

*Aktuelne teme/
Current topics*

SIRTUINI - DUGOVEČNA PRIČA O GENIMA
DUGOVEČNOSTI

Correspondence to:

Gorjana Rackov, M Sc., Mol.Biol.
Department of Immunology and
Oncology,
Centro Nacional de Biotecnología/CSIC,
Madrid, Spain
Tel: +34693005547

SIRTUINS - THE NEVER-ENDING STORY OF
LONGEVITY GENES

Gorjana Rackov

Department of Immunology and Oncology, Centro Nacional
de Biotecnología/CSIC, Madrid, Spain

E-mail: gorjana.rackov@cnb.csic.es

Key words

dugovečnost; restrikcija kalorija; sirtuini; resveratrol

Ključne reči

longevity; caloric restriction; sirtuins; resveratrol

Apstrakt

Sirtuini predstavljaju visoko konzerviranu familiju enzima zavisnih od nikotinamid adenin dinukleotida, koji funkcionišu kao protein-deacetilaze klase III. Pokazano je da prekomerna ekspresija sirtuina produžava životni vek *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* i *Drosophila melanogaster*. Početna ispitivanja pokazala su da restrikcija kalorija produžava životni vek preko aktivacije sirtuina. Kod sisara takođe dolazi do indukcije SIRT1 preko restrikcije kalorija i on utiče na preživljavanje ćelija, gubitak sala i štiti od rezistencije na insulin. Učinjeni su pokušaji da se oponaša restrikcija ishrane farmakološkim aktiviranjem sirtuina i tako uspori starenje kod ljudi. Međutim, nedavna ispitivanja su dovela u pitanje ove ideje i neke aspekte uloge sirtuina u starenju.

Sirtuini predstavljaju filogenetski konzerviranu familiju enzima, koja nosi naziv prema prvom identifikovanom članu Sir2 (silent information regulator) histon-deacetilazi kvasca *Saccharomyces cerevisiae*. U pitanju su protein-deacetilaze klase III koje su zavisne od nikotinamid adenin dinukleotida (NAD) i vrše deacetilaciju specifičnih lizinskih ostataka pri čemu se formira nikotinamid i 2'-O-acetil-ADP-riboza. Uloga sirtuina vezana je za regulaciju velikog broja ćelijskih procesa kao što su transkripcija, apoptoza, metabolizam i starenje [1]. Kod kvasca, Sir1, Sir2, Sir3 i Sir4 su prvi put identifikovani kao članovi kompleksa koji učestvuje u utišavanju *mating type* gena [2,3]. Osim toga, sirtuini regulišu utišavanje telomera, DNK popravku i stabilnost ribozomalne DNK [4]. Kod sisara, SIRT1 (homolog sir2) vrši deacetilaciju lizina proteinskih supstrata kao što je tumor-supresor p53 i tako učestvuje u regulaciji programirane ćelijske smrti [5]. Kod ljudi postoji sedam sirtuina (SIRT1-SIRT7) i SIRT1 povezan je sa restrikcijom kalorija koja dovodi do odlaganja i smanjenja incidence bolesti povezanih sa starošću, kao što je dijabetes tipa 2.

Uloga sirtuina u procesu starenja otkrivena je kod *S. cerevisiae*, kada je primećeno da prekomerna ekspresija Sir2 produžava životni vek ovog kvasca [6]. Nakon

toga, usledili su eksperimenti koji su pokazali da povišeni nivo sirtuina dovodi do produžetka životnog veka kod nematode *C. elegans* i voćne mušice *Drosophila* [7,8,9]. Kod *S. cerevisiae*, pokazano je da produžetak života putem restrikcije kalorija zavisi od Sir2 i unutarćelijske koncentracije NAD-a [10]. Naime, NAD se može naći u oksidovanom ili redukovanom stanju, i oksidovana forma je ta koja učestvuje u enzimskoj aktivnosti sirtuina. Prilikom restrikcije kalorija, dolazi kako do promene u ravnoteži između oksidovane i redukovane forme NAD-a, tako i do promene koncentracije samog nikotin amida. Na taj način pojačava se funkcija sirtuina i dolazi do produžetka života [11,12]. Imajući ovo u vidu, grupa naučnika [13] ispitala je različite molekule koji bi mogli aktivirati sirtuine i produžiti životni vek kvasca, imitirajući efekat restrikcije kalorija. Ispostavilo se da je najpotentniji aktivator Sir2 resveratrol, polifenol biljnog porekla za koji se zna da se nalazi u crnom vinu i blagotvorno deluje na zdravlje. U ovom radu, autori su pokazali da je resveratrol produžio životni vek kvasca za čak 70%, i da je za njegovo delovanje neophodno prisustvo Sir2.

U *in vitro* modelu u kom su sisarske ćelije gajene u prisustvu seruma poreklom iz pacova koji su bili podvrgnuti restrikciji kalorija, pokazano je da u ovim

uslovima dolazi do povećane ekspresije SIRT1 [14]. Farmakološom aktivacijom SIRT1 pomoću resveratrola, produženo je preživljavanje pacova koji su bili na visoko kaloričnom režimu ishrane i smanjena je isulinska rezistencija [15]. Prekomerna ekspresija SIRT1 kod miševa pokazala je sličan fenotip [16], što sve zajedno dovodi do zaključka da bi SIRT1 mogao biti dobar target za tretman dijabetesa tipa 2. Sirtris Pharmaceuticals opisali su nekoliko aktivatora SIRT1: SRT1720, SRT2183 i SRT1460 [17]. Strukturno potpuno različita od rezervatrola, ova jedinjenja dovodila su do aktivacije SIRT1 i do 1000 puta jače nego resveratrol.

Međutim, istraživanja koja su usledila dovela su u pitanje ulogu resveratrola i sirtuina u procesima starenja [18,19]. Grupa naučnika [20] nedavno je ponovo ispitala uticaj prekomerne ekspresije sirtuina na dužinu životnog veka *C. elegans* i *Drosophila*. Ovoga puta, oni su ispitali mogućnost greške usled razlike u genetskoj pozadini među sojevima, odnosno mutacije nastale prilikom insercije transgena. Naime, nakon povratnog ukrštanja dugoživećeg soja *C. elegans* sa divljim tipom, poništena je razlika u dužini života iako je nivo sirtuina ostao visoko ekspimiran. Nađeno je da je, pored prekomerno ekspimiranog sirtuina, dugoživeći soj nosio i Dyf mutaciju [21] čiji nosioci često pokazuju produženi životni vek [22]. Kada su dizajnirani novi sojevi bez Dyf mutacije, dužina života ostala je ista kao kod divljeg tipa bez obzira na visok nivo ekspresije sirtuina. S druge strane, Dyf mutanti koji su ekprimirali normalan nivo sirtuina živeli su duže. Zatim, Burnett i kolege [20] su testirali transgenu voćnu

mušicu na kojoj su rađeni originalni eksperimenti, i kod koje je uz pomoć određenog genskog "prekidača" povećana ekspresija sirtuina i dužina života. Ovoga puta, nakon povratnog ukrštanja, ove mušice su i dalje živele duže od divljeg tipa, ali ne i od mušica koje su sadržale samo "prekidač", bez sirtuina. Drugim rečima, produženi životni vek nije bio posledica prekomerne ekspresije sirtuina, već genskih efekata vezanih za transgen. Na kraju, ispostavilo se da ni resveratrol nije direktno uključen u aktivaciju sirtuina [23,24]. Grupa naučnika [24] pokazala je da "Sirtrisovi aktivatori" SRT1720, SRT2183 i SRT1460 zahtevaju prisustvo kovalentno vezane fluorofore za peptidni supstrat kako bi došlo do aktivacije SIRT1, te da ova jedinjenja, uključujući i resveratrol, ne aktiviraju SIRT1 kada su u pitanju nativni supstrati.

Uprkos kontradiktornim rezultatima, ideja da sirtuini utiču na dugovečnost i dalje je privlačna među naučnicima, pa i šire. Prema nedavno objavljenom članku [25], Bi-Digitalnim O-Ring Testom (BDORTom) pronađena je velika količina SIRT1 u hipokampusu dugoživećih ljudi (110-120 godina starosti). Tako, sa novom nadom, potraga za genom dugovečnosti se nastavlja.

Abstract

Sirtuins constitute a highly conserved family of nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzymes that function as class III protein deacetylases. Overexpression of sirtuins has been shown to increase lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. Initial studies indicated that calorie restriction increases lifespan by activating sirtuins. In mammals, SIRT1 is also induced by calorie restriction and promotes cell survival, triggers loss of fat and protects against insulin resistance. Efforts have been made to mimic dietary restriction by pharmacological activation of sirtuins and thus slow aging in humans. However, recent findings have challenged these ideas and several aspects of the role of sirtuins in aging have been brought to question.

REFERENCES

1. Buck SW, Gallo CM, Smith JS: Diversity in the Sir2 family of protein deacetylases. *J Leukoc Biol.* 2004; 75, 6: 939-50.
2. Ivy JM, Klar AJ, Hicks JB: Cloning and characterization of four SIR genes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol.* 1986; 6: 688-702.
3. Rine J, Herskowitz I: Four genes responsible for a position effect on expression from HML and HMR in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics.* 1987; 116: 9-22.
4. Mills, KD, Sinclair, DA, Guarente, L: MEC1-dependent redistribution of the Sir3 silencing protein from telomeres to DNA double-strand breaks. *Cell.* 1999; 97: 609-620.
5. Vaziri H, Dessain SK, Eagon EN, Imai SI, Frye RA, Pandita TK, Guarente L, Weinberg RA: hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 2001; 107: 149-159.
6. Kaeberlein M, McVey M, Guarente L: The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes Dev.* 1999; 13, 19: 2570-80.
7. Tissenbaum HA, Guarente L: Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 2001; 410, 6825: 227-30.
8. Viswanathan M, Kim SK, Berdichevsky A, Guarente L: A role for SIR-2.1 regulation of ER stress response genes in determining *C. elegans* life span. *Dev Cell.* 2005; 9, 5: 605-15.
9. Rogina B, Helfand SL: Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101, 45: 15998-6003.
10. Lin SJ, Defossez PA, Guarente L: Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science.* 2000; 289, 5487: 2126-8.
11. Anderson RM, Bitterman KJ, Wood JG, Medvedik O, Sinclair DA: Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature.* 2003; 423, 6936: 181-5.
12. Lin SJ, Kaeberlein M, Andalis AA, Sturtz LA, Defossez PA, Culotta VC, Fink GR, Guarente L: Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature.* 2002; 418, 6895: 344-8.
13. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, Zipkin RE, Chung P, Kisilewski A, Zhang LL, Scherer B, Sinclair DA: Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature.* 2003; 425, 6954: 191-6.
14. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, Howitz KT, Gorospe M, de Cabo R, Sinclair DA: Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science.* 2004; 305, 5682: 390-2.
15. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, Messadeq N, Milne J, Lambert P, Elliott P, Geny B, Laakso M, Puigserver P, Auwerx J: Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell.* 2006; 127, 6: 1109-22.
16. Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, Gu W, Accili D: SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab.* 2008; 8, 4: 333-41.
17. Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, Jin L, Boss O, Perni RB, Vu CB, Bemis JE, Xie R, Disch JS, Ng PY, Nunes JJ, Lynch AV, Yang H, Galonek H, Israelian K, Choy W, Iffland A, Lavu S, Medvedik O, Sinclair DA, Olefsky JM, Jirousek MR, Elliott PJ, Westphal CH: Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature.* 2007; 450, 7170: 712-6.
18. Garber K: A mid-life crisis for aging theory. *Nature Biotechnol.* 2008; 26, 371-374.
19. Kaeberlein M, McDonagh T, Heltweg B, Hixon J, Westman EA, Caldwell SD, Napper A, Curtis R, DiStefano PS, Fields S, Bedalov A, Kennedy BK: Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem.* 2005; 280, 17: 17038-45.
20. Burnett C, Valentini S, Cabreiro F, Goss M, Somogyvári M, Piper MD, Hoddinott M, Sutphin GL, Leko V, McElwee JJ, Vazquez-Manrique RP, Orfila AM, Ackerman D, Au C, Vinti G, Riesen M, Howard K, Neri C, Bedalov A, Kaeberlein M, Soti C, Partridge L, Gems D: Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature.* 2011; 477, 7365: 482-5.
21. Hedgecock E, Culotti J, Thompson J, Perkins L: Axonal guidance mutants of *Caenorhabditis elegans* identified by filling sensor neurons with fluorescein dyes. *Dev. Biol.* 1985; 111, 158-170.
22. Apfeld J, Kenyon C: Regulation of lifespan by sensory perception in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 1999; 402, 804-809.
23. Behr D, Wu J, Cumine S, Kim KW, Lu SC, Atangan L, Wang M: Resveratrol is not a direct activator of SIRT1 enzyme activity. *Chem Biol Drug Des.* 2009; 74, 6: 619-24.
24. Pacholec M, Bleasdale JE, Chrnyk B, Cunningham D, Flynn D, Garofalo RS, Griffith D, Griffor M, Loulakis P, Pabst B, Qiu X, Stockman B, Thanabal V, Varghese A, Ward J, Withka J, Ahn K: SRT1720, SRT2183, SRT1460, and resveratrol are not direct activators of SIRT1. *J Biol Chem.* 2010; 285, 11: 8340-51.
25. Omura Y, Lu DP, Jones M, O'Young B, Duvvi H, Paluch K, Shimotsuura Y, Ohki M: New clinical findings on the longevity gene in disease, health, & longevity: Sirtuin 1 oftendecreases with advanced age & serious diseases in most parts of the human body, while relatively high & constant Sirtuin 1 regardless of age was first found in the hippocampus of supercentenarians. *Acupunct Electrother Res.* 2011; 36, 3-4: 287-309.