

Algue / Algae

Le secret de l'algue des neiges

Snow Algae Powder, nouvel actif développé à partir d'un extrait d'algue des neiges extrêmophile, offre un mécanisme anti-âge inédit : cet actif « rajeunit » la peau en mimant les effets du processus de restriction calorique. Résultat : la production de collagène est relancée dans la peau, la jonction dermo-épidermique retrouve son aspect ondulé et la peau est rapidement plus hydratée et plus lisse.

► Une algue cryophile des régions alpines et polaires

L'été, il arrive que de la neige persistante au sommet de pics montagneux se teinte de rouge (**Figure 1**). Il s'agit en fait d'algue des neiges. Cette algue unicellulaire

appartient à la famille des algues vertes qui changent de couleur en produisant des caroténoïdes pour se protéger des rayons UV intenses. L'algue des neiges est une variété qui s'est adaptée à l'environnement extrême des régions alpines et polaires.

► De l'algue des neiges à l'actif

Un photobioréacteur a été développé afin de produire l'actif à partir de la variété *Chlamydocapsa*. Tout d'abord, une lumière optimale et de l'aération permettent

The secret of the snow algae

Snow Algae Powder is a novel anti-aging active ingredient based on an extremophile snow algae extract and offering an innovative mechanism: It rejuvenates the skin by mimicking the effects of the caloric restriction process. Result: the collagen production starts again in the skin, the dermal-epidermal junction recovers its wavy aspect and skin hydration and smoothness are rapidly enhanced.

► A cryophilic alga from Alpine and polar climate

In summer, persisting snow fields on high mountains sometimes are tinged with a red, pink color (**Figure 1**). This phenomenon is caused by snow algae. These are unicellular members of green algae that changed color by producing carotenoids for protection against the high ultraviolet (UV) radiation. Snow algae are a species adapted to survive the extreme conditions of Alpine and polar snow fields.

► From the snow algae to the active ingredient

A photobioreactor was developed to produce snow algae raw material from a *Chlamydocapsa* species. In a first stage, optimal light and aeration were used to grow the green algae doing photosynthesis. In a second stage, nutrients were reduced and light strongly increased to induce the formation of carotenoids and thus the red colored resting form. Snow algae cells harvested at this stage were

homogenized at 1,200 bar together with phospholipids to encapsulate their water- and oil-soluble components into liposomes. Then the resulting extract was coated onto maltodextrin in a spray granulation process.

► Mechanism of Snow Algae Powder

In our in vitro studies the snow algae extract was found to interfere with the insulin/IGF-1 and the AMP-activated

la croissance de l'algue verte grâce à la photosynthèse. Ensuite, la réduction des apports en nutriments et une forte augmentation de la lumière induisent la formation de caroténoïdes et donc la forme dormante de l'algue qui prend alors la couleur rouge. Les cellules d'algue des neiges récoltées à ce stade sont homogénéisées à 1 200 bar avec des phospholipides afin d'encapsuler leurs composants hydro- et liposolubles dans des liposomes. Puis l'extrait obtenu est pulvérisé sur une poudre à base de maltodextrine.

► Mécanisme de Snow Algae Powder

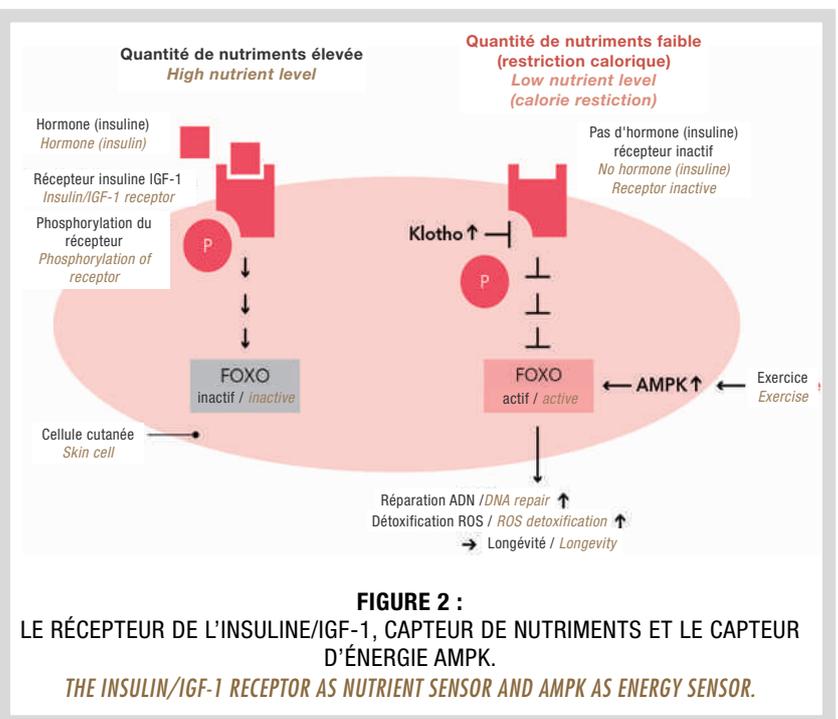
Nos études *in vitro* ont montré l'influence de l'extrait d'algue des neiges sur la



FIGURE 1 :
SPORES ROUGES D'ALGUE DES NEIGES.
RED SPORES OF SNOW ALGAE.

signalisation de l'insuline/IGF-1 et de l'AMP-activated protein kinase (AMPK), deux voies impliquées dans le phénomène de longévité induit par la restriction calorique (RC). La voie de signalisation insuline/IGF-1 est un capteur cellulaire pour les nutriments (Figure 2). Lorsque la quantité de nutriments et d'insuline est importante, le récepteur est phosphorylé ce qui inactive le facteur de transcription Forkhead FOXO à l'intérieur de la cellule. Lorsque la quantité de nutriments est faible, la voie de signalisation est bloquée et FOXO reste activée ainsi le métabolisme cellulaire s'oriente vers la protection, la réparation et donc la longévité. La suppression de la voie de signalisation insuline/IGF-1 est considérée comme le

mécanisme central dans le phénomène de longévité induit par la RC⁽¹⁾. AMPK est un capteur cellulaire d'énergie qui est activé par une augmentation du ratio AMP/ATP, indicatif d'un niveau d'énergie faible. Durant la RC et après l'exercice, l'activité de l'AMPK augmente pour restaurer le niveau d'ATP *via* la stimulation des processus générateurs d'ATP et *via* l'inhibition des processus consommateurs d'ATP non nécessaires à la survie. De plus, l'AMPK régule différents facteurs de transcription liés à la longévité et au vieillissement⁽²⁾. L'AMPK peut activer FOXO et Nrf2, un autre activateur des systèmes d'auto-défense de la peau. L'AMPK bloque NF-κB et inhibe ainsi les réactions inflammatoires.



protein kinase (AMPK) signaling, two pathways involved in the calorie restriction (CR)-induced longevity phenomenon. The insulin/IGF-1 signaling pathway is a cellular sensor for nutrients (Figure 2). Under high nutrient and insulin conditions, the receptor gets phosphorylated, leading to inactivation of the Forkhead transcription factor FOXO inside the cell. Under low-nutrient conditions, this signaling pathway is blocked and as a consequence, the FOXO gets activated causing the cellular metabolism to focus on protection, repair and thus to longevity. Suppression of the insulin/IGF-1

signaling pathway is regarded as the central mechanism in the CR-induced longevity phenomenon⁽¹⁾. The AMPK is a cellular sensor for energy which is activated by an increased AMP/ATP ratio indicating low energy. During CR and after exercise AMPK activity is increased to restore the ATP level by stimulating ATP-generating processes and by inhibiting ATP-consuming processes that are not needed for survival. Besides AMPK regulates several transcription factors related to longevity and aging⁽²⁾. AMPK can activate FOXO and Nrf2, another activator of the skin's own defense systems. AMPK

blocks NF-κB and thus inhibits inflammatory reactions.

► Stimulation of the longevity gene Klotho

In a replicative aging model with primary human fibroblasts, the expression (analyzed by quantitative PCR) of the Klotho gene was found to be down-regulated in aged (passage 17) cells (Figure 3). However, treatment of these aged fibroblasts with the snow algae extract induced an upregulation of Klotho expression to a value even beyond that

► Stimulation du gène de longévité Klotho

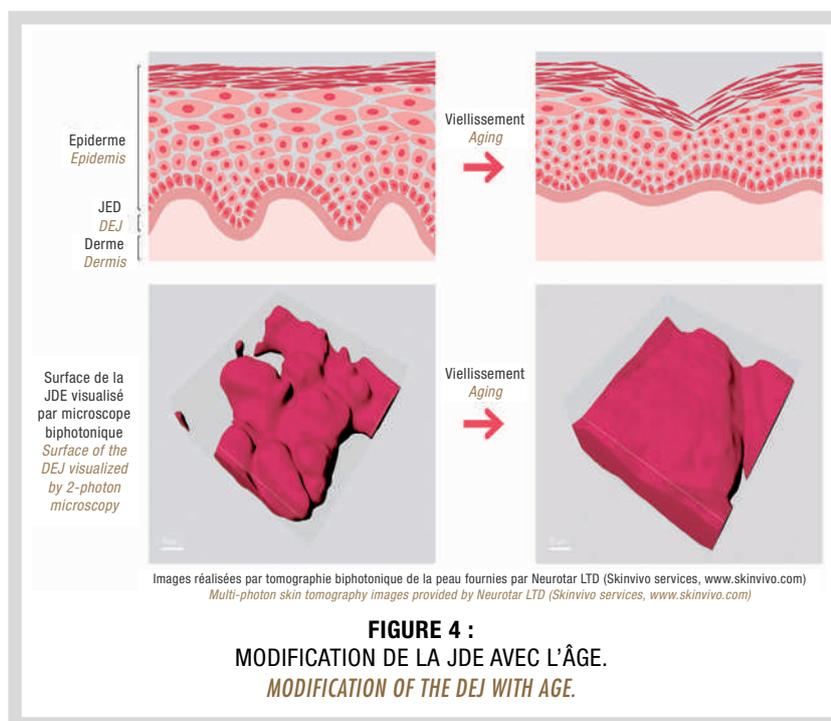
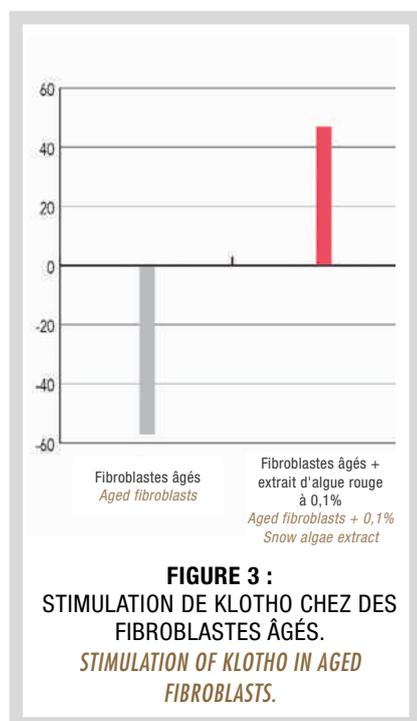
Dans un modèle de sénescence répliquative avec des fibroblastes humains primaires, l'expression du gène Klotho (analysé par PCR quantitative) s'est trouvée réprimée dans les cellules âgées (passage 17) (**Figure 3**). Cependant, le traitement de ces fibroblastes âgés avec l'extrait d'algue des neiges a induit une stimulation de l'expression de Klotho dépassant celle des cellules jeunes (passage 8). Le gène de longévité Klotho, découvert en 1997, doit son nom à la déesse grecque du destin. Des souris déficientes pour le gène Klotho présentaient des signes de vieillissement accéléré tandis que lorsqu'il était surexprimé, le gène augmentait la longévité de 30%⁽³⁾. La protéine Klotho

existe sous deux formes : transmembranaire agissant tel un co-récepteur du facteur de croissance des fibroblastes 23 et sécrétée agissant telle une hormone. Cette dernière inhibe la signalisation insuline/IGF-1 au niveau de la protéine substrat du récepteur à l'insuline⁽⁴⁾. Quels que soient les niveaux de nutriments et d'insuline, Klotho inhibe la phosphorylation du récepteur à l'insuline/IGF-1. Ainsi, la stimulation de Klotho bloque la voie de signalisation de l'insuline/IGF-1 et induit un métabolisme cellulaire qui mime la RC.

► Protection et activation de l'AMPK

L'effet de l'extrait d'algue des neiges sur la phosphorylation (activation) de l'AM-

PK a été évalué sur des kératinocytes humains primaires dans des conditions normales ainsi qu'en présence de fortes concentrations d'insuline mimant un taux élevé de nutriments. Les kératinocytes ont été incubés avec ou sans l'extrait d'algue des neiges. Les quantités d'AMPK total et AMPK phosphorylé ont été déterminées par Western blot. L'expression des gènes régulant l'AMPK est réprimée lorsque le taux de nutriments est élevé, ce qui favorise le vieillissement. Cependant l'extrait d'algue des neiges s'est avéré capable de stimuler la phosphorylation de l'AMPK notamment lorsque le taux de nutriments est élevé, de 105 % dans ce cas. Ainsi, la stimulation de l'activité de l'AMPK par l'extrait d'algue des neiges mime une situation



of young (passage 8) cells. Klotho, named after a Greek goddess who spins the thread of human life, is a longevity-related gene discovered in 1997. Mice deficient in Klotho display an accelerated aging phenotype and on the other side when overexpressed, the gene extends lifespan by 30%⁽³⁾. There are two forms of the Klotho protein known: transmembrane Klotho acting as a co-receptor of fibroblast growth factor 23 and secreted Klotho acting as a hormone. The latter was found to act by inhibiting the insulin/IGF-1 signaling at the level of the insulin

receptor substrate protein⁽⁴⁾. Independent of the nutrient and insulin levels Klotho inhibits phosphorylation of the insulin/IGF-1 receptor. Stimulation of Klotho to block the insulin/IGF-1 signaling pathway thus induces a CR-like cellular metabolism.

► Protection and activation of AMPK

The effect of the snow algae extract on phosphorylation (activation) of AMPK was tested on human primary keratinocytes under normal

conditions and in the presence of high insulin concentrations representing high nutrient conditions. The keratinocytes were incubated with or without the snow algae extract. The amounts of total AMPK and phosphorylated AMPK were determined by Western blot analysis. Expression of AMPK-regulated genes is repressed under high nutrient conditions leading to a pro-aging situation. The snow algae extract was found to stimulate phosphorylation of AMPK, especially under high nutrient conditions, by 105% in this case.

dans laquelle les niveaux de calories et d'énergie sont faibles, similaire à celle expérimentée après l'effort.

► Stimulation de la production de collagène et inhibition de sa dégradation

Dans le modèle de sénescence répliquative avec des fibroblastes humains primaires, l'expression des gènes codant pour les collagènes I et III s'est trouvée réprimée dans les cellules âgées. Cependant, le traitement de ces dernières avec l'extrait d'algue des neiges a induit une stimulation de l'expression du collagène conduisant à une correction pour

le collagène I et même à une expression plus élevée pour le collagène III comparativement aux cellules jeunes.

Dans un modèle de sénescence prématurée, des fibroblastes humains primaires ont été stressés avec H_2O_2 puis cultivés avec ou sans l'extrait d'algue des neiges. L'expression des métalloprotéases matricielles 1 et 3 qui dégradent le collagène a été analysée par PCR quantitative. Les résultats ont montré une stimulation importante pour chaque enzyme après traitement avec H_2O_2 . Cependant, l'incubation avec l'extrait d'algue des neiges a permis de réduire cette stimulation de 47 et 40 % respectivement.

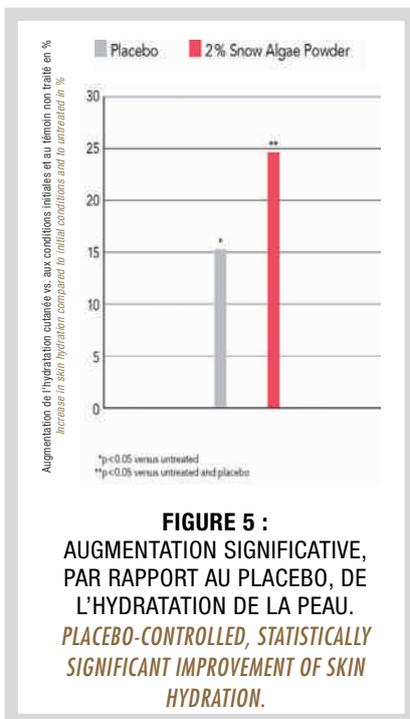
► « Rajeunissement » de la jonction dermo-épidermique

Cinq femmes âgées de 55 à 67 ans ont appliqué deux fois par jour pendant huit semaines une crème contenant 2% de Snow Algae Powder à l'intérieur de l'avant-bras. Le placebo a été appliqué sur l'autre avant-bras. L'analyse de la

jonction dermo-épidermique (JDE) a été réalisée par microscopie à deux photons, technique qui permet de visualiser la peau en profondeur (derme superficiel) et de reconstruire la JDE. La **Figure 4** montre un exemple d'images de volontaires jeunes et âgés. À la fin de l'étude, la surface de la JDE a été augmentée de 30,5 % par rapport au placebo, indiquant un effet de rajeunissement.

► Effets hydratant et lissant

Vingt femmes âgées de 40 à 60 ans ont appliqué deux fois par jour pendant 28 jours une crème contenant 2% de Snow Algae Powder à l'intérieur de l'avant-bras et sur la zone de la patte d'oie. Le placebo a été appliqué sur l'autre côté. L'hydratation a été mesurée sur l'avant-bras en utilisant un cornéomètre et la profondeur des rides au niveau de la patte d'oie avec le système PRIMOS. Les résultats ont montré une augmentation importante et significative par rapport au placebo de l'hydratation de la peau dès deux semaines d'application (**Figure 5**). La



Stimulation of AMPK activity by the snow algae extract mimics a situation of low calories and energy similar to that after doing exercise.

► Stimulation of collagen production and inhibition of its breakdown

In the replicative aging model with primary human fibroblasts, the expression of the collagen genes I and III was found to be downregulated in aged cells. Treatment of aged fibroblasts with the snow algae extract induced an upregulation of collagen expression leading to a correction

for collagen I and even to a higher expression of collagen III compared to young cells. In a premature senescence model study, primary human fibroblasts were stressed with H_2O_2 and then cultivated with or without the snow algae extract. The expression of the collagen-degrading enzymes matrix metalloproteinase 1 and 3 was analyzed by quantitative PCR. Results showed a great upregulation for both enzymes after H_2O_2 exposure. However, incubation with the snow algae extract could reduce this upregulation by 47 and 40% respectively.

► Dermal-epidermal junction rejuvenation

A 2% Snow Algae Powder cream was applied twice daily for eight weeks to the inner side of the forearm of 5 women aged 55-67. The placebo cream was applied to the other forearm. Analysis of the dermal-epidermal junction (DEJ) was performed using a two-photon microscopy which makes skin imaging possible deep in the skin

(upper dermis) and enabled the reconstruction of the DEJ. Figure 4 shows example pictures from a young and old female volunteer. At the end of the study, the DEJ surface was increased by 30.5% compared to the placebo indicating a rejuvenating effect.

► Moisturizing and smoothing effects

A 2% Snow Algae Powder cream was applied twice daily for 28 days to the inner side of the forearm and to the crow's feet area of 20 women aged 40-60. The placebo cream was applied to the other side. Hydration was measured on the forearm area using a corneometer and wrinkle depth on the crow's feet area using the PRIMOS system. Results showed a strong and significant improvement in skin hydration compared to the placebo, already after two weeks application (Figure 5). Wrinkle depth in the crow's feet area was improved by 10% on average after four weeks application but up to 29%.

