

Ayudando a los fibroblastos a recuperarse del ciclo de estrés constante para regresar a su función óptima.

ESTUDIO DE TRUESCIENCE® LIQUID COLLAGEN Y PROTANDIM® NRF2 SYNERGIZER®

Investigador Principal:

LifeVantage Corp.

Objetivo:

evaluar los beneficios de TrueScience® Liquid Collagen solo y en combinación con Protandim® Nrf2 Synergizer® sobre la apariencia de la piel y la ayuda a los fibroblastos a recuperarse de un ciclo de estrés constante y su retorno a una función más óptima.

Patrocinador:

LifeVantage Corp.

Referencia:

LifeVantage Corp, Lehi, Utah, USA

Introducción

Protandim® Nrf2 Synergizer® es un complemento dietético que contiene una mezcla de patente sinérgica de extractos estandarizados que incluye cardo mariano (*Silybum marianum*), ashwagandha (*Withania somnifera*), cúrcuma (*Curcuma longa*), Bacopa monnieri, y té verde (*Camelia sinensis*). Su mecanismo de acción es a través de la activación del camino del Nrf2, permitiendo que se active la región Antioxidante-Respuesta-Elemento (ARE) del sitio de unión en el núcleo del ADN, con el resultado del aumento de enzimas antioxidantes como la hemo-oxigenasa-1, superóxido dismutasa, catalasa, glutatión, etc. Se han publicado cerca de 30 estudios de revisión de pares que mencionan al Protandim® Nrf2 Synergizer® y sus efectos positivos y benéficos sobre la respuesta al estrés oxidativo en el cuerpo.

TrueScience® Liquid Collagen es una bebida lista para tomar que contiene 10 tipos diferentes de péptidos de colágeno de pescado hidrolizados junto con granos de quinoa roja y una mezcla de moras azules y tangerina. La quinoa roja y la mezcla de moras azules/tangerina fueron evaluadas in vitro por sus capacidades para incrementar la secreción de colágeno con resultados excelentes.

La quinoa roja también mostró previamente que activa y regula al alza los genes de la piel, al igual que incrementa significativamente la activación del gen COLLAGEN, que codifica una proteína que es una parte clave de la producción de colágeno. La evaluación de la eficacia de la quinoa roja también se realizó en personas y mostró resultado importantes en la humectación, iluminación y textura de la piel, mejorando la apariencia de las patas de gallo y la densidad del colágeno en la piel.

Se distribuyó Liquid Collagen a los participantes para una prueba de 30 días de autorreporte de antes y después con fotografías que muestran mejoras claras en la apariencia de la piel. También se informaron beneficios inesperados sobre la salud de las articulaciones, el bienestar general, la calidad de vida, etc.

Dados los atractivos beneficios de ambos productos, se realizó un análisis de expresión génica para determinar si existía sinergia entre los dos productos.

a. Fibroblastos

Seleccionar el tipo de célula correcto fue un primer paso clave para desarrollar un protocolo para el estudio de expresión génica. Después de deliberación e investigación, se eligieron los fibroblastos.

Los fibroblastos se encuentran en todo el cuerpo y su papel principal es proporcionar soporte a los tejidos, pero esto se ve diferente en diferentes ubicaciones en el cuerpo. El papel de los fibroblastos, específicamente en la piel, es producir y organizar componentes de la piel que actúan como la plataforma o soporte de la piel a través de las proteínas, incluyendo colágenos, elastina y laminina.

Los fibroblastos no solo producen colágeno y otras proteínas que constituyen la matriz extracelular de la piel, también realizan la misma función para otros órganos, como los intestinos, el bazo, el cerebro, pulmones, hígado, riñones y vasos sanguíneos. Proporcionan el soporte para las estructuras capilares. Los fibroblastos cardíacos se encuentran en las paredes del corazón, ayudando con los latidos. Los músculos contienen tres capas de fibroblastos que soportan los músculos esqueléticos. También son importantes para los tendones y los huesos, ya que las proteínas de colágeno producidas por los fibroblastos son un componente crítico para cada uno. Como resultado, los fibroblastos tienen una versatilidad funcional para permitir la investigación de un amplio conjunto de efectos posibles cuando se combinan el Liquid Collagen y Protandim® Nrf2 Synergizer®. Se usó la secuenciación de ARN para investigar las sinergias potenciales.

b. Qué es la secuenciación de ARN?

La secuenciación de ARN (también conocida como RNA-Seq) es un enfoque genómico para la detección y análisis cuantitativo de las moléculas de ARN mensajero en una muestra biológica y es útil para estudiar las respuestas celulares. Muestra que los genes se encienden (regulan al alza o expresan) o apagan (regulan a la baja o se suprimen) en diferentes tiempos. Esencialmente, la secuenciación de ARN nos permite observar el genoma completo o un conjunto de material genético de la célula fibroblasto y ver la expresión génica y, al final, qué genes celulares y vías clave son reguladas a la alza o a la baja.

Métodos

Expresión génica global por secuenciación de ARN

En el estudio, probamos Liquid Collagen solo, Protandim® Nrf2 Synergizer® solo y la combinación de los dos productos. El estudio se llevó a cabo en tres partes:

- a) estudio para encontrar la dosis
- b) un estudio de expresión génica para verificar el tiempo y concentración de la dosis
- c) un estudio de expresión génica global usando secuenciación de ARN

Después de determinar la dosis apropiada y los tiempos de evaluación, los fibroblastos fueron tratados con diferentes combinaciones de productos. El ARN fue extraído de las células y secuenciado. Solo se presentan la metodología y resultados de la secuenciación de ARN.

Metodología de secuenciación de ARN

Los fibroblastos humanos normales se plantaron en un recipiente de 10 cm y se permitió que se unieran durante la noche con una adherencia del 75 % antes de ser tratados con Liquid Collagen, Protandim® Nrf2 Synergizer® o una combinación de ambos productos. Las células se lisaron y se aisló el ARN en el punto de tiempo de 8 horas usando un sistema Zymo Quick RNA MiniaPrep. El control de calidad de ARN, la construcción de biblioteca, secuenciación y recorte se llevaron a cabo de la siguiente forma:

- Se evaluó la integridad de las muestras de ARN usando un bioanalizador Agilent 2100.
- El ARN mensajero (ARNm) se purificó de un ARN completo usando microesferas magnéticas con el oligo(dT) unido.
- Después de la fragmentación, la primera tira de ADNc se sintetizó usando primers de hexámero al azar seguidos de una segunda hebra de síntesis de ADNc.
- La biblioteca quedó lista después de la reparación de extremos, transfección, ligadura de adaptadores, selección de tamaño, amplificación y purificación.
- A continuación se describe el flujo de trabajo para la construcción de la biblioteca: ARNm > fragmentación > transcripción reversa > síntesis de segunda hebra de ADNc > reparación de extremos y transfección > ligadura de adaptadores > selección de tamaño > amplificación de PCR..
- La biblioteca fue revisada con Qubit y PCR en tiempo real para la cuantificación y un bioanalizador para la detección del tamaño de distribución. Todas las muestras pasaron el control de calidad.
- Las muestras fueron secuenciadas en un instrumento Illumina NovaSeq para lecturas de extremo emparejado de 150 bp. Se obtuvieron de 40-50 millones de lecturas para cada muestra.
- Se filtraron todas las lecturas de secuenciación mediante la eliminación de adaptadores: las lecturas que contienen N>10 % (N representa una base que no se puede determinar) y las lecturas con bases de calidad baja (puntuación Q ≤ 5) (removidas cuando las bases de calidad baja representan más del 50 % de las bases).
Adaptador 5':
5'AGATCGGAAGAGCGTCGTGTAGGGAAAGAGTGTAGATCTCGGTGGTCGCCGTATCATT-3'
Adaptador 3':
5'GATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCACGGATGACTATCTCGTATGCCGTCTTCTGCTTG-3'
- Aproximadamente el 97 % de las muestras tienen lecturas limpias que pasaron el filtro.

Los archivos FASTQ leídos de la secuenciación filtrada fueron procesados usando Galaxy (useGalaxy.org). Los archivos FASTQ fueron alineados con HISAT2 (Galaxy versión 2.2.1) usando b38 hg38 canónica humana femenina (la línea celular era femenina). HISAT2 se llevo a cabo con las opciones "Unstranded" y "Paired end" seleccionadas. El archivo SAM resultante producido con HISAT2 se utilizó para generar tablas de cuentas para cada muestra con el programa FeatureCounts (Galaxy versión 2.0.3). Las tablas de cuentas fueron introducidas en Limma Voom para desarrollar una expresión génica diferencial (relativa al control DMSO) (Limma, Galaxy versión 3.50.1). Las configuraciones de Limma incluían la configuración de filtración génica para requerir que al menos dos muestras tuvieran al menos una cuenta por millón. La expresión diferencial fue clasificada por el valor P ajustado y se realizó un análisis de enriquecimiento génico (clasificación ordenada por valor NES (Puntuación de Enriquecimiento Normalizado, por sus siglas en inglés)). Se usaron en el análisis los conjuntos de genes C2 y C5 de <https://www.gsea-msigdb.org/gsea/msigdb/human/collections.jsp#C2>.

Resultados y Discusión

1. Estudio de expresión génica

a. Vías

Se influenciaron un total de 13,708 genes en los fibroblastos, los cuales estaban distribuidos en más de 18,671 vías celulares. Las tablas 1 a 3 representan las vías más importantes que tuvieron un impacto significativo por el Protandim® Nrf2 Synergizer®, Liquid Collagen y la combinación de los dos productos. Primero, vimos la influencia del Protandim® Nrf2 Synergizer® solo en los fibroblastos. Por una investigación previa en las células hepáticas, endoteliales, renales y musculares, sabemos que el Protandim® Nrf2 Synergizer® influye en el camino del Nrf2 permitiendo que se active la región de elemento de respuesta antioxidante (ARE, por sus siglas en inglés) del sitio de unión en el núcleo del ADN, con el resultado del aumento de enzimas antioxidantes como la hemo-oxigenasa-1, superóxido dismutasa, catalasa, glutatión, etc.

Los resultados para los datos en los fibroblastos con el Protandim® Nrf2 Synergizer® solo fueron los esperados. Las vías más importantes influenciadas por Protandim® Nrf2 Synergizer® fueron las vías de modulación de Nrf2 (**Tabla 1**). De las 18,671 vías celulares afectadas en los fibroblastos, 894 (4.8%) se vieron afectados significativamente por el Protandim® Nrf2 Synergizer® y la mayoría de vías principales impactadas fueron vías asociadas con Nrf2.

Tabla 1. Vías moduladas por Protandim® Nrf2 Synergizer®.

Vías
WP_NRF2_PATHWAY
REACTOME_NUCLEAR_EVENTS_MEDIATED_BY_NFE2L2
REACTOME_KEAP1_NFE2L2_PATHWAY
WP_NRF2ARE_REGULATION

- **NRF2_PATHWAY:** está fue la vía influida más importante. Es la vía regulatoria de Nrf2 general que incluye la transcripción de los factores llamados receptores nucleares. Se activa bajo condiciones de estrés oxidativo y activa subsecuentemente muchos genes asociados. En esta vía, fueron influenciados un total de 97 genes.
- **NUCLEAR_EVENTS_MEDIATED_BY_NFE2L2_Pathway:** estas son las vías que se activan directamente en el núcleo con NFE2L2 (factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar al 2, por sus siglas en inglés), que es el nombre molecular para Nrf2. Influyó en 77 genes.
- **KEAP1_NFE2L2_PATHWAY:** es una vía moduladora importante que mantiene en un estado activo o inactivo a la molécula Nrf2 en el citoplasma. Influyó en 98 genes.
- **WP_NRF2ARE_REGULATION:** se influyeron 22 genes en esta vía. Están involucrados en la interacción ARE (elemento de respuesta antioxidante) con Nrf2 en la región promotora del ADN.

Esta fue una confirmación más de lo que hemos visto estudio tras estudio y es consistente con nuestro conocimiento de la función del mecanismo de activación del Protandim® Nrf2 Synergizer® en la activación de enzimas antioxidantes.

Con Liquid Collagen solo, los resultados también fueron los esperados, siendo el mayor impacto sobre vías que tienen una funcionalidad estructural y de estabilización de los fibroblastos. Vimos las vías asociadas con la producción de hebras de colágeno individuales (influyeron 46 genes), el ensamblaje de hebras en fibras (influyeron en 17 genes), la vinculación cruzada de las fibrilas de colágeno (influyeron 14 genes), al igual que la organización en la célula de estos componentes (influyeron 230 genes).

De las 18,671 vías celulares afectadas en total en los fibroblastos, 1006 vías (5.4 %) fueron afectadas significativamente por Liquid Collagen. Es interesante resaltar, muchas vías innatas del sistema inmunitario que tienen un impacto sobre la respuesta al estrés celular fueron influidas significativamente también (**Tabla 2**).

Tabla 2. Vías moduladas por TrueScience® Liquid Collagen.

Vías
GOCC_COLLAGEN_TRIMER
GOBP_EXTERNAL_ENCAPSULATING_STRUCTURE_ORGANIZATION
REACTOME_CROSSLINKING_OF_COLLAGEN_FIBRILS
GOCC_COMPLEX_OF_COLLAGEN_TRIMERS
REACTOME_CYTOKINE_SIGNALING_IN_IMMUNE_SYSTEM
GOBP_CYTOKINE_MEDIATED_SIGNALING_PATHWAY
KEGG_NOD_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
WP_TOLLLIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY

- REACTOME_CYTOKINE_SIGNALING_IN_IMMUNE_SYSTEM: vías de citocina y su señalización en el sistema inmunitario. Influyó 522 genes.
- GOBP_CYTOKINE_MEDIATED_SIGNALING_PATHWAY: vías que involucran las señales moleculares iniciadas por la unión de la citocina a los receptores de la superficie de una célula. Influyó en 294 genes..
- KEGG_NOD_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY: esta vía inicia las cascadas de señalización que eventualmente conducen a la regulación a la alza del factor de transcripción NF-κB y sus citocinas resultantes. Influyó en 47 genes..
- WP_TOLLLIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY: otra vía regulada por receptores tipo Toll que juegan un papel crucial en el sistema inmunitario innato y la respuesta al estrés celular. Influyó en 67 genes.

Además de confirmar las vías en cada producto influyó de forma individual, también investigamos la sinergia de añadir Protandim® Nrf2 Synergizer® a Liquid Collagen.La combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen mostró un efecto positivo inesperado sobre la activación de varias vías involucradas en el sistema inmunitario innato y la respuesta al estrés celular. También se influyeron significativamente otras vías únicas, involucradas en varios procesos y replicación de ciclos celulares (**Tabla 3**). De las 18,671 vías celulares afectadas en total en los fibroblastos, 1172 vías (6.3 %) fueron afectadas significativamente por la combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen.



Tabla 3. Vías moduladas por la combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y TrueScience® Liquid Collagen.

Vías
WP_NRF2_PATHWAY REACTOME_NUCLEAR_EVENTS_MEDIATED_BY_NFE2L2 REACTOME_KEAP1_NFE2L2_PATHWAY WP_NRF2ARE_REGULATION
REACTOME_CYTOKINE_SIGNALING_IN_IMMUNE_SYSTEM GOBP_CYTOKINE_MEDIATED_SIGNALING_PATHWAY KEGG_NOD_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY WP_TOLLLIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY
GOBP_IMMUNE_RESPONSE REACTOME_INNATE_IMMUNE_SYSTEM GOBP_REGULATION_OF_IMMUNE_SYSTEM_PROCESS REACTOME_SIGNALING_BY_INTERLEUKINS

- NRF2_PATHWAY: está fue la vía influida más importante. Es la vía reguladora de Nrf2 general que incluye la transcripción de os factores llamados receptores nucleares. Se activa bajo condiciones de estrés oxidativo y activa subsecuentemente muchos genes asociados. LA combinación influyó en 97 genes en esta vía..
- NUCLEAR_EVENTS_MEDIATED_BY_NFE2L2_Pathway: Estas son las vías que se activan directamente en el núcleo con NFE2L2 (factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar al 2, por sus siglas en inglés), que es el nombre molecular para Nrf2. La combinación influyó 77 genes.
- KEAP1_NFE2L2_Pathway: es una vía moduladora importante que mantiene en un estado activo o inactivo a la molécula Nrf2 en el citoplasma. La combinación influyó en 98 genes.
- WP_NRF2ARE_REGULATION: los genes en esta vía están involucrados en la interacción ARE (elemento de respuesta antioxidante) con Nrf2 en la región promotora del ADN. La combinación influyó en 22 genes.
- REACTOME_CYTOKINE_SIGNALING_IN_IMMUNE_SYSTEM: vías de citocina y su señalización en el sistema inmunitario, con impacto sobre la respuesta al estrés celular. La combinación influyó en 522 genes.
- GOBP_CYTOKINE_MEDIATED_SIGNALING_PATHWAY: vías que involucran las señales moleculares iniciadas por la unión de la citocina a los receptores de la superficie de una célula. La combinación influyó en 294 genes.
- KEGG_NOD_LIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY: esta vía inicia las cascadas de señalización que eventualmente conducen a la regulación a la alza del factor de transcripción NF-κB y sus citocinas resultantes. La combinación influyó en 47 genes.
- WP_TOLLLIKE_RECEPTOR_SIGNALING_PATHWAY: otra vía regulada por receptores tipo Toll que juegan un papel crucial en el sistema inmunitario innato y la respuesta al estrés celular. La combinación influyó en 67 genes.



- GOBP_IMMUNE_RESPONSE: vías que regulan cualquier proceso del sistema inmunitario en respuesta a insultos. La combinación influyó en 941 genes.
- REACTOME_INNATE_IMMUNE_SYSTEM: vías involucradas en el sistema inmunitario innato La combinación influyó en 717 genes.
- GOBP_REGULATION_OF_IMMUNE_SYSTEM_PROCESS: vías y procesos que modulan la respuesta inmune. La combinación influyó en 909 genes.
- REACTOME_SIGNALING_BY_INTERLEUKINS: vías de señalización para interleucinas. La combinación influyó en 336 genes.

a. *Expresión génica individual*

Con base en los emocionantes y sorprendentes resultados de vías mencionados antes, observamos los genes individuales involucrados en esas vías, especialmente para la combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y TrueScience® Liquid Collagen.

Como el cuerpo humano está constantemente bajo estrés y otros insultos, observamos el efecto de la combinación de los dos productos principalmente sobre el sistema inmunitario innato y la respuesta a estrés celular.

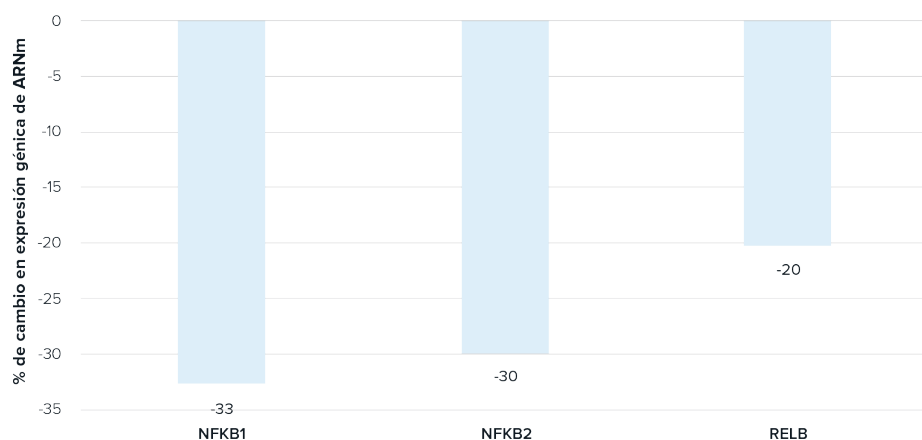
El sistema inmunitario humano está constituido por dos sistemas::

1. El sistema inmunitario innato o no específico (inmediato)
2. El sistema inmunitario adquirido (largo plazo)

El sistema inmunitario innato está compuesto de varias vías. Cada una es controlada por su propio complejo de cambio maestro o complejo clave maestro , dependiendo del insulto. Uno de los complejos de cambio maestros principales es el complejo NF-κB (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas). Este complejo NF-κB se puede encontrar en casi todos los tipos de células, incluso en los fibroblastos y está involucrado en la respuesta celular al estrés y otros insultos. Perteneciente a los factores de transcripción primarios de acción rápida porque normalmente está inactivo y no requiere síntesis de proteínas para activarse. Por eso es capaz de ser una de las primeras proteínas en responder a un insulto. Hay un delgado equilibrio en la activación y desactivación de este complejo, así que las respuestas de estrés celular no se sobreestimen. El complejo NF-κB consiste en cinco proteínas: RelA (p65), RelB, Rel, p50 y p52, que son codificadas por los genes RELA, RELB, REL, NFKB1 y NFKB2. Sus productos finales son unas pequeñas proteínas de señalización especializadas llamadas citocinas. El complejo NF-κB se puede hacer inactivo añadiendo la proteína IκBα (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B inhibitorias, alfa) en el citoplasma, lo que bloquea la capacidad de NF-κB para translocar dentro del núcleo y unirse al ADN en los motivos de unión. El resultado es que la célula no puede producir citocinas. La proteína IκBα es codificada por el gen NFKBIA o NFKBIB. Una mirada más cercana a los genes (RELA, RELB, REL, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NFKBIB) involucrados en la activación/creación y desactivación del complejo NF-κB mostró que Protandim® Nrf2 Synergizer® no tuvo una influencia importante por sí solo. Liquid Collagen mostró algo de actividad sobre los genes RELB, NFKB2 y NFKBIA, que usamos como base y control. Cuando se añadió Protandim® Nrf2 Synergizer® a Liquid Collagen, se observó un efecto sinérgico interesante sobre los fibroblastos.

Se observó una regulación a la baja importante de NFKB1, NFKB2 y RELB al usar Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen juntos en comparación con la base (**Figura 1**). Los tres genes fueron regulados a la baja significativamente un 33 %, 30 % y 20 % respectivamente. Esto sugiere que hay menos componentes proteínicos disponibles para crear el complejo de cambio maestro NF-κB y, como resultado, una respuesta al estrés celular disminuida.

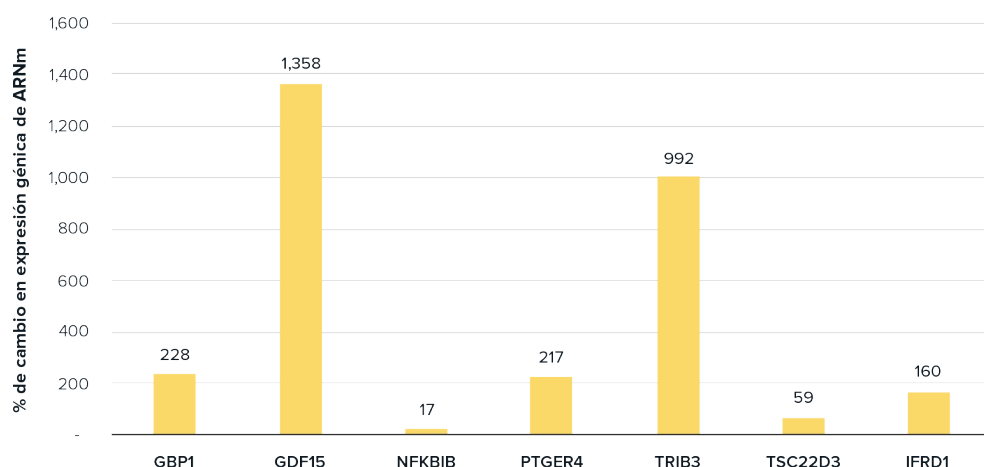
Figura 1. % de cambio en la expresión de ARNm en genes que codifican algunas de las proteínas en el complejo de cambio maestro NF-κB según la comparación de Liquid Collagen solo y añadiendo Protandim® Nrf2 Synergizer®. Los genes que codifican las proteínas en este complejo (RELB, NFKB1, NFKB2) son regulados a la baja, lo que sugiere menos proteínas disponibles para hacer NF-κB.



a. Expresión génica individual

Como se mencionó antes, el complejo NF-κB puede hacerse inactivo al añadir la proteína IκBα (codificada por genes como NFKBIA o NFKBIB) en el citoplasma, lo cual bloquea la capacidad de NF-κB de translocar al núcleo y activar cerca de 150 genes. Cuando se usan juntos Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen, hay un incremento del 17 % en la expresión génica de ARNm NFKBIB mRNA (**Figura 2**). Esto indica que hay más componentes disponibles para crear la proteína IκBα para interferir con el ensamblaje de las proteínas NF-κB acomplejándose con ellas y atrapándolas en el citoplasma de las células. Al mismo tiempo, hay muchos genes adicionales regulados a la alza que interfieren con el ensamblaje del complejo NF-κB o que son reguladores de transcripción que interfieren con la actividad de NF-κB. Algunos de estos son los genes GBP1, GDF15, PTGER4, TRIB3, TSC22D3 y IFRD1. Una observación interesante fue que tanto Protandim® Nrf2 Synergizer® como Liquid Collagen regularon a la alza estos genes en algún grado. Pero con la combinación de ambos productos, esta regulación a la alza se hizo mayor y estadísticamente significativa, mostrando la sinergia entre Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen. La cantidad de % de cambio en la expresión de ARNm de los genes TRIB3 y GDF15 mostraron un cambio de 1358% y 992%, respectivamente.

Figura 2. % de cambio en la expresión génica de ARNm de genes que codifican para proteínas que interfieren con ensamblaje del complejo NF-κB complex o que son reguladores de transcripción que interfieren con la actividad de NF-κB (NFKBIB, TRIB3, IFRD1, TSC22D3) en comparación con Liquid Collagen solo y añadiendo Protandim® Nrf2 Synergizer®. Otros genes también codifican para proteínas que restringen la proliferación celular en vías de estrés celular/inmunitario innato o codifican para proteínas citocinas benéficas (GBP1, PTGER4, GDF15).



a. Expresión génica individual

Cuando se activa el complejo NF-κB, También se producen proteínas en el flujo, como las citocinas para equilibrar la respuesta al estrés celular, proteínas ayudantes que permiten a las células proliferar o pegarse entre ellas o proteínas que permiten a las células secretar moduladores celulares no deseados.

Algunas citocinas son benéficas, como las codificadas por los genes GBP1, PTGER4 y GDF15 (**Figura 2**), mientras que otras son no deseadas, como la interleucina-1β (gen IL1B), interleucina-6 (IL6), interleucina-8 (CXCL8) y los genes CXCL1 y NLRP10 . Otras proteínas no deseadas son codificadas por los genes de factor de necrosis tumoral alfa (TNFAIP2 y TNFAIP3), los genes moduladores inmunitarios innatos BIRC3 y PTX3 y un gen de adherencia ICAM1.

El Protandim® Nrf2 Synergizer® por sí solo no tuvo influencia en ningún cambio significativo en la expresión de los genes de citocina mencionados en el párrafo anterior. Liquid Collagen tuvo un efecto mínimo, que tratamos como base. Nuevamente, al usar juntos Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen, vimos una regulación a la baja importante de las 10 expresiones génicas de ARNm que codifican para proteínas que actúan como moduladores celulares no deseados, incluyendo BIRC3 un 80 %, CXCL1 un 91 %, CXCL8 un 38 %, ICAM1 un 69 %, IL1B un 97 %, IL6 un 88 %, NLRP10 un 94 %, PTX3 un 70 %, TNFAIP2 un 41 % y TNFAIP3 un 61% (**Figura 3**).

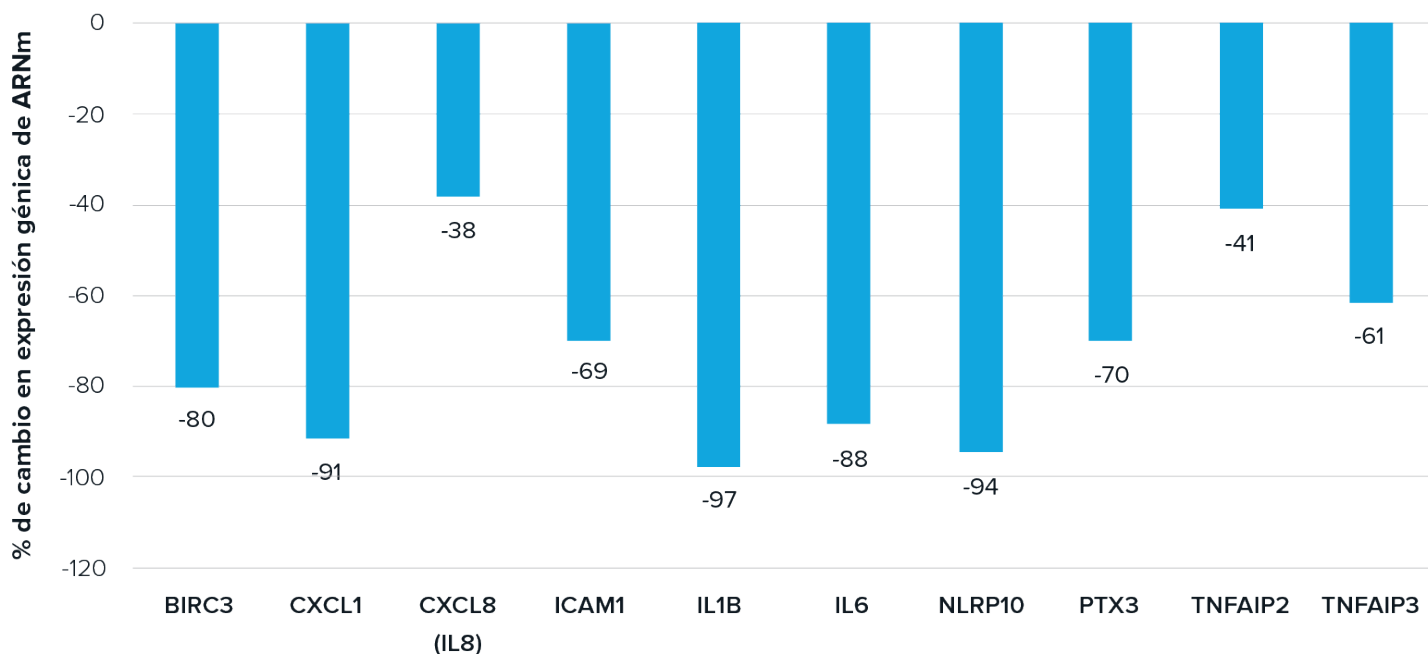


Figura 3. % de cambio en la expresión de ARNm en genes que codifican para proteínas no deseadas en la respuesta inmune innata en comparación de Liquid Collagen solo y añadiendo Protandim® Nrf2 Synergizer®. Todos los genes son regulados a la baja, sugiriendo la creación de un ambiente más equilibrado para que haya respuestas inmunes saludables.

Estos resultados son impresionantes al compararlos con los productos individuales y muestran una verdadera sinergia en las respuestas génicas entre Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen. Un equilibrio saludable es esencial para mantener el cuerpo en armonía para crear un ambiente más benéfico para que haya respuestas al estrés, incluso cuando los fibroblastos son bombardeados constantemente con insultos.

Conclusión

Los fibroblastos son una parte integral de los órganos estructurales, como los intestinos, bazo, cerebro, piel, articulaciones, pulmones, hígado, riñones y vasos sanguíneos. Proporcionan el sostén para el sistema vascular y los músculos esqueléticos, huesos y tendones. Los fibroblastos también juegan un papel central en la respuesta inmune del cuerpo al estrés.

Sabemos que Nrf2 Synergizer, una mezcla de cinco extractos botánicos, desencadena la respuesta interna del cuerpo al estrés oxidativo activando varios genes antioxidantes de ARNm, como la hemo-oxigenasa-1 (HMOX1), la superóxido dismutasa (SOD2), la catalasa (CAT) y muchos más. Alrededor de 30 estudios de revisión de pares han mostrado los beneficios de este producto en varios aspectos de la vida y la salud general.

Liquid Collagen contiene una mezcla de péptidos de colágeno y varias plantas únicas que han mostrado activar la producción de colágeno, al igual que los genes involucrados en la función de barrera en la piel y regulando a la baja el gen marcador inmune innato MMP9. Del estudio de consumo, los testimonios subjetivos dicen que Liquid Collagen también tuvo efectos benéficos sobre la apariencia de la piel, la salud de las articulaciones y el bienestar en general.

Debido a su importancia en todo el cuerpo, elegimos los fibroblastos para investigar el efecto de Protandim® Nrf2 Synergizer®, Liquid Collagen y la combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen sobre la expresión génica total de la célula.

Del estudio de expresión génica, vimos que 13,195 genes distribuidos en 18,671 vías celulares fueron influidos por los fibroblastos. Cerca del 21 % (2786 genes) fueron regulados a la alza o a la baja significativamente por Protandim® Nrf2 Synergizer®, Liquid Collagen o la combinación de los dos.

De los 2786 genes medidos, la combinación de los dos productos influyó de forma sinérgica a 2439 genes ($p < 0.05$), de los cuales 418 genes (17 %) fueron regulados a la alza (195 genes) o a la baja (223 genes) significativamente.

El Protandim® Nrf2 Synergizer® afectó principalmente al Nrf2/vías antioxidantes de los fibroblastos (**Tabla 1**), según para lo que fue diseñado. Mientras que Liquid Collagen afectó principalmente a las vías moduladoras inmunes y las vías asociadas con la producción de hebras de colágeno, la vinculación cruzada y la organización de esos componentes (**Tabla 2**). Sin embargo, los efectos sobre las vías moduladoras inmunes no eran tan grandes como los vistos con la combinación de ambos productos.

Los resultados importantes se vieron con la combinación de Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen. Juntos, tienen un efecto sinérgico sobre activar/desactivar las vías de respuesta al estrés celular. Estas vías de respuesta son parte de la respuesta inmune innata. Vimos estos cambios a lo largo de la activación o desactivación sinérgica de genes clave asociados con dichas vías.

Protandim® Nrf2 Synergizer® por sí solo no influyó en las vías de respuesta al estrés ni en el sistema inmunitario innato. Solo se mostró el efecto sinérgico sobre estas vías al añadir Liquid Collagen.

Es un descubrimiento emocionante que muestra resultados increíbles al combinar Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen. Usar los dos productos juntos puede dar no solo beneficios en la piel, sino también tener un impacto sobre la salud del tejido conectivo de todo el cuerpo. Estoy podria mantener varias funciones y sistemas en todo el cuerpo, como la salud de las articulaciones, la función cardiovascular, de los intestinos y el bienestar general.

Su impacto sinérgico sobre los fibroblastos demuestra que el Protandim® Nrf2 Synergizer® y Liquid Collagen podrían tener un impacto significativo sobre su salud, en cómo se siente en el interior y en lo que se puede ver en el exterior.