Dr Gary Samuelson PhD

ดร. แกรี่ ซามูเอลสัน ปริญญาเอก

AACL 2013

การประยุกต์ใช้ชีวเคมีรีดอกซ์
ในด้านสุขภาพและความแก่ชรา

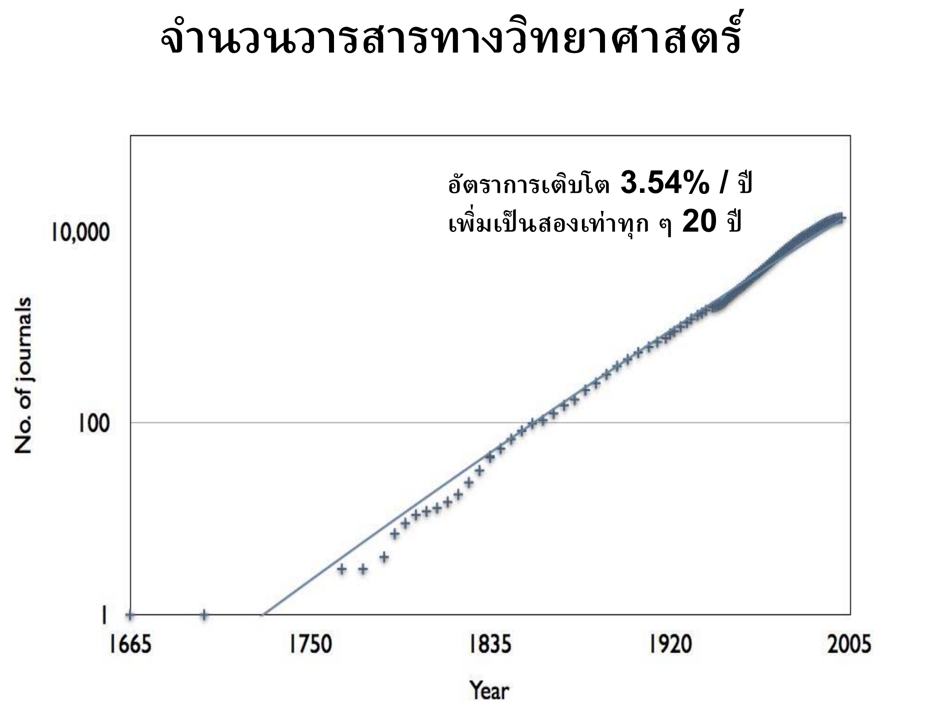
Gary L. Samuelson, Ph.D.

Atomic/Medical Physics

Independent Science Advisor/Investigator representing a variety of commercial interests

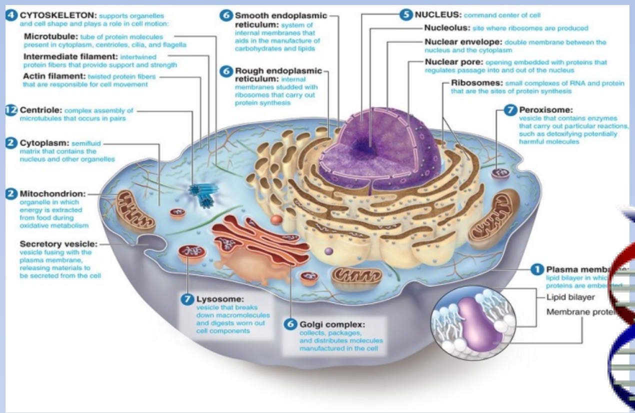
การเดินทางสู่ชีวเคมีรีดอกซ์

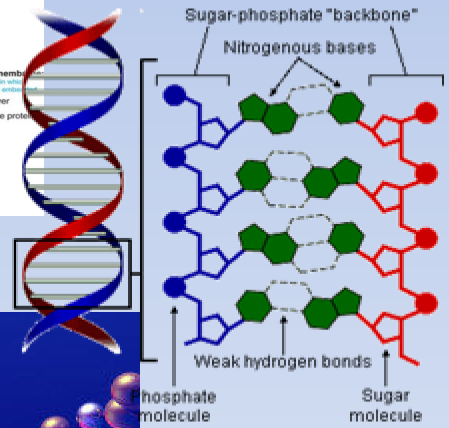
- 1665-1780 (10 Generations)
  - Philosophical Transactions of Royal Society of London
- 1900 (5 Generations)
  - 250 วารสาร 7000 บทความ
  - Einstein, Max Plank
- 2013
  - 23,000 วารสาร, 1.4 ล้านบทความ
  - Representing over 10 million months of science published per month

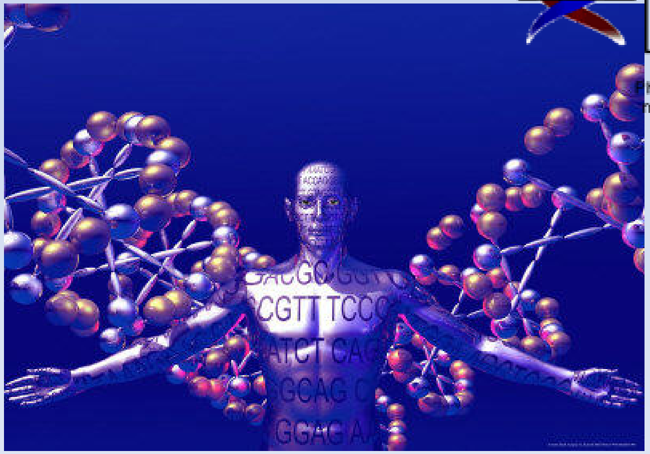


การเดินทางสู่ชีวเคมีรีดอกซ์

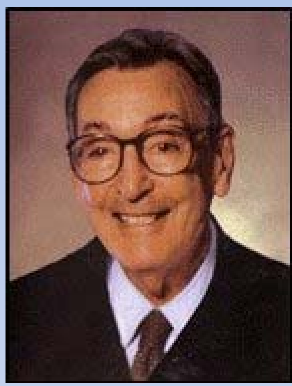
- 1940 (3 Generations)
  - โครงสร้างเซลล์พื้นฐาน
  - ฟังก์ชันของไมโตคอนเดรีย
- 1970 (2 Generations)
  - โครงสร้างดีเอ็นเอ
  - การสังเคราะห์โปรตีน
- 2000
  - ลำดับจีโนมของมนุษย์
  - Stem Cells , Epigenetics
- 2013 
  - Redox Biochemistry
  - Redox Signaling (การส่งสัญญาณรีดอกซ์)



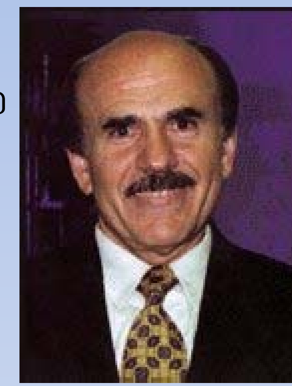


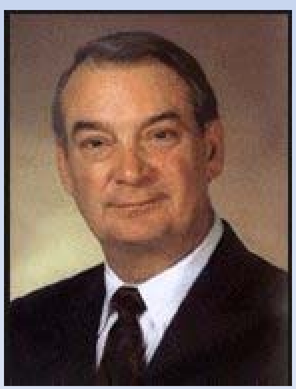


การเดินทางสู่ชีวเคมีรีดอกซ์



ที่ประชุมโนเบลที่สถาบัน Karolinska ในสตอกโฮล์ม ประเทศสวีเดน ได้มอบรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ประจำปี 1998 ให้กับ **Robert F Furchgott, Louis J Ignarro** และ **Ferid Murad** สำหรับการค้นพบเกี่ยวกับ "ไนตริกออกไซด์เป็นโมเลกุลส่งสัญญาณในระบบหลอดเลือดหัวใจ"

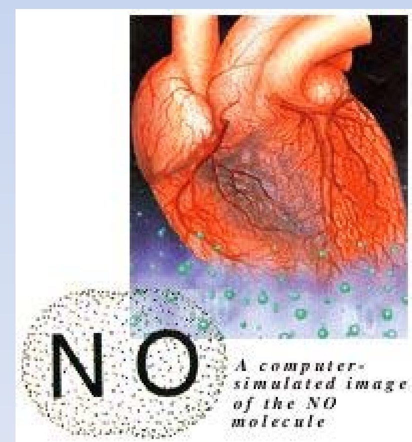


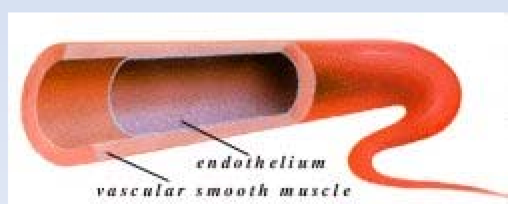


Robert F Furchgott, เกิดเมื่อปี พ.ศ. 2459
แผนกเภสัชวิทยา SUNY Health Science Center
New York

Louis J Ignarro, เกิดเมื่อปี พ.ศ. 2484
แผนกเภสัชวิทยาโมเลกุลและการแพทย์
UCLA School of Medicine
ลอสแองเจลิส

Ferid Murad, เกิดเมื่อปี พ.ศ. 2479
ภาควิชาชีววิทยาเชิงบูรณาการเภสัชวิทยาและสรีรวิทยา
โรงเรียนแพทย์มหาวิทยาลัยเท็กซัสฮูสตัน



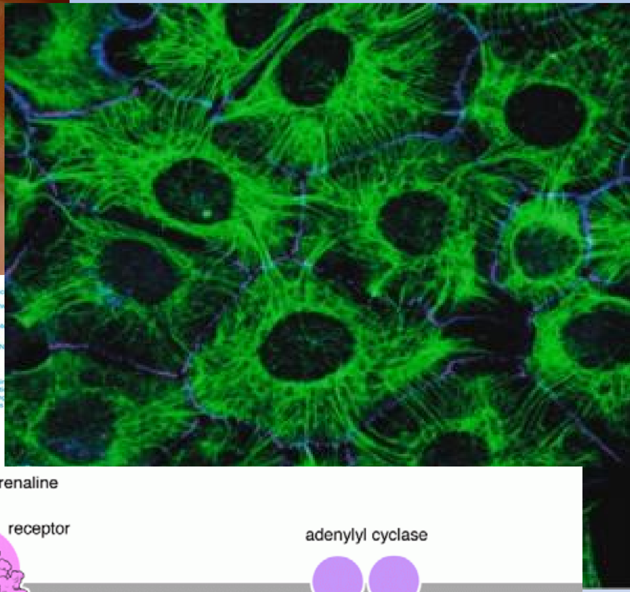


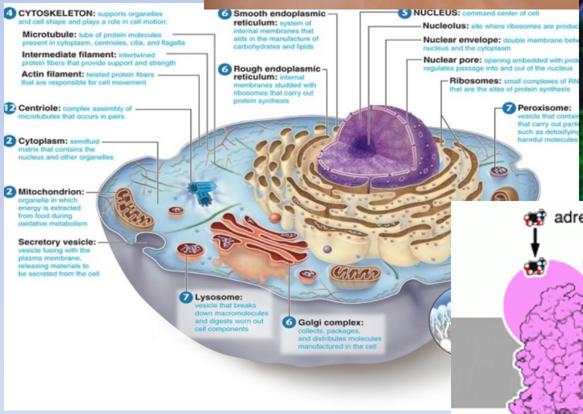
การเดินทางสู่ชีวเคมีรีดอกซ์

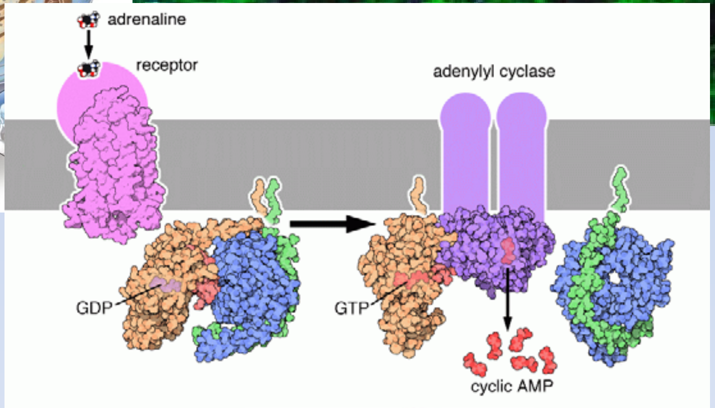
Royal Swedish Academy of Sciences
มอบรางวัลโนเบลสาขาเคมีประจำปี 2555 ให้กับ
Robert J. Lefkowitz
Howard Hughes Medical Institute และ Duke University Medical Center, Durham, NC, USA และ
Brian K. Kobilka
Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA
"สำหรับการศึกษาเรื่อง G-protein–coupled receptors"

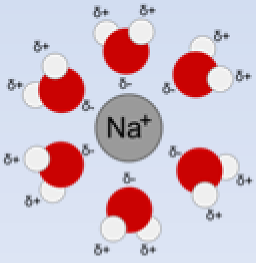
การส่งสัญญาณรีดอกซ์: ความลับของชีวิต

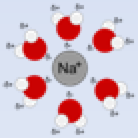
- โครงสร้างชีวิตที่หลากหลายและซับซ้อน
  - เนื้อเยื่อที่เชื่อมต่อกัน
- เนื้อเยื่อ
  - เซลล์ที่เชื่อมต่อกัน
- เซลล์
  - โมเลกุลที่เชื่อมต่อกัน
- โมเลกุลที่ซับซ้อน
  - atomic fields ที่เชื่อมต่อกัน
- น้ำ
  - เชื่อมต่อ fields ทั้งหมด

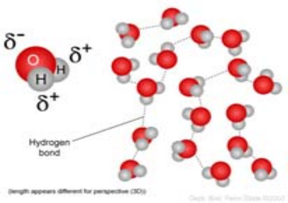


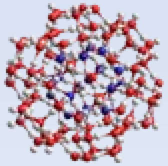






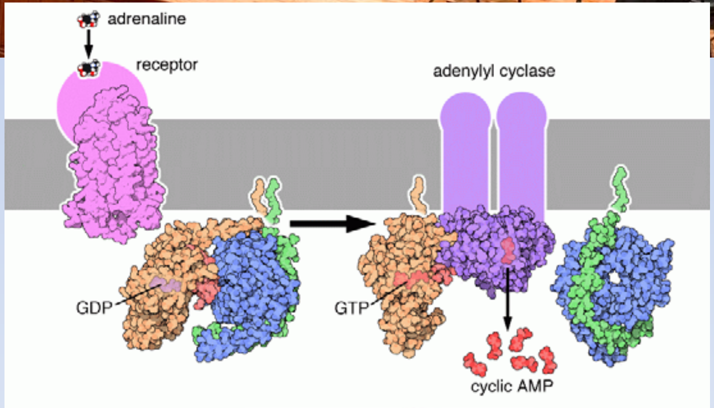


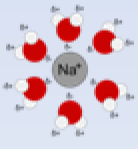


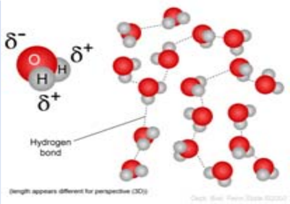


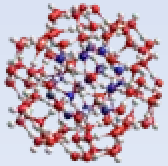
การส่งสัญญาณรีดอกซ์: ความลับของชีวิต

- ระบบของชีวิตที่มีการทำงานที่กลมกลืนเสมือนวง Orchestra
  - โดยมีผู้เล่นระดับโมเลกุลที่เชื่อมต่อกัน
  - ใคร / อะไร ที่เป็น Conductor
  - มีการเชื่อมต่อระหว่างกันผ่านทางมหาสมุทรของของเหลวที่สำคัญต่อชีวิต

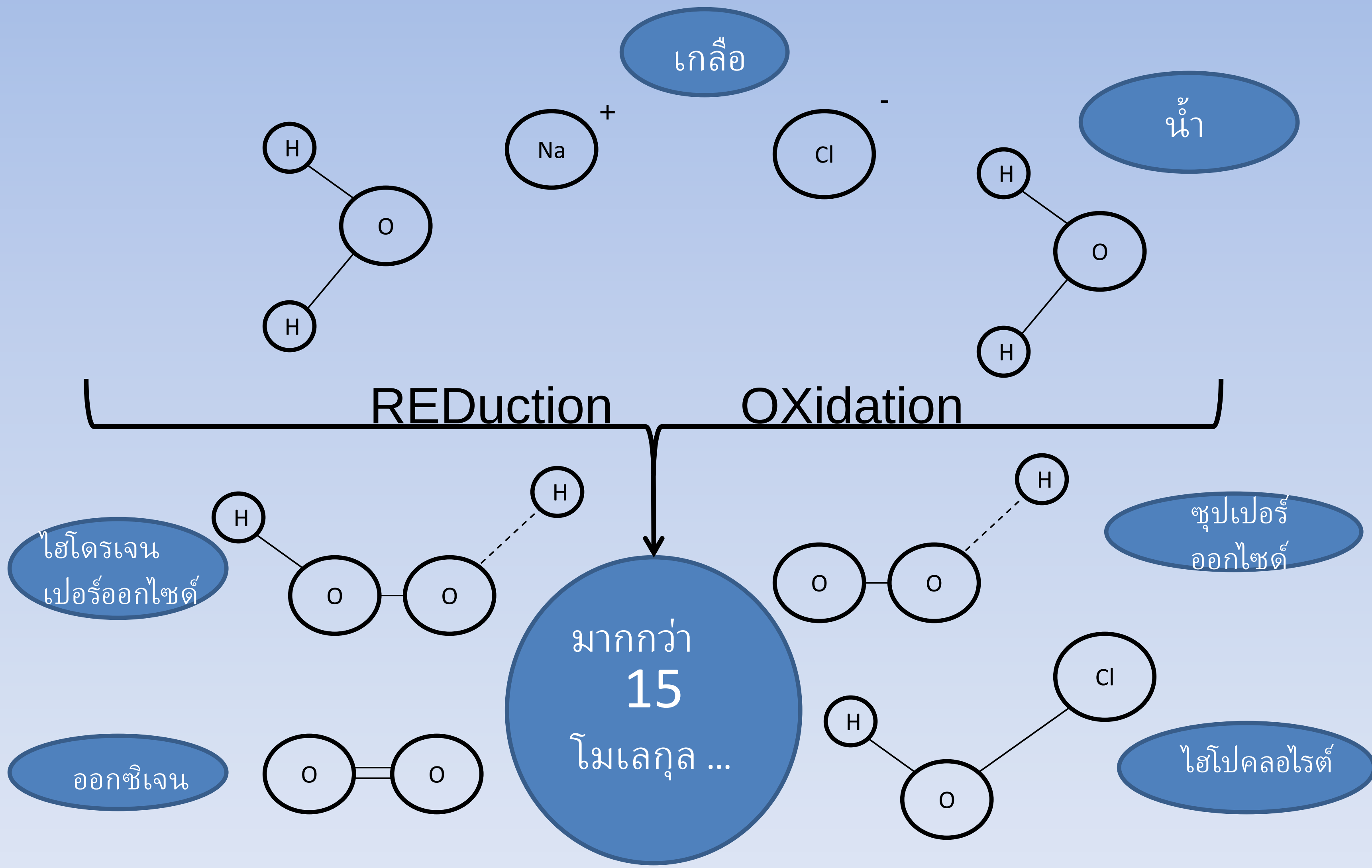








Redox Signaling: โมเลกุลในมหาสมุทรแห่งชีวิต

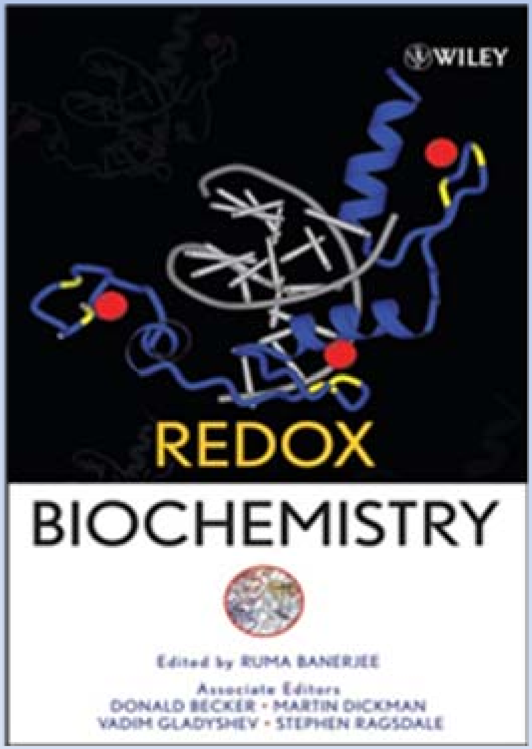


Dr. Britton Chance เป็นผู้วางรากฐานในด้านการส่งสัญญาณรีดอกซ์

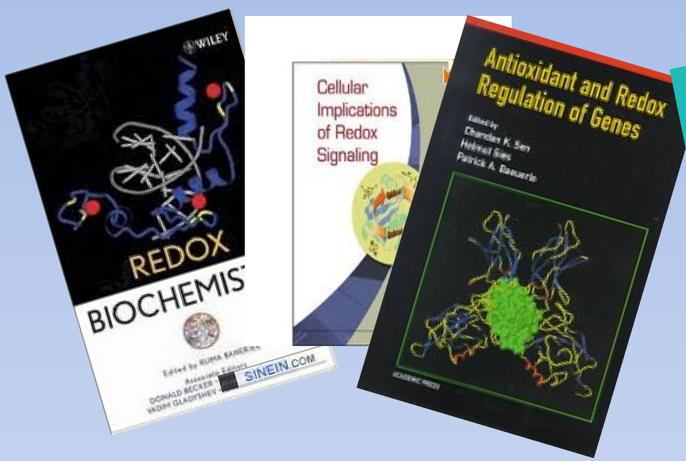
- 1986-1996 ช่วยวางรากฐานพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ว่า สารออกซิแดนท์เป็นโมเลกุลสัญญาณที่เป็นประโยชน์

Redox Biochemistry, แก้ไขโดย Ruma Banerjee เป็นข้อมูลอ้างอิงที่ยอดเยี่ยม

Dr. Ruma Banerjee



Redox Signaling เป็นสาขาวิทยาศาสตร์ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างสูง



Books
- Redox Biochem
  - Ruma Banerjee
- Antioxidant and Redox Regulation of Genes
  - Chandan K Sen
- Redox Signaling in Biology and Medicine
  - Claus Jacob
- Redox-Mediated Signal Transduction: Methods and Protocols
  - John T Hancock
- Redox Protemics
  - Nick Lane
- And More

Journals
- Antiox & Redox Signaling
- Physiol Genomics
- Am. J. of Physiology
- The J. of Immunology
- PNAS
- Arteriosclerosis, Thromb. Vasc.
- Hundreds More

Conferences
- The Gordon Research *Conference* on Thiol-based *Redox* Regulation and *Signaling*
- 4th International Conference on Oxidative/Nitrosative Stress and Disease
- International Symposium on the Pathophysiology of Reactive Oxygen and Nitrogen Species
- Many more

การส่งสัญญาณรีดอกซ์: โมเลกุลใน Vital Fluids

	Redox Signaling Molecule	Chemical Symbol	Major Sources	Lifetime (half-life) in Cells : Tissues
ROS	Superoxide Free Radical	O_2*-	Mitochondria, NADPH Complexes	15 millionths of a second : 10 thousandths of a second
	Hydroperoxyl Free Radical	HO_2*	Mitochondria, NADPH Complexes	60 millionths of a second : 30 thousandths of a second
	Hydroxyl Free Radical	HO*-	Fenton Reaction, H_2O_2	1 millionth of a second
	Hydrogen Peroxide	H_2O_2	O_2*-	20 thousanths of a second : 10 seconds
RNS	Nitric Oxide Free Radical	NO*	NOS, NADPH	0.5 seconds : 4 seconds
ROS	Hypochlorite ion	OCl-	MPO	1 – 10 minutes
	Hypochlorous acid	HOCl	MPO, acid	30 seconds
RSS	Hydrogen Sulfide	H_2S	CysBSynthase, Sulfides	?
ROS	Singlet Oxygen	$^1O_2$	O_2*-, Mitochondria	?
	Carbon Monoxide	CO	Environment, HO	minutes

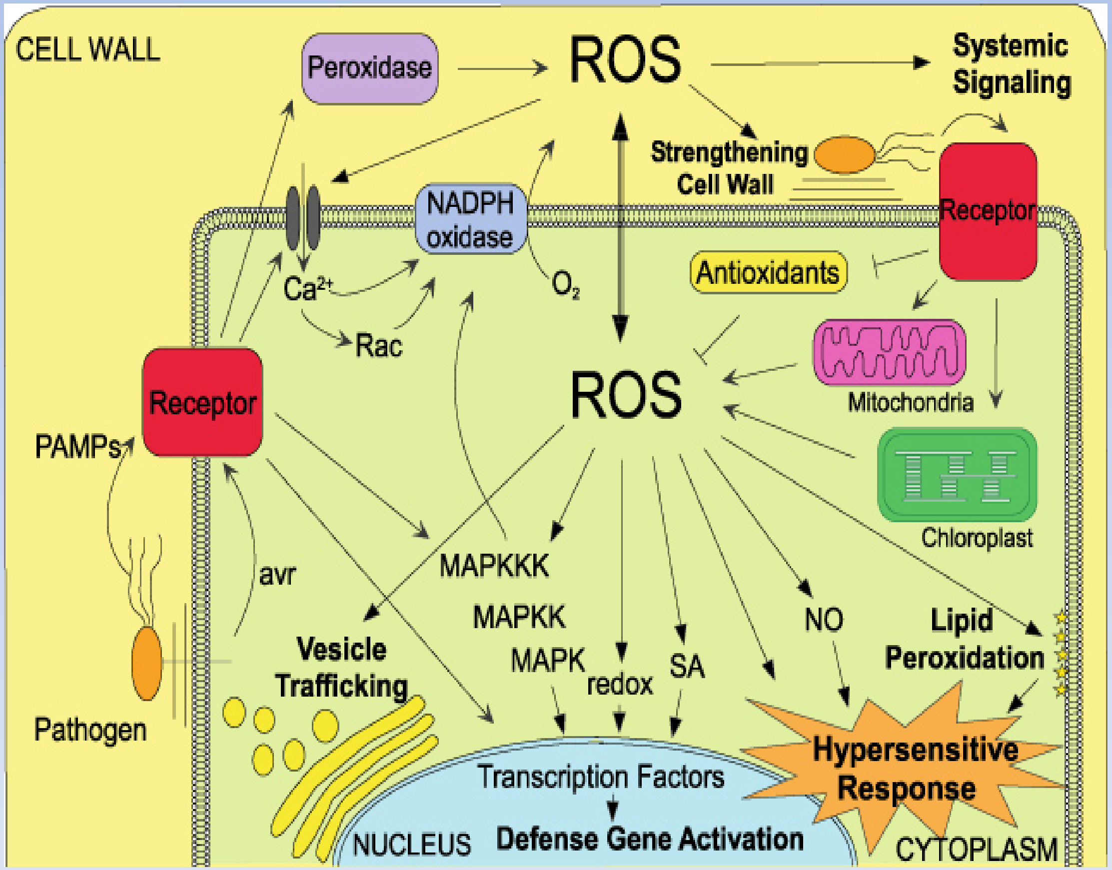
ROS - Reactive Oxygen Species

RNS - Reactive Nitrogen Species

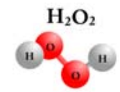
RSS – Reactive Sulfur Species

การส่งสัญญาณรีดอกซ์: การควบคุมเส้นทางผ่าน Vital Fluids

- Redox Signaling Pathways ในเซลล์พืช
  - การโจมตีจากเชื้อโรคช่วยกระตุ้นการผลิต ROS
  - ROS เปิดใช้งานมาตรการป้องกัน



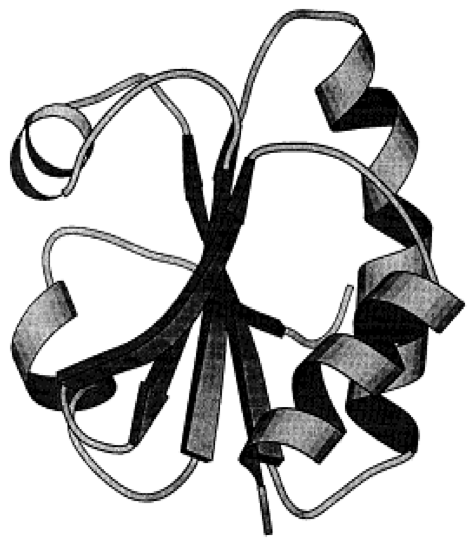
การส่งสัญญาณรีดอกซ์: โมเลกุลใน Vital Fluids ออกซิไดซ์ "Semaphore molecules" ที่ควบคุมเส้นทาง



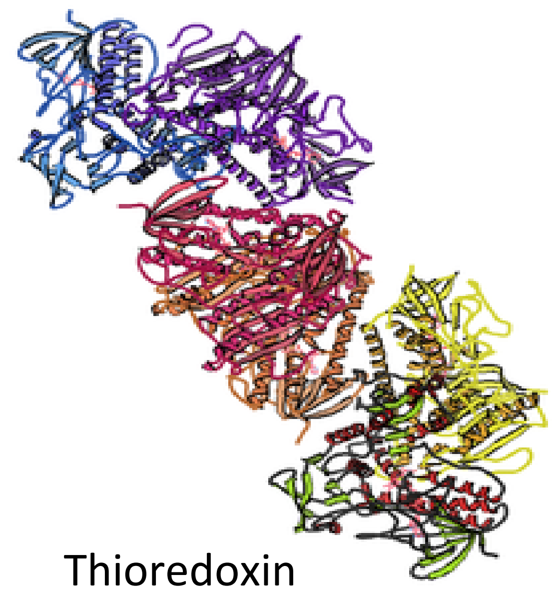
ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ (ROS)

- H_2O_2 ปลดปล่อยพันธะ Disulfide

- ทำให้เกิด Conformational Change

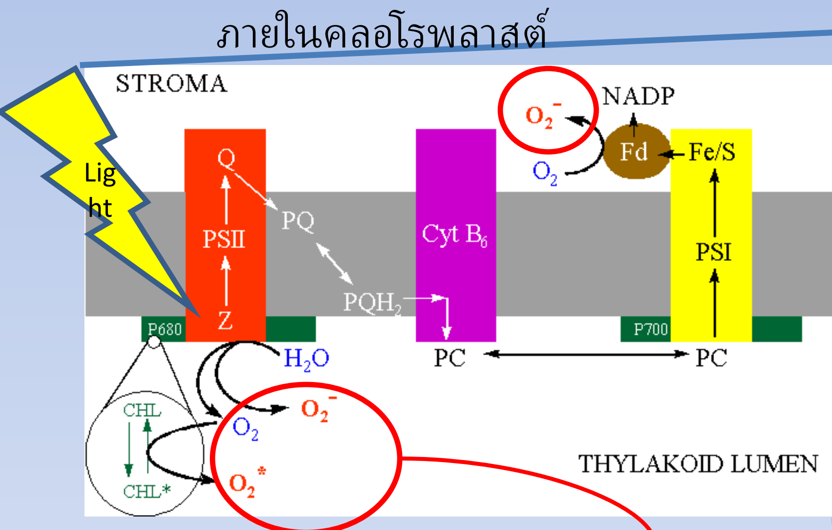


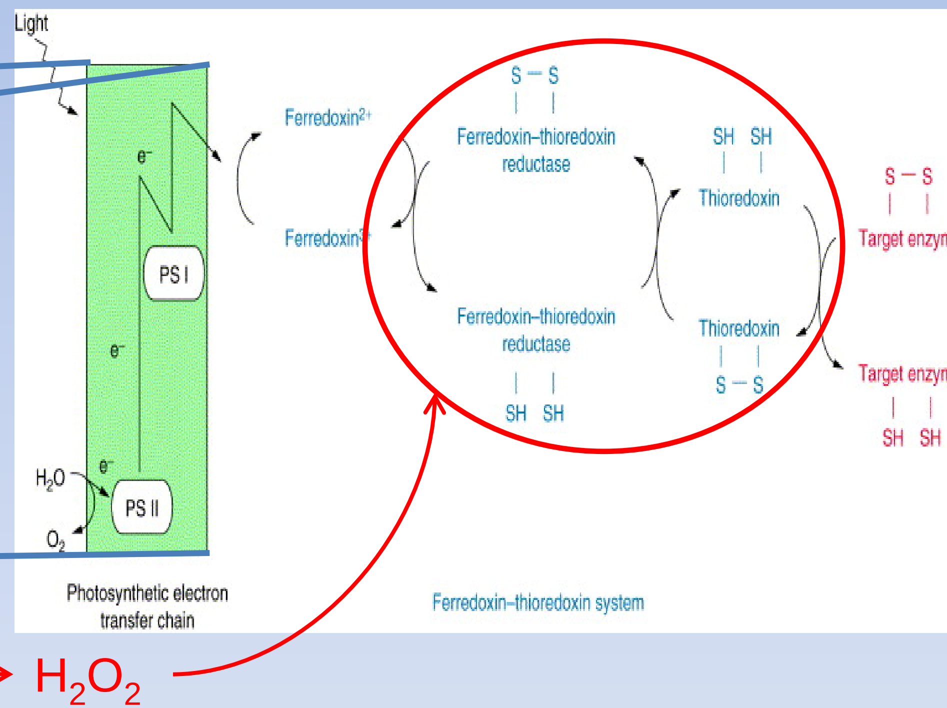
Thioredoxin (Trx)



Thioredoxin Reductase (TrxR)

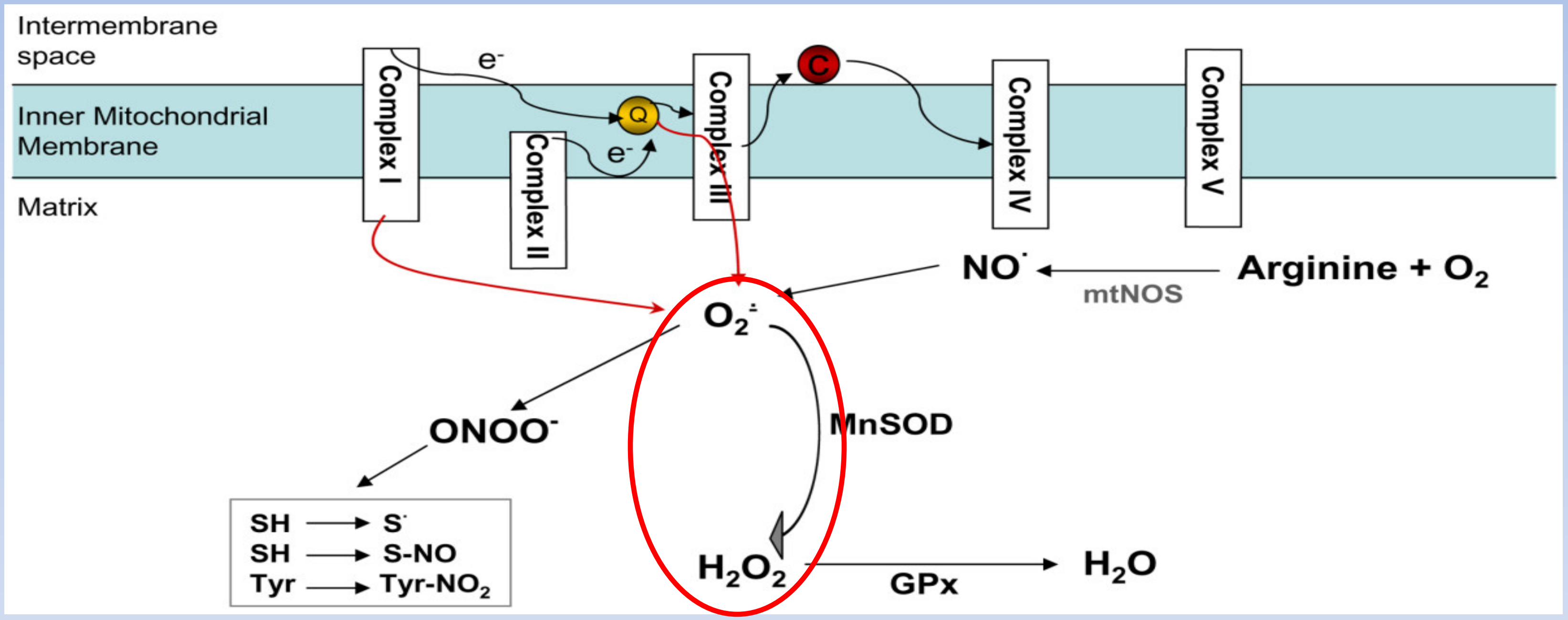
การส่งสัญญาณรีดอกซ์ควบคุมการสังเคราะห์แสงในพืช





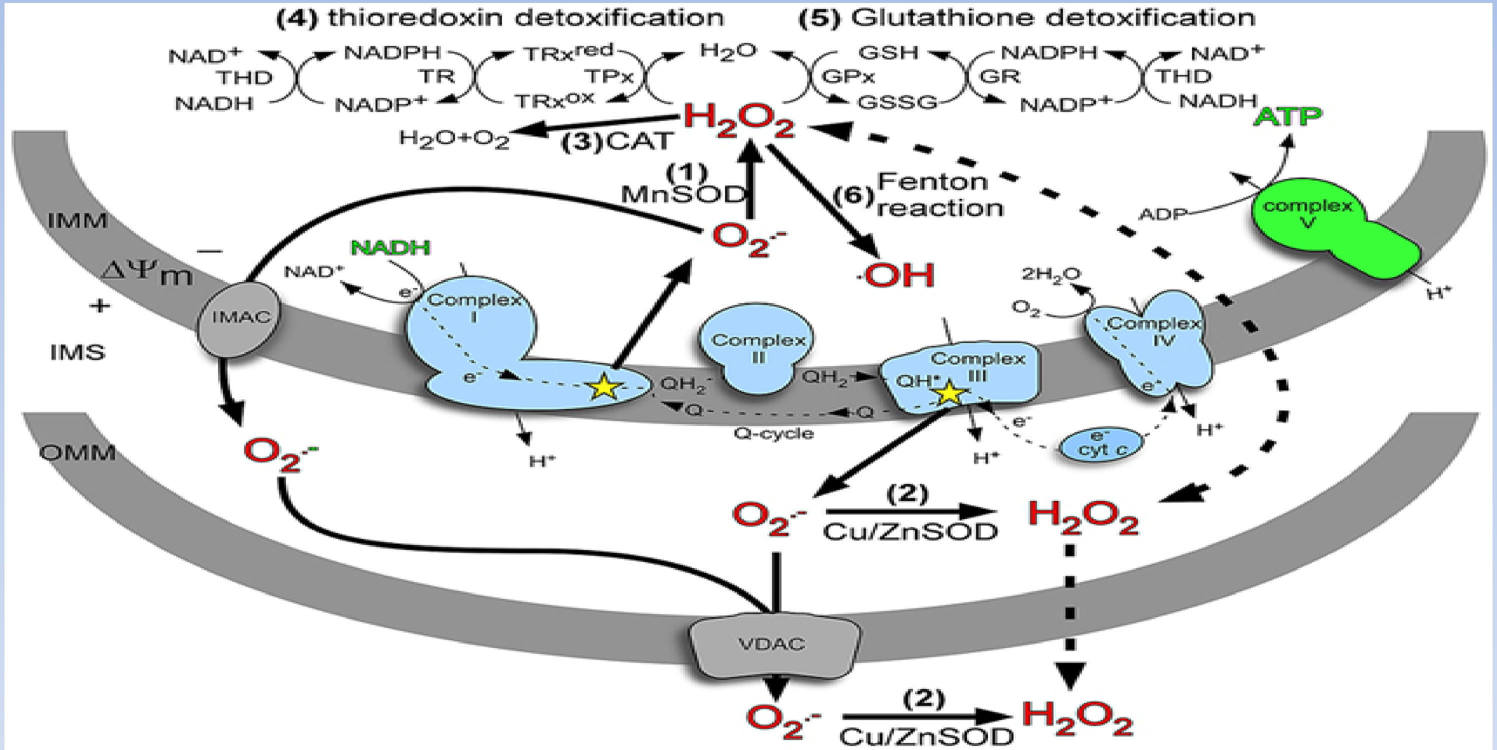
- การสังเคราะห์แสง
  - H_2O+Light→ O_2*-→H_2O_2+O_2→NADPH→Carbs & Fats
  - Thioredoxin regulates photosynthesis
  - H_2O_2 regulates thioredoxin

การส่งสัญญาณรีดอกซ์ ควบคุม Mitochondrial Respiration ในมนุษย์



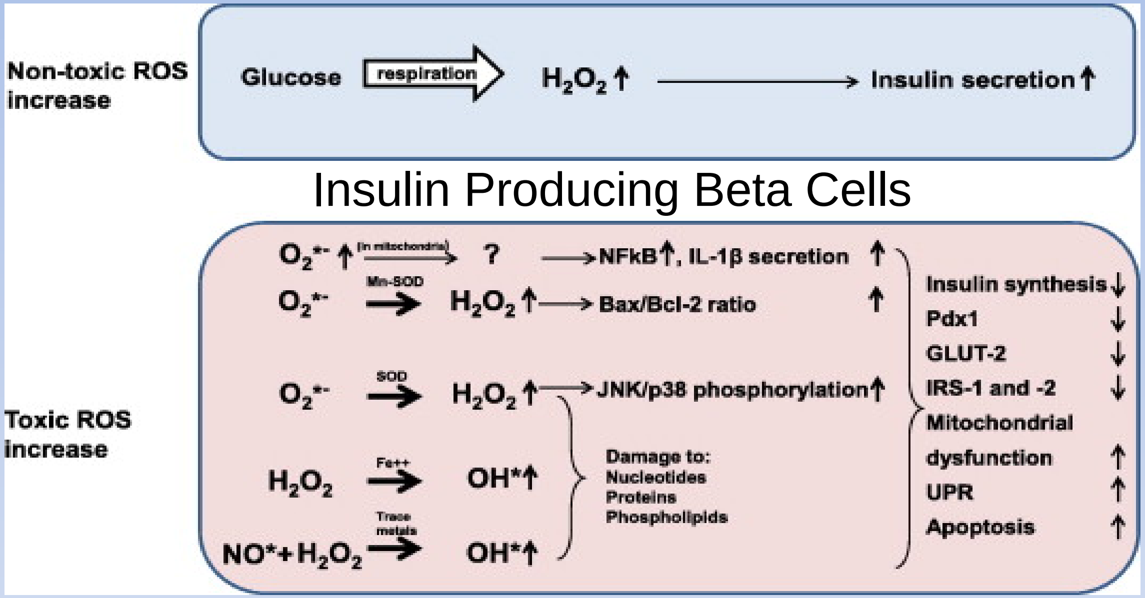
- การหายใจระดับเซลล์
  - Carb & Fats →NADH→O_2→O_2*-→H_2O_2+H_2O+ATP
  - 3% ของออกซิเจนที่ได้รับ ส่งผลให้เกิด ROS (H_2O_2/O_2*-)
  - ROS ทำให้เกิดการผลิต RNS (NO*/ONOO-)

ROS (H_2O_2/O_2*-) ควบคุมการเผาผลาญของไมโตคอนเดรีย



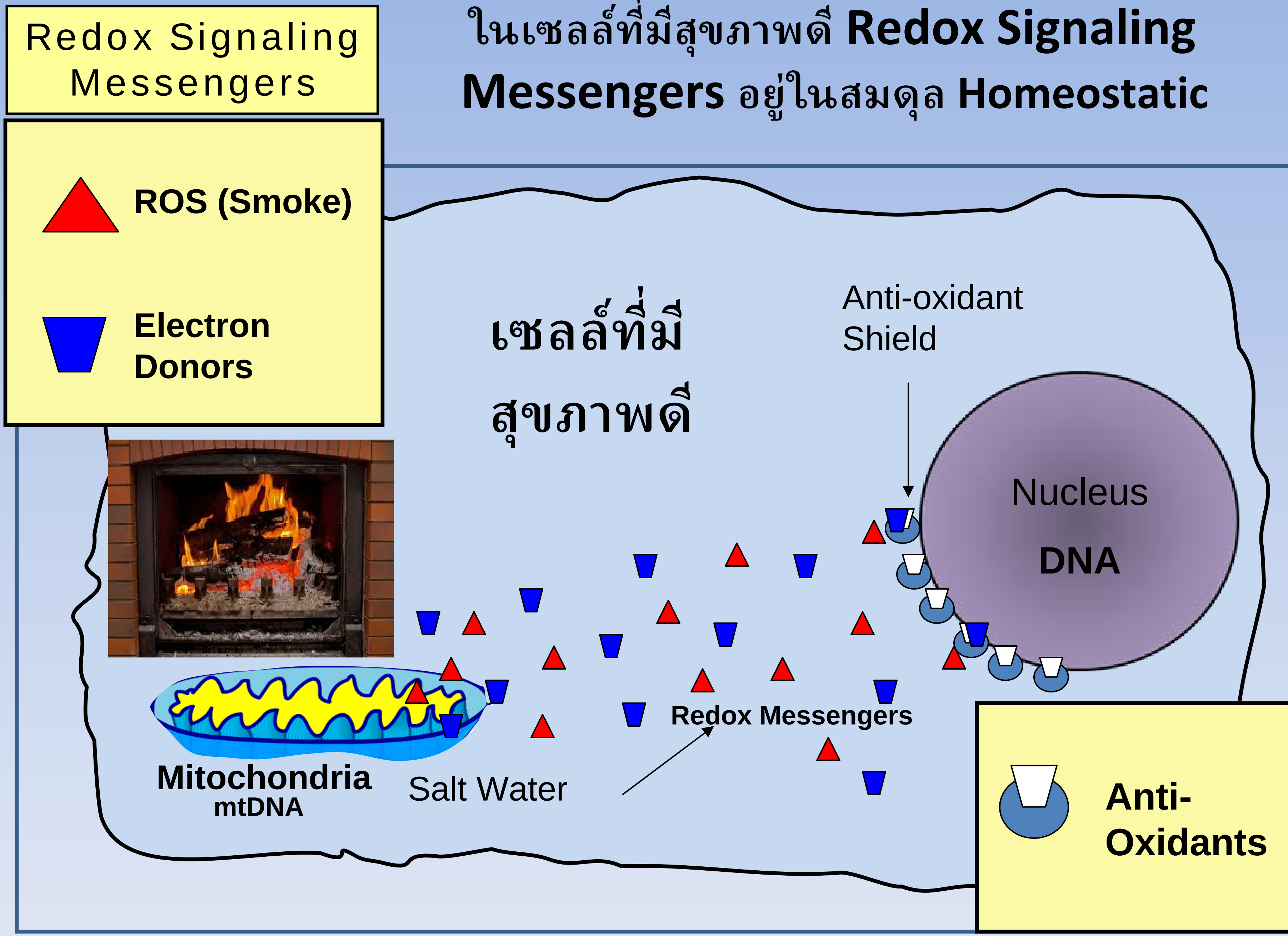
- การส่งสัญญาณรีดอกซ์ในกระบวนการ Metabolism
  - H_2O_2/O_2*- → Conformational Change
  - H_2O_2/O_2*- → Pathway redirection

ROS (H_2O_2/O_2*-) ควบคุมการผลิตอินซูลินและความต้านทานต่ออินซูลิน



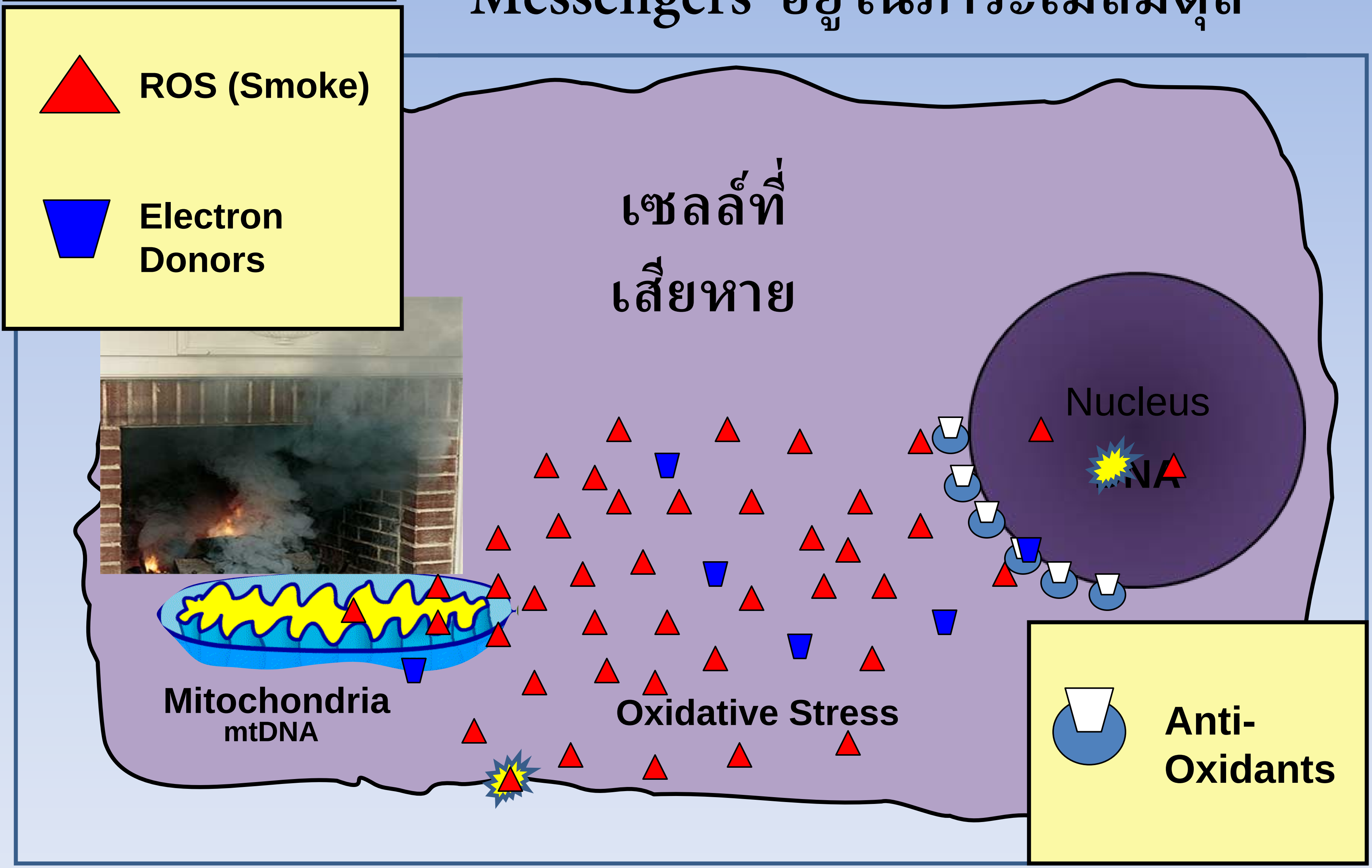
- การส่งสัญญาณรีดอกซ์ในการควบคุมกลูโคส
  - H_2O_2/O_2*- beta cells → Insulin → down regulates glucose
  - H_2O_2/O_2*- → DNA Damage
  - H_2O_2/O_2*- → Apoptosis

ในเซลล์ที่มีสุขภาพดี Redox Signaling Messengers อยู่ในสมดุล Homeostatic

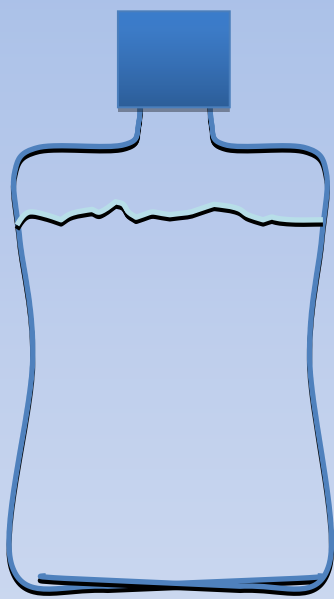


Redox Signaling Messengers

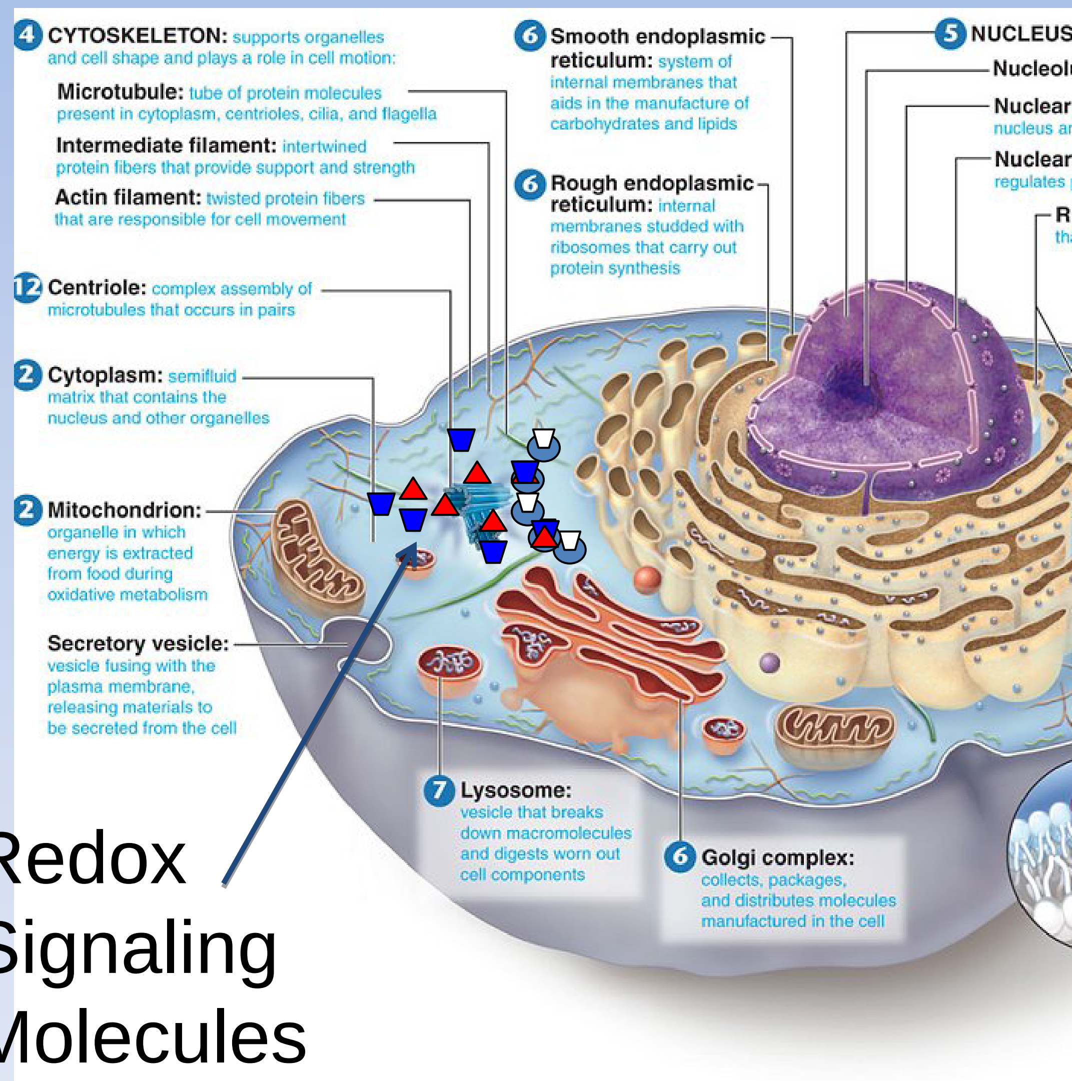
ในเซลล์ที่เสียหาย Redox Signaling Messengers อยู่ในภาวะไม่สมดุล



เราสามารถเอาโมเลกุลส่งสัญญาณรี่ดอกซ์บรรจุขวดได้หรือไม่?



- ชุดที่สมดุลอย่างสมบูรณ์ของโมเลกุลส่งสัญญาณรี่ดอกซ์เดียวกัน ที่สร้างโดยไมโทคอนเดรียในเซลล์



Redox Signaling Molecules

ความท้าทายในการใช้ โมเลกุลส่งสัญญาณรี่ดอกซ์

- ความคงตัว
  - ค่าครึ่งชีวิตของ H_2O_2/O_2*-ในเซลล์: ไมโครวินาที
  - ค่าครึ่งชีวิตของ H_2O_2 /O_2 *-ในพลาสมา: มิลลิวินาที
  - ค่าครึ่งชีวิตของ H_2O_2 /O_2 *-ใน complexes: ???
- ความเป็นพิษ
  - H_2O_2/O_2*- มีผลกระทบที่เป็นพิษที่เป็นที่ทราบกัน
  - H_2O_2 /O_2 *- เป็นส่วนประกอบของ Oxidative stress
  - H_2O_2 /O_2 *-ไม่ทราบผลข้างเคียง

ปัญหาความคงตัวได้รับการแก้ไขแล้ว - ยืนยันโดย

- ESR Spin Trapping
- EPR Spin Trapping
- NMR Spin Trapping
- Established Fluorospectroscopy techniques
- Multiple Laboratories

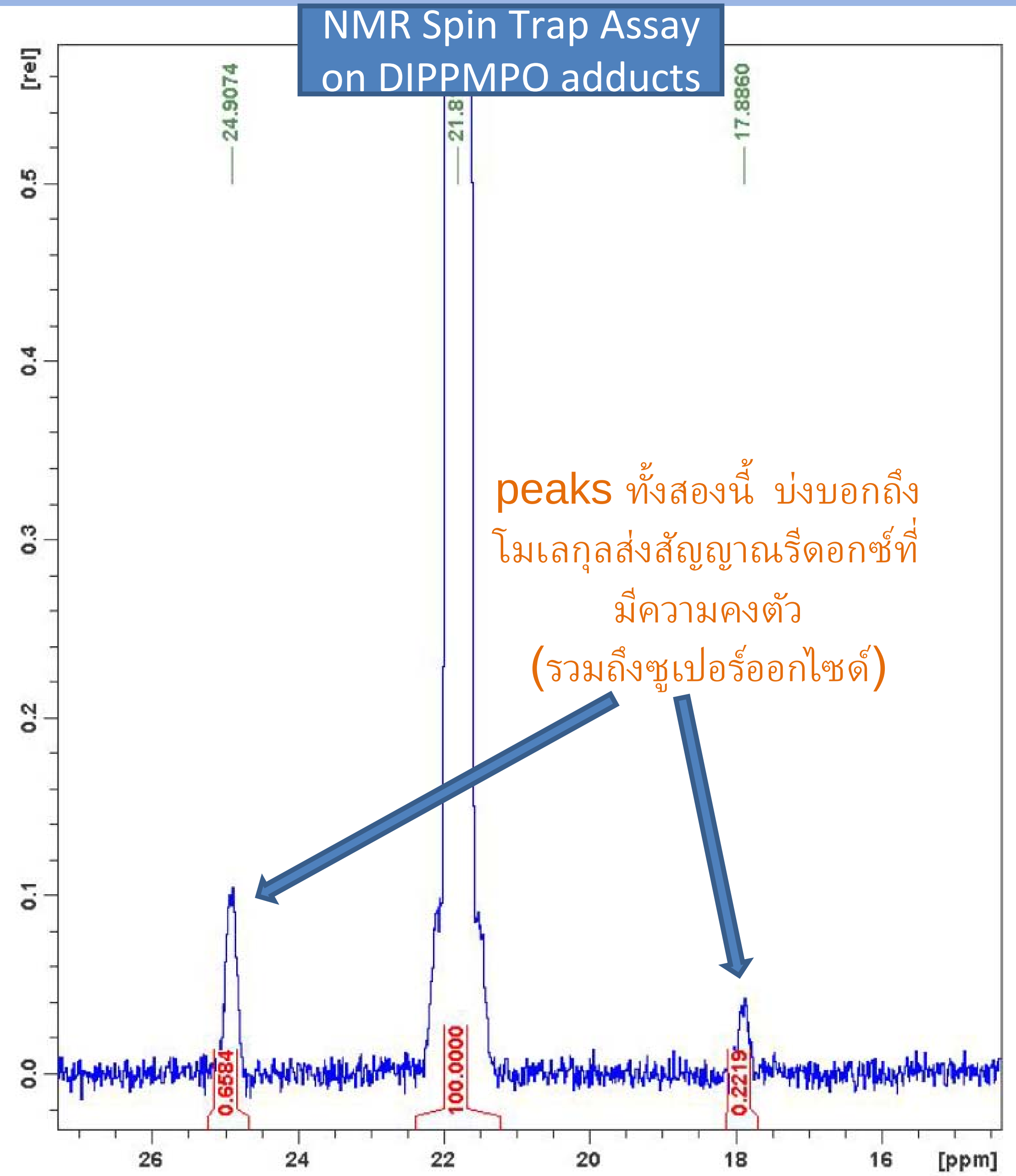
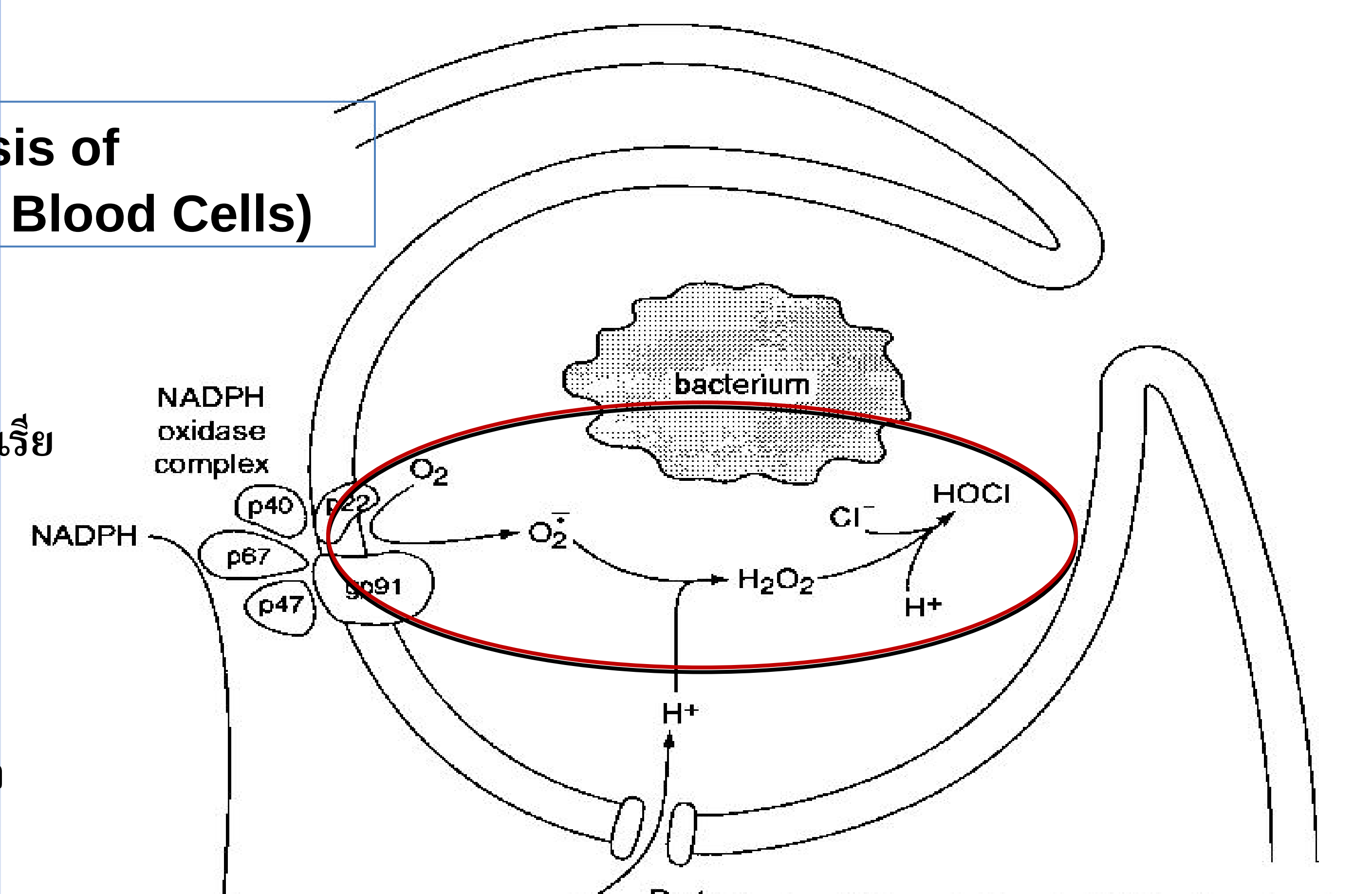


Figure 3: 31P NMR spectrum of a mixture of DIPPMPO and ASEA beverage. Green numbers are peak chemical shifts, red numbers are integral values of corresponding peaks.

อาวุธที่ระบบภูมิคุ้มกันเลือกใช้คือ โมเลกุลส่งสัญญาณรีดอกซ์

ตัวอย่าง: **Phagocytosis of Leukocytes (White Blood Cells)**

- เซลล์ภูมิคุ้มกัน ทำการห่อหุ้มแบคทีเรีย
- **Chemical Weaponry** ใช้เพื่อฆ่าแบคทีเรียโดยไม่ทำร้ายเซลล์ที่แข็งแรง



from: DeCoursey & Grinstein. 1999. "Ion Channels and Carriers in Leukocytes." In: Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. J.I. Gallin & R. Snyderman, eds. Lippincott Williams & Wilkins. New York. pp. 639-659.

ความคงตัวจำเป็นต้องมี Chlorine Containing Species

•ไม่มีเกลือ NaCl

•Chlorine Species อาจเป็นสารประกอบไฮโปคลอไรต์

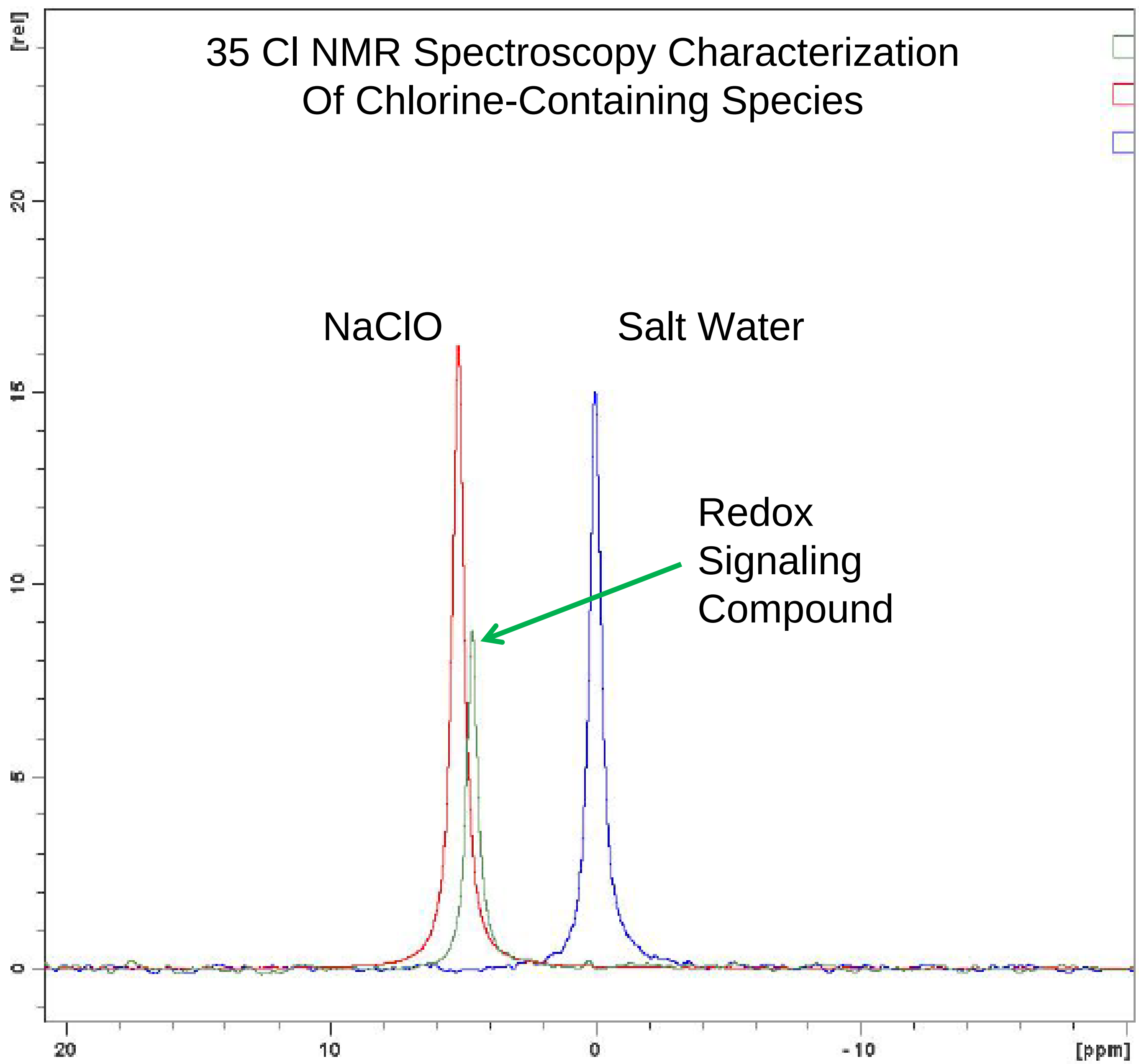
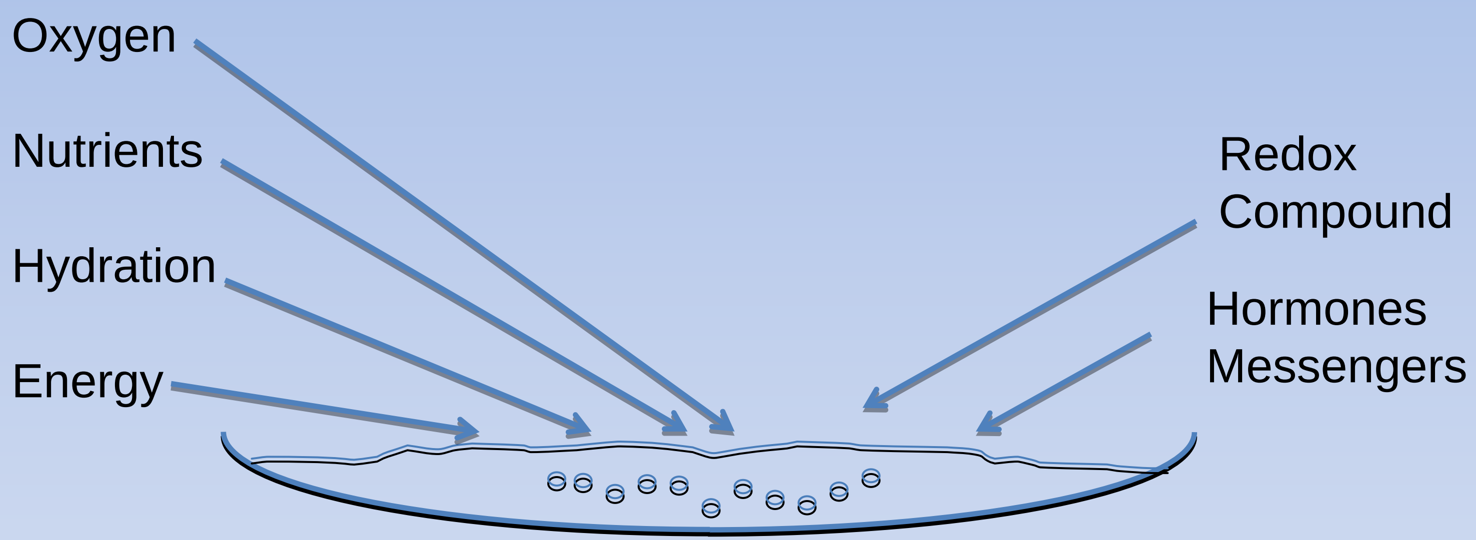


Figure 1: 35Cl NMR spectra of NaCl solution (blue), NaClO solution (red), and ASEA beverage (green).

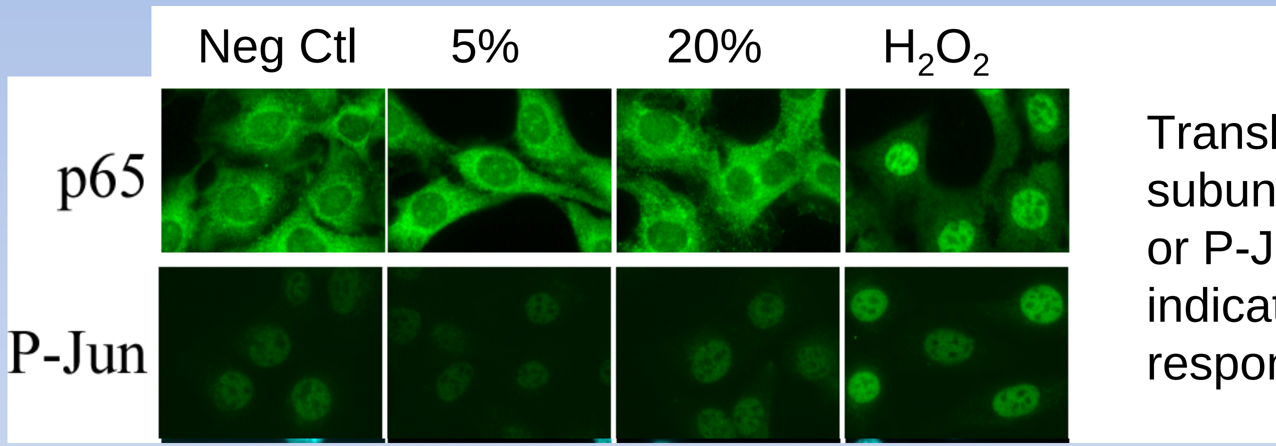
ผลของสารส่งสัญญาณรีดอกซ์ต่อเซลล์เพาะเลี้ยง In Vitro



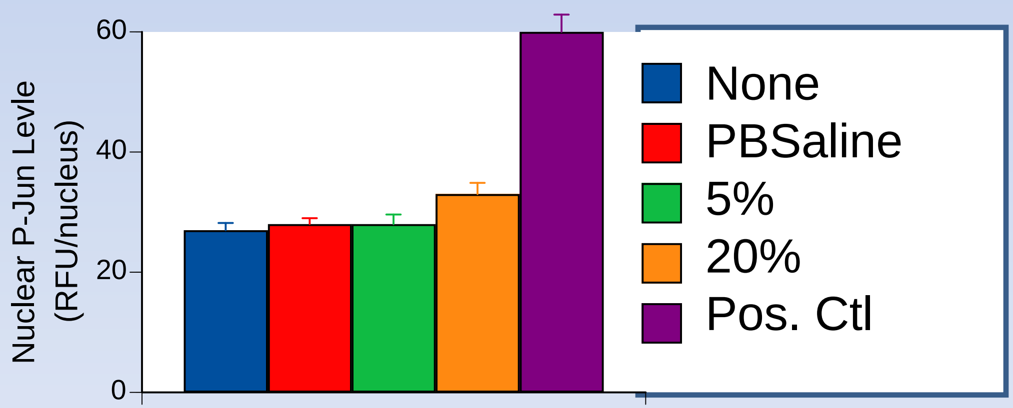
ผล:

- ไม่มีข้อบ่งชี้ความเป็นพิษ หรือเครื่องหมายแสดงการอักเสบในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีสุขภาพดี
- ช่วยเพิ่มกลไกการป้องกัน (GPx & SOD) ในเซลล์เพาะเลี้ยงที่มีสุขภาพดี
- เร่งการตายของเซลล์ที่เสียหาย โดยกระบวนการ apoptosis ในเซลล์เพาะเลี้ยงที่ถูกฉายรังสี
- เพิ่มความไวของฮอร์โมน
- ย้อนกลับความชราภาพในเซลล์เพาะเลี้ยงที่แก่

ห้องปฏิบัติการแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา: ความเป็นพิษของสูตรผลิตภัณฑ์ชนิดรับประทาน In Vitro

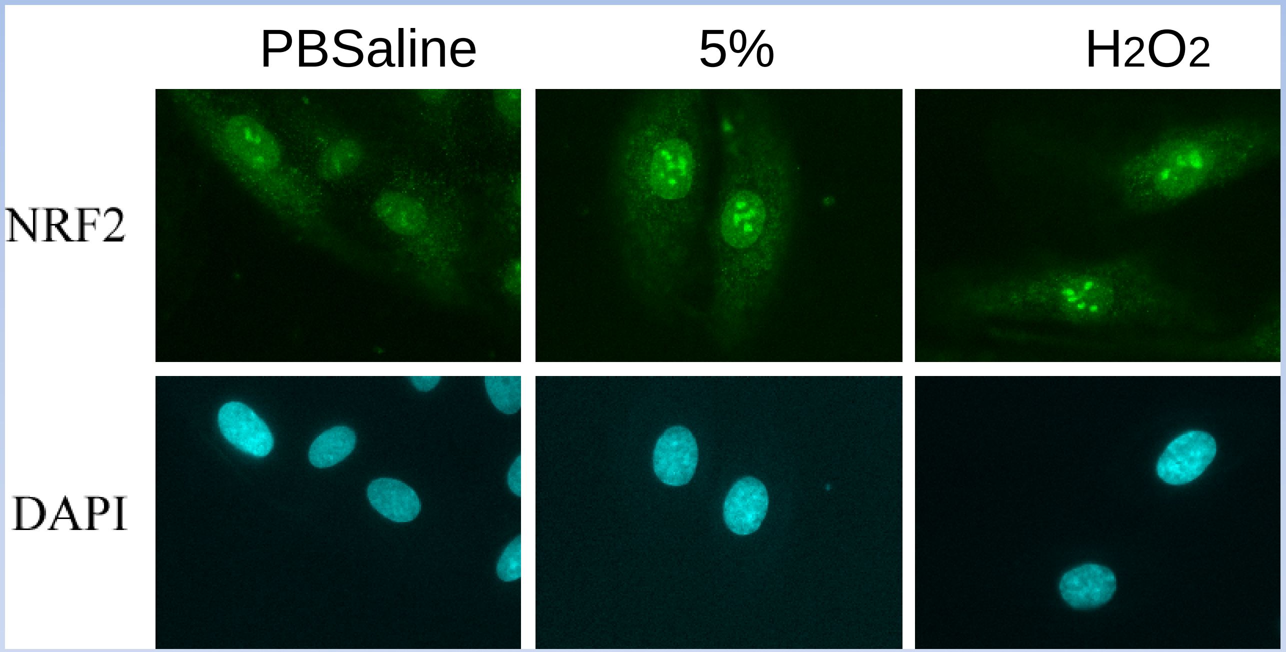


Translocation of P65 subunit of Nf-kappaB or P-Jun into nucleus indicates a toxic response



ไม่พบความเป็นพิษ
แม้ในความเข้มข้นสูง

In Vitro ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสำหรับสูตรผลิตภัณฑ์ชนิดรับประทาน



มีผลต่อเนื่องนาน
120 นาที
(100 Endothelial Cells)

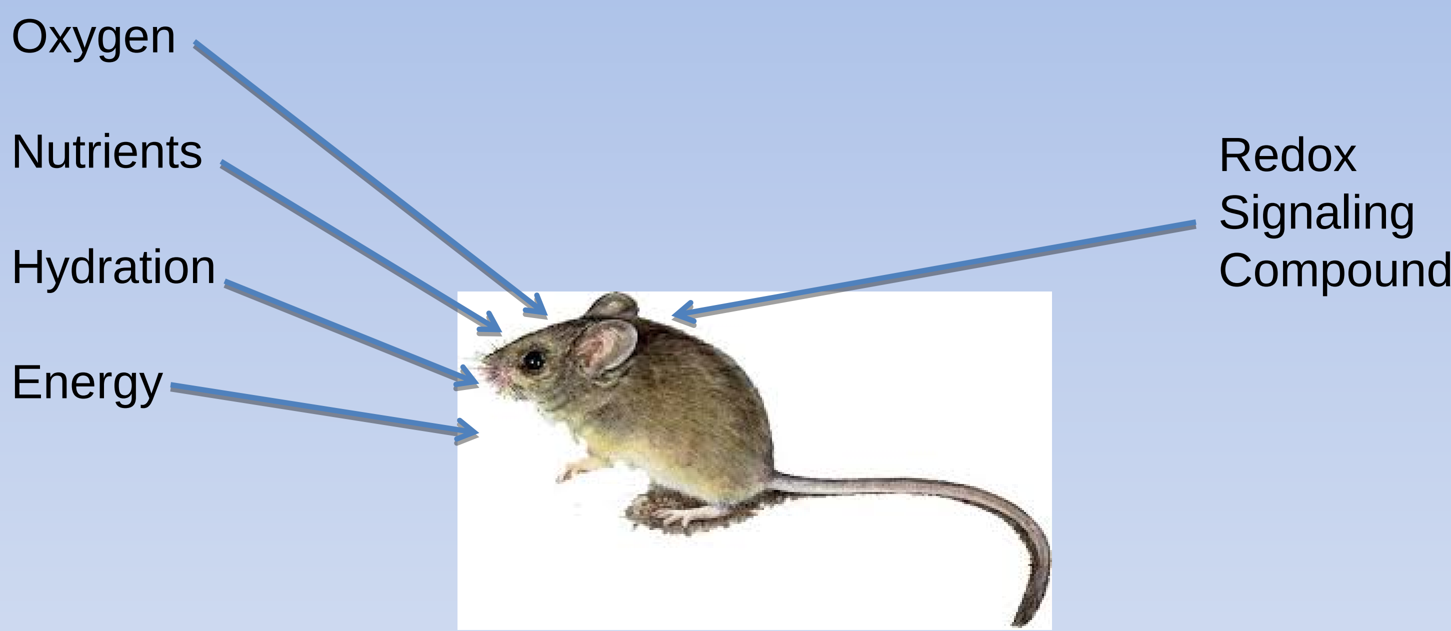
- Nuclear translocation of NRF2 บ่งบอกถึงการกระตุ้นการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ
- Western Blot ใช้ตรวจสอบการผลิต GPx และ SOD
- ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นมากกว่า 400%

Preclinical Trials -

การทดลองก่อนการทดสอบในมนุษย์

- **จุลินทรีย์**
  - ฆ่าเชื้อแบคทีเรียและไวรัสได้ 100% ในเวลาไม่ถึง 30 วินาที (เชื้อดื้อยามากกว่า 30 สายพันธุ์)
  - ไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์
- **เซลล์เพาะเลี้ยง**
  - ไม่มีการกระตุ้น inflammatory markers
  - ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 500%
  - เร่งอัตราการฆ่าเซลล์เฉพาะในเซลล์ที่เสียหาย
  - เพิ่มความไวต่อฮอร์โมนบางชนิด
  - ย้อนวัยของเซลล์

ผลของการเสริม
การส่งสัญญาณรีดอกซ์ในสัตว์คืออะไร?



- 20 ปี ของข้อมูลในหนู, กระต่าย, สุนัข
- ความเป็นพิษเป็นศูนย์ พยาธิวิทยาปกติในเนื้อเยื่อ และอวัยวะทั้งหมด
- หนูวิ่งนานขึ้น 29% กว่าจะหมดแรง (การศึกษาที่มีการควบคุม)
- ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น
- Lipid peroxidation และ glutathione oxidation (GSSG/GSH) ลดลง
- Metabolism markers กลับสู่ปกติ

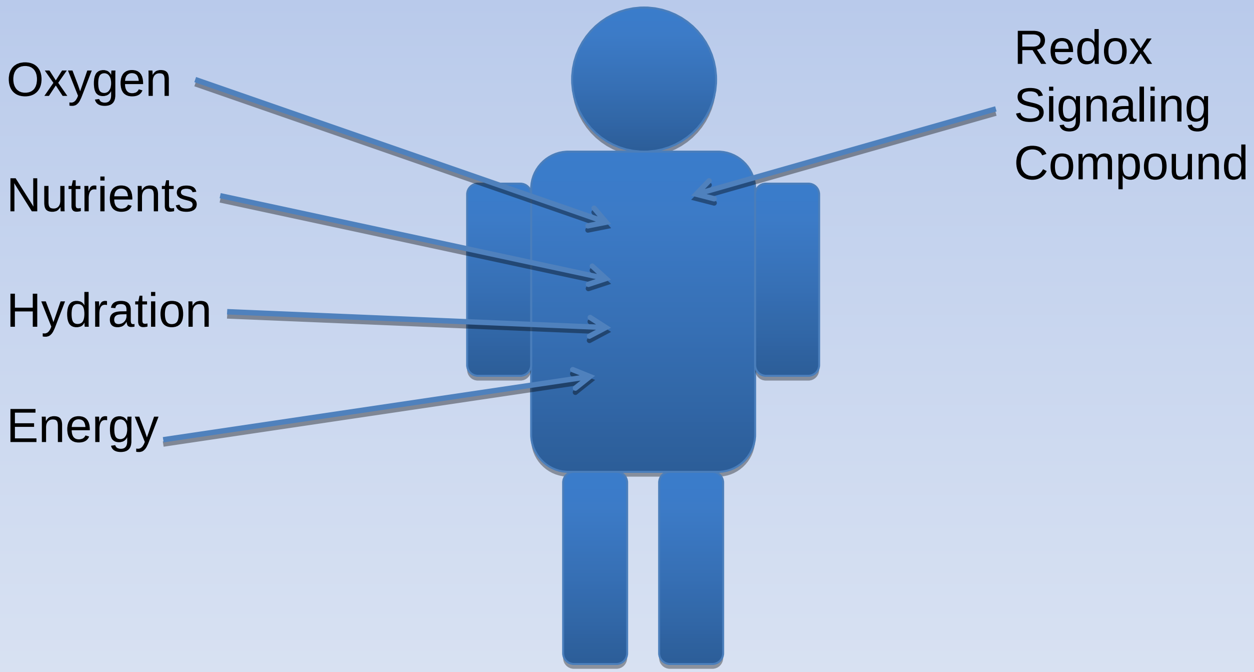
18 ปีแห่งการวิจัยความเป็นพิษ In Vivo เกี่ยวกับสารส่งสัญญาณรีดอกซ์ที่สมดุลอย่างสมบูรณ์แบบ

- ไม่พบ endotoxicity, ความเป็นพิษต่อเซลล์, ความเป็นพิษต่อพันธุกรรมใน GLP preclinical, reverse mutigenic, genemaps และ clinical blood-based studies

- ไม่พบ LD50 ไม่มีผลข้างเคียงเลย ไม่ว่าจะในขนาด หรือรูปแบบการให้ยาใด ๆ

- ไม่พบผลที่ผิดปกติ ตรวจวินิจฉัยโดยตัดชิ้นเนื้อตรวจทางพยาธิวิทยา - ทั้งในเนื้อเยื่อและอวัยวะสำคัญทั้งหมด

การศึกษาทางคลินิกของการเสริม
การส่งสัญญาณรี่ดอกซ์ในมนุษย์



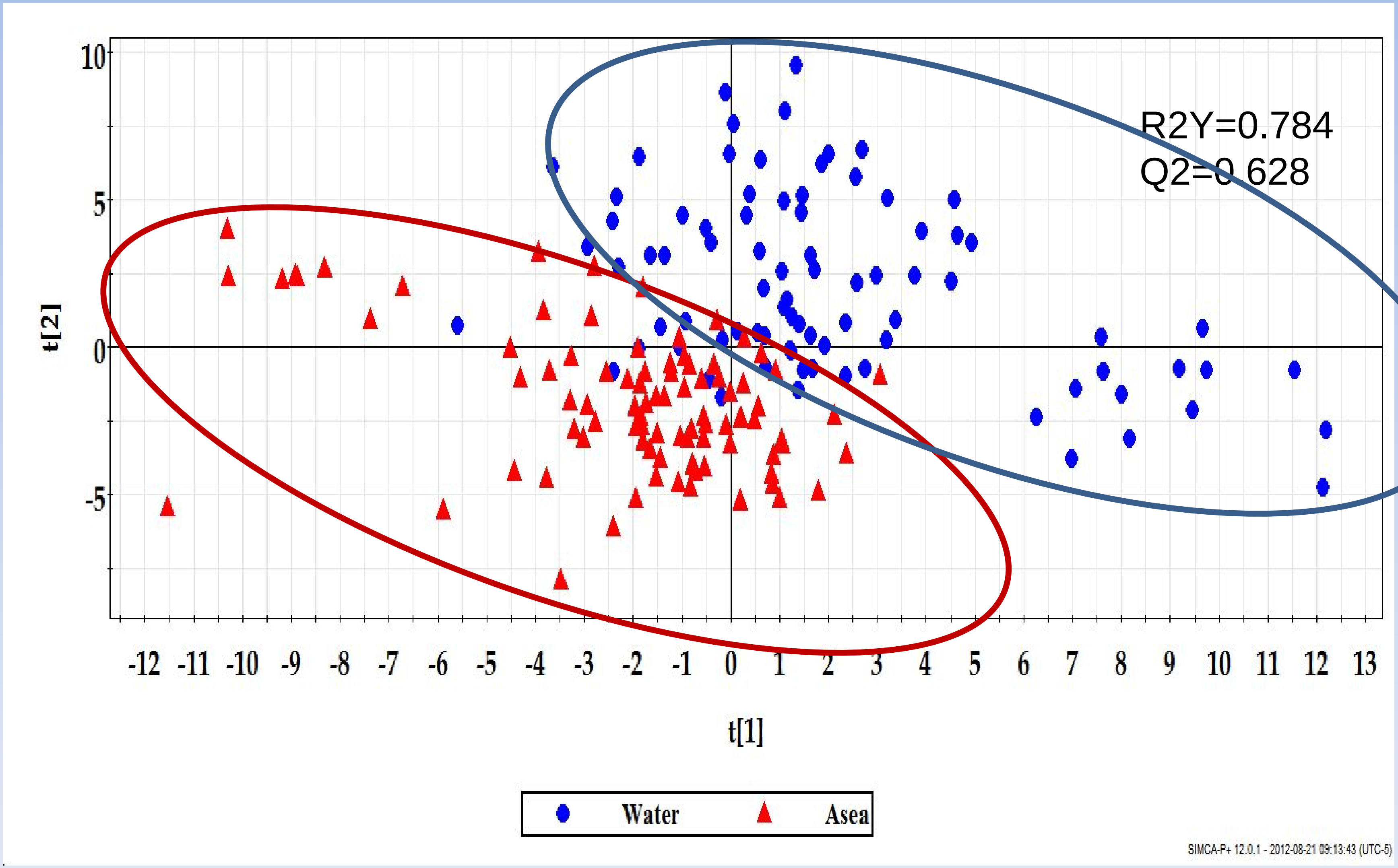
3rd Party Independent Study Results

- การศึกษาทางคลินิกที่สำคัญทั้ง 5 การศึกษาได้รับการควบคุมโดย randomized double-blind placebo-based
- ไม่มีผลเสียต่อมนุษย์ทุกคน (160+ คน)
  - Complete blood work, comprehensive analysis
- Metabolomic results เป็นที่โดดเด่น

– ตรวจสอบ 263 metabolites , 60+ พบการเปลี่ยนแปลง ($p<0.05$)
  - ไขมัน (กรดไขมัน), น้ำตาล, metabolic intermediates
- ผลทางเภสัชจลนศาสตร์ ตรวจสอบการดูดซึม
  - Shifts in metabolites ระหว่าง 30 นาที และ 24 ชม.

PLS-DA All Data

เก็บตัวอย่าง 9 ตัวอย่างใน 12 คน สองครั้ง
(สิ่งที่ทดสอบ หรือยาหลอก) ในช่วงหนึ่งสัปดาห์



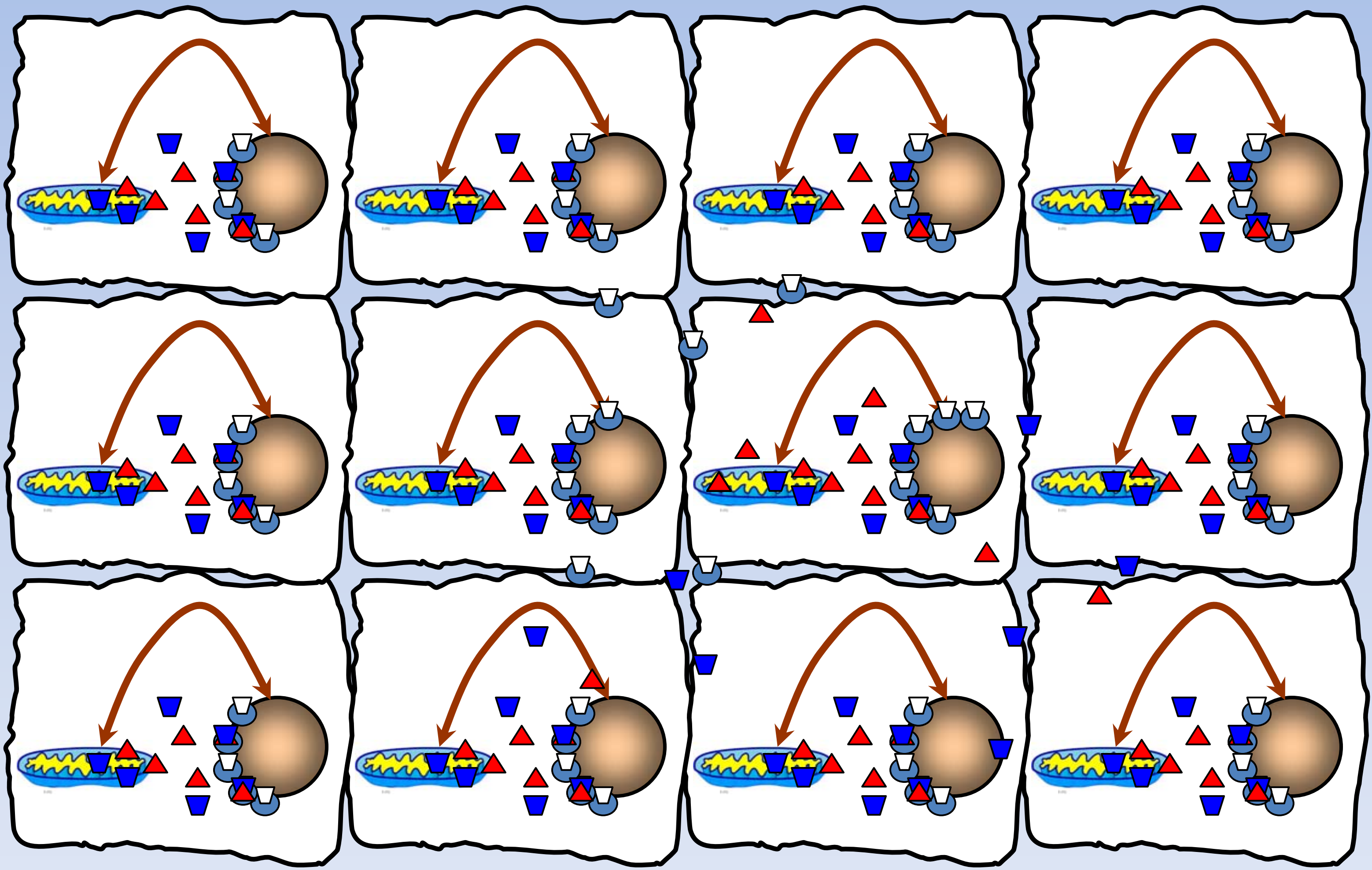
Metabolites, ASEA PK Shifts

30-min metabolites	90-min metabolites	150-min metabolites	3.5 h metabolites	6h- metabolites	24-h metabolites
d-Fructose	Proline	Fumaric acid	Threitol	Aminomalonic acid	Glycine
d-Xylose	Mannose	3-amino-2-methyl-propanoic acid	Nonanoic acid	Succinic acid	L-Methionine
Glycerol 2-phosphate	L-Valine	L-Aspartic acid	Salicylic acid	Threitol	Alanine
2-oxo-4-methylvaleric acid	Allo-isoleucine	Ethanolamine	L-Glutamine	Pyruvic acid	L-Lysine
Sorbose	Glycine	1,2-Propanediol-1-phosphate	Nona-decanoic acid	alpha-Hydroxyiso-butyric acid	Ribitol
Octadecanoic acid	Citrulline	Aminomalonic acid	Hexadecanoic acid	L-Cysteine	L-Tyrosine

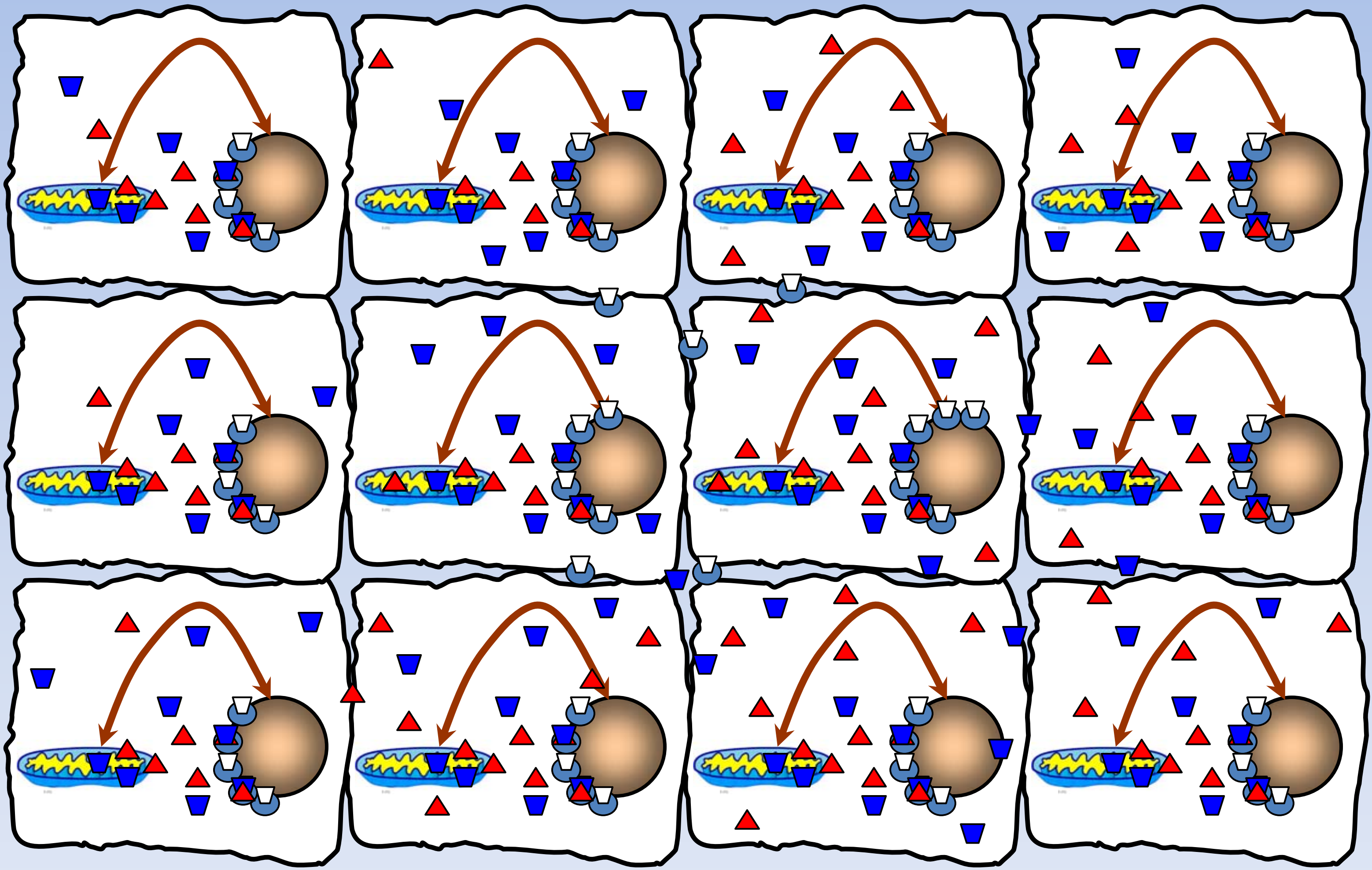
เส้นทางสู่อนาคต

- ยังไม่มีข้อมูลจากการศึกษาอย่างต่อเนื่อง
- งบประมาณการวิจัยขยายตัวอย่างรวดเร็วเพื่อสนับสนุนการศึกษาทางคลินิกในมนุษย์
- นักวิทยาศาสตร์ที่มีชื่อเสียงระดับโลกแสดงความสนใจ
  - Dr. David Nieman, DrPH, FACSM (DHMRI-NCRC)
  - Dr. A. C. Naidu, Ph.D. (Fellow RSM, FLS, FACN)
- มีการใช้อย่างกว้างขวางในรูปอาหารเสริม
  - กว่า 100,000 คนที่มีประสบการณ์ตรง

Redox Imbalance (Oxidative Stress) ส่งสัญญาณให้เกิด Protect-Repair-Replace Response



นวัตกรรม: ใส่โมเลกุลการส่งสัญญาณรีดอกซ์ที่สมดุลกลับเข้าไปในเนื้อเยื่อ



“เทคโนโลยี REDOX SIGNALING ถูกกำหนดขึ้นเพื่อขับเคลื่อนความก้าวหน้าที่ยิ่งใหญ่ที่สุดในวงการวิทยาศาสตร์การแพทย์ในศตวรรษนี้”

- การส่งสัญญาณรีดอกซ์ เป็นพื้นฐานของกระบวนการ multi-cellular ทางชีวภาพทั้งหมด
- ไม่เฉพาะเจาะจง, ไม่เป็นพิษ และใช้ได้กับกระบวนการ และ pathways ที่หลากหลาย
- เป็นหัวใจหลักในการ mediating และควบคุมกลไกที่ฟื้นฟูการทำงานและสุขภาพ


ANTI AGEING CONFERENCE LONDON
10 YEARS
SEPTEMBER 19-21, 2013
LEADING 21ST CENTURY MEDICINE
AACL 2013