteryzowała się znacznym potencjałem antyoksydacyjnym. APWP 26 razy skuteczniej chroniła lipidy przed utlenianiem niż troloks (pochodna witaminy E), a w przypadku szczególnie podatnych na utlenianie LDL (lipoproteiny o niskiej gęstości) ochronne działanie APWP było o 6,5-rza wyższe niż troloksu. Obok oceny właściwości antyoksydacyjnych został również zbadany wpływ APWP na ludzkie komórki raka żołądka (AGS), okrężnicy (C2BBel), wątroby (HepG2) i szyjki macicy (HeLa) oraz ludzkie embrionalne komórki fibroblastów płuc (WI-38). Spośród linii nowotworowych jedynie komórki raka żołądka wykazały wrażliwość na antyproliferacyjne działanie peptydów (IC50: 70,7 µg/ml). Warto jednak podkreślić, że APWP nie był toksyczny względem komórek prawidłowych linii WI-3. Wykryte przeciwnowotworowe działanie APWP wobec komórek AGS powiązano z zaburzeniem cyklu komórkowego, czego oznaką było zwiększenie o 8% ilości komórek w fazach S/G2-M w odpowiedzi na 24-godz. inkubację z peptydami w stężeniu 36 µg/ml [6]. Dodatkowo Sheih i wsp. wyizolowali z APWP peptyd VECYGNRPQF (MW 1309 Da) zdolny do hamowania proliferacji komórek raka żołądka (IC50: 256,4 µM), jak również do ograniczania produkcji NO przez makrofagi linii RAW264.7 stymulowane LPS (IC50: 42,4 µM). Ich badania udowodniły, że odpady poprodukcyjne mogą być znaczącym źródłem substancji bioaktywnych o właściwościach antyoksydacyjnych, przeciwnowotworowych i przeciwnowotworowych [6].

Pozostając w nurcie antyoksydantów o aktywności chemoprewencyjnej pozyskiwanych z mikroalg, należy wspomnieć, że Renju i wsp. wyizolowali z *C. marina* likopen (cis i trans w proporcji 60:40). Pozyskany karotenoid poddano analizie

pod kątem aktywności przeciwnowotworowej względem ludzkich komórek rak prostaty, umiarkowanie agresywnej linii DU-145 oraz wysoce agresywnej linii PC-3. W dwóch niezależnych oznaczeniach potwierdzono antyproliferacyjny efekt badanej substancji. Test MTT wykazał, że po 24-godz. inkubacji komórek z likopenem w stężeniu 20 i 50 μM ilość komórek PC-3 zmniejszyła się o odpowiednio 54% i 61%, a komórek DU-145 o 56% i 68%. Natomiast przeprowadzony 24 godz. później test z czerwienią obojętną ujawnił zahamowanie proliferacji komórek PC-3 o 40% i 49%, a komórek DU-145 o 46% i 57% w odpowiedzi na likopen w stężeniach odpowiednio 20 i 50 μM . Ponadto wykazano również zdolność likopenu z *C. marina* do hamowania tworzenia kolonii w hodowlach komórek raka prostaty. Po 8 dniach inkubacji ilość kolonii PC-3 spadła ze 185 do 110 i 59, a kolonii DU-145 ze 115 do 76 i 35 w odpowiedzi odpowiednio na likopen podany w stężeniach 20 i 50 μM . By lepiej zrozumieć molekularny mechanizm przeciwnowotworowego działania pozyskanego karotenoidu, w dalszych badaniach zespół Renju skupił się na bardziej agresywnej linii komórek raka prostaty (PC-3), udowadniając proapoptyczne, genotoksyczne oraz antyproliferacyjne działanie badanego związku. Analiza mikroskopowa hodowli PC-3 wykazała, że likopen w stężeniach 20 i 50 μM indukował apoptozę odpowiednio u 56% i 84% komórek. Test kometkowy ujawnił 41- i 60-krotny wzrost długości ogona komety (miernik fragmentacji DNA) po podaniu likopenu w stężeniach 20 i 50 μM . Natomiast analiza cytometryczna wykazała akumulację komórek PC-3 w fazie G0/G1 cyklu komórkowego w odpowiedzi na badany karotenoid, czego oznaką był wzrost odsetka komórek we wskazanej fazie z 23,97% (kontrola) do 68,52% (20 μM) i 70,76% (50 μM). Co istotne, prowadzone równoległe badania z likopenem (trans) pozyskanym z pomidorów jednoznacznie wskazały, że ten pochodzący z *C. marina* ma istotnie większy potencjał przeciwnowotworowy [16].

Zespół Cha i wsp. również zainteresowały karotenoidy obecne w mikroalgach z rodzaju *Chlorella spp.* Zbadali oni wpływ bogatych w karotenoidy ekstraktów z morskiej *C. ellipsoidea* i słodkowodnej *C. vulgaris* na żywotność i proliferację ludzkich komórek raka jelita grubego linii HCT116. Przeprowadzone przez nich badania wykazały, że ekstrakty w stężeniach od 5 do 100 $\mu\text{g/ml}$ w sposób zależny od dawki hamowały wzrost komórek nowotworowych. Co ciekawe, oba preparaty miały zbliżone wartości IC₅₀ (40,73 $\mu\text{g/ml}$ ekstrakt z *C. ellipsoidea*; 40,31 $\mu\text{g/ml}$ ekstrakt z *C. vulgaris*), pomimo różnic w składzie chemicznym. Analiza HPLC wykazała, że w ekstrakcie na bazie *C. ellipsoidea* w składzie karotenoidów dominuje wiolaksantyna z dwoma drugorzędnymi ksantofilami: anteraksantyną i zeaksantyną, podczas gdy wśród karotenoidów z *C. vulgaris* dominowała luteina. Oprócz bezpośredniego antyproliferacyjnego działania ekstraktów wykazano również ich zdolność do indukcji programowanej śmierci komórek. Niemniej jednak w tym aspekcie ekstrakty istotnie różniły się skutecznością. Karotenoidy z *C. ellipsoidea* były 2,5-raza skuteczniejsze w indukcji apoptozy w komórkach HCT116 niż te pozyskane z *C. vulgaris*. Z uwagi na udowodnione antyoksydacyjne właściwości karotenoidów (kluczowe dla ochrony DNA przed uszkodzeniami oksydacyjnymi mogącymi prowadzić do mutacji nowotworowych) oraz zdolności tych związków do indukcji programowanej śmierci zmienionych nowotworowo komórek to ich obecności autorzy przypisali przeciwnowotworowe właściwości badanych preparatów [17].

Modyfikacje preparatów na bazie *Chlorella spp.*

Na koniec zostaną przedstawione dwie niezwykle innowacyjne koncepcje wykorzystania mikroalg z rodzaju *Chlorella* w chemoprewencji nowotworów.

Lee i wsp., zainspirowani bardzo wydajną produkcją tlenu jako produktu ubocznego fotosyntezy przez mikroalgi z rodzaju *Chlorella spp.*, postanowili wykorzystać je w terapii nowotworów hipoksycznych. Terapia guzów niedotlenionych jest bardzo trudna, ponieważ środowisko guza o niskiej zawartości tlenu ogranicza cytotoksyczność wielu chemioterapeutyków poprzez blokowanie produkcji wewnątrzkomórkowych reaktywnych form tlenu. Zespół Lee i wsp. opracował hydrożel na bazie BSA-PEG zawierający *C. vulgaris* i nanopęty złota (AuNR) wstrzykiwany bezpośrednio do guza. Przeprowadzone przez nich badania wykazały, że skojarzona terapia doksorubicyną oraz preparatem na bazie *C. vulgaris* i AuNRs połączona z napromieniowaniem guza laserem o długości fali 660 nm i 808 nm powodowała znaczny regres guzów na bazie bardzo złośliwych komórek raka piersi linii 4T1 przeszczepionych myszom szczepu BALB/c. Zaproponowana terapia skojarzona była skuteczniejsza niż sama chemioterapia doksorubicyną. Efektywność omawianego rozwiązania wynikała z aktywacji laserem obu kluczowych komponentów badanego hydrożelu. Światło o długości fali 660 nm aktywowało komórki *C. vulgaris*, pobudzając je do wytwarzania tlenu i oksyhemoglobiny, które poprawiały stopień natlenienia guza. Natomiast światło o długości fali 808 nm spowodowało, że nanopęty srebra podniosły temperaturę otoczenia do 41–42 °C, co wspomagało natlenienie guza poprzez stymulację angiogenezy. Aktywacja obu komponentów żelu zmieniła środowisko guza, poprawiając penetrację tlenu i doksorubicyny do jego wnętrza oraz zwiększając skuteczność działania cytostatyku, w tym generowanie reaktywnych form tlenu. Zaprezentowane rozwiązanie może doprowadzić do przełomu w terapii guzów hipoksycznych [46].

Warte uwagi są również doświadczenia Karakas i wsp., którzy oceniali cytotoksyczne właściwości oleju z *C. protohecooides* w składzie: kwas palmitynowy (C16: 0), kwas oleinowy (C18: 1), kwas linolowy (C18: 2), kwas eikozatrienowy (C20: 3) i kwas eikozapentaenowy (EPA) (C20: 5) w postaci surowej (SAE) oraz zamkniętych w nanocząsteczkach wytworzonych metodą elektrorozpylania (PCH – kapsułki na bazie chitosanu; PNA – kapsułki na bazie soli sodowej kwasu alginowego NaAlg) oraz metodą mikroemulsji (NPAL kapsułki na bazie NaAlg). Potencjał chemoprewencyjny preparatów na bazie oleju z *C. protohecooides* zbadano na ludzkich komórkach raka jelita grubego linii HCT116, glejaka wielopostaciowego linii A172 oraz na prawidłowych komórkach śródbłonka żyły pępowinowej HUVEC. Olej z *C. protohecooides* bez enkapsulacji (SAE) charakteryzował się niską selektywnością działania, znacznie mocniej hamując żywotność komórek prawidłowych linii HUVEC niż komórek glejaka czy raka okrężnicy. Proces enkapsulacji istotnie zwiększył selektywność działania oleju z mikroalgi. NPAL w stężeniach 12,5; 25 i 50 $\mu\text{g/ml}$ zmniejszał żywotność komórek A172 o odpowiednio 50%, 70% i 90%, komórek HCT116 o 65%, 70% i 80%, a komórek HUVEC o 20%, 30% i 50%. PCH w stężeniach 17,5; 35 i 70 $\mu\text{g/ml}$ obniżał żywotność komórek A172 o odpowiednio 20%, 65% i 98%, komórek HCT116 o 65%, 80% i 85%, a komórek HUVEC o 5%, 20% i 55%. PNA w stężeniach 17,5; 35 i 70 $\mu\text{g/ml}$ zmniejszał żywotność komórek A172 o odpowiednio 10%, 90% i 95%, komórek HCT116 o 60%, 85% i 85%, a komórek

HUVEC o 0%, 25% i 30%. Przeprowadzone badania jasno wykazały, że proces enkapsulacji metodą elektorozpylania chroni podatne na utlenianie bioaktywne kwasy tłuszczowe z *C. protohecooides*, korzystnie wpływając na ich potencjał chemoprewencyjny, zwłaszcza w zakresie selektywności działania względem komórek prawidłowych i nowotworowych [9].

PODSUMOWANIE

Dostępne dane naukowe wskazują, że *Chlorella spp.* posiada znaczący potencjał przeciwnowotworowy wynikający z obecności licznych związków bioaktywnych, takich jak polisacharydy, peptydy, karotenoidy i związki fenolowe. Wyniki badań *in vitro* i *in vivo* potwierdzają, że *Chlorella spp.* może a) bezpośrednio unicestwić komórki nowotworowe poprzez indukcję apoptozy, uszkodzenie ich błon, generowanie reaktywnych form tlenu; b) ograniczać podziały komórek nowotworowych poprzez hamowanie syntezy DNA, zaburzanie przebiegu cyklu komórkowego czy powstrzymanie angiogenezy; c) przeciwdziałać przerzutom poprzez hamowanie migracji komórek nowotworowych. Przywołane wyniki badań ujawniły również zdolność preparatów na bazie *Chlorella spp.* do ochrony prawidłowych komórek i tkanek m.in. przed toksycznym działaniem chemioterapeutyków. Obiecujące wyniki badań z hodowli komórkowych i modeli zwierzęcych, jak również potwierdzone bezpieczeństwo stosowania suplementów diety na bazie *Chlorella spp.* zachęcają do podjęcia badań klinicznych celem opracowania nowych strategii chemoprewencji nowotworów i/lub terapii skojarzonych z wykorzystaniem substancji bioaktywnych pozyskiwanych z omawianych mikroalg.

PIŚMIENICTWO

- Liu J, Hu, Q. *Chlorella*: industrial production of cell mass and chemicals. In: Richmond A, Hu Q, eds. *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Wiley, Oxford: UK; 2013. p. 327–338.
- Champanois J, Marfaing H, Pierre R. Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe. *J Appl Phycol*. 2015;27:1845–1851. doi:10.1007/s10811-014-0431-2
- Giménez AR, Tarnutzer C, Canelli G, et al. Biochemical and nutritional evaluation of *Chlorella* and *Auxenochlorella* biomasses. *Front Nutr*. 2020;7:565996. doi:10.3389/fnut.2020.565996
- Ryżyk R, Kowalski A, Nowak B, et al. Potential of *Chlorella* as a dietary supplement to promote human health. *Nutrients*. 2020;12(9):2524. doi:10.3390/nu12092524
- Kunte M, Desai K. The protein extract of *Chlorella minutissima* inhibits the expression of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in cancer cells through upregulation of TIMP-3 and down-regulation of c-Jun. *Cell J*. 2018;20(2):211–219.
- Sheih IC, Fang TJ, Wu TK, et al. Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste. *J Agric Food Chem*. 2010;58(2):1202–1207. doi:10.1021/jf903089m
- Miyazawa Y, Murayama T, Ooya N, et al. Immunomodulation by a unicellular green algae (*Chlorella pyrenoidosa*) in tumor-bearing mice. *J Ethnopharmacol*. 1988;24(2–3):135–146. doi:10.1016/0378-8741(88)90072-4
- Senila L, Kovacs E, Roman C. Chemical characterization, lipid profile, and volatile compounds in *Chlorella sp.* and *Spirulina platensis*: a promising feedstock for various applications. *Molecules*. 2025;30(7):1499. doi:10.3390/molecules30071499
- Karakas CY, Tekarslan Sahin H, Inan B, et al. In vitro cytotoxic activity of microalgal extracts loaded nano-micro particles produced via electrospraying and microemulsion methods. *Biotechnol Prog*. 2019;35(6):e2876. doi:10.1002/btpr.2876
- Zhang J, Liu L, Chen F. Production and characterization of exopolysaccharides from *Chlorella zofingiensis* and *Chlorella vulgaris* with anti-colorectal cancer activity. *Int J Biol Macromol*. 2019a;134:976–983. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.117
- Zhang J, Liu L, Ren Y, et al. Characterization of exopolysaccharides produced by microalgae with antitumor activity on human colon cancer cells. *Int J Biol Macromol*. 2019b;128:761–767. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.009
- Schulze C, Wetzel M, Reinhardt J, et al. Screening of microalgae for primary metabolites including β -glucans and the influence of nitrate starvation and irradiance on β -glucan production. *J Appl Phycol*. 2016;28:2719–2725. doi:10.1007/s10811-016-0812-9
- Heo Y, Kim MY, Cho JY. *Chlorella vulgaris*, a representative edible algae as integrative and alternative medicine. *Integr Med Res*. 2026;15(1):101228. doi:10.1016/j.imr.2025.101228
- Mendes AR, Spínola MP, Lordelo M, et al. Chemical compounds, bioactivities, and applications of *Chlorella vulgaris* in food, feed and medicine. *Appl Sci*. 2024;14(20):10810. doi:10.3390/app142010810
- Kuanyshbay A, Iskakova Z, Aibuldinov Y, et al. Microalgae as a source of photosensitizers: analytical strategies and biomedical use in photodynamic therapy. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2026;19(1):100. doi:10.3390/ph19010100
- Renju GL, Muraleedhara Kurup G, Bandugula VR. Effect of lycopene isolated from *Chlorella marina* on proliferation and apoptosis in human prostate cancer cell line PC-3. *Tumour Biol*. 2014;35(11):10747–10758. doi:10.1007/s13277-014-2213-1
- Cha KH, Koo SY, Lee DU. Antiproliferative effects of carotenoids extracted from *Chlorella ellipsoidea* and *Chlorella vulgaris* on human colon cancer cells. *J Agric Food Chem*. 2008;56(22):10521–10526. doi:10.1021/jf802111x
- Hemalatha M, Mohan SV. Amino acids rich biomass cultivation: Tropic mode influence on *Chlorella Growth Factor* (CGF) production. *Algal Res*. 2024;80:103449. doi:10.1016/j.algal.2024.103449
- Bito T, Okumura E, Fujishima M, Watanabe F. Potential of *Chlorella* as a dietary supplement to promote human health. *Nutrients*. 2020;12(9):2524. doi:10.3390/nu12092524
- Zhang ZD, Liu XJ, Wang Y, et al. *Chlorella vulgaris* induces apoptosis of human non-small cell lung carcinoma cells. *Med Chem*. 2017;13(6):560–568.
- Sen B, Alp MT, Kocer MAT. Studies on growth of marine microalgae in batch cultures: I. *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta) *Asian J Plant Sci*. 2005;4(6):636–638.
- Chlorella* market size, share, and industry analysis by source (*Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella ellipsoidea*, and Others), by application (food & beverages, pharmaceuticals, cosmetics & personal care, and animal feed), by form (power, tablets, liquid, and others), and regional forecast, 2026–2034 Report ID: FBI110655 <https://www.fortunebusinessinsights.com/chlorella-market-110655> (access: 2026.02.04)
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 May;71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660
- Ren J, Yan G, Yang L, et al. Cancer chemoprevention: signaling pathways and strategic approaches. *Signal Transduct Target Ther*. 2025;10(1):113. doi:10.1038/s41392-025-02167-1
- G MS, Swetha M, Keerthana CK, et al. Cancer chemoprevention: a strategic approach using phytochemicals. *Front Pharmacol*. 2022;12:809308. doi:10.3389/fphar
- Dominguez-Gámez M, Romo-Sáenz CI, Gomez-Flores R, et al. In vitro antitumor, antioxidant, and hemolytic activities of *Chlorella sorokiniana* methanol extracts and collective fractions. *Appl Sci*. 2024;14(20):9613. doi:10.3390/app14209613
- Reyna-Martinez R, Gomez-Flores R, López-Chuken U, et al. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus sp.* microalgae native of Nuevo León State, México. *PeerJ*. 2018;6:e4358. doi:10.7717/peerj.4358
- Ferdous UT, Khan SA, Shakoor A, et al. *Chlorella spp.* as an emerging source for anticancer remedy and nutraceuticals: an advance study. *Food Rev Int*. 2025;41:1–29. doi:10.1080/87559129.2024.2309874
- Sawasdee N, Jantakee K, Wathikthinnakon M, et al. Microalga *Chlorella sp.* extract induced apoptotic cell death of cholangiocarcinoma via AKT/mTOR signaling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2023;160:114306. doi:10.1016/j.biopha.2023.114306
- Tanaka T, Aoki R, Terasaki M. Potential chemopreventive effects of dietary combination of phytochemicals against cancer development. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023;16(11):1591. doi:10.3390/ph16111591
- Kubatka P, Kapinova A, Kruziak P, et al. Antineoplastic effects of *Chlorella pyrenoidosa* in the breast cancer model. *Nutrition*. 2015;31(4):560–569. doi:10.1016/j.nut.2014.10.018

32. Ariffin KT, Sulaiman S, Saad SM, et al. Elevation of tumour markers TGF- β , M2-PK, OV-6 and AFP in hepatocellular carcinoma-induced rats and their suppression by microalgae *Chlorella vulgaris*. *BMC Cancer*. 2017;17(1):879. doi:10.1186/s12885-017-3876-0
33. Mukti NA, Sulaiman S, Saad SM et al. *Chlorella vulgaris* exhibited antioxidant and antitumour effects against liver cancer in vivo and in vitro studies. *Sains Malaysiana*. 2009;38(5):772–784.
34. Sulaiman S, Shamaan NA, Ngah WZW, Yusof YAM. Chemopreventive effect of *Chlorella vulgaris* in choline-deficient diet and ethionine-induced liver carcinogenesis in rats. *Int J Cancer Res*. 2006;2(3):234–241.
35. Lemieszek MK, Rzeski W. Enhancement of chemopreventive properties of young green barley and chlorella extracts used together against colon cancer cells. *Ann Agric Environ Med*. 2023;27(4):591–598. doi:10.26444/aaem/130555
36. Lemieszek MK, Rzeski W. Synergism of antiproliferative effects of young green barley and chlorella water extracts against human breast cancer cells. *Ann Agric Environ Med*. 2023;30(2):273–280. doi:10.26444/aaem/166267
37. Rzeska W, Chojnacki M, Adamiak-Godlewska A, et al. First look at chemopreventive properties of *Chlorella pyrenoidosa* water extract in human endometrial adenocarcinoma cells-preliminary in vitro study. *Int J Mol Sci*. 2025;26(18):9142. doi:10.3390/ijms26189142
38. Justo GZ, Silva MR, Queiroz ML. Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal Ehrlich ascites tumor transplantation in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2001;23(1):119–132. doi:10.1081/IPH-100102573
39. Saad SM, Yusof YAM, Ngah WZW. Comparison between locally produced *Chlorella vulgaris* and *Chlorella vulgaris* from Japan on proliferation and apoptosis of liver cancer cell line HepG2. *Malays J Biochem Mol Biol*. 2006;13:32–36.
40. Yusof YA, Saad SM, Makpol S, et al. Hot water extract of *Chlorella vulgaris* induced DNA damage and apoptosis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010;65(12):1371–1377. doi:10.1590/S1807-59322010001200005
41. Shanab SMM, Mostafa SSM, Shalaby EA, et al. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(8):608–615. doi:10.1016/S2221-1691(12)60270-9
42. Lin SH, Li MH, Chuang KA, et al. *Chlorella sorokiniana* extract prevents cisplatin-induced myelotoxicity in vitro and in vivo. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:7353618. doi:10.1155/2020/7353618
43. Lin PY, Tsai CT, Chuang WL, et al. *Chlorella sorokiniana* induces mitochondrial-mediated apoptosis in human non-small cell lung cancer cells and inhibits xenograft tumor growth in vivo. *BMC Complement Altern Med*. 2017;17(1):88. doi:10.1186/s12906-017-1611-9
44. Wang HM, Pan JL, Chen CY, et al. Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction. *Process Biochem*. 2010;45(12):1865–1872. doi:10.1016/j.procbio.2010.08.006
45. Kyadari M, Fatma T, Azad R, Velpandian T. Evaluation of antiangiogenic and antiproliferative potential of the organic extract of green algae *Chlorella pyrenoidosa*. *Indian J Pharmacol*. 2013;45(6):569–576. doi:10.4103/0253-7613.121366
46. Lee C, Lim K, Kim SS, et al. *Chlorella*-gold nanorods hydrogels generating photosynthesis-derived oxygen and mild heat for the treatment of hypoxic breast cancer. *J Control Release*. 2019;294:77–90. doi:10.1016/j.jconrel.2018.12.011