



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultad de ciencias

**Memoria del Trabajo de Fin de Grado**

# Las sirtuínas: posibles dianas terapéuticas de las patologías asociadas al envejecimiento

Tania Serra Fuster

**Grado de Bioquímica**

Año académico 2013-14

DNI del alumno: 43205167N

Trabajo tutelado por Magdalena Gianotti Bauzà

Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud



Se autoriza a la Universidad a incluir mi Trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con finalidades exclusivamente académicas y de investigación.

Palabras clave del Trabajo: sirtuínas, envejecimiento, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, daño en el DNA, resveratrol, restricción calórica, enfermedades neurodegenerativas, Alzheimer, Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple, enfermedad de Kennedy, cáncer, diabetes.



## Índice

1. Objetivo.....	Página 4
2. Introducción.....	Página 4
2.1 Envejecimiento.....	Página 4
2.1.1 Síntomas del envejecimiento.....	Página 4
2.1.2 Características del envejecimiento.....	Página 5
2.1.3 Envejecimiento y enfermedades asociadas.....	Página 5
2.1.4 El daño en el ADN nuclear como causa directa del envejecimiento.....	Página 6
2.1.5 Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).....	Página 6
2.1.6 Teoría mitocondrial.....	Página 6
2.2 Sirtuínas.....	Página 7
2.2.1 Mecanismo de acción de las sirtuínas.....	Página 7
2.2.2 Implicaciones terapéuticas de la sirtuínas.....	Página 8
2.3 Resveratrol y sirtuínas.....	Página 9
2.4 Restricción calórica y sirtuínas.....	Página 10
3. Materiales y métodos.....	Página 11
4. Resultados y discusión.....	Página 12
4.1 Enfermedad de Alzheimer.....	Página 13
4.2 Enfermedad de Parkinson.....	Página 15
4.3 Enfermedad de Huntington.....	Página 17
4.4 Esclerosis múltiple.....	Página 18
4.5 Esclerosis lateral amiotrófica.....	Página 19
4.6 Enfermedad de Kennedy.....	Página 22
4.7 Diabetes.....	Página 23
4.8 Cáncer.....	Página 26
5. Conclusiones.....	Página 28
6. Bibliografía.....	Página 29

# Las sirtuínas: posibles dianas terapéuticas de las patologías asociadas al envejecimiento

## 1. Objetivo

El objetivo de este trabajo es hacer un estudio bibliográfico del papel de las sirtuínas como dianas terapéuticas en enfermedades asociadas al envejecimiento como las enfermedades neurodegenerativas, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, el cáncer, etc.

El presente trabajo pretende profundizar en la relación entre las sirtuínas y las enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento y su posible papel terapéutico, utilizando para ello los artículos científicos publicados hasta el momento en revistas de reconocido prestigio a nivel internacional indexadas en el Science Citation Index (SCI).

## 2. Introducción

### 2.1 Envejecimiento

El envejecimiento, también denominado senescencia, es el conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas que aparecen como consecuencia de la acción del tiempo sobre los seres vivos lo que supone la disminución de la capacidad de adaptación en cada uno de los órganos, aparatos y sistemas así como de la capacidad de respuesta a los agentes lesivos que inciden en el individuo<sup>1</sup>. El envejecimiento comienza en el momento de la concepción, compromete a la diferenciación y maduración del organismo y sus células, conduce a una pérdida progresiva de la capacidad funcional y termina con la muerte. Con los años, se producen alteraciones fisiológicas y estructurales en casi todos los órganos y sistemas. El envejecimiento está influido en gran medida por una serie de factores: factores genéticos, dieta, aspectos sociales y aparición de enfermedades relacionadas con la edad.

Por lo tanto, el envejecimiento puede representar la acumulación progresiva con el paso del tiempo de lesiones subletales que pueden conducir a la muerte celular o a una disminución de la capacidad de la célula para responder a la lesión<sup>2</sup>.

#### 2.1.1 Síntomas del envejecimiento

Se pueden catalogar los cambios que ocurren normalmente con la edad, habiendo diferencias según se trate de países desarrollados o subdesarrollados. Entre los cambios principales que se presentan con el proceso de envejecimiento en los países desarrollados encontramos: pérdida de capacidad auditiva, discapacidad, cataratas, presbicia, disminución de la neurogénesis en el hipocampo, alteraciones del sueño, disminución del tiempo de reacción, disminución de la fuerza muscular, aumento de la grasa corporal a los 60 años, artritis, pérdida dental, mayor necesidad de insulina, reducción de la glándula del timo, aumento de los niveles de anticuerpos, etc.<sup>3</sup>

### 2.1.2 Características del envejecimiento

El envejecimiento se caracteriza por los siguientes determinantes:

- Universal. El envejecimiento afecta a todos los seres vivos y constituye la etapa final de su ciclo vital.
- Progresivo. Es un proceso en el cual es difícil determinar su punto de inicio, pero una vez establecido ocurre de manera progresiva aunque su cinética es variable para cada especie y cada individuo concreto de cada especie.
- Determinado-regulado. Existen dos aspectos fundamentales en el envejecimiento. En primer lugar, la base genética que determina gran parte de este proceso y, por otro, el efecto regulador que el ambiente puede ejercer sobre esta base genética.
- Supresor. Se van perdiendo capacidades que, en última instancia, conducen a un fallo generalizado de la actividad. De forma concomitante al paso de los años, nuestros organismos acumulan alteraciones a nivel molecular, celular, tisular y sistémico que van dificultando la capacidad de adaptación a las variaciones del medio interno y externo (homeostasis-hormesis).
- Irreversible. El envejecimiento no puede ser revertido a fases previas, aunque pueda, hasta cierto punto, ser ralentizado por la aplicación de diversas terapias o técnicas.
- Específico. Cada especie envejece de una forma diferente a las demás. Inclusive hay diferencias intraespecies<sup>4,5</sup>.

### 2.1.3 Envejecimiento y enfermedades asociadas

El envejecimiento *per se* no es una enfermedad, es un periodo del ciclo vital donde hay cierta asociación entre este proceso y un incremento en la incidencia y severidad de las enfermedades. En la tabla 1 se presentan las enfermedades más comunes asociadas al envejecimiento<sup>6</sup>.

<b>Enfermedades asociadas al envejecimiento</b>
Cáncer
Enfermedades neurodegenerativas: <ul style="list-style-type: none"><li>- Alzheimer</li><li>- Parkinson</li><li>- Enfermedad de Huntington</li><li>- Esclerosis múltiple</li><li>- Esclerosis lateral amiotrófica</li><li>- Enfermedad de Kennedy</li></ul>
Diabetes tipo 2
Artritis
Enfermedades cardiovasculares
Osteoporosis
Alteraciones respiratorias
Alteraciones metabólicas

Tabla 1. Principales enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento<sup>7</sup>.

#### **2.1.4 El daño en el ADN nuclear como causa directa del envejecimiento**

Aunque el envejecimiento puede ser consecuencia de un daño en los diversos constituyentes celulares, el mantenimiento imperfecto del ADN nuclear representa probablemente un factor crítico para el envejecimiento. A menos que sea reparado, el daño en el ADN puede conducir a una mutación y/u otras consecuencias celulares y en el organismo que son deletéreas, al ser un constituyente celular sumamente importante que no puede ser sustituido. Daños en el ADN nuclear y en el ADN mitocondrial se ha propuesto que contribuyen al envejecimiento<sup>8</sup>.

Existen muchos factores que dañan el ADN. Además de las fuentes externas, tales como la radiación ionizante y los fármacos genotóxicos, también hay fuentes intrínsecas a las células, tales como los errores de replicación, los cambios químicos espontáneos en el ADN, programas del desarrollo y agentes que dañan el ADN que están normalmente presentes en las células<sup>9</sup>.

#### **2.1.5 Producción de especies reactivas de oxígeno (ROS)**

Entre estos factores que dañan el ADN, se incluyen las especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS puede causar la peroxidación lipídica, daño a proteínas, y varios tipos de lesiones del ADN: daños en una única cadena y en la doble cadena, aductos y entrecruzamientos. Como subproductos normales del metabolismo, las ROS son una fuente potencial de daño crónico y persistente en el ADN de todas las células y puede contribuir al envejecimiento. Los niveles de 8-oxo-2-desoxiguanosina (oxo8dG), un producto importante de daño oxidativo en el ADN, se acumulan con la edad<sup>10</sup>.

#### **2.1.6 Teoría mitocondrial**

El ADN mitocondrial se encuentra cerca de los sitios de producción de radicales libres. De hecho, se estima que el nivel de bases oxidadas en el ADN mitocondrial es unas 10 veces mayor que en el ADN nuclear. Además, el ADN mitocondrial codifica polipéptidos de la cadena de transferencia de electrones así como para componentes requeridos para su síntesis<sup>10</sup>.

Mediante el estudio de Framingham<sup>11</sup> se ha demostrado que la longevidad está más estrechamente relacionada con la edad de la muerte de la madre que la del padre, sugiriendo que la herencia del ADN mitocondrial puede jugar un papel importante en la determinación de la longevidad. Las mutaciones del ADN mitocondrial se acumulan progresivamente durante la vida y son directamente responsables de la deficiencia en la actividad de la fosforilación oxidativa celular, permitiendo incrementar la producción de las ROS. Esto último resulta en un incremento del ratio del daño de ADN y la mutagénesis, provocando el comienzo de un ciclo vicioso con un incremento exponencial del daño oxidativo y de la disfunción que culmina en la muerte. Teniendo en cuenta la importancia primaria de las mitocondrias en el proceso de envejecimiento y en la determinación de la longevidad, se ha documentado que varios mutágenos químicos y carcinógenos lipofílicos tienden al daño mitocondrial del ADN. Se hipotetiza que la exposición a largo plazo a estas toxinas puede provocar una acumulación del daño del ADN mitocondrial y acelerar el envejecimiento<sup>11</sup>.

## 2.2 Sirtuínas

Las sirtuínas son una familia de proteínas histona desacetilasas (HDACs) de clase III dependientes de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>). Las sirtuínas están evolutivamente muy conservadas, presentes en un amplio rango de organismos, desde bacterias hasta mamíferos, que fueron identificadas por primera vez en *Saccharomyces cerevisiae*<sup>12, 13, 14</sup>.

En mamíferos, existen siete sirtuínas, distribuidas de manera diferente en la célula, que han sido relacionadas con una protección contra enfermedades asociadas al envejecimiento como el cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, gracias a una variedad de mecanismos que incluyen la regulación de la respuesta al estrés, la apoptosis y la reparación del ADN<sup>7, 15</sup>. En la tabla 2, se representa la localización subcelular de las sirtuínas de mamíferos, sus acciones catalíticas y los homólogos que tienen. El interés por las sirtuínas en este ámbito ha crecido considerablemente desde que se descubrió que un homólogo de las sirtuínas, Sir2 de la levadura, ralentizaba el proceso de envejecimiento<sup>13</sup>. Muchas evidencias actuales sostienen la idea que la SIRT1 es la sirtuína más importante en la regulación de los cambios fisiológicos asociados al proceso de envejecimiento<sup>14</sup>.

	Enzymatic activity	Homologs	Subcellular localization
SIRT1	Deacetylase	Sir2p ( <i>S. cerevisiae</i> ) Hst1p ( <i>S. cerevisiae</i> ) SIR-2.1 ( <i>C. elegans</i> ) dSIR2 ( <i>D. melanogaster</i> )	Nuclear, cytoplasmic
SIRT2	Deacetylase	Hst2p ( <i>S. cerevisiae</i> ) SIRT2 ( <i>D. melanogaster</i> )	Cytoplasmic, nuclear
SIRT3	Deacetylase	SIRT2 ( <i>D. melanogaster</i> )	Mitochondrial
SIRT4	ADP-ribosyltransferase	SIR-2.2 ( <i>C. elegans</i> ) SIR-2.3 ( <i>C. elegans</i> ) SIRT4 ( <i>D. melanogaster</i> )	Mitochondrial
SIRT5	Deacetylase		Mitochondrial
SIRT6	ADP-ribosyltransferase	SIR-2.4 ( <i>C. elegans</i> )	Mitochondrial, nuclear
	Deacetylase	SIRT6 ( <i>D. melanogaster</i> )	
SIRT7	Deacetylase	SIRT7 ( <i>D. melanogaster</i> )	Nucleolar

Tabla 2. Localización subcelular, acciones catalíticas y homólogos de las sirtuínas de mamíferos<sup>13</sup>.

### 2.2.1 Mecanismo de acción de las sirtuínas

El factor principal que distingue las sirtuínas de otras HDACs es que las sirtuínas requieren NAD<sup>+</sup> para llevar a cabo la reacción de desacetilación<sup>14</sup>. La mayoría de las sirtuínas catalizan la hidrólisis de un enlace amida transfiriendo el grupo acetilo a la ribosa del NAD<sup>+</sup> obteniéndose los productos de reacción siguientes: lisina desacetilada, nicotinamida y 2'-O-acetil-ADP-ribosa (OAADPr)<sup>9</sup>.

Algunas sirtuínas catalizan otro tipo de reacciones además de la desacetilación. La SIRT1 es una desacetilasa NAD<sup>+</sup> dependiente, mientras que la SIRT4 cuenta con actividad ADP-ribosiltransferasa<sup>16, 17</sup>. Por su parte, las SIRT2, SIRT3 y SIRT6 cuentan tanto con actividad desacetilasa como ADP-ribosiltransferasa<sup>18, 19, 20</sup>. SIRT5 cuenta con una baja eficiencia como desacetilasa pero en trabajos recientes se ha demostrado que tiene actividad desmalonilasa y desuccinilasa NAD-dependiente<sup>21</sup> (ver figura 1).

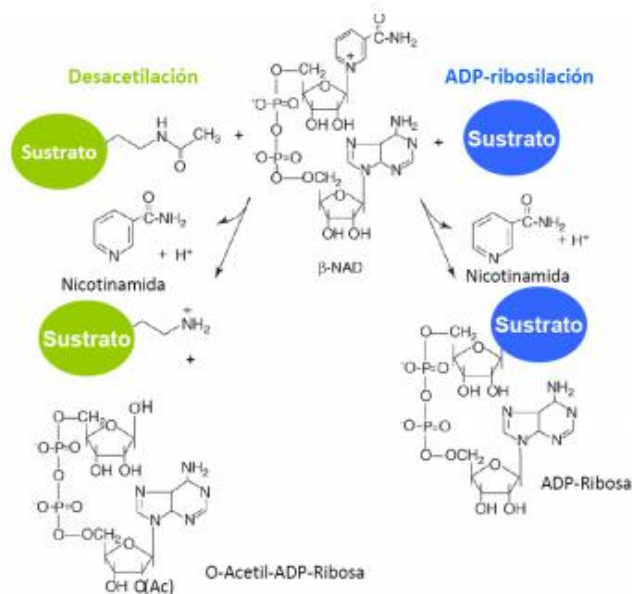


Figura 1. Esquema de las reacciones típicas catalizadas por las sirtuínas. Dependiendo del tipo de sirtuína, pueden catalizar la desacetilación de proteínas acetiladas y/o catalizar la ADP-ribosilación de proteínas<sup>23</sup>.

## 2.2.2 Implicaciones terapéuticas de las sirtuínas

Muchas investigaciones actuales han demostrado que las sirtuínas pueden desempeñar un papel terapéutico en muchas patologías asociadas al envejecimiento. Entre ellas encontramos el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, la diabetes, etc<sup>24</sup>.

El cáncer es el crecimiento descontrolado de células anormales en el cuerpo. El envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo del cáncer, sugiriendo que existen nexos moleculares entre el envejecimiento y la tumorigénesis.<sup>7</sup>

Entre las enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad se incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Parkinson (EP), la enfermedad de Huntington (EH), la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), la esclerosis múltiple (EM), la atrofia muscular espinobulbar (SBMA), etc<sup>22,25</sup>.

La EA es una patología progresiva y degenerativa que causa daño neurológico y atrofia cerebral con la resultante pérdida de memoria, disfunción cognitiva y funcional y la muerte. Es el desorden neurodegenerativo más común. Las características distintivas de la EA son las placas neuríticas, cuyo componente principal es la proteína  $\beta$ -amiloide, y las redes neurofibrilares<sup>22, 25</sup>.

Por otra parte, la EP es la segunda enfermedad neurodegenerativa más común, caracterizada por trastornos del movimiento que provoca daño y destrucción de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra. La degeneración neuronal engloba la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo, la inflamación y la agregación de proteínas. Los cuerpos de Lewy, que contienen agregados de  $\alpha$ -sinucleína, se encuentran en todas las formas de la EP<sup>22, 25</sup>.



Por su parte, la EH es un desorden neurodegenerativo autosómico dominante caracterizado por una disfunción motora, cognitiva y conductual. Está causada por la expansión inestable de repeticiones de CAG en la región codificante del gen de la huntingtina IT15, que genera un tramo de residuos de glutamina que abarcan el extremo N-terminal de la proteína huntingtina (HTT). En general, los individuos con más de 40 repeticiones tienen riesgo de padecer esta enfermedad a medida que envejecen<sup>22, 25</sup>.

La ELA es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la vulnerabilidad selectiva de las neuronas motoras en la médula espinal, el tronco cerebral y la corteza motora causando debilidad muscular progresiva, atrofia, parálisis y disfunción bulbar lo que conduce a la muerte dentro de los 2-5 años después del diagnóstico en la mayoría de los casos<sup>12,25</sup>. Aunque la patogénesis de la ELA no se conoce completamente, existe una evidencia sustancial que sostiene la hipótesis que el estrés oxidativo puede ser verdaderamente la razón de la muerte de las neuronas motoras. La disfunción mitocondrial y la neuroinflamación también están implicadas en la patogénesis de la ELA. Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) y en particular el PPAR $\gamma$ , pueden formar parte de la principal vía de señalización implicada en la neuroinflamación en la ELA. La activación o la inactivación de PPAR $\gamma$  podría proporcionar un enfoque viable y prometedor para la comprensión del mecanismo de la neuroinflamación en la ELA<sup>12, 22,25</sup>.

La SBMA, también conocida como la enfermedad de Kennedy, es una enfermedad neurodegenerativa progresiva lenta que afecta las neuronas sensoriales y motoras. La SBMA es un desorden caracterizado por la repetición de poliglutamina causada por la expansión de repeticiones del trinucleótido CAG en la región N-terminal del receptor de andrógenos. Este desorden causa debilidad muscular en los hombres entre los 30 y los 50 años y también está asociado con problemas endocrinos que incluyen la atrofia muscular, la infertilidad y la ginecomastia, debido a la insensibilidad androgénica. La cirugía o la reducción farmacológica de testosterona han mostrado mejorar el fenotipo de SBMA en modelos animales<sup>25</sup>.

La EM es un desorden neurológico muy severo que implica inflamación en múltiples centros a lo largo del sistema nervioso central. El mecanismo patogénico de MS está considerado como una desmielinización autoinmune, lo que deja vulnerables a los axones. La esclerosis múltiple de recaída-remisión (RRMS), que representa la forma más común de la enfermedad, está marcada por episodios intermitentes de disfunción neurológica focal<sup>22</sup>.

Entre los trastornos metabólicos asociados al envejecimiento se encuentra la diabetes tipo 2 caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre debido a la resistencia insulínica y la deficiente secreción de la insulina por el páncreas<sup>26</sup>.

### 2.3 Resveratrol y sirtuínas

El resveratrol es un polifenol descubierto en 1940 que se encuentra fundamentalmente en las uvas y en el vino tinto<sup>27</sup>, y puede prevenir la progresión de varias enfermedades como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la artritis, la enfermedad de Crohn, la psoriasis y el derrame cerebral, además de alargar la vida en varios organismos desde la levadura a los vertebrados<sup>28</sup>. Sin embargo, el mecanismo por el cual el resveratrol ejerce sus efectos beneficiosos no está claro aunque al parecer sus beneficios son el resultado de la activación de la SIRT1<sup>27,28</sup>. Así pues,

con el objetivo de investigar los efectos potenciales del resveratrol a través de la activación de la SIRT1, se analizaron los efectos del resveratrol y la inhibición de la SIRT1 por la nicotinamida en un modelo de cultivo celular de la ELA transfectando las células VSC4.1 con el vector mutante hSOD1<sup>G93A</sup>. Se demostró que el tratamiento con 10 µM de resveratrol durante 24 horas incrementaba la expresión de la SIRT1 mientras que el pretratamiento con 10 mM de nicotinamida redujo este efecto (Figura 2)<sup>27</sup>.

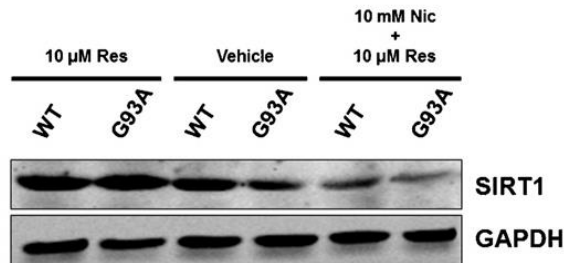


Figura 2. El tratamiento con 10 µM de resveratrol incrementa la expresión de SIRT1 en las células VSC-4.1-Hsod1<sup>G93A</sup> mientras que el pretratamiento con 10mM de nicotinamida reduce la expresión de SIRT1<sup>27</sup>.

## 2.4 Restricción calórica y sirtuínas

La esperanza de vida de muchos organismos aumenta al ser sometidos a dietas restringidas en calorías dentro de unos parámetros saludables<sup>29</sup>. En 1935, se publicó el primer trabajo donde se sometía a ratas a restricción calórica y se observó que la esperanza media de vida aumentó<sup>30</sup>. Estudios posteriores demostraron que la restricción calórica además de aumentar la esperanza de vida en una gran variedad de organismos (levaduras, moscas, gusanos y peces) también retardaba su envejecimiento<sup>29</sup>. Además, se ha demostrado que la restricción calórica impide o atenúa la gravedad de algunas enfermedades crónicas como la obesidad, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, el efecto de la restricción calórica en la longevidad de los seres humanos es muy difícil de determinar pero algunos datos epidemiológicos sugieren que la restricción calórica tiene efectos beneficiosos en los seres humanos con respecto a enfermedades asociadas a la vejez así como en la prolongación de la esperanza de vida<sup>30</sup>. Muchas evidencias avalan la idea que la restricción calórica activa a las sirtuínas ya que en esta situación, el metabolismo anaerobio se ve reducido mientras que el aerobio se ve incrementado. Este incremento del metabolismo aerobio aumenta el ratio NAD<sup>+</sup>/NADH, lo que promueve la actividad de las sirtuínas<sup>31</sup> (ver figura 3).

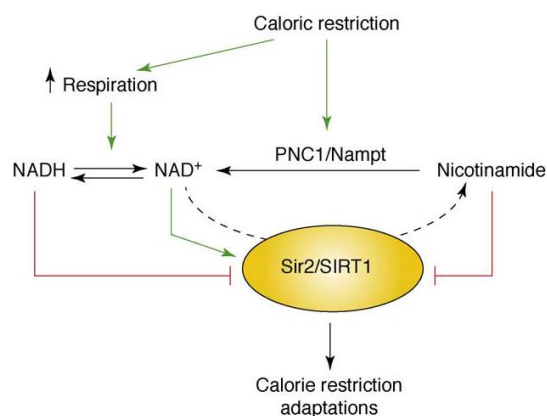


Figura 3. Durante la restricción calórica, se incrementa la actividad de la SIRT1. La restricción calórica conduce a un incremento en la expresión de pirazinamidasa nicotinamidasa-1/Nicotinamida fosforribosiltransferasa (PNC1/Nampt), que favorece la resíntesis de NAD<sup>+</sup><sup>31</sup>.

### 3. Materiales y métodos

Para la búsqueda de artículos de revisión sobre el envejecimiento y las sirtuínas se ha utilizado la base de datos científica *Pubmed*. Para hacer una primera aproximación al tema se han buscado revisiones publicadas hasta la fecha acotando los años a artículos publicados desde el año 2001 hasta la actualidad. Las palabras clave utilizadas para esta aproximación y los resultados obtenidos se esquematizan en la tabla 4.

Palabras clave	Número de entradas
<b>Sirtuins aging review</b>	378
<b>Sirtuins review</b>	723
<b>Sirtuins and diseases review</b>	409
<b>Sirtuins and aging diseases review</b>	232
<b>Sirtuins and aging-associated diseases review</b>	9

Tabla 4. Palabras clave utilizadas en la base de datos *Pubmed* y el número de entradas obtenidas con el objetivo de hacer una primera aproximación del tema.

Se puede apreciar como el número de entradas se ha reducido al incrementar el número de palabras clave. Cabe resaltar que ha habido un cierto grado de solapamiento entre los artículos encontrados en cada búsqueda, de aproximadamente un 45%.

En un segundo paso, con el objetivo de hacer una búsqueda más exhaustiva sobre el tema, las palabras clave utilizadas han sido entre otras “sirtuins as therapeutic target” obteniendo 228 entradas. En la tabla 5 se representan las palabras clave y el número de entradas. De todos estos artículos se han seleccionado y revisado un total de 54.

Palabras clave	Número de entradas
<b>Sirtuins as therapeutic target</b>	228
<b>Sirtuins and cancer</b>	865
<b>Sirtuins and diabetes</b>	393

Tabla 5. Palabras clave utilizadas en la base de datos *Pubmed* y el número de entradas obtenidas con el objetivo de hacer una búsqueda más exhaustiva.

Posteriormente se buscaron experimentos realizados para conocer el diseño experimental seguido en los diferentes estudios. El siguiente artículo se ha optado por tomarlo de referencia: Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J.* 2007;26(13):3169-3179 ya que se consideran dos de las enfermedades relacionadas con el envejecimiento y como la SIRT1 puede ser una posible diana terapéutica.

En una noticia publicada en la web de la Sociedad Española de Medicina Estética, se hablaba de un artículo publicado en la revista Cell sobre la restricción calórica y el envejecimiento (publicado por el equipo de Tomas A.Prolla) y se procedió a su búsqueda en el buscador de la revista Cell utilizando las siguientes palabras clave y obteniendo los siguientes resultados:

Palabras clave	Número de entradas	Seleccionadas
<b>Tomas A. Prolla</b>	86	4
<b>Sirtuins and aging</b>	247	2
<b>Sirtuins as therapeutic target in cáncer</b>	148	6

Tabla 6. Palabras clave utilizadas en el buscador de la revista Cell, número de entradas obtenidas y entradas seleccionadas.

Cabe destacar que el término “sirtuins” comienza a aparecer en el año 1994 en la base de datos Pubmed, y a partir de ese año va creciendo el interés en ellas aumentando considerablemente los artículos en los cuales aparecen estas proteínas. En la figura 4 se muestra el número de artículos que incluyen la palabra “sirtuins” a partir del año 1994 hasta el año 2013.

El gestor de referencias bibliográficas utilizado ha sido Endnote. Algunos de los artículos no se encontraban en la base de datos y han sido introducidos manualmente en Endnote.

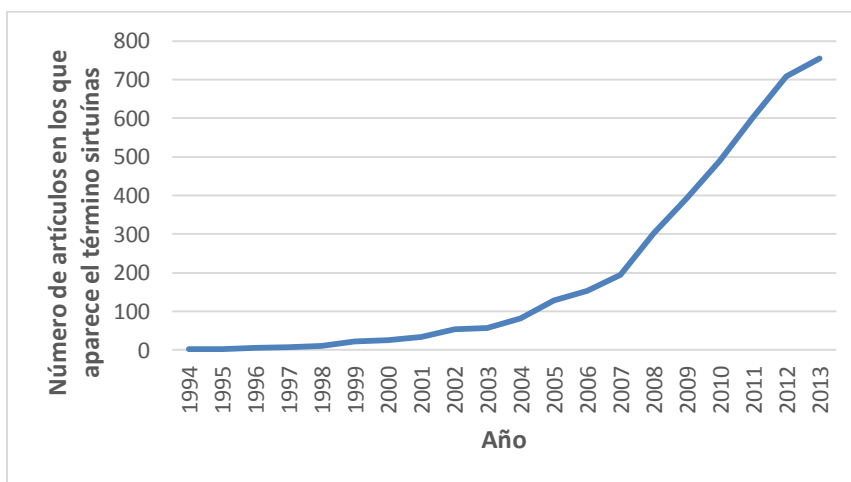


Figura 4. Artículos en los cuales aparece la palabra “sirtuins” a partir del año 1994 hasta el 2013 en la base de datos Pubmed.

## 4. Resultados y discusión

Hasta la fecha, la mayoría de las sirtuínas estudiadas en el contexto de la neurodegeneración son las sirtuínas 1 y 2. Las evidencias sugieren que estas sirtuínas pueden desempeñar diferentes papeles en la neurodegeneración, con diferentes dianas proteicas, y tienen diferentes

potenciales para el desarrollo de aplicaciones terapéuticas. Adicionalmente, como va creciendo el conocimiento de los roles que las sirtuínas mitocondriales (SIRT3, SIRT4, SIRT5) desempeñan en la regulación metabólica y la adaptación, también lo hace su potencial como dianas terapéuticas en el sistema nervioso<sup>22</sup>.

A continuación, se discuten los efectos de las sirtuínas en los resultados de una serie de trastornos neurológicos importantes como la ED, la EP, la EH, la ELA y la EM.

#### 4.1 Enfermedad de Alzheimer

La idea que las sirtuínas puedan tener un papel protector contra la EA resulta de los estudios de restricción calórica (RC), donde la RC reduce la generación de la proteína beta-amiloide y las placas de beta-amiloide en ratones transgénicos con la EA. La RC mediada por la expresión de la SIRT1 parece que reduce la generación de la proteína beta-amiloide a través de mecanismos que favorecen la  $\alpha$ -secretasa<sup>22, 32,33</sup>. Por ejemplo, la SIRT1 inhibe la expresión de la serina/treonina de las Rho quinasa (ROCK1), una proteína conocida por inhibir la  $\alpha$ -secretasa<sup>34</sup>.

Otro estudio demuestra que la SIRT1 desacetila y activa el receptor  $\beta$  del ácido retinoico (RAR $\beta$ ), estimulando la expresión de ADAM10, una proteasa anclada a la membrana que pertenece a la familia de las metaloproteasas y disintegrinas y que está implicada en la escisión de la  $\alpha$ -secretasa de APP<sup>35</sup>.

Además, para reducir las placas de la proteína beta-amiloide, SIRT1 también puede afectar la patología de las redes neurofibrilares. Un evento temprano mediado por p-300, que precede a la acumulación de las redes neurofibrilares, es la acetilación de tau, que ralentiza su degradación inhibiendo la ubiquitación. Diversos estudios han demostrado que la actividad de SIRT1 puede reducir el nivel de acetilación de tau, promoviendo así su degradación y holgura<sup>36</sup>.

En un estudio de 2007: *SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis* (referencia 37) se hipotetizó que los niveles de la SIRT1 podían disminuir la neurodegeneración. Para demostrarlo, se examinaron los niveles de SIRT1 en varios modelos de ratón a los cuales se les sobreexpresó un coactivador tóxico de CDK5 (quinasa 5 dependiente de la ciclina), p25, que provoca una degeneración masiva del prosencéfalo con características de la EA. Se utilizó una muestra de 9 ratones y se vio que en el prosencéfalo de éstos, los niveles de SIRT1 se incrementaron dos semanas después de la inducción de p25 y persistieron durante la progresión de la patología (ver figuras 5 y 6).

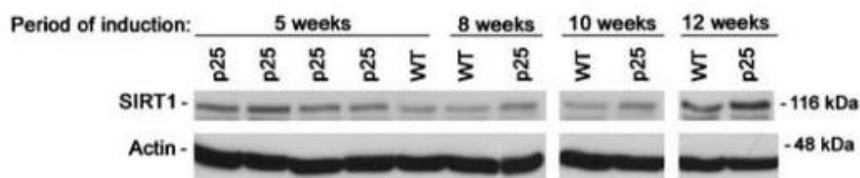


Figura 5. Sobreexpresión de la SIRT1 en ratones transgénicos p25 durante una neurodegeneración progresiva (después de 2-12 semanas de inducción)<sup>37</sup>.

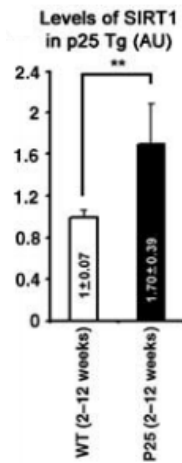


Figura 6. Cuantificación de los niveles de SIRT1 en ratones p25 transgénico <sup>37</sup>.

Para verificar directamente el papel protector de SIRT1 en la neurodegeneración, transfectaron neuronas primarias con p25-GFP, con la actividad catalítica de la SIRT1 o carente de ella (H363Y) (ver figura 7). La morfología de las neuronas p25-GFP/SIRT1-sobreexpresada aparecen normales e indistinguibles de las neuronas control GFP transfectadas. Este efecto protector era poco probable que fuera un efecto de SIRT1 sobre la estabilidad de p25-GFP, porque se detectaron niveles similares de p25-GFP en la presencia o ausencia de la sobreexpresión de SIRT1 en las células CAD (ver figura 8)<sup>37</sup>.

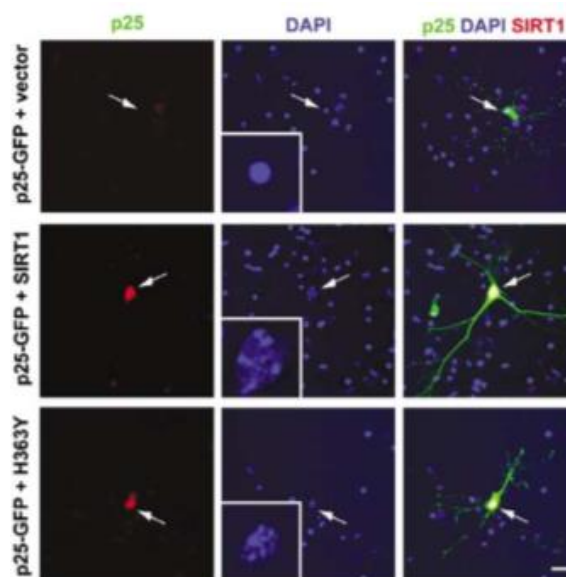


Figura 7. Efectos de la sobreexpresión de la SIRT1 y la SIRT1 sin actividad catalítica desacetilasa (H363Y) sobre la toxicidad GFP p23<sup>37</sup>.

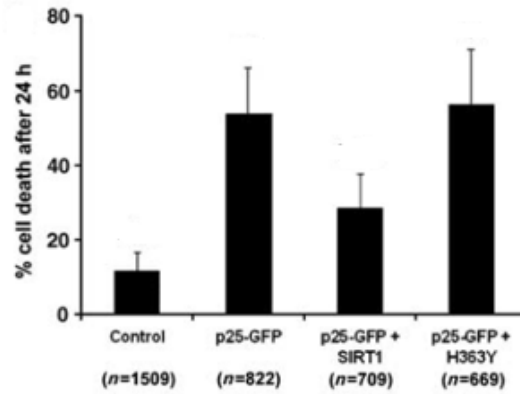


Figura 8. Cuantificación de la muerte cerebral en las neuronas que expresan p25-GFP con expresión de SIRT1 o no (H363Y)<sup>37</sup>.

Finalmente, para averiguar el papel de la SIRT1 en la neuroprotección in vivo, se introdujeron lentivirus con SIRT1 o un virus control en el hipocampo de los ratones p25. En general, los ratones a los cuales se les inyectó el lentivirus presentaban un mayor número de neuronas que los tratados con un virus control (ver figura 9). Estos resultados demuestran que la SIRT1 puede tener un papel neuroprotector in vivo<sup>37</sup>.

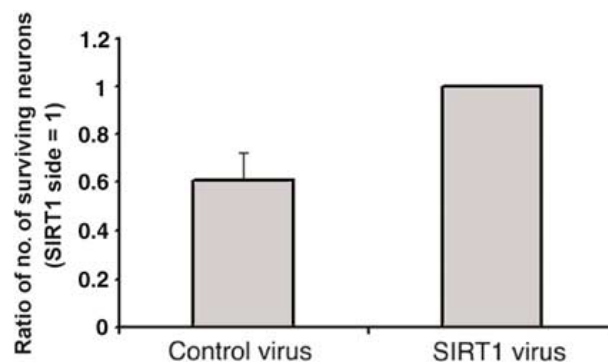


Figura 9. La expresión de la SIRT1 previene la neurodegeneración en los ratones p25. Los ratones a los cuales se les inyectó el virus control presentan menos neuronas que a los que se les inyectó el virus con SIRT1<sup>37</sup>.

## 4.2 Enfermedad de Parkinson

Como en la EA, la RC ha mostrado protección en modelos animales de la EP. En los monos *Rhesus*, la RC ha disminuido la vulnerabilidad de la neurona dopaminérgica nigroestriatal a la neurotoxina 1-metil-4-fenil-1, 2, 3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Por otra parte, los ratones sujetos a RC o a 2-desoxi-D-glucosa exhiben la reducción del daño de la neurona dopaminérgica en la sustancia negra y mejora los resultados al seguir un tratamiento con MPTP<sup>22, 38, 39</sup>.

En otro estudio, donde se quería comprobar si la SIRT1 podía proteger contra los agregados de  $\alpha$ -sinucleína, se utilizaron modelos de ratón que expresaban el gen de la  $\alpha$ -sinucleína humano con la mutación A53T (A53T), que causa el comienzo del Parkinson familiar, y ratones A53T que sobreexpresaban la SIRT1 (A53T-Tg). Los agregados de  $\alpha$ -sinucleína aparecían a los 2,5-3 meses de edad. La esperanza de vida de los ratones A53T-Tg aumentó significativamente en comparación con los ratones A53T (ver figura 10). Además cuando se analizaron los agregados

de  $\alpha$ -sinucleína por inmunotinción, se observó una disminución de estos agregados en los ratones A53T-Tg en comparación con los A53T (ver figura 11).

En resumen, este estudio demostró que la SIRT1 protege contra los agregados de la  $\alpha$ -sinucleína. Así pues, fármacos que activen la SIRT1 puede ser efectivos para mitigar la progresión de los agregados de  $\alpha$ -sinucleína<sup>40</sup>.

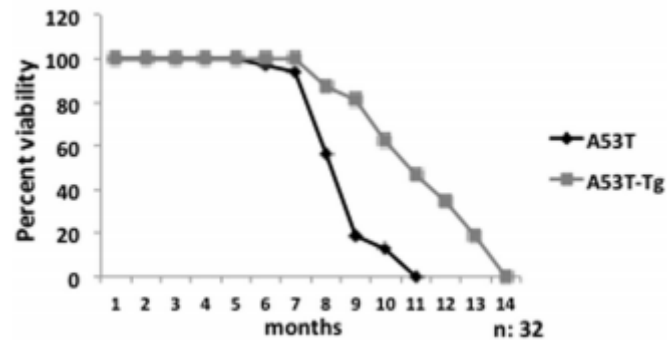


Figura 10. Análisis de la supervivencia de los ratones A53T y A53T-Tg<sup>40</sup>.

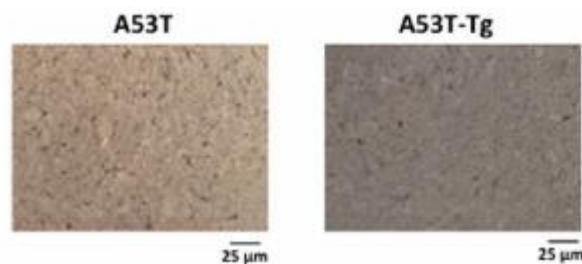


Figura 11. Inmunotinción de los agregados de  $\alpha$ -sinucleína en secciones corticales de ratones A53T y A53T-Tg de 3 meses de edad<sup>40</sup>

Sin embargo, en contraste a lo expuesto anteriormente, otros investigadores demostraron que la sobreexpresión de SIRT1 en ratón no es suficiente para proteger contra el daño neuronal inducido por isquemia o MPTP<sup>41</sup> y otro estudio demostró que la inhibición de la SIRT1 atenúa la apoptosis inducida por MPP en la línea celular dopaminérgica SH-SY5Y<sup>42</sup>.

Por otra parte, la SIRT2 también se ha identificado como diana terapéutica en la EP. El estudio más relevante muestra que la inhibición de la SIRT2 disminuye la toxicidad de la  $\alpha$ -sinucleína en células de neuroglía humanas (H4) cotransfectadas con ARN pequeño de interferencia (siRNA) tal como muestra la figura 29. Para demostrar que la SIRT2 puede ser una posible diana terapéutica para la EA, se transfectaron células H4 con  $\alpha$ -sinucleína y se trataron con AGK2, AK-1, AGK7 y DMSO (posibles inhibidores de la SIRT2). AGK2 y AK-1 disminuyeron la toxicidad causada por  $\alpha$ -sinucleína mientras que AGK7 no tuvo efecto (ver figura 12). Cabe destacar que el mecanismo por el cual la inhibición de la SIRT2 afecta a los agregados de  $\alpha$ -sinucleína no está claro. Una posibilidad es que el incremento en la acetilación de la  $\alpha$ -tubulina provocado por la inhibición de la SIRT2 pueda estimular la agregación de  $\alpha$ -sinucleína<sup>43</sup>.



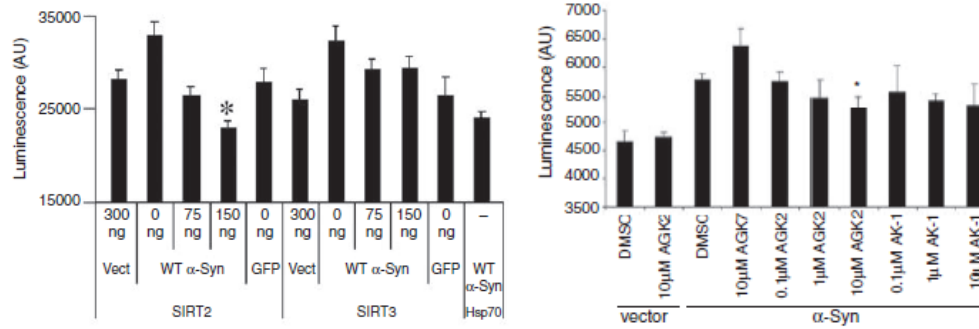


Figura 12. En la figura de la izquierda se muestra que la inhibición de la SIRT2 modula la toxicidad de la  $\alpha$ -sinucleína. La toxicidad de la  $\alpha$ -sinucleína es disminuida por el ARN pequeño de interferencia (siRNA) de la SIRT1 y la sobreexpresión de Hsp70 pero no con el siRNA de SIRT3 in vitro. En la figura de la derecha se muestra que AGK2 reduce la toxicidad de la  $\alpha$ -sinucleína de una manera dosis dependiente. El compuesto AGK7 no tiene efecto y el compuesto AK-1 no es dosis dependiente <sup>43</sup>.

### 4.3 Enfermedad de Huntington

El primer estudio que conecta la SIRT1 y la HD muestra que la sobreexpresión de Sir2 o el tratamiento con resveratrol puede mejorar la disfunción neuronal en *Caenorhabditis elegans*<sup>22, 44</sup>.

Por otra parte, un modelo de *Drosophila melanogaster*, Httex1p Q93, ha sido muy utilizado para estudiar los efectos de varios fármacos en la patogénia de la HD. Uno de los estudios más relevantes que utilizaba este modelo, investigaba el potencial del ortólogo de la SIRT1 (Sir2) descubriendo que los heterocigotos para Sir2 tenían una supervivencia mayor que los animales con dosis Sir2 normales tal como muestra la figura 13 A. Además, al investigar el número de neuronas fotorreceptoras (que es una medida de la pérdida neuronal), se descubrió que la pérdida del 50% de la Sir2 conducía a una mejora, ya que se expresaba un gen mutante del gen de la huntingtina (Htt) (ver figura 13 B). También se estudió el impacto del ortólogo de la SIRT2 y SIRT3, Sirt2, en la patogénia de esta enfermedad y los resultados mostraron que la reducción de los niveles de Sirt2 en *Drosophila* conduce a una mayor supervivencia de las neuronas fotorreceptoras (ver figura 13 C). Este estudio también es interesante ya que descubrieron que si se combina la inhibición de varios tipos de desacetilasas de histonas (HDAC), como la de clase I (Rdp3) y la de clase III (las sirtuínas, en especial el ortólogo de la SIRT1, Sir2), conduce a una menor degeneración neuronal además de disminuir la letalidad (ver figuras 14 A y B)<sup>45</sup>.

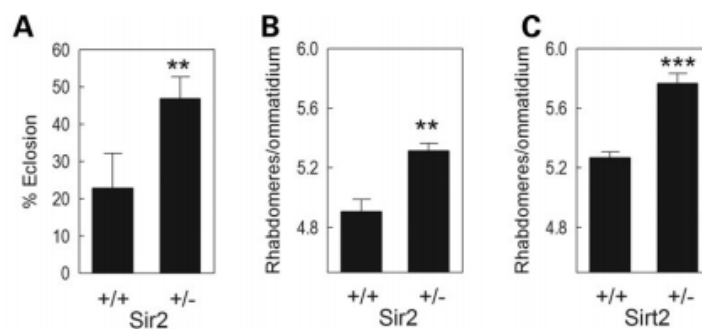


Figura 13. Los niveles reducidos de sirtuínas son neuroprotectores. Un 50% de reducción de Sir2 conduce a A) una mayor supervivencia en la edad adulta B) un incremento del número de neuronas fotorreceptoras en las moscas que

expresan *Httex1p Q93 C*) La pérdida heterocigota de *Sir2* también reduce la supervivencia de las neuronas fotorreceptoras<sup>45</sup>.

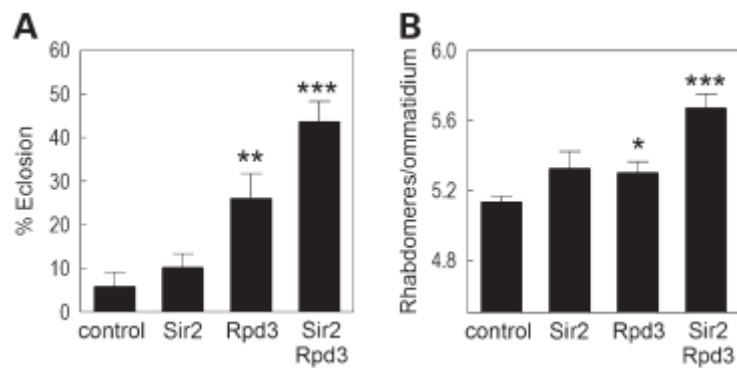


Figura 14. La combinación de la reducción de *Rpd3* y *Sir2* incrementa la neuroprotección en las moscas *Httex1p Q93*. A) la reducción de *Rpd3* o *Sir2* en heterocigotos es protector. La supervivencia de las moscas control se incrementa cuando se combina *Sir2* y *Rpd3*. B) los niveles de neuroprotección en las moscas *Httex1p Q93* también aumentan significativamente con la reducción de *Rpd3* y *Sir2* comparado con los mutantes simples<sup>45</sup>.

La inhibición de la SIRT2 también se ha visto que ejerce protección en unos modelos neuronales primarios de la EH. Esta protección se atribuye a la reducción en los agregados mutantes de huntingtina y la disminución de la biosíntesis de colesterol, una vía que está desregulada en los pacientes con EH y en los modelos de la EH de ratón<sup>46</sup>.

En contraste a esto, estudios relativos a la reducción SIRT2 en ratones knockout R6/2 no resultaron ser neuroprotectores, no afectaron a la agregación de poliglutamina o la biosíntesis de colesterol<sup>22</sup>.

#### 4.4 Esclerosis múltiple

La neuritis óptica es una desmielinización inflamatoria del nervio óptico que suele afectar a los pacientes con EM y se desarrolla con pérdida de las células ganglionares de la retina (RGCs). Los autores del artículo más relevante sobre el papel terapéutico de las sirtuínas en la EM, examinaron los efectos neuroprotectores en la neuritis óptica de dos activadores de la SIRT1, SRT647 y SRT501. Tras la inyección intravítrea de estos activadores de la SIRT1, se vio que disminuía la pérdida de las RGCs de manera dosis dependiente (ver figuras 15 y 16)<sup>47</sup>.

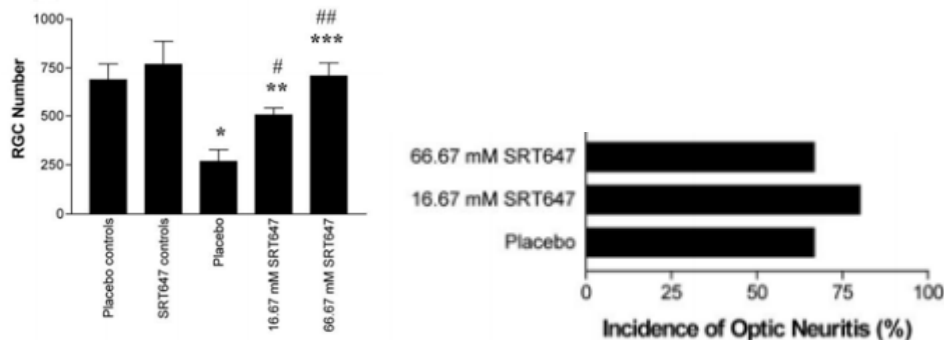


Figura 15. SRT647 atenúa la pérdida de RGC de una manera dosis dependiente. En la figura de la derecha se presenta la incidencia de la neuritis óptica<sup>47</sup>.

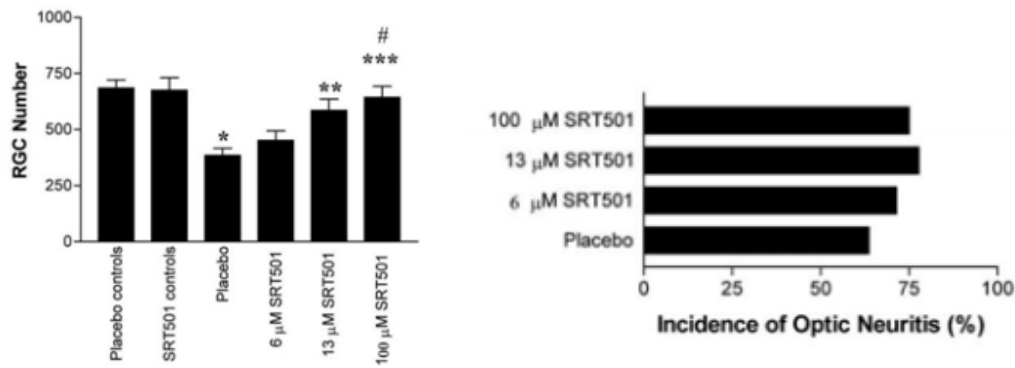


Figura 16. SRT501 reduce la pérdida de RGC de una manera dosis dependiente. En la figura de la derecha se presenta la incidencia de la neuritis óptica<sup>47</sup>.

Contrariamente a este artículo, un estudio reciente ha demostrado que la inactivación de la SIRT1 incrementa la producción de oligodendrocitos en el cerebro y puede mejorar la remielinización y retrasar la parálisis en el modelo de ratón encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE), el más utilizado en la EM (ver figura 17)<sup>22,48</sup>.

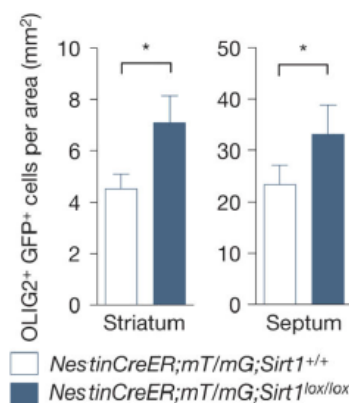


Figura 17. La inactivación de la SIRT1 conduce a una mayor producción de OLIG2<sup>+</sup><sup>48</sup>.

#### 4.5 Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)

En uno de los estudios más significativos de la ELA, se utilizó un modelo de ratón transgénico que expresaba una forma mutante del superóxido dismutasa 1 (SOD1G37R) que ha sido relacionado con la ELA humana ya que exhibe una degeneración de los axones y de las neuronas motoras en la médula espinal y se descubrió que en la médula espinal de estos ratones, la SIRT1 aumentó ligeramente a los cuatro meses (una etapa que presenta degeneración limitada). Sin embargo, los niveles de SIRT1 aumentaron significativamente cuando la neurodegeneración se hizo más severa a los 10-12 meses tal como muestran las figuras 18 y 19<sup>37</sup>.

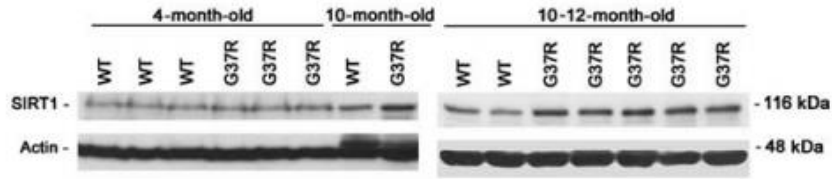


Figura 18. El incremento progresivo de SIRT1 en el mutante SOD1G37R alcanzando un máximo en la etapa de la neurodegeneración masiva. (10-12 meses)<sup>37</sup>.

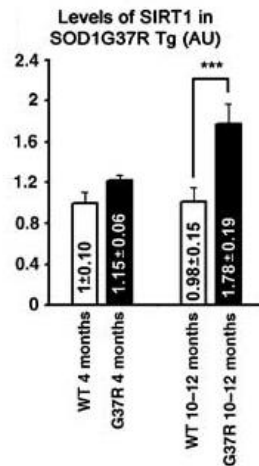


Figura 19. Cuantificación de los niveles de SIRT1 en el modelo de ratón SOD1G37R<sup>37</sup>.

Además, una infección mediada por un lentivirus junto con la sobreexpresión de SIRT1 puede proteger a las neuronas primarias que expresan una SOD mutante tóxica. Para verificar directamente el papel protector de la SIRT1 en la neurodegeneración, se transfectaron neuronas primarias con SOD1G93A con una SIRT1 con actividad catalítica o carente de ella (H363Y). Se demostró que la sobreexpresión de SIRT1, pero no la de H363Y, protege contra la toxicidad de SOD1G93A. Esto indica que los niveles incrementados de SIRT1 en neuronas primarias confieren protección contra la neurotoxicidad inducida por el mutante SOD1. El descubrimiento que el mutante H363Y no confiere protección demuestra que la actividad desacetilasa de la SIRT1 se requiere para la neuroprotección (ver figuras 20 y 21)<sup>37</sup>.

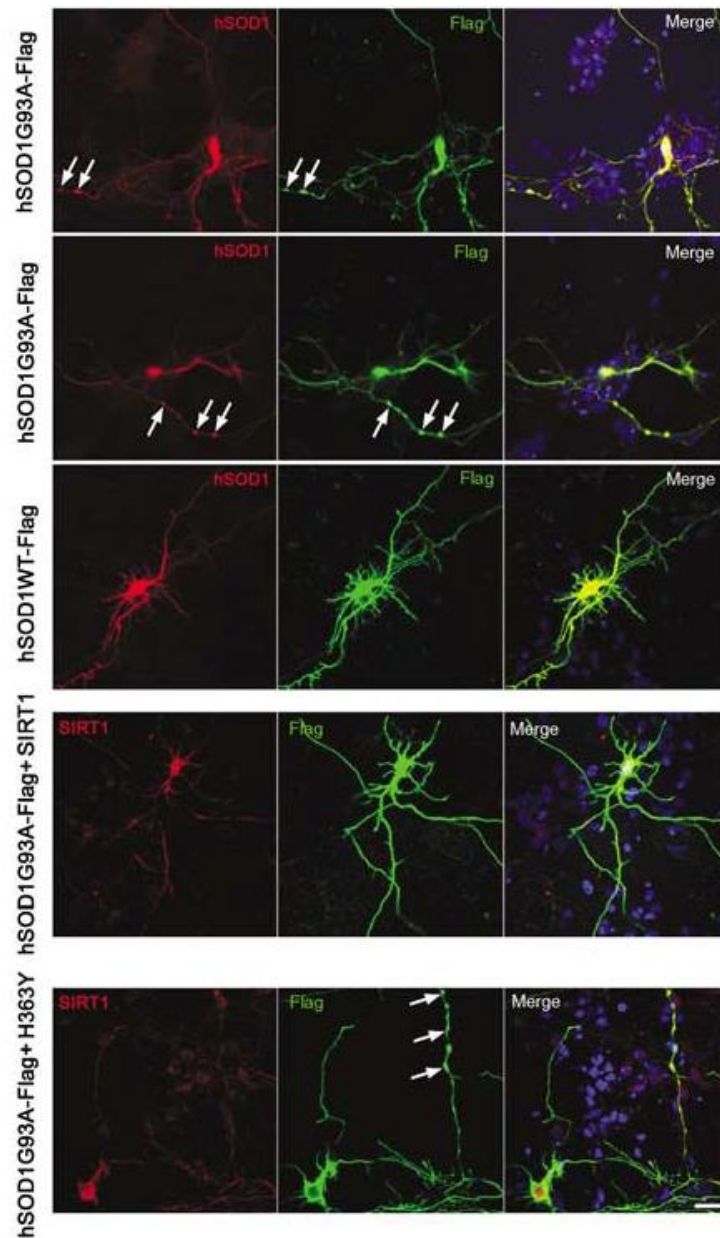


Figura 20. La sobreexpresión de la SIRT1 protege contra la toxicidad del mutante SOD1. En la imagen se representan los efectos de la sobreexpresión de la SIRT1 o H363Y en la toxicidad de SOD1G93A. Las flechas indican los agregados de SOD1 detectados con Ab FLAG. El wild type SOD1 no es tóxico<sup>37</sup>.

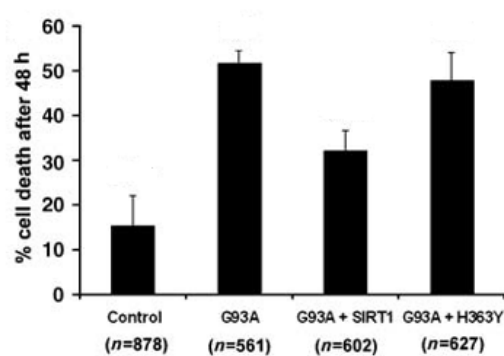


Figura 21. Cuantificación de la muerte celular en SOD193A y el wild type SOD1 (expresión de neuronas con o sin la expresión ectópica de SIRT1 o H363Y<sup>37</sup>).

Cabe resaltar que la SIRT3 también ha sido identificada como una diana terapéutica en la ELA. SIRT3 juega un papel importante en la defensa celular de las ROS y en el metabolismo energético mitocondrial y está regulada por PGC-1 $\alpha$ , que estimula la biogénesis mitocondrial y está asociado con la supresión de las ROS y la neuroprotección. SIRT3 y PGC-1 $\alpha$  previenen la fragmentación mitocondrial y la muerte celular en el mutante SOD1<sup>G93A</sup>. Se detectó actividad desacetilasa disminuida en la médula espinal de ratones con la ELA en comparación con los no transgénicos. Para investigar si la SIRT3 podía restablecer la fisión mitocondrial en las neuronas SOD1<sup>G93A</sup>, se evaluó la morfología mitocondrial después de la expresión exógena de SIRT3. Análisis cuantitativos indicaron que el mutante SOD1<sup>G93A</sup> se reduce con la co-expresión de SIRT3, es decir, la expresión de SIRT3 protege a las neuronas de la muerte celular inducida por SOD1<sup>G93A</sup>. Estos datos sugieren que la SIRT3 proporciona neuroprotección contra la toxicidad inducida por SOD1<sup>G93A</sup> promoviendo la dinámica mitocondrial (ver figura 22)<sup>49</sup>.

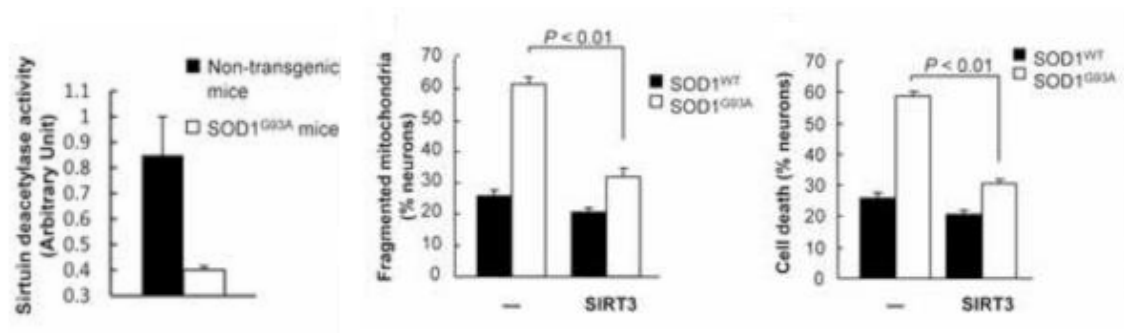


Figura 22. La actividad desacetilasa de la sirtuina en la médula espinal de los ratones SOD1<sup>G93A</sup> transgénicos y los no transgénicos. En la figura del centro, se ve la fragmentación mitocondrial de las neuronas que expresan DsRed2-Mito y SOD1<sup>WT</sup> o SOD1<sup>G93A</sup> sólo o en combinación con SIRT3. Finalmente, se ve la muerte celular de las neuronas corticales que expresan DsRed2-Mito y SOD1<sup>WT</sup> o SOD1<sup>G93A</sup> sólo o en combinación con SIRT3<sup>49</sup>.

El mecanismo fundamental de esta neuroprotección no se conoce con exactitud, aunque parece ser que está implicada la desacetilación del SOD2 y el isocitrato deshidrogenasa 2 (IDH2). Además, es posible que la ciclofilina D también se desacetile por la SIRT3 y puede ser importante para la prevención de la transición de la permeabilidad mitocondrial<sup>49</sup>.

#### 4.6 Enfermedad de Kennedy

En un estudio reciente se ha descubierto el papel protector de la SIRT1 en la patogenia de la enfermedad de Kennedy. Uno de los resultados fue que la SIRT1 anula la toxicidad y la agregación de poliglutaminas en el receptor de andrógenos. La sobreexpresión de la SIRT1 en este modelo resultó en una disminución del número de células con inclusiones celulares (ver Figura 23)<sup>50</sup>.

Otro de los resultados más relevantes demuestra que la SIRT1 protege las neuronas motoras mediante la desacetilación de las lisinas 630,632 y 633 del receptor de andrógenos<sup>50</sup>. Estos descubrimientos son importantes ya que la activación de la SIRT1 puede ser un tratamiento mucho más seguro y con menos efectos secundarios que otros tratamientos que se están estudiando para tratar esta enfermedad, como la retirada de andrógenos a largo plazo<sup>22</sup>.

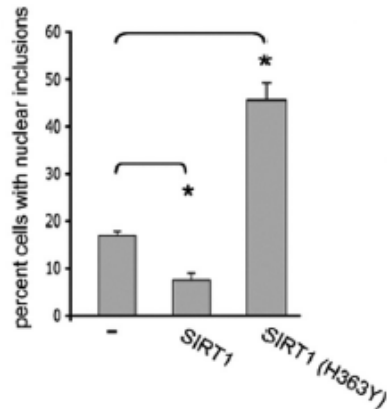


Figura 23. La SIRT1 anula la agregación del receptor de andrógenos y su toxicidad a través de su actividad desacetilasa<sup>50</sup>.

#### 4.7 Diabetes

Para demostrar el papel de las sirtuínas como posibles dianas terapéuticas en la diabetes, en uno de los estudios más relevantes, se utilizaron ratones transgénicos que presentaban sobreexpresión de Sirt1 en las células  $\beta$  (ratones BESTO). Para examinar los efectos de las diferentes dosis de Sirt en la función de las células  $\beta$  in vivo, se midieron los niveles de insulina en plasma y la glucosa sanguínea en dos líneas celulares de los ratones BESTO. A los tres meses, los niveles de glucosa e insulina en alimentación y en ayuno fueron similares entre los ratones transgénicos y los no transgénicos. Sin embargo, cuando se incrementaron los niveles de glucosa, los ratones BESTO presentaban una tolerancia a la glucosa superior en comparación con los no transgénicos (ver figuras 24,25). Los niveles de insulina se midieron 30 minutos después de la inyección de glucosa y fueron superiores en los ratones transgénicos (ver figura 26). Estos resultados sugieren que el incremento de Sirt1 en las células  $\beta$ -pancreáticas potencia su habilidad de secretar insulina y reduce los niveles de glucosa en sangre en respuesta a una dosis elevada de glucosa in vivo<sup>51, 52</sup>.

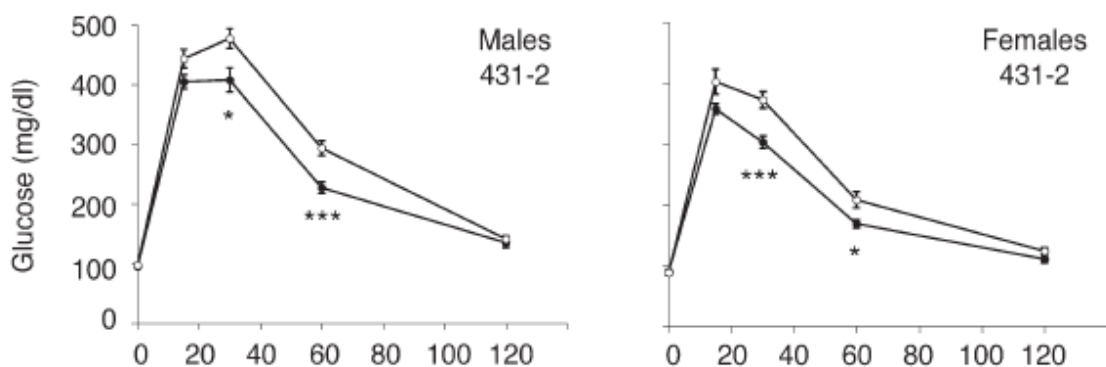


Figura 24. Niveles de glucosa en la línea 431-2 de ratones BESTO machos y hembras (círculos negros) comparado con los controles (círculos blancos)<sup>52</sup>.

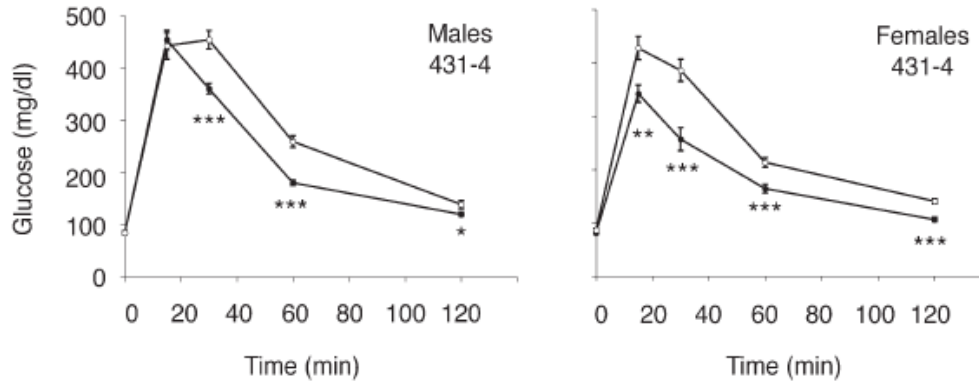


Figura 25. Niveles de glucosa en la línea 431-4 de ratones BESTO machos y hembras (círculos negros) comparado con los controles (círculos blancos)<sup>52</sup>.

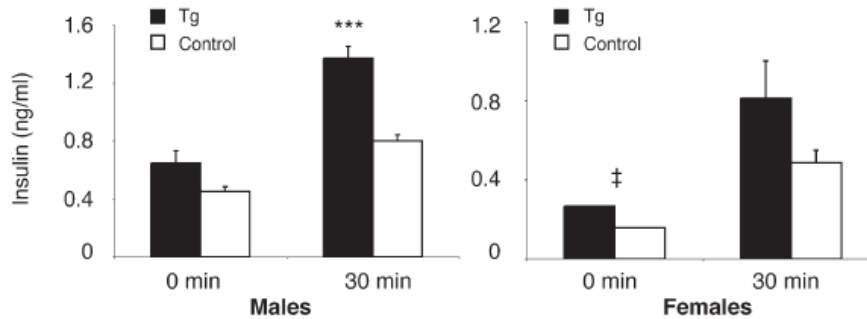


Figura 26. Niveles de insulina en plasma de la línea 431-4 de los ratones BESTO machos (izquierda) y hembras (derecha) comparado con los controles<sup>52</sup>.

Con el fin de confirmar que la secreción de la insulina aumenta en el páncreas de los ratones BESTO en respuesta a una gran cantidad de glucosa, se realizaron experimentos de perfusión pancreática in situ en ratones control y BESTO. Los resultados mostraron que la liberación de insulina en respuesta a 25 mM de glucosa estaba potenciada en los páncreas de los ratones BESTO en comparación con los controles (ver figura 27 A). Este incremento en la liberación de insulina en los ratones BESTO se debe al incremento en la primera fase de la secreción de la insulina. También se examinó la respuesta de los páncreas de los ratones BESTO al cloruro de potasio (KCl), un secretagogo de la secreción de insulina y se observó que los páncreas de los ratones BESTO mostraban un incremento mayor de la secreción de insulina en respuesta a los controles (ver figura 27 B). Estos resultados demuestran que la secreción de la insulina en las células beta está potenciada por Sirt1 en los ratones BESTO<sup>52</sup>.



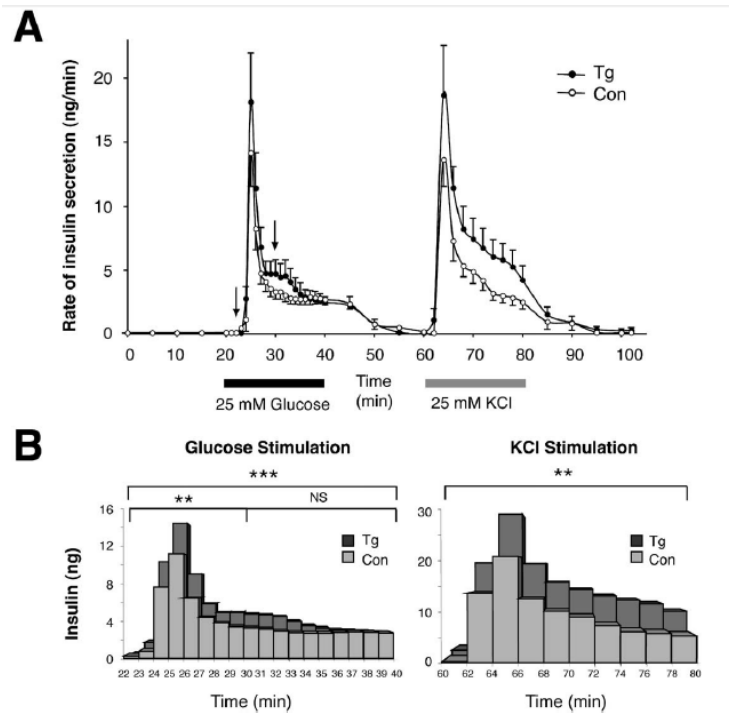


Figura 27. Experimentos *in situ* de perfusión pancreática en ratones transgénicos BESTO. A) Liberación de insulina en los ratones macho BESTO y control en respuesta a 25 mM de glucosa y 25 mM de KCl. Las flechas indican el inicio de la primera y segunda fase de la secreción de la insulina. B) Liberación de la insulina durante la estimulación por glucosa y HCl. Los corchetes del panel izquierdo muestran la primera y la segunda fase de la secreción de la insulina y los del panel derecho indican la secreción total de insulina durante la estimulación por KCl<sup>52</sup>.

También se quiso ver si la mejora en la función de las células beta se mantiene a medida que los ratones envejecen y los resultados demostraron que los efectos beneficiosos de la Sirt1 (la tolerancia a la glucosa y la potenciación de la secreción de la insulina) se presentan tanto en los ratones de 3 meses de edad como en los de 8 meses<sup>52</sup>.

Otros estudios demuestran que la Sirt1 sensibiliza a las células beta reprimiendo la proteína desacoplante 2 (UCP2), una proteína de la membrana interna mitocondrial. Para estudiar la represión de UCP2 por Sirt1, se realizaron estudios en células 293T transfectadas con el gen cloranfenicol acetiltransferasa (CAT), cuya expresión es llevada a cabo por el promotor de UCP2. Las células se transfectaron también con un vector control o un vector de expresión para PPAR $\gamma$ , ya que une y activa el promotor de UCP2. En experimentos paralelos, las células se contrafectaron con un vector de expresión de Sirt1 y se vio que la Sirt1 reprime la activación del promotor de UCP2 (ver figura 28). Estos descubrimientos indican que la reducción de la UCP2 restaura la secreción de la insulina. Así pues, estos descubrimientos indican un nuevo nivel de regulación de la secreción de insulina, en el cual la Sirt1 reprime la UCP2, modulando la inducción de insulina por la glucosa en las células beta. Este mecanismo podría servir para regular los niveles crónicos de insulina y reforzar los bajos niveles de insulina en una situación donde los alimentos son limitados<sup>53</sup>.

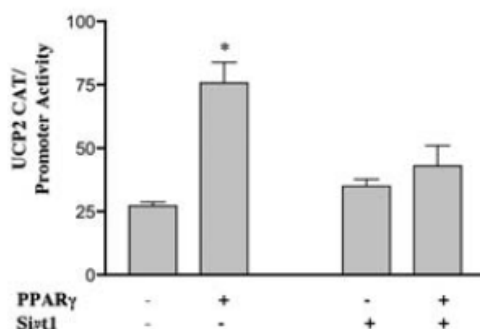


Figura 28. Ensayo CAT in vitro. Las células 293T fueron transfectadas con el gen reportero CAT. Las células también se cotransfectaron o no con la Sirt1 y con PPARγ tal como está indicado<sup>53</sup>.

Además, otros estudios han demostrado que la activación de la SIRT1 por el resveratrol mejora la sensibilidad a la insulina y la resistencia a la insulina por la represión de la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B), un regulador negativo de la señalización de la insulina<sup>51,54</sup>.

Todos estos descubrimientos demuestran que la SIRT1 podría tener un posible papel terapéutico en la diabetes tipo 2 aunque todavía no se han hecho estudios en humanos.

#### 4.8 Cáncer

El papel de las sirtuínas en esta patología es muy variado y, a veces, contradictorio. Respecto a la SIRT1, su expresión se encuentra elevada en diferentes tipos de cáncer como el cáncer de próstata, cáncer de colon, leucemia mieloide aguda, carcinomas de piel<sup>24</sup>, etc. Esta expresión elevada sugiere que la SIRT1 puede ser un promotor del cáncer pero otros estudios demuestran que puede ser un supresor de tumores<sup>24, 55</sup>. La inhibición de la SIRT1 podría ser un punto de partida de la apoptosis de las células transformadas. Algunos experimentos indican que si se atenúa la actividad de la SIRT1 (mediante la genética o por tratamientos farmacológicos) se produce la muerte de las células cancerígenas<sup>25</sup>. En uno de ellos se utilizaron líneas celulares de cáncer colorrectal (HCT116) y se vio que el silenciamiento de la SIRT1 resulta en una apoptosis masiva de estas células (ver figuras 29 A y B)<sup>56</sup>.

Por otra parte, la SIRT3 tiene un especial interés en el cáncer ya que regula la muerte celular y la supervivencia y por tanto hay una gran controversia sobre su papel como promotor o supresor tumoral. En un estudio donde se quería ver el efecto de la SIRT3 en el cáncer oral, se utilizó ARN pequeño de interferencia (siRNA) para inhibir la SIRT3 y se vio que se inhibía la formación de colonias en el cáncer de colon en comparación con los controles<sup>57</sup>.

Muchas evidencias soportan la idea que la SIRT2 tiene un papel importante en el cáncer. SIRT2 participa en la progresión del ciclo celular y en el ensamblaje de la cromatina, funciones que han sido bien definidas en un modelo de ratón knockout donde se expresa Sirt2, en el cual la deficiencia de la SIRT2 conduce a tumorigénesis<sup>25</sup>. Sin embargo, otros investigadores han demostrado que la inhibición farmacológica de SIRT2 retrasa el crecimiento de tumores a través de la activación de p53<sup>25, 58</sup>. Estos resultados contradictorios requieren futuras investigaciones para elucidar el potencial terapéutico de la SIRT2 en el cáncer<sup>25</sup>.

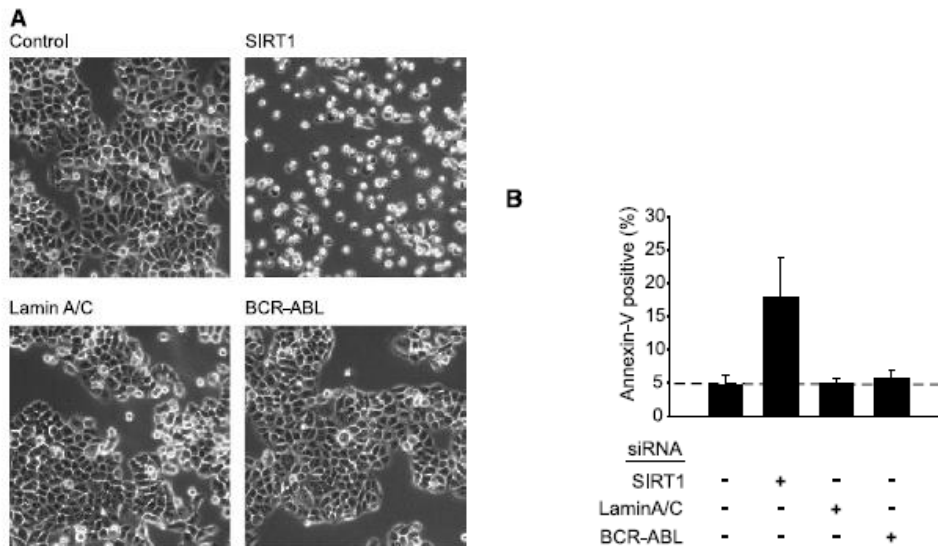


Figura 29. El silenciamiento de SIRT1 induce la apoptosis en las células HCT116. El efecto de los siRNA de SIRT1, de la lámina A/C (proteína nuclear con funciones estructurales y de regulación de la señalización celular y la transcripción de genes) y BCR-ABL (en las células HCT116 se visualizó 48 horas después de la transfección por un microscopio de contraste de fases. A) Marcaje con anexina V. La anexina V se utiliza para la detección de células en apoptosis. B) Confirmación de la apoptosis<sup>56</sup>.

También se ha propuesto un papel terapéutico para la SIRT6 ya que las evidencias actuales sugieren que esta sirtuína es importante en la preservación de la integridad genómica cuando se produce un daño celular o estrés. Por ello se cree que la sobreexpresión de SIRT6 podría tener un papel protector contra la tumorigénesis pero todavía se requiere futura experimentación<sup>24</sup>.

Por último, la SIRT7 reduce el crecimiento tumoral en células cancerígenas humanas insertadas en modelos de ratón. Este descubrimiento hace patente la necesidad de estudios futuros para analizar el papel de la SIRT7 en la resistencia al crecimiento tumoral en modelos de ratón knockout<sup>24,59</sup>.

## 5. Conclusiones

1. Se ha realizado una búsqueda bibliográfica utilizando Pubmed sobre el papel de las sirtuínas en las enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento. La primera cita en relación al término *sirtuína* aparece en el año 1994. No obstante, para el presente estudio se ha acotado la elección de los artículos publicados a partir del año 2001 hasta la actualidad, período en el que crece exponencialmente la publicación de artículos sobre el tema.
2. Muchos estudios han demostrado que tanto la sobreexpresión como la inhibición de las sirtuínas pueden ser dianas terapéuticas de las patologías que se asocian al envejecimiento como son las enfermedades neurodegenerativas, el cáncer y la diabetes. Sin embargo, en muchas ocasiones estos descubrimientos han sido contradictorios al estudiar distintos modelos de animales experimentales o los distintos tipos de sirtuínas.
3. Las sirtuínas también realizan muchas funciones en otras enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento como son las enfermedades cardiovasculares, la osteoporosis, las alteraciones de la vista, etc. Sin embargo, todavía deben realizarse estudios para comprobar si las sirtuínas pueden tener un papel protector en estas enfermedades.
4. Aunque las sirtuínas 1 y 2 han sido las más estudiadas, no se puede descartar el posible potencial terapéutico que puedan tener el resto de sirtuínas. Así pues, todos estos aspectos hacen patente la necesidad de seguir investigando y profundizando en las proteínas de esta familia.
5. Se ha demostrado que el resveratrol y la restricción calórica son activadores de las sirtuínas y, por tanto, también podrían tener un papel importante en el tratamiento de enfermedades asociadas al proceso de envejecimiento. La investigación actual también debería centrarse en la búsqueda de otros posibles activadores de las sirtuínas.
6. Todos los estudios analizados se han llevado a cabo con modelos animales o celulares y, por tanto, los resultados obtenidos no pueden extrapolarse directamente a humanos ya que las condiciones fisiológicas y/o experimentales son distintas. La controversia que produce este tema hace patente la necesidad de potenciar la investigación en este ámbito ya que en poco tiempo se ha avanzado mucho y se ha demostrado que las sirtuínas participan en innumerables procesos celulares.

## 6. Bibliografía

1. Envejecimiento - Organización mundial de la salud <http://www.who.int/topics/ageing/es/>  
Visitada 10/04/2014
2. Daño celular. Definición y causas <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---oenermeria-0oenermeria--00-0--0dc.Date-10-0prompt--0-0---Oprompt-10---4--0---4--0-1l-50-10-ca-50-1bout--11-am-50--0-20-help-00-0-00-0-1-00-0-0-11-1-1windowsZz-1250-00&a=d&cl=CL1&d=HASH5d982f8493cd4b61b7d966.3.fc> Visitada 29/04/2014
3. Síntomas del envejecimiento  
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/004012.htm> Visitada 29/04/2014
4. Características del envejecimiento – Universidad de Cantabria  
<http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-1.-el-envejecimiento-definiciones-y/1.3-caracteristicas-del-envejecimiento> Visitada 30/04/2014
5. Landinez Parra NS, Contreras Valencia K, Castro Villamil Á. Proceso de envejecimiento, ejercicio y fisioterapia. *Revista Cubana de Salud Pública*. 2012;38:562-580.
6. Envejecimiento frente enfermedad - Universidad de Cantabria  
<http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/biogerontologia/materiales-de-clase-1/capitulo-1.-el-envejecimiento-definiciones-y/1.4-envejecimiento-frente-a-enfermedad> Visitada 1/05/2014
7. Cha YI, Kim HS. Emerging role of sirtuins on tumorigenesis: possible link between aging and cancer. *BMB Rep*. 2013;46(9):429-438
8. López Muñoz E y Torres Carrillo NM. Aspectos moleculares del envejecimiento. México: Instituto de Geriatria. 2012
9. Wang C, Jurk D, Maddick M, Nelson G, Martin-Ruiz C, von Zglinicki T. DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Aging Cell*. 2009;8(3):311-323
10. Hamilton ML, Van Remmen H, Drake JA, et al. Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(18):10469-10474.
11. Alexeyev MF, Ledoux SP, Wilson GL. Mitochondrial DNA and aging. *Clin Sci (Lond)*. 2004;107(4):355-364.
12. Han SH. Potential role of sirtuin as a therapeutic target for neurodegenerative diseases. *J Clin Neurol*. 2009;5(3):120-125.
13. Donmez G. The neurobiology of sirtuins and their role in neurodegeneration. *Trends Pharmacol Sci*. 2012;33(9):494-501.

14. Satoh A, Stein L, Imai S. The role of mammalian sirtuins in the regulation of metabolism, aging, and longevity. *Handb Exp Pharmacol*. 2011;206:125-162.
15. de Oliveira RM, Sarkander J, Kazantsev AG, Outeiro TF. SIRT2 as a Therapeutic Target for Age-Related Disorders. *Front Pharmacol*. 2012;3:82.
16. Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, et al. hSIRT2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*. 2001;107(2):149-159.
17. Haigis MC, Mostoslavsky R, Haigis KM, et al. SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells. *Cell*. 2006;126(5):941-954.
18. North BJ, Marshall BL, Borra MT, Denu JM, Verdin E. The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD<sup>+</sup>-dependent tubulin deacetylase. *Mol Cell*. 2003;11(2):437-444.
19. Shi T, Wang F, Stieren E, Tong Q. SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes. *J Biol Chem*. 2005;280(14):13560-13567.
20. Frye RA. Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast SIR2 gene: Sir2 like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;260(1):273-279.
21. Du J, Zhou Y, Su X, et al. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demalonylase and desuccinylase. *Science*. 2011;334(6057):806-809.
22. Langley B, Sauve A. Sirtuin deacetylases as therapeutic targets in the nervous system. *Neurotherapeutics*. 2013;10(4):605-620.
23. Westphal CH, Dipp MA, Guarente L. A therapeutic role for sirtuins in diseases of aging? *Trends Biochem Sci*. 2007;32(12):555-560.
24. Hall JA, Dominy JE, Lee Y, Puigserver P. The sirtuin family's role in aging and age-associated pathologies. *J Clin Invest*. 2013;123(3):973-979.
25. Herskovits AZ, Guarente L. Sirtuin deacetylases in neurodegenerative diseases of aging. *Cell Res*. 2013;23(6):746-758.
26. Kitada M, Koya D. SIRT1 in Type 2 Diabetes: Mechanisms and Therapeutic Potential. *Diabetes Metab J*. 2013;37(5):315-325.
27. Wang J, Zhang Y, Tang L, Zhang N, Fan D. Protective effects of resveratrol through the up-regulation of SIRT1 expression in the mutant hSOD1-G93A-bearing motor neuron-like cell culture model of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurosci Lett*. 2011;503(3):250-255.
28. Della-Morte D, Dave KR, DeFazio RA, Bao YC, Raval AP, Perez-Pinzon MA. Resveratrol pretreatment protects rat brain from cerebral ischemic damage via a sirtuin 1-uncoupling protein 2 pathway. *Neuroscience*. 2009;159(3):993-1002.
29. Masoro EJ. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev*. 2005;126(9):913-922.

30. Omodei D, Fontana L. Calorie restriction and prevention of age-associated chronic disease. *FEBS Lett.* 2011;585(11):1537-1542
31. Cantó C, Auwerx J. Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(7):325-331.
32. Patel NV, Gordon MN, Connor KE, et al. Caloric restriction attenuates A $\beta$ -deposition in Alzheimer transgenic models. *Neurobiol Aging.* 2005;26(7):995-1000.
33. Wang J, Ho L, Qin W, et al. Caloric restriction attenuates beta-amyloid neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J.* 2005;19(6):659-661.
34. Qin W, Yang T, Ho L, et al. Neuronal SIRT1 activation as a novel mechanism underlying the prevention of Alzheimer disease amyloid neuropathology by calorie restriction. *J Biol Chem.* 2006;281(31):21745-21754.
35. Kojro E, Fahrenholz F. The non-amyloidogenic pathway: structure and function of alpha secretases. *Subcell Biochem.* 2005;38:105-127.
36. Min SW, Cho SH, Zhou Y, et al. Acetylation of tau inhibits its degradation and contributes to tauopathy. *Neuron.* 2010;67(6):953-966.
37. Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *EMBO J.* 2007;26(13):3169-3179
38. Maswood N, Young J, Tilmont E, et al. Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(52):18171-18176.
39. Holmer HK, Keyghobadi M, Moore C, Menashe RA, Meshul CK. Dietary restriction affects striatal glutamate in the MPTP-induced mouse model of nigrostriatal degeneration. *Synapse.* 2005;57(2):100-112.
40. Donmez G, Arun A, Chung CY, McLean PJ, Lindquist S, Guarente L. SIRT1 protects against  $\alpha$ -synuclein aggregation by activating molecular chaperones. *J Neurosci.* 2012;32(1):124-132.
41. Kakefuda K, Fujita Y, Oyagi A, et al. Sirtuin 1 overexpression mice show a reference memory deficit, but not neuroprotection. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;387(4):784-788.
42. Park G, Jeong JW, Kim JE. SIRT1 deficiency attenuates MPP<sup>+</sup>-induced apoptosis in dopaminergic cells. *FEBS Lett.* 2011;585(1):219-224.
43. Outeiro TF, Kontopoulos E, Altmann SM, et al. Sirtuin 2 inhibitors rescue alpha-synuclein-mediated toxicity in models of Parkinson's disease. *Science.* 2007;317(5837):516-519.
44. Parker JA, Arango M, Abderrahmane S, et al. Resveratrol rescues mutant polyglutamine cytotoxicity in nematode and mammalian neurons. *Nat Genet.* 2005;37(4):349-350.

45. Pallos J, Bodai L, Lukacsovich T, et al. Inhibition of specific HDACs and sirtuins suppresses pathogenesis in a *Drosophila* model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet.* 2008;17(23):3767-3775.
46. Luthi-Carter R, Taylor DM, Pallos J, et al. SIRT2 inhibition achieves neuroprotection by decreasing sterol biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(17):7927-7932.
47. Shindler KS, Ventura E, Rex TS, Elliott P, Rostami A. SIRT1 activation confers neuroprotection in experimental optic neuritis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(8):3602-3609.
48. Rafalski VA, Ho PP, Brett JO, et al. Expansion of oligodendrocyte progenitor cells following SIRT1 inactivation in the adult brain. *Nat Cell Biol.* 2013;15(6):614-624.
49. Song W, Song Y, Kincaid B, Bossy B, Bossy-Wetzler E. Mutant SOD1G93A triggers mitochondrial fragmentation in spinal cord motor neurons: neuroprotection by SIRT3 and PGC-1 $\alpha$ . *Neurobiol Dis.* 2013;51:72-81.
50. Montie HL, Pestell RG, Merry DE. SIRT1 modulates aggregation and toxicity through deacetylation of the androgen receptor in cell models of SBMA. *J Neurosci.* 2011;31(48):17425-17436.
51. Nerurkar PV, Nerurkar VR. Respected Sir(2): magic target for diabetes. *Cellscience.* 2008;4(4):82-96.
52. Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, et al. Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab.* 2005;2(2):105-117.
53. Bordone L, Motta MC, Picard F, et al. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *PLoS Biol.* 2006;4(2):e31.
54. Sun C, Zhang F, Ge X, et al. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab.* 2007;6(4):307-319.
55. Fang Y, Nicholl MB. Sirtuin 1 in malignant transformation: friend or foe? *Cancer Lett.* 2011;306(1):10-14.
56. Ford J, Jiang M, Milner J. Cancer-specific functions of SIRT1 enable human epithelial cancer cell growth and survival. *Cancer Res.* 2005;65(22):10457-10463.
57. Alhazzazi TY, Kamarajan P, Joo N, et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a novel potential therapeutic target for oral cancer. *Cancer.* 2011;117(8):1670-1678.
58. Jin YH, Kim YJ, Kim DW, et al. Sirt2 interacts with 14-3-3 beta/gamma and down-regulates the activity of p53. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;368(3):690-695.
59. Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi Y, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature.* 2012;487(7405):114-118.