



MECANISMOS CELULARES EN RESPUESTA AL ESTRÉS: SIRTUINAS

Cellular mechanisms in response to stress: sirtuin

Nancy Paola Echeverri-Ruíz¹, Ismena Mockus-Sivickas²

1. Estudiante Doctorado, Departamento de Zoología, Miami Univerasity, Oxford- Ohio, USA.
2. MD, Profesora Titular, Departamento Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

Correspondencia: echevenp@muohio.edu

Resumen

Desde hace algún tiempo se conoce el papel de la restricción calórica sobre la longevidad y la prevención de enfermedades crónicas, pero hasta hace poco los mecanismos celulares involucrados comienzan a ser elucidados. El estrés celular se podría definir como el estado en el que la célula no presenta las condiciones óptimas de supervivencia, siendo el oxidativo un tipo de estrés en el que se generan radicales libres nocivos para las estructuras celulares. La restricción calórica podría incrementar la resistencia celular a diferentes formas de estrés. Las sirtuinas, proteínas deacetilasas de histonas tipo III, están involucradas en la relación entre balance energético y transcripción génica, permitiendo que la célula responda a la restricción calórica y sobreviva a situaciones de estrés oxidativo. En esta relación las sirtuinas regulan genes de la familia FOXO, cMYC, hTERT, p53, entre otros. La activación o silenciamiento de estos genes es importante en los procesos de apoptosis, reparación y muerte celular.

Palabras clave: abastecimiento de energía, restricción calórica, senescencia, longevidad, sirtuinas, telómero, telomerasa.

Echeverri-Ruíz NP, Mockus-Sivickas I. Mecanismos celulares en respuesta al estrés: sirtuinas. *Rev.Fac.Med.* 2010; 58: 221-232.

Summary

The role of caloric restriction on longevity and prevention of chronic diseases has been known for some time; recently, cellular mechanisms involved are beginning to be elucidated.

Cellular stress could be defined as the state in which the cell does not present optimal survival conditions; oxidative stress is a type of stress in which free radicals harmful cell structures.

Caloric restriction might increase cellular resistance to various forms of stress. Sirtuins, histone deacetylases type III proteins are involved in the relationship between energy balance and gene transcription, allowing cell to respond to caloric restriction and to survive to oxidative stress.

In this relationship, sirtuins regulate FOXO family genes, cMYC, hTERT, p53, among others. Activation or silencing of those genes is important in the process of apoptosis, repair and cell death.

Key words: energy supply, caloric restriction, aging, longevity, sirtuins, telomere, telomerase.

Echeverri-Ruíz NP, Mockus-Sivickas I. Cellular mechanisms in response to stress: sirtuin. *Rev.Fac.Med.* 2010; 58: 221-232.



Introducción

El envejecimiento tiene dos definiciones: la primera dice que es una enfermedad y la segunda afirma que es un mecanismo normal que asegura la muerte de los organismos para permitir el mejoramiento de las especies y la disponibilidad de territorio y alimento. Los organismos multicelulares tienen un lapso de vida finita que es regulada a un sólo nivel celular. Si esta limitación de la división celular es un prerequisite para envejecimiento y muerte de un organismo o un mecanismo de seguridad contra la proliferación incontrolada, es una pregunta aún sin respuesta (1).

A nivel molecular se considera que el envejecimiento y la senescencia replicativa, son el resultado de la interacción de factores ambientales (modo de vida), intrínsecos (cadena respiratoria, hormonas y respuestas inflamatorias) y replicativos (límite de Hayflick) (2). Los procesos anteriores son afectados por un factor en común: el estrés.

Estrés ambiental, como factor positivo y negativo

El estrés ambiental es uno de los factores que acelera los procesos de senescencia replicativa; si bien la respuesta al estrés puede llegar a ser de alguna manera benéfica, en general es nociva para un organismo. El efecto depende del grado de estrés (3).

Efectos positivos: hormesis y restricción calórica.

La hormesis es un proceso por medio del cual un evento subletal conduce a la supervivencia (4). Biólogos evolucionistas demostraron que si se sometía a la mosca de la fruta a choques de calor de 30.58°C se incrementaba su tiempo de vida (5), observándose que el aumento de la longevidad se asociaba con una disminución de la reproducción. Un estudio similar realizado en

Caenorhabditis elegans (*C. elegans*) mostró que la elevación de la temperatura incrementaba la termotolerancia (llamada termotolerancia adquirida) y que una vez estos nematodos eran llevados a condiciones normales presentaban una vida más prolongada (6).

No se conocen los mecanismos por medio de los cuales estos tipos de estrés extienden la duración de la vida. Podría ser que se presentan mecanismos homeostáticos que evitan que las células sufran directamente estos episodios de estrés. Un ejemplo del potencial de hormesis en los mamíferos es el efecto de la restricción calórica: los animales sometidos a una restricción calórica viven más tiempo que los alimentados ad-libitum y presentan enfermedades relacionadas con el envejecimiento más tardíamente (7,8).

Se han realizado múltiples estudios en la búsqueda de fármacos que simulen los efectos de la restricción calórica con el fin de posponer el envejecimiento y sus consecuencias (9).

Dentro de los agentes que más se han asociado con los procesos de estrés se encuentran las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS respectivamente); el papel fisiológico benéfico de las ROS se relaciona con algunas respuestas celulares a noxas como ocurre en la defensa contra agentes infecciosos y en la función de un número de sistemas de señalización celular (donde las ROS se desempeñan como segundos mensajeros). A bajas concentraciones las ROS inducen respuesta mitogénica mientras que concentraciones elevadas provocan daño en lípidos y proteínas de membranas celulares y en ácidos nucleicos. Este daño se denomina estrés oxidativo (10).

Efectos negativos: acortamiento en la duración de la vida y predisposición a enfermedades. Los efectos nocivos de las ROS son contrarrestados me-

diante la acción antioxidante enzimática y no enzimática. A pesar de la presencia del sistema de defensa antioxidante celular, el daño oxidativo se acumula a lo largo de la vida. El daño en DNA, proteínas y lípidos desempeña un papel importante en enfermedades tales como cáncer, aterosclerosis, artritis y desórdenes neurodegenerativos (11).

Se estima que una célula humana está expuesta a aproximadamente $1,5 \times 10^5$ golpes oxidativos al día por radicales hidroxilo y otras especies reactivas (12). Los radicales hidroxilo reaccionan con todos los componentes del DNA, dañando bases purínicas y pirimidínicas, además del enlace desoxirribosa (13).

Las modificaciones permanentes en el material genético resultan en daño oxidativo, lo que constituye el primer paso para la mutagénesis, carcinogénesis y envejecimiento. Se han identificado más de cien productos de oxidación del DNA, los cuales inducen quiebres de cadena doble y sencilla. Los daños en el DNA pueden provocar la detención del ciclo celular (arresto celular), inducción de la transcripción, estímulo de vías de señalización, errores en la replicación e inestabilidad genómica, procesos asociados con la carcinogénesis (14). Además las ROS actúan sobre el DNA mitocondrial, provocando efectos que involucran mutaciones en genes mitocondriales, los cuales también intervienen en los procesos de carcinogénesis (15).

Los residuos de ácidos grasos insaturados de los fosfolípidos son muy sensibles a la oxidación (16). Dentro de los procesos de oxidación de lípidos se genera malondialdehído (MDA) que es el principal producto aldehído que forma aductos en el DNA. El MDA es altamente mutagénico en bacterias y en células de mamíferos, además de ser carcinogénico en ratas (17).

La teoría de los radicales libres y su relación con envejecimiento propone que el envejecimiento normal resulta de daños al azar en los tejidos como consecuencia del estrés oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS) (18). Los animales viejos presentan mitocondrias defectuosas y pueden producir altos niveles de ROS en comparación con animales más jóvenes. Los tejidos de animales viejos acumulan más daño oxidativo en el DNA, lípidos y proteínas (19). Las ROS, especialmente los radicales hidroxilos atacan principalmente al DNA, formando aductos de tipo 8-oxo-2-O-deoxiguanina (Oxo8dG) (20).

Por otro lado, se ha postulado recientemente al estrés oxidativo como uno de los responsables del efecto carcinogénico de los estrógenos en mama. Los estrógenos liberan ROS por un mecanismo poco conocido que podría estar relacionado con las proteínas desacopladoras de mitocondria (21).

Restricción calórica (RC)

La restricción calórica reduce la incidencia y progresión de tumores espontáneos e inducidos en roedores de laboratorio mientras incrementa la duración media y máxima de vida. Se sugiere que la RC extiende la longevidad y reduce las patologías relacionadas con envejecimiento, reduciendo los niveles de daño a nivel de DNA y mutaciones que se acumulan con la edad. Esta hipótesis es atractiva pues la integridad del genoma es esencial y la RC reduce el daño a nivel del DNA por varios mecanismos; incrementa los procesos de reparación, reduce la producción de ROS y RNS por el metabolismo, reduce la activación de mutágenos y la acumulación de los mismos (22).

La RC desempeña un papel en los mecanismos de reparación por excisión de base (BER),



excisión de nucleótido (NER) y reparación por quiebres de doble cadena (22).

Stuart y colaboradores midieron las actividades de enzimas relacionadas con los pasos de reparación por BER encontrando que su actividad se incrementa en condiciones de restricción calórica. Este grupo demostró también que la RC aumenta la actividad de reparación por BER en núcleo pero no encontró efecto sobre el DNA mitocondrial (23). Este DNA es importante en el proceso de envejecimiento y enfermedades relacionadas; sin embargo durante la RC hay una menor reparación por BER debido a que hay un menor daño en el DNA (medido por la formación de Oxo8dG). Esto lleva a sugerir que la estabilidad genómica mitocondrial es influenciada de manera positiva por la RC mas por una disminución sobre la generación de ROS en la mitocondria que por cambios en la reparación de daños en este mismo organelo (22).

Adicionalmente, en un grupo de ratones se encontró que la RC modifica la transcripción de genes que inhiben la respuesta a estrés oxidativo (metalotioneinas [Mt1 y Mt2]), inflamación (Factor Nuclear κ B [NF- κ B]), tumorigénesis (Tioredoxina [Txnip] y dedos de zinc con dominio 16 que contienen BTB [Zbtb16]) e intervienen en la regulación metabólica y “splicing” (24).

Estrés oxidativo como producto de la acción hormonal

El envejecimiento es un proceso natural asociado con varios cambios fisiológicos y endocrinos; el efecto catabólico altera la composición corporal causando disminución en la masa muscular, acumulación de grasa y pérdida de densidad mineral ósea. En conjunto con esos cambios también se observa una disminución de la secreción de la hormona de crecimiento (GH) basal y post

estímulo y de los niveles séricos del factor de crecimiento similar a insulina-I (IGF-I) (25).

En individuos sanos, tras una secreción máxima durante la pubertad, se presenta una disminución gradual de GH e IGF-I a partir de la tercera década (26). Los niveles de IGF-I están regulados, no sólo por la GH, sino también por la actividad física, hábitos de vida, cambios en los niveles de los esteroides sexuales, enfermedades crónicas y nutrición. Se ha considerado que existe una “somatopausia” y que el reemplazo hormonal con GH podría ser un tratamiento “anti-envejecimiento”. Sin embargo, el tratamiento con GH no es una terapia recomendada por su posible efecto tumorigénico. Estudios en ratones han demostrado que deficiencias heterocigotas de IGF-I incrementan la duración de la vida mientras que las deficiencias homocigotas son letales al nacimiento, lo que sugiere que debe haber un punto óptimo en el eje IGF-I determinante de la supervivencia. Además, la disminución de IGF-I se asocia con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes, mientras que los niveles elevados de IGF-I se relacionan con tumorigénesis (27).

Otra relación importante es la del IGF-I e insulina ya que si bien se acepta que la insulina está involucrada principalmente en el metabolismo celular, mientras que el IGF-I controla crecimiento y diferenciación celular, las vías de señalización de insulina e IGF-1 son en gran parte compartidas y cambios en estas rutas (y las respectivas moléculas corriente abajo) pueden afectar el envejecimiento y la longevidad (28).

La señalización mediada por el IGF-I es un determinante de longevidad. Se ha relacionado la presencia de polimorfismos del receptor IGF-I, con aumento de la longevidad en población de judíos Ashkenazi (29). La mayoría de estos polimorfismos se asocia con la disminución de

la fosforilación de la proteína quinasa B (PKB o AKT), fosforilación necesaria para la progresión de la señalización de la vía IGF-1R. Se ha descrito que la disminución de esta señalización resulta en una mayor resistencia al estrés, aumento de la longevidad en gusanos, moscas, ratones y humanos (30-33). Se ha observado en el *C. Elegans* que el efecto favorable de la inhibición de la vía de señalización insulina/IGF-1 sobre la longevidad requiere de DAF-16 (abnormal DAuer Formation-16) (30). El ortólogo de DAF-16 en la *Drosophila* es dFOXO (Forkhead box transcription) mientras que en los mamíferos se encuentran cuatro homólogos de FOXO (FOXO1, FOXO3A, FOXO4 y FOXO6) (35). Estas proteínas son reguladas de manera negativa por AKT quien estimula su fosforilación, exclusión del núcleo e inactivación en el citoplasma. En gusanos y en moscas los ortólogos de FOXO activos se asocian con un incremento de la longevidad (36).

FOXO es requerido para la respuesta normal a estrés oxidativo (36). En mamíferos FOXO forma un complejo con la SIRT1 (sirtuina 1, una histona deacetilasa dependiente de NAD⁺). Este complejo influye en la longevidad. SIRT1 deacetila a FOXO incrementando la transcripción de enzimas antioxidantes y por lo tanto aumentando la resistencia a estrés oxidativo (3). Estudios de polimorfismos de un sólo nucleótido (SNP's) del gen FOXO en hombres japoneses y en población alemana de ambos géneros han permitido sugerir el gen FOXO desempeña un papel importante en la longevidad (33, 37).

Sirtuinas

Las sirtuinas (SIRT 1-7) o deacetilasas de histonas clase III (HDAC) son proteínas deacetilasas/ADP ribosil transferasas que actúan en un amplio rango de procesos en el núcleo, citoplasma y mitocondria en modificacio-

nes post-traduccionales (SIRT 1, 2, 3 y 5) y ADP-ribosilación en el DNA (SIRT 4 y 6) (38,39). Son enzimas dependientes de nicotinamida adenina dinucleotido (NAD⁺) (40).

Las enzimas deacetilasas de histonas (HDAC) del grupo III se caracterizan por no ser inhibidas por tricostatina A y en vez de usar zinc como cofactor utilizan el NAD⁺ para su actividad; las HDAC III están asociadas con represión transcripcional. Las histonas H1, H3 y H4 acetiladas son sustratos fisiológicos para las sirtuinas; la lisina 16 en la histona H4 parece ser el residuo más crítico para el silenciamiento transcripcional mediado por las sirtuinas (41). Estas enzimas se conservan a través de la evolución desde arqueobacterias hasta eucariotas (42).

La familia SIRT regula desarrollo, metabolismo energético, formación de heterocromatina, segregación cromosómica, diferenciación celular, apoptosis, longevidad y transcripción (por silenciamiento), reparación y recombinación de DNA (40). También controlan la respuesta al estrés, asegurando que el daño en el DNA no se propague y que las mutaciones no se acumulen (39). Además, las SIRT tienen sustratos diferentes a las histonas reflejando su participación en diferentes procesos fisiológicos. Por otra parte, no todos los miembros de las SIRT están localizados en el núcleo (42-44).

Las sirtuinas presentan un dominio catalítico conservado pero difieren en las secuencias cercanas a éste. Su localización subcelular es diferente; las sirtuinas SIRT1, SIRT2, SIRT6 y SIRT7 se encuentran principalmente en el núcleo. La SIRT1 puede localizarse en el citosol, mientras que SIRT6 y SIRT7 se observan predominantemente en regiones heterocromáticas y en nucléolo, respectivamente (45,46). La SIRT2 se encuentra generalmente en citoplasma, pero se une a la cromatina durante la mito-



sis (47). Las SIRT3, SIRT4 y SIRT5 son mitocondriales pero han sido descritas también en el núcleo (48). La SIRT4 es mono-ADP ribosil transferasa y las SIRT2, SIRT3 y SIRT6 son simultáneamente deacetilasas y mono-ADP ribosilasas (49-52). La SIRT7 se asocia con cromosomas condensados durante la mitosis y está ampliamente expresada en hígado, testículo y bazo de ratones; esta sirtuina se asocia con la RNA polimerasa I promoviendo la transcripción de genes (53).

Entre las sirtuinas, la SIRT1 ha sido la más estudiada. En el núcleo una gran parte de SIRT1 se encuentra asociada con la eucromatina, su función es variada y se le conocen diferentes substratos, como la familia de factores de transcripción FOXO (54-56). La SIRT1 juega un papel en la homeostasis energética, modificando la transcripción según el estado nutricional (57). Se ha encontrado que durante RC, los niveles de SIRT1 se incrementan (58).

El incremento en los niveles de SIRT1 en respuesta a RC depende del tejido; la actividad enzimática de SIRT1 es requerida para la resistencia a apoptosis inducida por RC (59, 60). La RC también induce la expresión de SIRT3, pero parece disminuir la de SIRT4 (49).

La SIRT1 promueve supervivencia celular deacetilando además de FOXO a proteínas como p53, Ku70 y cMyc. Aunque la supervivencia a estrés oxidativo depende del grado de estrés, SIRT1 previene la apoptosis solo cuando los niveles de estrés son moderadamente elevados (61,62).

La SIRT1 funciona también como un regulador positivo de la secreción pancreática de insulina por las células β , al reprimir la expresión de las proteínas desacopladoras mitocondriales (UCP-2) (63). Por otro lado en el hígado, SIRT1

interactúa y deacetila al coactivador-1a del receptor gamma activado por proliferadores de peroxisomas (PGC-1 α), induciendo la gluconeogénesis en respuesta a ayuno (57).

La SIRT1 se encuentra sobreexpresada en varios tipos de cáncer. Esta sobreexpresión se debe a la pérdida de la represión del promotor de SIRT1. Existen dos elementos de unión a p53 en el promotor SIRT1, reprimiendo la expresión de este gen; en ausencia de nutrientes, FOXO3a se transloca al núcleo, uniéndose a p53 y permitiendo que el gen SIRT1 se transcriba (64).

Por lo tanto, la SIRT1 promueve el arresto celular y reparación del DNA corriente abajo de las proteínas FOXO, favoreciendo más la supervivencia que la apoptosis, lo que está de acuerdo con el modelo en el que SIRT1 incrementa la longevidad (65). Se ha documentado el efecto de la RC sobre la longevidad y la disminución en la incidencia de cáncer. La RC incrementa la actividad de SIRT1 lo que inhibe los procesos apoptóticos; a su vez esta deacetilasa regula de manera negativa la acción del gen de la telomerasa (hTERT). Además la SIRT1 tiene efectos supresores de tumor y por lo tanto incrementa indirectamente la longevidad (66).

Se ha sugerido en diferentes organismos un papel de las sirtuinas en el mantenimiento de la integridad del genoma. La SIRT2 inhibe la recombinación del DNA ribosomal y la relocalización de quiebres de doble cadena en el DNA; funciona como una proteína de chequeo durante mitosis, previniendo la condensación de cromatina como respuesta a estrés mitótico y deacetila la tubulina inestabilizándola (67, 68).

A su vez, células deficientes en SIRT6 en mamíferos muestran una mayor sensibilidad a daño genotóxico y acumulación de anomalías

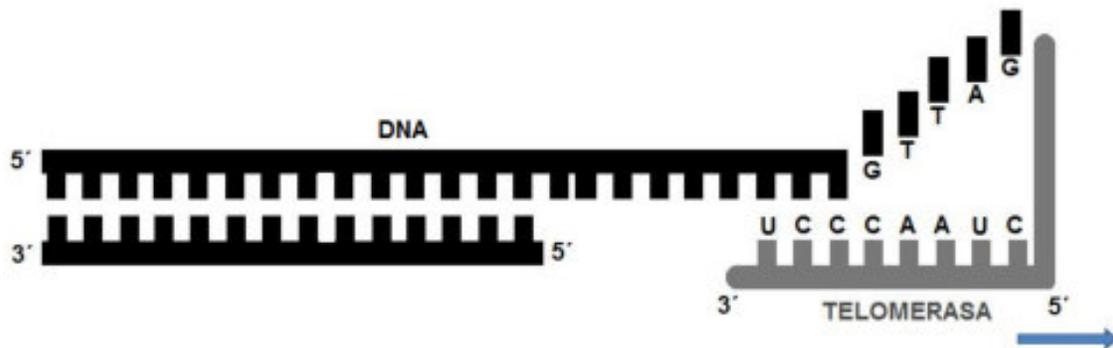


Figura 1. La telomerasa es una transcriptasa reversa que está compuesta por una subunidad molde de RNA y una subunidad catalítica hTERT (human telomerase reverse transcriptase). La primera se expresa de manera constitutiva, mientras que la segunda de manera inductiva. La enzima repone nucleótidos en los extremos 3' del DNA, disminuyendo el acortamiento de los telómeros (72).

cromosómicas. Está relacionada con el mecanismo de reparación por excisión de base (BER). Este mecanismo de reparación protege al genoma de quiebres de cadena sencilla que se incrementan como resultado de procesos de alquilación, oxidación y eventos que involucran mutagénesis química (46). En telómeros humanos se ha demostrado que la SIRT6 también actúa como deacetilasa de histonas (52).

Efecto de los ROS en el proceso de senescencia replicativa

Todos las eucariotas poseen cromosomas lineales y las estructuras en sus extremos se denominan telómeros, los cuales se caracterizan por no codificar para ningún gen (hacen parte de la heterocromatina). En humanos y otros vertebrados presentan repeticiones en tándem en el extremo 3'(TTAGGG)_n ricas en guanina (G) y tienen una cadena sencilla en el extremo 3' encargada de formar la curvatura protegida por proteínas (69). En las eucariotas pluricelulares la longitud de los telómeros varía según el tejido y el número de ciclos celulares, debido al problema replicativo; éste se debe principalmente a la imposibilidad de las DNA polimerasas de replicar en dirección 3'-5'. La

replicación es iniciada por un oligómero de RNA de 8 a 11 bases, el cual se hibrida con la molécula de DNA. La remoción de este oligómero genera una cadena sencilla al final de la cadena de DNA (los telómeros) la cual no puede ser reparada. Así, cada vez que la célula se divide los telómeros se hacen más cortos, ya que se pierden mas de 8-11 nucleótidos, debido a la acción exonucleasa 3'-5' de la DNA polimerasa y al grado de oxidación de las guaninas, lo que conlleva a una pérdida de 50 a 200 nucleótidos en la cadena rica en citocinas (C) (70,71).

Sin embargo en línea germinal y en la hematopoyética y primeros estadios embrionarios se cuenta con una transcriptasa reversa llamada telomerasa, que repone nucleótidos en los extremos teloméricos (Figura 1) (72). La actividad enzimática de la telomerasa se considera un prerrequisito para la inmortalización, ya que aproximadamente el 90% de los diferentes tipos de cáncer la expresan (73).

La telomerasa está compuesta por dos subunidades: una molde (hTR) y la otra catalítica (hTERT). La subunidad hTR es ubicua, mientras que la hTERT está silenciada epigenéticamente, por lo tanto lo que limita la acción

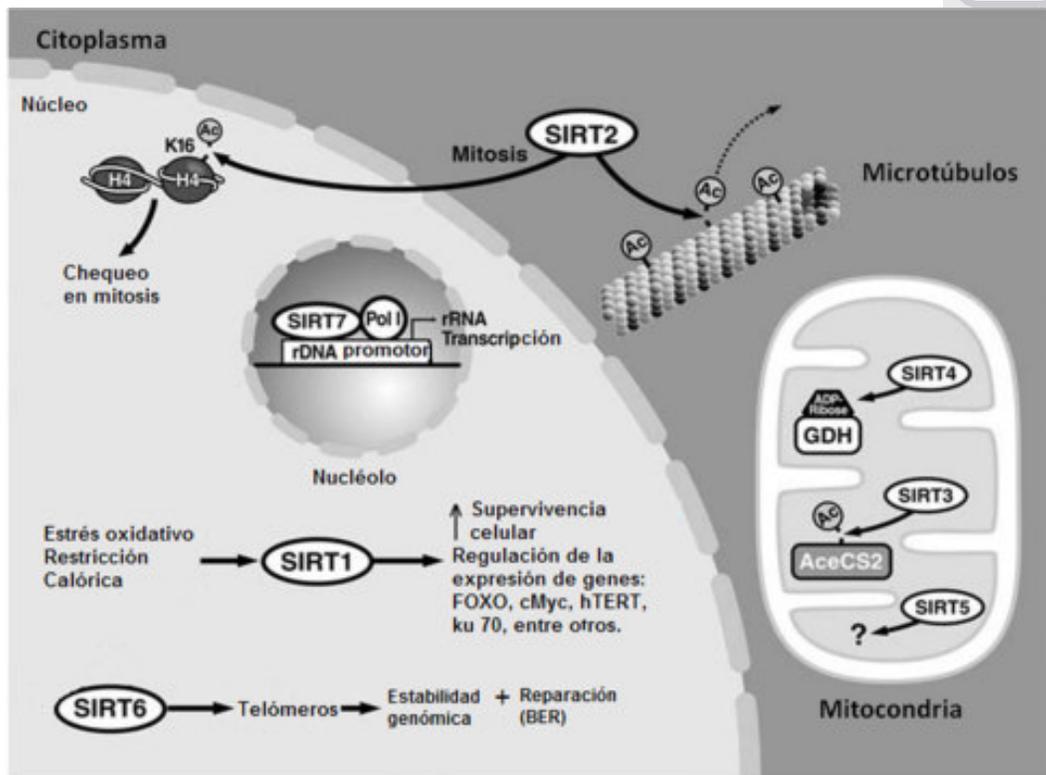


Figura 2. Actividad, localización celular y función de las diferentes sirtuinas en mamíferos. SIRT: sirtuina, GDH: glutamato deshidrogenasa, AceCS2: acetil-CoA sintetasa 2, promotor del rDNA: promotor del DNA ribosomal, Ac: acetilación, K16: lisina 16, FOXO: Forkhead box transcription, hTERT: subunidad catalítica de la transcriptasa reversa de la telomerasa humana, Pol I: RNA polimerasa I y BER: reparación por excisión de base (39).

telomérica es la expresión de la subunidad catalítica hTERT (72).

Dentro de las modificaciones postraduccionales de la telomerasa se incluye la fosforilación de uno de sus residuos por la quinasa Akt, lo que le permite ser reconocida por la proteína 14-3-3 para su paso de citoplasma a núcleo (74).

El control de la actividad de la telomerasa durante el desarrollo normal y la tumorigénesis es muy importante en el establecimiento del periodo proliferativo. Un número de mecanismos de regulación han sido reportados incluyendo la transcripción, “splicing” alternativo y modificaciones postraduccionales de hTERT, siendo el principal el primero de ellos. Se han encontrado sitios de unión al promotor del gen hTERT para

cMyc (cajas E) y Sp1 (cajas G-C), pero también se han encontrado elementos de respuesta a estrógenos (ERE) y otros esteroides (75-78) (Figura 2).

Sin embargo, la actividad catalítica no sólo está regulada por la expresión de la hTERT, ya que otros tipos de proteínas y modificaciones postraduccionales regulan su acción; así, la proteína TRF1 (TTAGGG repeat factor 1) se liga de manera específica al DNA telomérico en cis impidiendo que la telomerasa se una a su substrato (los telómeros) (69).

Por otro lado los telómeros no son reconocidos como un quiebre de cadena doble cuando están unidos al complejo de proteínas shelterin (TRF1, TRF2, TIN2, Rap1, TPP1 y POT1) lo

cual imposibilita la maquinaria celular a inducir arresto celular, apoptosis o fusiones cromosómicas (69). Cuando los telómeros están muy cortos, TRF2 no puede unirse a ellos, lo que lleva a que sean reconocidos como un quiebre de doble cadena activando la vía ATM (Ataxia Telangiectasia Mutada) lo que induce arresto celular y apoptosis (79).

La manera como el estrés oxidativo afecta la senescencia replicativa se explica por el potencial de oxidación de las G, por esta razón la región telomérica es considerada como un indicador molecular del grado de oxidación del genoma; se ha demostrado que el estrés oxidativo genera quiebres de cadena sencilla y en el momento de la replicación estos quiebres influyen en la erosión telomérica acelerando el acortamiento (80). Además, esta oxidación podría impedir la unión de las proteínas teloméricas (70).

Conclusión

La célula debe responder a condiciones de estrés por deficiencia o exceso de aporte energético para controlar procesos de muerte celular, envejecimiento, senescencia y cáncer.

En los mecanismos de la regulación energética y molecular desempeña un papel importante la relación NAD/NADH⁺. Durante la restricción calórica los niveles de NAD⁺ se incrementan debido a la baja oxidación de substratos energéticos, lo que aumenta la actividad de deshidrogenasas permitiendo la movilización de reservas energéticas. Además el NAD⁺ es un cofactor necesario para la actividad enzimática de las sirtuinas.

Las sirtuinas, proteínas deacetilasas de histonas, están relacionadas con mecanismos de supervivencia. Las SIRT incrementan la estabilidad del genoma, por acción sobre procesos tales como

reparación, silenciamiento genético y mantenimiento de los telómeros.

Por otro lado, las sirtuinas también se activan en respuesta a una elevación moderada de estrés oxidativo impidiendo daño en el genoma y promoviendo procesos de reparación por excisión de base. El papel de las sirtuinas en los procesos de supervivencia involucra la regulación de genes como p53, el protooncogen cMyc, genes de la familia FOXO y proteínas de reparación como la ku70. Esto permite que la célula soporte cierto grado de restricción calórica y estrés oxidativo, favoreciendo supervivencia pero impidiendo la inmortalización.

La telomerasa elonga los telómeros, permitiendo que éstos tengan una longitud adecuada para que la célula continúe su proceso de replicación. La acción de esta enzima es un prerrequisito para la inmortalización de las células cancerosas. A su vez la telomerasa es regulada de manera negativa por las SIRT que si bien aumentan la supervivencia, no incrementan directamente la proliferación celular.

El aumento de la longevidad y la menor incidencia de cáncer que se presenta en la restricción calórica podría deberse a un aumento de la expresión de algunas proteínas de la familia SIRT, las cuales además de su papel en la regulación de proteínas proapoptóticas, disminuyen la generación de especies reactivas mediante el estímulo de la transcripción de genes de enzimas antioxidantes.

Referencias

1. **Cerni C.** Telomeres, telomerase, and *myc*. An update. *Mutat Res.* 2000; 462: 31-47.
2. **Bayne S, Liu JP.** At the cutting edge. Hormones and growth factors regulate telomerase activity in ageing and cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2005; 240: 11-22.
3. **Lithgow GJ.** Why aging isn't regulated: a lamentation



- on the use of language in aging literature. *Exp Gerontol*. 2006; 10:890-893.
4. **Lithgow GJ**. Hormesis—a new hope for ageing studies or a poor second to genetics? *Hum Exp Toxicol*. 2001; 20: 301-303.
 5. **Maynard S**. Prolongation of the life of *Drosophila subobscura* by brief exposure of adults to a high temperature. *Nature*. 1958; 181: 496-497.
 6. **Lithgow GJ, White TM, Melov S, Johnson TE**. Thermotolerance and extended life span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92: 7540-7544.
 7. **Masoro EJ, Austad SN**. The evolution of the antiaging action of dietary restriction: a hypothesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1996; 51: B387-B391.
 8. **Sinclair DA**. Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech Ageing Dev*. 2005; 126: 987-1002.
 9. **Wood JG, Rogina B, Lavu S, Howitz K, Helfand SL, Tatar M, et al**. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*. 2004; 430: 686-689.
 10. **Poli G, Leonarduzzi G, Biasi F, Chiarpotto E**. Oxidative stress and cell signalling. *Curr Med Chem*. 2004; 11: 1163-1182.
 11. **Dröge W**. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*. 2002; 82: 47-95.
 12. **Beckman KB, Ames B**. Oxidative decay of DNA. *J Biol Chem*. 1997; 272: 19633-19636.
 13. **Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H**. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radic Biol Med*. 2002; 32: 1102-1115.
 14. **Marnett LJ**. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2000; 21: 361-370.
 15. **Penta JS, Johnson FM, Wachsman JT, Copeland WC**. Mitochondrial DNA in human malignancy. *Mutat Res*. 2001; 488: 119-133.
 16. **Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H**. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Rad Biol Med*. 1991; 11: 81-128.
 17. **Marnett LJ**. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*. 1999; 424: 83-95.
 18. **Dröge W**. Oxidative stress and aging. *Adv Exp Med Biol*. 2003; 543: 191-200.
 19. **Cheng KC, Preston BD, Cahill DS, Dosanjh MK, Singer B, Loeb L**. The vinyl-chloride DNA derivative N2,3-ethenoguanine produces G→A transitions in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991; 88: 9974-9978.
 20. **Toussaint O, Medrano EE, von Zglinicki T**. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Exp Gerontol*. 2000; 35: 927-945.
 21. **Sastre-Serra JJ, Valle AA, Company MM, Garau II, Oliver JJ, Roca PP**. Estrogen down-regulates uncoupling proteins and increases oxidative stress in breast cancer. *Free Radic Biol Med*. 2009. www.sciencedirect.com [Consultado el 22 de diciembre de 2009].
 22. **Heydari AR, Unnikrishnan A, Lucente LV, Richardson A**. Caloric restriction and genomic stability. *Nucleic Acids Res*. 2007; 35: 7485-7496.
 23. **Stuart J, Karahalil B, Hogue BA, Souza-Pinto NC, Bohr VA**. Mitochondrial and nuclear DNA base excision repair are affected differently by caloric restriction. *FASEB J*. 2004; 18: 595-597.
 24. **Swindell WR**. Genes and gene expression modules associated with caloric restriction and aging in the laboratory mouse. *BMC Genomics*. 2009; 10: 585-612.
 25. **Sherlock M, Toogood A**. Aging and the growth hormone/insulin like growth factor-I axis. *Pituitary*. 2007; 10: 189-203.
 26. **Lamberts SW, van den Beld AW, van der Lely AJ**. The endocrinology of aging. *Science*. 1997; 278: 419-424.
 27. **Yang J, Anzo M, Cohen P**. Control of aging and longevity by IGF-I signaling. *Exp Gerontol*. 2005; 40: 867-872.
 28. **Barbieri M, Bonafe M, Franceschi C, Paolisso G**. Insulin/IGF-I signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003; 285: E1064-E1071.
 29. **Suh Y, Atzmon G, Cho M, Hwang D, Liu B, Leahy D, et al**. Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 3438-3442.
 30. **Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A, Tabtiang R**. A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature*. 1993; 366: 461-464.
 31. **Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo R**. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*. 2001; 292: 107-110.
 32. **Blüher M, Kahn BB, Kahn CR**. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science*. 2003; 299: 572-574.
 33. **Flachsbart F, Caliebe A, Kleindorp R, Blanché H, von Eller-Eberstein H, Nikolaus S, et al**. Associa-

- tion of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106: 2700-2705.
34. **Kenyon C, Murphy CT.** Enrichment of regulatory motifs upstream of predicted. DAF-16 targets. *Nat Genet*. 2006; 38: 397-398.
 35. **Daitoku H, Fukamizu A.** FOXO transcription factors in the regulatory networks of longevity. *J Biochem*. 2007; 141: 769-774.
 36. **Essers M, de Vries-Smits LM, Barker N, Polderman PE, Burgering BM, Korswagen H.** Functional interaction between beta-catenin and FOXO in oxidative stress signaling. *Science*. 2005; 308: 1181-1184.
 37. **Willcox BJ, Donlon TA, He Q, Chen R, Grove JS, Yano K, et al.** FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105: 13987-13992.
 38. **Finkel T, Deng CX, Mostoslavsky R.** Recent progress in the biology and physiology of sirtuins. *Nature*. 2009; 460: 587-591.
 39. **Saunders LR, Verdin E.** Sirtuins: critical regulators at the crossroads between cancer and aging. *Oncogene*. 2007; 26: 5489-5504.
 40. **Yamamoto H, Schoonjans K, Auwerx J.** Sirtuin functions in health and disease. *Mol Endocrinol*. 2007; 21: 1745-1755.
 41. **Liou GG, Tanny JC, Kruger RG, Walz T, Moazed D.** Assembly of the SIR complex and its regulation by O-acetyl-ADP-ribose, a product of NAD-dependent histone deacetylation. *Cell*. 2005; 121: 515-527.
 42. **Blander G, Guarente L.** The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu Rev Biochem*. 2004; 73:417-435.
 43. **Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, et al.** Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*. 2004; 305: 390-392.
 44. **Landry J, Sutton A, Tafrov ST, Heller RC, Stebbins J, Pillus L, et al.** The silencing protein SIR2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 5807-5811.
 45. **Tanno M, Sakamoto J, Miura T, Shimamoto K, Horio Y.** Nucleocytoplasmic shuttling of the NAD+-dependent histone deacetylase SIRT1. *J Biol Chem*. 2007; 282: 6823-6832.
 46. **Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, Pang WW, Fischer MR, Gellon L, et al.** Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*. 2006; 124: 315-329.
 47. **North BJ, Marshall BL, Borra MT, Denu JM, Verdine E.** The human Sir2 ortholog, SIRT2, is an NAD+-dependent tubulin deacetylase. *Mol Cell*. 2003; 11: 437-444.
 48. **Scher MB, Vaquero A, Reinberg D.** SirT3 is a nuclear NAD+-dependent histone deacetylase that translocates to the mitochondria upon cellular stress. *Genes Dev*. 2007; 21: 920-928.
 49. **Haigis MC, Mostoslavsky R, Haigis KM, Fahie K, Christodoulou DC, Murphy AJ, et al.** SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic b cells. *Cell*. 2006; 126: 941-954.
 50. **Liszt G, Ford E, Kurtev M, Guarente L.** Mouse Sir2 homolog SIRT6 is a nuclear ADP-ribosyltransferase. *J Biol Chem*. 2005; 280: 21313-21320.
 51. **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: 13560-13567.
 52. **Michishita E, McCord RA, Berber E, Kioi M, Padilla-Nash H, Damian M, et al.** SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature*. 2008; 45: 492-496.
 53. **Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, Grummt I, Guarente L.** Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes Dev*. 2006; 20: 1075-1080.
 54. **Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barrett JC, Horikawa I.** Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell*. 2005; 16: 4623-4635.
 55. **Feige JN, Auwerx J.** Transcriptional targets of sirtuins in the coordination of mammalian physiology. *Curr Opin Cell Biol*. 2008; 20: 303-309.
 56. **Salih DA, Brunet A.** FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. *Curr Opin Cell Biol*. 2008; 20:126-136.
 57. **Rodgers JT, Lerin C, Gerhart-Hines Z, Puigserver P.** Metabolic adaptations through the PGC-1 alpha and SIRT1 pathways. *FEBS Lett*. 2008; 582: 46-53.
 58. **Cantó C, Auwerx J.** Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20: 325-331.
 59. **Chen D, Bruno J, Easlon E, Lin SJ, Cheng HL, Alt FW, et al.** Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev*. 2008; 22: 1753-1757.
 60. **Wang C, Chen L, Hou X, Li Z, Kabra N, Ma Y, et al.** Interactions between E2F1 and SirT1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nat Cell Biol*. 2006; 8: 1025-1031.



61. **Chua KF, Mostoslavsky R, Lombard DB, Pang WW, Saito S, Franco S et al.** Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. *Cell Metab.* 2005; 2: 67-76.
62. **Yuan J, Minter-Dykhouse K, Lou Z.** A c-Myc-SIRT1 feedback loop regulates cell growth and transformation. *J Cell Biol.* 2009; 185: 203-211.
63. **Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Méneur C, et al.** Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic b cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab.* 2005; 2: 105-117.
64. **Nemoto S, Fergusson MM, Finkel T.** Nutrient availability regulates SIRT1 through a forkhead-dependent pathway. *Science.* 2004; 306: 2105-2108.
65. **Finkel T, Holbrook NJ.** Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000; 408: 239-247.
66. **Narala SR, Allsopp RC, Wells TB, Zhang G, Prasad P, Coussens MJ, et al.** SIRT1 acts as a nutrient-sensitive growth suppressor and its loss is associated with Increased AMPK and telomerase activity. *Mol Biol Cell.* 2008; 19: 1210-1219.
67. **Inoue T, Hiratsuka M, Osaki M, Yamada H, Kishimoto I, Yamaguchi S et al.** SIRT2, a tubulin deacetylase, acts to block the entry to chromosome condensation in response to mitotic stress. *Oncogene.* 2006; 26: 945-957.
68. **Rowinsky EK, Calvo E.** Novel agents that target tubulin and related elements. *Semin Oncol.* 2006; 33: 421-435.
69. **De Lange T.** Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 2005; 19: 2100-2110.
70. **Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP.** Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell.* 1997; 88: 657-666.
71. **Wong KK, Chang S, Weiler SR, Ganesan S, Chaudhuri J, Zhu C, et al.** Telomere dysfunction impairs DNA repair and enhances radiosensitivity to ionizing radiation. *Nat Genet.* 2000; 26: 85-88.
72. **Bachand F, Autexier C.** Functional regions of human telomerase reverse transcriptase and human telomerase RNA required for telomerase activity and RNA-protein interactions. *Mol Cell Biol.* 2001; 21: 1888-1897.
73. **Shay JW, Bacchetti S.** A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer.* 1997; 33: 787-791.
74. **Seimiya H, Sawada H, Muramatsu Y, Shimizu M, Ohko K, Yamane K et al.** Involvement of 14-3-3 proteins in nuclear localization of telomerase. *EMBO J.* 2000; 19: 2652-2661.
75. **Cao Y, Li H, Deb S, Liu JP.** TERT regulates cell survival independent of telomerase enzymatic activity. *Oncogene.* 2002; 21: 3130-3138.
76. **Horikawa I, Cable PL, Afshari C, Barrett JC.** Cloning and characterization of the promoter region of human telomerase reverse transcriptase gene. *Cancer Res.* 1999; 59: 826-830.
77. **Misiti S, Nanni S, Fontemaggi G, Cong YS, Wen J, Hirte HW, et al.** Induction of hTERT expression and telomerase activity by estrogens in human ovary epithelium cells. *Mol Cell Biol.* 2000; 20: 3764-3771.
78. **Lebeau J, Fouchet P, Ory K, Chevillard S.** Down-regulation of telomerase activity after progesterone treatment of human breast cancer cells: essential role of the cell cycle status. *Anticancer Res.* 2002; 22: 2161-2166.
79. **Karlseder J, Hoke K, Mirzoeva OK, Bakkenist C, Kastan MB, Petrini JH, et al.** The telomeric protein TRF2 Binds the ATM Kinase and can inhibit the ATM-dependent DNA damage response. *PLoS Biol.* 2004; 2: 1150-1156.
80. **Lorenz M, Saretzki G, Sitte N, Metzkow S, von Zglinicki T.** BJ fibroblasts display high antioxidant capacity and slow telomere shortening independent of hTERT transfection. *Free Radic Biol Med.* 2001; 31: 824-831.