

# Los efectos sinérgicos de Protandim® Tri-Synergizer®

**Objetivo:** Evaluar los efectos sinérgicos de Protandim® Nrf2 Synergizer®, Protandim® NRF1 Synergizer® y Protandim® NAD Synergizer®.

**Patrocinador:** LifeVantage Corp.

**Investigador principal:** LifeVantage Corp.

**Referencia:** LifeVantage Corp., Lehi, Utah 84043, LV-43

**Número de patente:** Patente de EE. UU. n.º 11,484,563

## Introducción

El envejecimiento es un proceso complejo impulsado por diversos cambios en eventos genéticos, moleculares, bioquímicos y celulares. Este proceso multifactorial se caracteriza finalmente por una disminución gradual de las funciones fisiológicas, lo que compromete la capacidad de un organismo para sobrevivir a medida que aumenta la edad.

Actualmente existen muchas teorías diferentes sobre por qué envejecemos. Sin embargo, ninguna teoría por sí sola puede explicar todos los cambios conocidos que ocurren. Lo más probable es que todas las diferentes teorías tengan un efecto aditivo y contribuyan a las disminuciones asociadas con el envejecimiento.

Hasta la fecha, existen tres teorías del envejecimiento que han sido las más ampliamente estudiadas:

1. La teoría del estrés oxidativo del envejecimiento
2. La teoría mitocondrial del envejecimiento
3. La teoría de las sirtuinas del envejecimiento

## 1. TEORÍA DEL ESTRÉS OXIDATIVO DEL ENVEJECIMIENTO Y LA VÍA NRF2

La teoría del estrés oxidativo del envejecimiento establece que, a medida que el cuerpo envejece, comienza a acumular radicales libres y otros oxidantes. Normalmente, el cuerpo puede neutralizar estos radicales libres de forma natural para proteger la integridad y la salud celular. Pero si no se controlan y los radicales libres continúan aumentando, esto puede tener consecuencias muy graves para la célula en forma de estrés oxidativo.

El estrés oxidativo puede finalmente provocar daño oxidativo al atacar y dañar estructuras biológicas esenciales de la célula, comprometiendo la función celular. Cuando suficientes células se ven afectadas, este daño acumulativo puede afectar los tejidos y los sistemas de órganos. Esto puede manifestarse como una reducción del rendimiento físico, mayores respuestas inflamatorias o una menor eficiencia metabólica. En una persona, esto podría sentirse como fatiga o niveles más bajos de energía, recuperación más lenta después del ejercicio o el estrés, signos visibles de envejecimiento y menor resiliencia ante factores físicos o ambientales cotidianos.

Los antioxidantes son la defensa principal de la célula contra los radicales libres y otros oxidantes. Existen dos clases principales de antioxidantes: 1) antioxidantes dietéticos obtenidos a través de alimentos y suplementos nutricionales, y 2) antioxidantes endógenos producidos por el cuerpo.

Durante mucho tiempo se ha debatido qué clase de antioxidantes es más importante para la salud humana. Sin embargo, una revisión reciente de la literatura científica dirigida por el Centro Nacional de Salud Complementaria e Integrativa de los Institutos Nacionales de Salud de Estados Unidos concluyó que “los ensayos rigurosos de suplementos antioxidantes en grandes cantidades de personas no han encontrado que las dosis altas de suplementos antioxidantes prevengan enfermedades”. Por lo tanto, gran parte de la atención se ha desplazado hacia los sistemas antioxidantes endógenos y de detoxificación del cuerpo.

Los antioxidantes endógenos son antioxidantes producidos por el cuerpo y constituyen la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo. En general, los antioxidantes endógenos previenen la formación de oxidantes o los eliminan. Los antioxidantes endógenos forman una red compleja de metabolitos y enzimas antioxidantes, y estas redes trabajan en conjunto, en toda la célula, para neutralizar oxidantes y proteger estructuras biológicas importantes contra el daño oxidativo.

Estas redes entrelazadas y altamente integradas obtienen con mayor frecuencia sus equivalentes reductores de la producción de energía celular, los cuales se transfieren a través de la red. Una ventaja importante de estos sistemas antioxidantes es que pueden transferir energía de un lado a otro, un proceso también conocido como ciclo redox. Mientras que la mayoría de los antioxidantes dietéticos solo pueden usarse una vez y luego

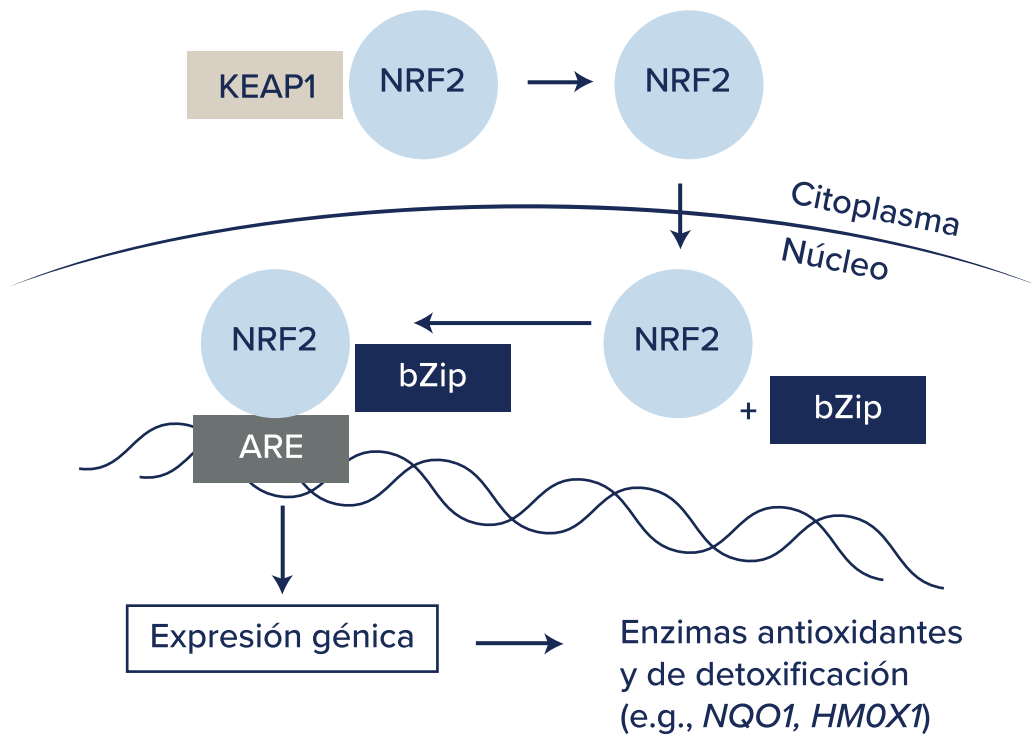
\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



destruirse, los antioxidantes endógenos pueden usar el ciclo redox para neutralizar numerosos oxidantes porque se regeneran constantemente de nuevo a su estado “activo” o reducido.

Los antioxidantes endógenos también pueden aumentar su actividad en momentos de mayor estrés oxidativo. La principal vía responsable de aumentar la actividad de los antioxidantes endógenos y otras vías de detoxificación es la vía de señalización celular NRF2. En condiciones normales, o de bajo estrés oxidativo, el factor de transcripción NRF2 normalmente se encuentra anclado a otra proteína en la membrana celular llamada KEAP1 (proteína 1 asociada a ECH tipo Kelch). En momentos de estrés oxidativo, los oxidantes y otros electrófilos liberan NRF2 de KEAP1. Luego, NRF2 se traslada al núcleo, donde se une a su secuencia promotora específica (elemento de respuesta antioxidante - ARE) para activar sus genes antioxidantes objetivo y otros genes de detoxificación. (Figura 1)

Con la edad, se ha demostrado que la actividad de esta vía de señalización celular NRF2 disminuye, tanto en su capacidad para detectar amenazas oxidativas como para aumentar la actividad de sus genes objetivo. Cuando esto se ralentiza, el daño celular se acumula y conduce a signos de envejecimiento.



**Figura 1.** Activación de la vía de señalización celular NRF2 bajo parámetros de estrés oxidativo.

## 2. TEORÍA MITOCONDRIAL DEL ENVEJECIMIENTO Y LA VÍA NRF1

Otra teoría principal sugiere que el envejecimiento comienza en la mitocondria. Las mitocondrias, las centrales energéticas de la célula, son esenciales para la función celular. Se estima que aproximadamente el 95 % de la energía que necesitamos para funcionar cada segundo de cada día es producida por las mitocondrias. Las mitocondrias producen energía (ATP) al descomponer los alimentos que consumimos y capturar electrones de alta energía en el proceso.

Cuando las mitocondrias funcionan correctamente, la energía liberada por los electrones impulsa la producción de ATP. Luego, las mitocondrias unen estos electrones al oxígeno molecular, que se detoxifica y se convierte en agua. Sin embargo, este proceso no es 100 por ciento eficiente. Incluso en mitocondrias jóvenes y saludables, los electrones pueden escapar de este proceso y potencialmente formar radicales libres y otros oxidantes.

La teoría mitocondrial del envejecimiento establece que, a medida que envejecemos, nuestras mitocondrias se vuelven aún menos eficientes. Producen menos energía y más radicales libres y otros oxidantes. La reducción en la producción de energía compromete la función celular. Y el aumento de radicales libres y otros oxidantes causa más daño a las estructuras de la célula, incluidas las mitocondrias. Esto conduce a una espiral descendente viciosa de aún menor eficiencia mitocondrial y un aumento en la carga celular general de estrés oxidativo. Crea un ciclo de retroalimentación negativa dentro de las células, lo que puede llevar a fatiga persistente o aumentada, menor resistencia o aguante, recuperación más lenta después del ejercicio o el estrés, y la sensación de que los niveles de energía disminuyen más rápidamente con el tiempo.

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



Una vía principal de señalización celular involucrada en la salud mitocondrial es NRF1 (factor 1 relacionado con el factor nuclear eritroide 2). La vía de señalización celular NRF1 regula directa o indirectamente varios genes involucrados en la salud, el recambio y la biogénesis mitocondrial. Estos incluyen otra proteína llamada NRF1 (factor respiratorio nuclear 1). NRF1 activa la expresión de genes clave involucrados en el metabolismo, el crecimiento celular, la producción de energía y la transcripción y replicación del ADN mitocondrial.

Junto con NRF2, NRF1 también proporciona la función esencial de coordinar la expresión génica entre los genomas nuclear y mitocondrial. Una proteína adicional que ha demostrado apoyar la salud mitocondrial es PGC1-α (coactivador alfa 1 del receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas). PGC1-α es un coactivador transcripcional que regula genes involucrados en el metabolismo energético y se une a NRF1 para amplificar o potenciar su actividad. Es el regulador principal de la biogénesis y el recambio mitocondrial. (Figura 2)

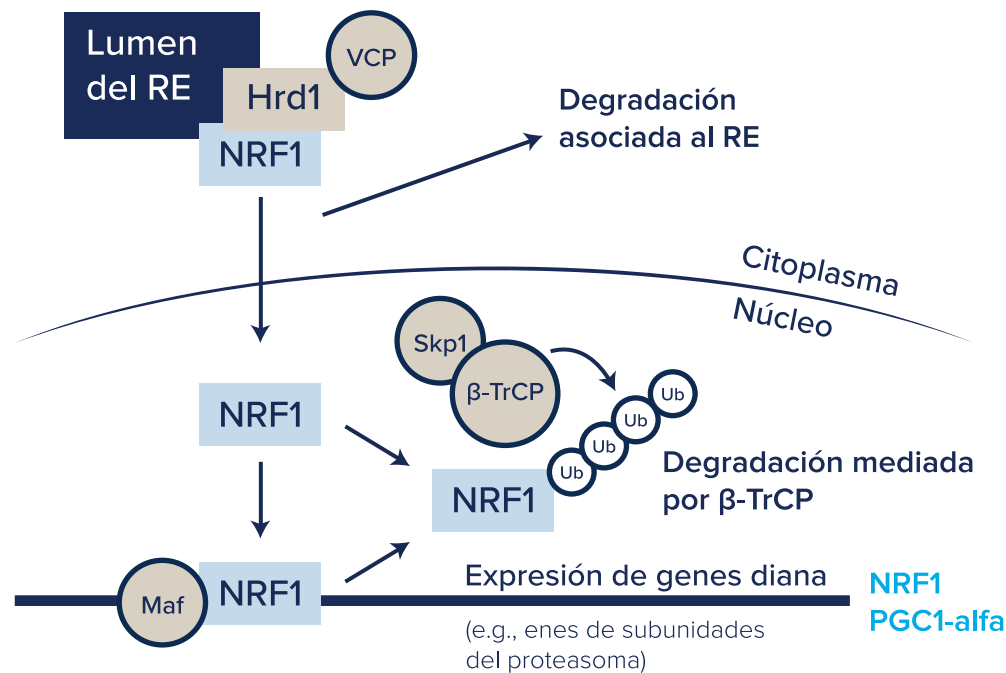


Figura 2. Activación de la vía de señalización celular NRF1.

### 3. TEORÍA DE LAS SIRTUINAS DEL ENVEJECIMIENTO Y LA VÍA NAD

Otra teoría principal del envejecimiento es la teoría de las sirtuinas del envejecimiento. Esta teoría surgió de estudios que examinaban los beneficios para la salud de la restricción calórica. La restricción calórica es el proceso mediante el cual la ingesta calórica se restringe hasta en un 40 a 60 por ciento. En numerosos modelos experimentales, los animales sometidos a dietas con restricción calórica experimentaron aumentos significativos en la esperanza de vida máxima. Se determinó que una familia de proteínas llamadas "sirtuinas" era absolutamente necesaria para experimentar el aumento en la esperanza de vida provocado por la restricción calórica.

A medida que los investigadores comenzaron a comprender la biología molecular de estas sirtuinas, encontraron que la actividad enzimática de la mayoría de ellas requería la molécula NAD<sup>+</sup> (nicotinamida adenina dinucleótido). NAD<sup>+</sup> es una molécula esencial para muchas reacciones bioquímicas, sobre todo el metabolismo de los alimentos para obtener energía.

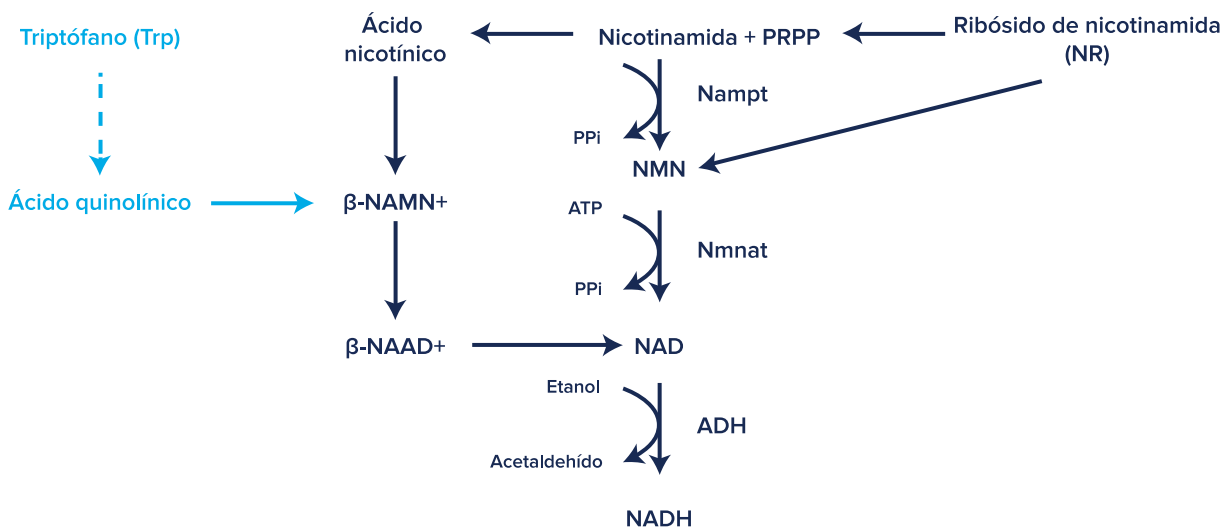
NAD<sup>+</sup> coexiste en las células en dos formas: 1) una molécula llamada NAD<sup>+</sup> y 2) una molécula llamada NADH (forma reducida de NAD<sup>+</sup>). Es la proporción entre estas dos formas de NAD (la llamada proporción NAD<sup>+</sup>/NADH) la que es importante para controlar varias otras vías de señalización celular.

En condiciones normales, la célula regula de manera muy estricta la proporción NAD<sup>+</sup>/NADH. Sin embargo, los cambios en el metabolismo pueden afectar esta proporción. A medida que la proporción NAD<sup>+</sup>/NADH cambia, los niveles de NAD<sup>+</sup> aumentan. Esto significa que hay proporcionalmente más NAD<sup>+</sup> circulando dentro de la célula que NADH. Esto es biológicamente importante porque se ha demostrado que un aumento en NAD<sup>+</sup> activa varias enzimas clave, incluidas las sirtuinas.

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

El NAD<sup>+</sup> celular se produce de dos maneras a través de la vía biosintética de NAD<sup>+</sup>: 1) la vía de novo y 2) la vía de rescate. En los seres humanos, la síntesis de novo de NAD<sup>+</sup> involucra el aminoácido triptófano. El ácido quinolínico se genera directamente a partir del triptófano. Luego, el ácido quinolínico se convierte en mononucleótido de ácido nicotínico (NAMN) mediante la transferencia de una fracción de fosforribosa. Luego se transfiere una fracción de adenilato para formar dinucleótido de adenina y ácido nicotínico (NAAD). Finalmente, la fracción de ácido nicotínico en NAAD se amida a nicotinamida (NAM), formando finalmente nicotinamida adenina dinucleótido (NAD).

La vía de rescate en los seres humanos implica el reciclaje de componentes individuales de NAD<sup>+</sup> que contienen una base de piridina. Los tres precursores vitamínicos utilizados en estas vías metabólicas de rescate son el ácido nicotínico (NA), la nicotinamida (NAM) y el ribósido de nicotinamida (NR). Estos compuestos pueden obtenerse de la dieta y/o producirse dentro de las células y mediante la digestión del NAD<sup>+</sup> celular, y se denominan vitamina B3 (niacina) o NR. Estos precursores pueden captar NAD<sup>+</sup> extracelular de su entorno, y tanto NAM como NR pueden absorberse desde el intestino. (Figura 3)



**Figura 3.** Las vías *de novo* y de rescate de la producción de NAD<sup>+</sup> y NADH.

A pesar de la presencia de la vía *de novo*, las reacciones de rescate son esenciales en los seres humanos y, por lo tanto, son más importantes. Esta alta demanda de NAD<sup>+</sup> resulta del consumo constante de NAD<sup>+</sup> en reacciones celulares, como las modificaciones postraduccionales, incluidas aquellas moduladas por las sirtuinas.

La producción y disponibilidad de NAD<sup>+</sup> disminuyen de forma natural con la edad debido a la reducción de la eficiencia en la vía de rescate y al aumento del consumo por respuestas celulares al estrés. Esta disminución puede afectar la producción de energía celular, la función mitocondrial y la actividad de enzimas dependientes de NAD<sup>+</sup>, como las sirtuinas. Como resultado, los procesos clave de mantenimiento celular, especialmente la autofagia, pueden volverse menos eficientes con el tiempo. La autofagia es responsable de eliminar proteínas dañadas y componentes celulares de la célula; por lo tanto, la reducción de los niveles de NAD<sup>+</sup> puede contribuir a la acumulación gradual de daño celular asociada con el envejecimiento. Apoyar niveles adecuados de NAD<sup>+</sup> puede ayudar a mantener la función metabólica y promover procesos saludables de renovación celular, incluida la autofagia.

## LA FAMILIA DE PRODUCTOS LIFEVANTAGE® PROTANDIM®

La familia de productos LifeVantage Protandim ha sido formulada específicamente para maximizar el apoyo a las funciones celulares naturales del cuerpo.\* Al usar nutrientes en las proporciones y cantidades exactas, las fórmulas se dirigen a vías específicas de señalización celular y bioquímicas relacionadas con el estrés oxidativo, la función mitocondrial óptima y la producción de sirtuinas, y las activan.\*

Protandim® Nrf2 Synergizer® fue diseñado específicamente con 5 extractos herbales específicos que han demostrado clínicamente activar la vía NRF2. En última instancia, cuando la proteína NRF2 se activa, ingresa al núcleo de la célula, activa genes protectores y lleva a las células a un estado elevado de preparación para reaccionar rápidamente ante agresiones que ingresan a la célula. En otras palabras, reactiva la vía NRF2 y la devuelve a su máximo potencial.\*

Protandim® NRF1 Synergizer® fue formulado específicamente para dirigirse a la salud mitocondrial. Cuando se activa, se ha demostrado que el factor de transcripción NRF1 elimina mitocondrias dañadas y, al mismo tiempo, promueve la biogénesis, que es el proceso de producir nuevas mitocondrias saludables dentro de la célula.\* Protandim NRF1 Synergizer fue formulado específicamente para 1) dirigirse a la proteína NRF1 y activarla, y aumentar la biogénesis mitocondrial, y 2) aportar nutrientes que apoyan las proteínas de mantenimiento y ayudan a impulsar la producción de ATP para apoyar la función mitocondrial general.\*

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



Protandim® NAD Synergizer® fue diseñado para dirigirse a las vías de señalización celular y aumentar la actividad de los genes involucrados en la vía de rescate de NAD<sup>+</sup>. Al activar estos genes, los niveles de NAD<sup>+</sup> aumentan y, en última instancia, estimulan la actividad de las sirtuinas, que desempeñan un papel clave en el apoyo de los procesos de salud celular, incluida la función mitocondrial y la autofagia.\*

Para estudiar la interacción y las sinergias entre los 3 productos Protandim, conocidos como Protandim Tri-Synergizer, se realizó una investigación para determinar el impacto de la combinación en la expresión génica de objetivos conocidos que se ven afectados por Protandim Nrf2 Synergizer (*NQO1*, *HMOX1*), Protandim NRF1 Synergizer (*NRF1*, *PGC1-α*) y Protandim NAD Synergizer (*NAMPT*, *NMNAT1*). También se investigaron la actividad global de las sirtuinas, la actividad de la autofagia y la proporción NAD<sup>+</sup>/NADH en células hepáticas HepG2.\*

## MÉTODO

### 1. Estudios de respuesta a la dosis/viabilidad

El ensayo luminiscente de viabilidad celular Cell-Titer-Glo (Promega) es un método para determinar el número de células viables en cultivo con base en la cuantificación del ATP presente, como indicador de células metabólicamente activas. Las células se sembraron a una densidad de 400 células/pozo (C2C12) o 700 células/pozo (HepG2) en placas de cultivo celular Cultur-Plate-384 de 384 pozos con paredes blancas (Perkin-Elmer, Waltham MA, Catálogo #6007680) y se expusieron al agente de prueba 18 horas después. Se permitió que las células crecieran en presencia del agente de prueba durante 24 horas para los estudios de respuesta a la dosis, momento en el cual se añadió el reactivo Cell-Titer-Glo (Promega Corp., Madison WI, Catálogo #G7571) en un volumen igual al medio de cultivo celular en la placa (50 µL + 50 µL), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La luminiscencia se leyó en un lector multimarcador Envision 2104 (Perkin-Elmer, Waltham WI). Se utilizó un filtro de 700 nm para reducir las señales de fondo mayores de 700 nM (la bioluminiscencia de la luciferasa es de 562 nm).

### 2. Expresión génica en células HepG2

Las células HepG2 se sembraron a 200 mil células por pozo. Después de 18 horas de incubación, las células fueron tratadas y, en los momentos apropiados, se lisaron con tampón de lisis. Los aislamientos de ARN se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante usando el kit PureLink Mini RNA (Thermo, N.º de cat. 12183025). El ARN se eluyó con agua libre de RNasa y se cuantificó mediante espectrofotómetro. Las reacciones de transcripción inversa se realizaron usando 1 µg de ARN con el sistema Vilo Superscript (Thermo, N.º de cat. 11756500). Se hizo una dilución de seis veces de cada ADNc en agua grado PCR, y 2 µL de esta solución se usaron posteriormente para qRT-PCR. Las reacciones se realizaron en un volumen total de 20 µL, compuesto de la siguiente manera: 2 µL de ADNc, 6 µL de agua grado PCR, 1 µL de cebador del gen de interés (marcado con FAM), 1 µL de cebador GAPDH (marcado con VIC), 10 µL de Taqman Fast Advanced Master Mix (Thermo Fisher Scientific, Catálogo #4444963). Las reacciones se ejecutaron en un instrumento Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific) bajo las siguientes condiciones: 50 °C – 2 minutos, 95 °C – 20 segundos, 40 ciclos de (95 °C – 3 segundos, 60 °C – 30 segundos). El ciclo umbral (CT) fue determinado por el software del instrumento. Las diferencias en el ciclo umbral entre el gen de interés y GAPDH (ΔCT) se determinaron para cada muestra y se usaron para determinar la inducción relativa de cada gen de interés, en comparación con controles no tratados.

Los cebadores de PCR fueron adquiridos de Thermo Fisher Scientific de la siguiente manera:

**PPARGC1A (PGC-1α):** Hs0106724 humano (marcado con FAM)  
**NRF-1:** Hs00602161 humano (marcado con FAM)  
**NQO1:** Hs01045993 humano (marcado con FAM)  
**HO1:** Hs011102250 humano (marcado con FAM)  
**NAMPT:** Hs00237184 humano (marcado con FAM)  
**NMNAT1:** Hs00276702 humano (marcado con FAM)  
**GAPDH control:** 4326315E humano (marcado con FAM)

### 3. Genes de interés:

#### a. Genes de la vía NRF2:

- i. *NQO1* (NAD(P)H deshidrogenasa quinona oxidoreductasa 1): este gen codifica una reductasa citoplasmática de 2 electrones. Esta proteína de unión a FAD forma homodímeros y reduce quinonas a hidroquinonas. Esto ayuda a detoxificar quinonas dañinas y reducir el estrés oxidativo.
- ii. *HMOX1* (hemo oxigenasa 1): este gen codifica la hemo oxigenasa, una enzima esencial en la degradación del hemo, un componente de la hemoglobina y otras proteínas que contienen hemo. El hemo libre puede ser tóxico y prooxidativo si se acumula en las células. Se considera una enzima citoprotectora y de respuesta al estrés.

#### b. Genes de la vía NRF1:

- i. *NRF1* (factor respiratorio nuclear 1): este gen codifica una proteína que se homodimeriza y funciona como un factor de transcripción que activa la expresión de algunos genes metabólicos clave que regulan el crecimiento celular y genes nucleares necesarios para la respiración, la biosíntesis del hemo y la transcripción y replicación del ADN mitocondrial.

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



ii. *PGC1-α* (coactivador alfa 1 del receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas): la proteína codificada por este gen es un coactivador transcripcional que regula los genes involucrados en el metabolismo energético. Esta proteína interactúa con PPAR-γ, lo que permite la interacción de esta proteína con múltiples factores de transcripción. Esta proteína puede interactuar con y regular las actividades de la proteína de unión al elemento de respuesta a cAMP (CREB) y los factores respiratorios nucleares (NRF). Esto es importante porque actúa como un regulador maestro de la producción de energía celular y coordina múltiples vías y factores de transcripción para apoyar la función mitocondrial, la eficiencia metabólica y la salud celular general.\*

c. Genes de la vía NAD:

- i. *NAMPT* (nicotinamida fosforribosiltransferasa): este gen codifica una proteína que cataliza la condensación de nicotinamida con 5-fosforribosil-1-pirofosfato para producir mononucleótido de nicotinamida (NMN), un paso en la biosíntesis de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD).
- ii. *NMNAT1* (nicotinamida nucleótido adenililtransferasa 1): este gen codifica otra enzima que cataliza un paso clave limitante de la velocidad (NMN a NAD+) en la biosíntesis de NAD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Expresión génica en células HepG2

a. Influencias de la vía NRF2:

La Figura 4 (A y B) ilustra el efecto de Protandim Nrf2 Synergizer y Protandim Tri-Synergizer en la expresión génica de *NQO1* y *HMOX1*. Durante un período de 24 horas, Protandim Nrf2 Synergizer aumentó la expresión génica de *NQO1* en un 40 %, mientras que Protandim Tri-Synergizer mostró un aumento del 73 %. Esto correspondió a un aumento sinérgico del 83 % en la expresión de *NQO1* en comparación con Protandim Nrf2 Synergizer solo. Se observó un patrón similar para la expresión génica de *HMOX1*. Protandim Nrf2 Synergizer aumentó la expresión de *HMOX1* en un 51 %, mientras que Protandim Tri-Synergizer produjo un aumento del 848 %. Esto representó un efecto sinérgico de 1,563 % en comparación con Protandim Nrf2 Synergizer solo.\*

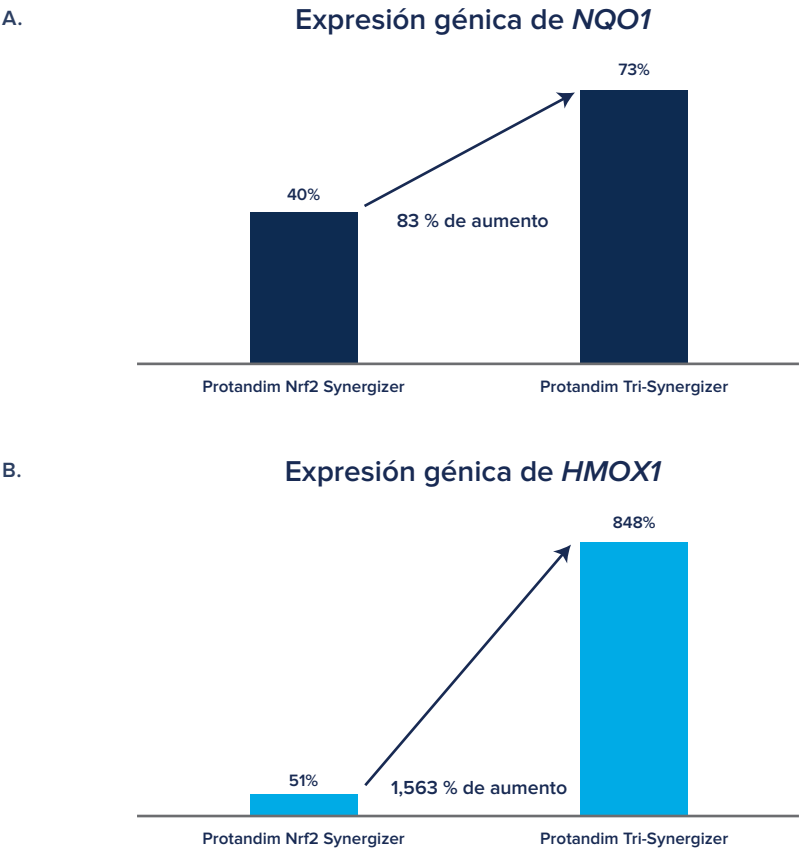
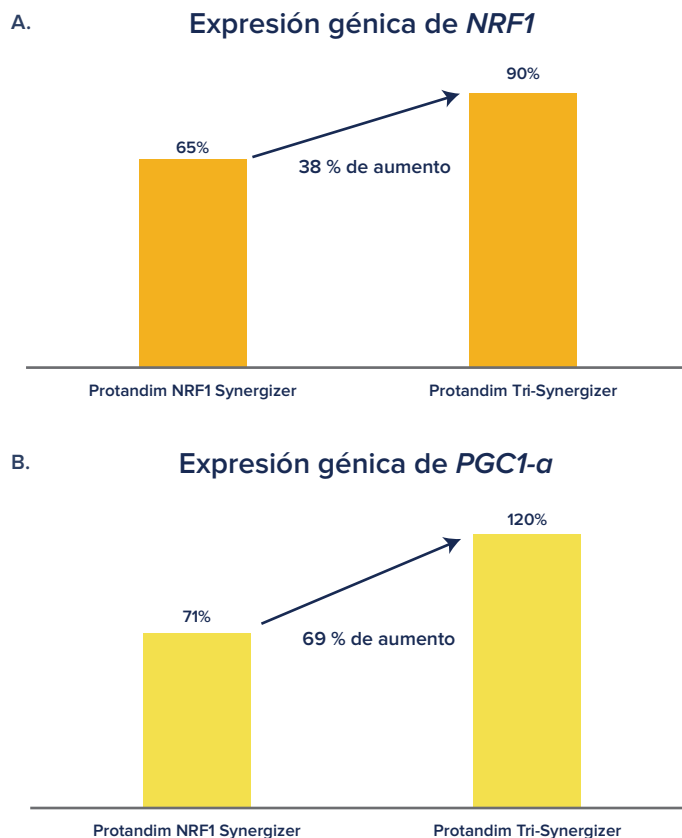


Figura 4A y 4B. Protandim Nrf2 Synergizer vs. Protandim Tri-Synergizer y sus efectos en los genes antioxidantes *NQO1* y *HMOX1* después de incubar células HepG2 con 10 mcg/mL durante 24 horas.

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

### b. Influencias de la vía NRF1:

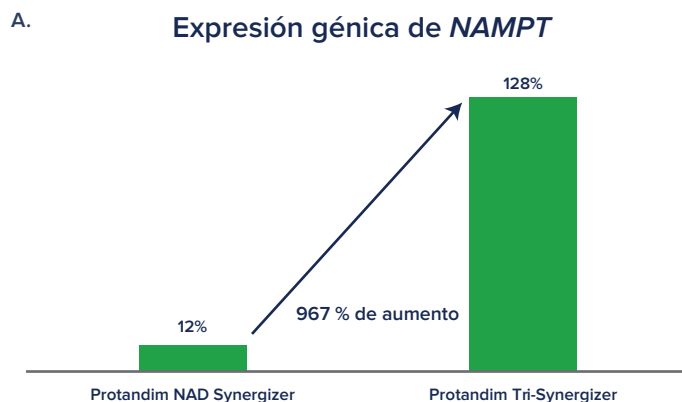
La Figura 5 (A y B) muestra los efectos de Protandim NRF1 Synergizer y Protandim Tri-Synergizer en la expresión génica de *NRF1* y *PGC1-α*. Durante un período de 24 horas, Protandim NRF1 Synergizer aumentó la expresión de *NRF1* en un 65 %, mientras que Protandim Tri-Synergizer mostró un aumento del 90 %. Esto representa un aumento sinérgico de la expresión de *NRF1* del 38 % en comparación con Protandim NRF1 Synergizer solo. Se observó un efecto similar para la expresión génica de *PGC1-α*. Protandim NRF1 Synergizer aumentó la expresión de *PGC1-α* en un 71 % y Protandim Tri-Synergizer en un 120 %. Esto corresponde a un efecto sinérgico del 69 % en comparación con Protandim NRF1 Synergizer solo.\*



**Figura 5A y 5B.** Protandim NRF1 Synergizer vs. Protandim Tri-Synergizer y su efecto en el gen del factor de transcripción *NRF1* y la expresión génica de *PGC1-α*, regulador maestro de la producción de energía celular, después de incubar células HepG2 con 10 mcg/mL durante 24 horas.

### c. Influencias de la vía NAD:

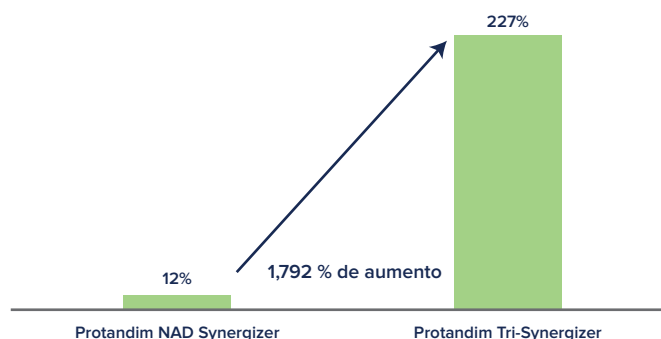
La Figura 6 (A y B) muestra el efecto de Protandim NAD Synergizer y Protandim Tri-Synergizer en la expresión génica de *NAMPT* y *NMNAT1*. Durante un período de 24 horas, Protandim NAD Synergizer mostró un aumento en la expresión génica de *NAMPT* del 12 %, mientras que Protandim Tri-Synergizer mostró un aumento del 128 %. Esto representa un aumento sinérgico de la expresión de *NAMPT* del 967 % en comparación con Protandim NAD Synergizer solo. Se observó un efecto similar para la expresión génica de *NMNAT1*. Protandim NAD Synergizer aumentó la expresión de *NMNAT1* en un 12 %, mientras que Protandim Tri-Synergizer la aumentó en un 227 %. Esto corresponde a un aumento sinérgico de 1,792 % en comparación con Protandim NAD Synergizer solo.\*



\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.



## B. Expresión génica de *NMNAT1*



**Figura 6A y 6B.** Protandim NAD Synergizer vs. Protandim Tri-Synergizer y su efecto en el gen de la enzima *NAMPT* y el gen de la enzima clave limitante de la velocidad *NMNAT1* después de incubar células HepG2 con 10 mcg/mL durante 24 horas.

## Conclusión

Las interacciones y posibles sinergias entre Protandim Nrf2 Synergizer, Protandim NRF1 Synergizer y Protandim NAD Synergizer se investigaron tanto individualmente como en combinación, denominada Protandim Tri-Synergizer. La expresión génica de objetivos conocidos afectados por cada vía —*NQO1* y *HMOX1* para *NRF2*, *NRF1* y *PGC1-alpha* para *NRF1*, y *NAMPT* y *NMNAT1* para *NAD*— se analizó en células hepáticas HepG2.

Los genes regulados mediante la activación del elemento de respuesta antioxidante (ARE) por la vía *NRF2*, específicamente *NQO1* y *HMOX1*, demostraron aumentos sinérgicos significativos de 83 % y 1,563 %, respectivamente, cuando fueron tratados con Protandim Tri-Synergizer en comparación con Protandim Nrf2 Synergizer solo. Estos resultados son inesperados, ya que ni Protandim NRF1 Synergizer ni Protandim NAD Synergizer fueron diseñados específicamente para dirigirse a la región promotora ARE. Aunque ciertos componentes, como el wasabi presente en Protandim NAD Synergizer y el ácido alfa lipoico presente en Protandim NRF1 Synergizer, pueden influir indirectamente en esta vía mediante la modulación del equilibrio redox mitocondrial, este efecto secundario no explica completamente la magnitud de los aumentos observados.\*

Se observó un patrón similar dentro de la vía *NRF1*. Las expresiones de *NRF1* y *PGC1-a* aumentaron un 38 % y un 69 %, respectivamente, con Protandim Tri-Synergizer en comparación con Protandim NRF1 Synergizer solo. *NRF1* es un factor de transcripción que regula proteínas mitocondriales involucradas en la cadena respiratoria, mientras que *PGC1-a* actúa como el coactivador maestro que mejora la actividad de *NRF1*, apoyando la biogénesis mitocondrial. La adición de Protandim Nrf2 Synergizer y Protandim NAD Synergizer por sí solos no explica completamente el aumento sinérgico observado en estos niveles de expresión génica.\*

También se observaron hallazgos consistentes en la vía *NAD*. Protandim NAD Synergizer se dirige a genes que codifican enzimas clave en la vía de rescate de *NAD*, incluidos *NAMPT* y *NMNAT1*. Cuando se combinaron como Protandim Tri-Synergizer, la expresión de *NAMPT* y *NMNAT1* aumentó en un 967 % y 1,792 %, respectivamente, en comparación con Protandim NAD Synergizer solo, lo que respalda aún más un efecto sinérgico entre vías.\*

En general, estos resultados demuestran una sólida justificación mecánica detrás de la combinación de Protandim Nrf2 Synergizer, Protandim NRF1 Synergizer y Protandim NAD Synergizer. Estas vías están biológicamente interconectadas e influyen colectivamente en las defensas celulares, la función mitocondrial y el metabolismo energético. Dirigirse a ellas simultáneamente puede proporcionar un enfoque más integral, de cuerpo completo y a nivel de sistemas, apoyando las defensas antioxidantes, mejorando la capacidad mitocondrial y promoviendo la producción y reparación de energía celular, en lugar de enfocarse en una sola vía de forma aislada. Esto puede ayudar a apoyar la energía celular, la recuperación, la resiliencia frente al deterioro celular relacionado con la edad y la protección contra el estrés oxidativo.\*

\* Estas declaraciones no han sido evaluadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos. Este producto no está destinado a diagnosticar, tratar, curar ni prevenir ninguna enfermedad.

