

SIRT1: ASPECTOS MOLECULARES ENVOLVIDOS NA BIOLOGIA DO ENVELHECIMENTO E PREDIÇÃO *IN SILICO* DA ESTRUTURA PROTÉICA.

Roberto Eudes Pontes Costa Filho¹, Raquel Carlos de Brito¹, Maria Esilene Valença Batista¹,
Brígida Thaís Luckwü de Lucena² e Antônio Humberto Pereira da Silva Júnior³

(1,3) Universidade Federal de Campina Grande, campus Cajazeiras – Paraíba

roberteuds@gmail.com

(2) Universidade Estadual da Paraíba, Campus V. João Pessoa, Paraíba

1. INTRODUÇÃO

O envelhecimento humano corresponde ao resultado de uma complexa relação entre os fatores ambientais, associados à biologia natural de cada organismo. É uma característica natural de todas as espécies e sempre se caracteriza pelo aumento nos riscos de surgimento de disfunções biológicas, o que pode culminar como a morte do indivíduo¹.

O aumento na expectativa de vida da população é refletido pelos investimentos em saúde, estímulo à prática de uma alimentação saudável e de atividade física. Nos países subdesenvolvidos, a ocorrência de infecções e enfermidades ocupacionais no indivíduo, aliado à necessidade de longas jornadas de trabalho, contribuem para o envelhecimento humano precocemente².

Esse amplo espectro multifatorial pode resultar no surgimento de patologias associadas à idade, a exemplo do mal de Alzheimer e da Doença de Parkinson. Os fatores extrínsecos, tais como o tabagismo, etilismo, estresse, comportamento agressivo, estabelecimento de patologias precoces e, os agentes de natureza intrínseca, como por exemplo, a ação dos radicais livres e de moléculas oxidantes, a toxicidade de diversas drogas ao organismo, a perda da capacidade de controle da multiplicação celular e na correção de danos ao DNA e estresse oxidativo, também contribui para o envelhecimento³.

Como resultado, observamos um desequilíbrio dos mecanismos homeostáticos e uma das principais evidências acerca destes achados, está no mal funcionamento do sistema nervoso central (SNC). É possível observar em vários casos, a redução da síntese protéica e de moléculas essenciais ao funcionamento normal do SNC; acúmulo de proteína β -amilóide, causa primária do surgimento

do mal de Alzheimer; alterações no trânsito de determinados neurotransmissores; declínio da memória e redução da plasticidade neuronal⁴.

Por conta desta diversidade de elementos associados ao envelhecimento, diversos estudos tentam investigar o funcionamento das diferentes vias celulares relacionados ao declínio normal do indivíduo e o aparecimento progressivo de doenças.

SIRT1 é umas das principais moléculas envolvidas ao longo do processo de envelhecimento. São proteínas com funções variadas, dentre elas, a sua participação no mecanismo de desacetilação do DNA, uma forma de regulação epigenética do DNA^{5,6}. Esta proteína representa tem o seu homólogo descrito em *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster* e *Caenorhabditis elegans*, a proteína SIR2. Nestes organismos, SIR2 parece estar correlacionada com os processo relativos ao envelhecimento^{7,8}.

Embora o conhecimento do seu papel biológico ainda não esteja completamente elucidado, as sirtuínas parecem estar envolvidas na regulação da atividade de algumas proteínas intracelulares e no silenciamento de alguns genes.

Então, este trabalho teve como objetivo revisar o papel biológico da SIRT1 em células humanas, e analisar a predição *in silico* da proteína, o qual poderá contribuir para a futura compreensão do seu papel biológico e das suas variantes, sobre o envelhecimento humano.

2. METODOLOGIA

Banco de Dados da Literatura

Para a busca dos artigos científicos, foram utilizados o servidor PubMed, PubMed Health e Scielo. Foram selecionados artigos na língua portuguesa e inglesa, a partir das buscas com os seguintes descritores “SIRT1”, “Sirtuínas”, “Envelhecimento”, “Agging”.

O período da pesquisa ocorreu entre os meses de Maio de 2017 à Setembro de 2017, onde foram selecionados os artigos mais recentes que tratavam da descrição da estrutura e do papel biológico das SIRT1.

Banco de Dados Genômicos

Para a análise da constituição genômica da SIRT1, foi utilizado o banco de dados do National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Para a localização da sequência genômica e protéica de SIRT1, foi utilizado no buscador “Nucleotide”, tendo sido selecionado a sequência de referência descrita no

sequenciamento do genoma humano pelo método shotgun. A sequência do genoma humano está disponível no acesso CM000261.1 (/db_xref="geneID:23411"). Foi utilizada a sequência descrita como "Homo sapiens sirtuin 1 (SIRT1), transcript variant 1, mRNA - NCBI Reference Sequence: NM_012238.4". As demais variantes foram excluídas da análise.

Software PSIPRED

A plataforma *on line* PSIPRED (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>), descrita por McGuffin et al. (2000), foi utilizada para a predição da estrutura secundária da proteína SIRT1. Este modelo, pode auxiliar no entendimento heterogeneidade genética encontrada na estrutura das variantes da proteína SIRT1, e ajudar a compreender o significado biológico dos tipos descritos na literatura.

3. BACKGROUND

3.1 - SIRT1: participação em vários aspectos clínicos

As Sirtuínas são proteínas desacetilases de histonas que utilizam NAD⁺ durante o seu ciclo de dasacetilação, associada ao metabolismo celular⁹. Uma destas proteínas, a SIRT1, representa uma das proteínas descritas em células de mamíferos, cujo homólogo mais estudado, a proteína SIR2, foi descrita inicialmente em células de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*¹⁰.

Um dos mecanismos de ativação das proteínas SIRT1 nos mamíferos, ocorre pela fosforilação controlada por inúmeras quinases como Cdk1, JNK1 e DYRK1-3⁹. Além deste mecanismo, variações metabólicas foram descritas com indutores da expressão de SIRT1, como observado em experimentos com restrição calórica em humanos, enquanto a obesidade apresenta efeito contrário, podendo reduzir a expressão dessa enzima^{11,12}.

Com o envelhecimento humano, algumas doenças são comuns nesta fase, a exemplo da Doença de Alzheimer (AD) e a Doença de Parkinson (PD). Em modelos murinos, foi observado que a superexpressão de SIRT1, promove uma redução da proteína β -amilóide, reduzindo significativamente a perda da memória e o aumento da longevidade celular nos indivíduos idosos¹³. Neste mesmo estudo, modelos murinos que sofreram o knockout do gene SIRT1 apresentaram um aumento e acúmulo da proteína beta-amilóide, contribuindo para o surgimento do fenótipo da AD.

A expressão de SIRT1 também foi associada como um elemento protetor para a manifestação da PD, evitando o acúmulo de α -sinucleína, responsável pela desregulação do sistema dopaminérgico do SNC. Da mesma forma, camundongos knockout, apresentaram um acúmulo de α -sinucleína e, conseqüentemente, a manifestação da PD¹⁴.

No metabolismo celular, SIRT1 atua em vários processos, tais como a gliconeogênese, oxidação de ácidos graxos, síntese de ácidos biliares e lipogênese^{15,12}. Outros estudos, apontam para uma redução do processo inflamatório mediado por SIRT1, via desacetilação de proteína regulatórias, a exemplo da sinalização da resposta imune pela via NF- κ B ativada em macrófagos^{16,17}.

Em relação aos aspectos moleculares, as sirtuínas são responsáveis pela regulação da cromatina e na manutenção da estabilidade do genoma¹. SIRT1 é responsável pela regulação de proteínas relacionadas ao controle do ciclo celular e proliferação, como a proteína c-MYC e p53 e inibição do crescimento celular¹⁸. Assim, na biologia do câncer, SIRT1 pode apresentar papéis antagônicos, atuando juntamente como moléculas supressoras de tumor ou contribuir com outras proteínas que apresentam um elevado potencial oncogênico¹⁹.

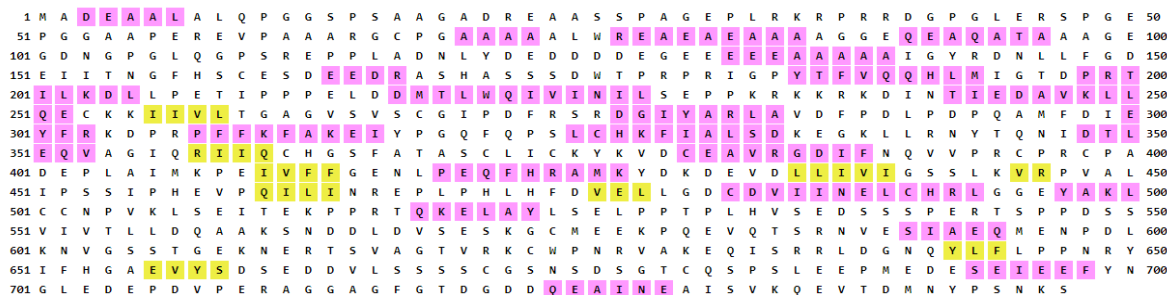
3.2 - DADOS *IN SILICO*

A sequência do gene SIRT1 estudada (NM_012238.4), apresentou um total 2.244 nucleotídeos, localizado em 10q21.3, com um total de onze éxons (Gene ID: 23411, updated on 03-Sep-2017). Considerando toda a informação anotada, teremos um total de 748 aminoácidos (figura 1). No entanto, é necessário compreender, que o mRNA de SIRT1, passa por diferentes mecanismos de splicing alternativo, o que pode gerar novas variantes do gene, com tamanhos e funções diferentes nos tecidos. Então, é possível identificar diferentes isoformas de SIRT1, devido ao polimorfismo apresentado pelo gene. O mapa apresentado simboliza a distribuição geral dos aminoácidos de SIRT1 localizado no cromossomo 10.

São necessários mais estudos sobre a análise do perfil de polimorfismos que podem ser encontrados na sequência genômica em SIRT1. Estas análises podem contribuir para o entendimento do perfil evolucionário da proteína, visto a sua ampla distribuição pelos tecidos corporais e a ampla variedade de funções. Além disso, a identificação dos domínios protéicos de SIRT1 e de outras proteínas homólogas, podem ajudar a gerar novos dados comparativos dentre as demais Sirtuínas (SIRT2 – SIRT7).

Secondary Structure Map

Feature predictions are colour coded onto the sequence according to the sequence feature key shown below.



KEY	Helix	Sheet	Disordered	Disordered protein binding	Dompred Boundary	DomSSEA Boundary
Annotations	H	L	D	E	B	S

Figura 1: Mapa da constituição dos aminoácidos da proteína SIRT1. Perfil apresentado com base na sequência de referência NM_012238.4 *Homo sapiens* sirtuin 1 (SIRT1). A predição do modelo contribui para a análise comparativa com outras variantes da mesma proteína e com as outras proteínas pertencentes à família das Sirtuínas. O modelo foi gerado com o auxílio do software Psipred.

Também foi possível identificar, através do GenBank (NCBI), a expressão diferenciada desta proteína nos mais variados tecidos, o que mostra a diversidade de funções da SIRT1, associadas ao corpo humano (figura 2).

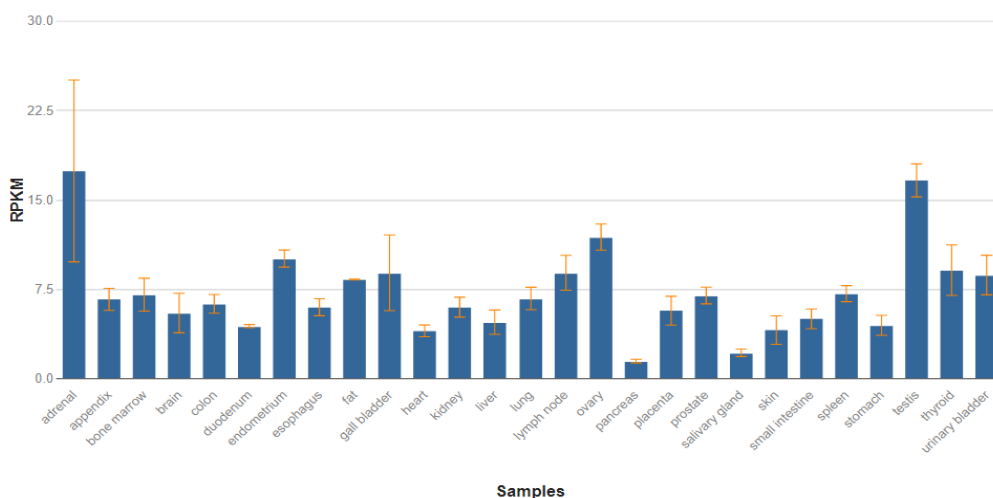


Figura 2: Análise gráfica do perfil de RNA-seq de SIRT1, proveniente de tecidos normais. Perfil apresentado com base na sequência de referência NM_012238.4 *Homo sapiens* sirtuin 1 (SIRT1). Gráfico disponível em https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=23411.

4. CONCLUSÕES

É incontestável o papel da SIRT1 em diversos mecanismos fisiológicos e bioquímicos no corpo humano, na fase de envelhecimento. Nesse contexto, as ferramentas da biologia molecular têm contribuído imensamente para a elucidação das vias celulares envolvidas na senescência e no estabelecimento de modelos moleculares e na predição de possíveis impactos biológicos sobre os indivíduos.

5. REFERÊNCIAS

1. Giblin, W; Skinner, ME; Lombard, DB. Sirtuins: guardians of mammalian healthspan. *Trends in Genetics*. 2014, 30: 1-16.
2. Finch, CE. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: evolution of the human lifespan and diseases of aging: roles of infection, inflammation, and nutrition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010, 107 (Suppl. 1), 1718-1724.
3. de Moraes EM, de Moraes FL, Lima SPP. Características biológicas e psicológicas do envelhecimento. *Ver Med Minas Gerais*. 2010, 20(1): 67-73.
4. Tallis RC, Fillit HM. Broncklehurst's textbook of geriatric medicine and gerontology. 6a ed. Oxford: Churchill Livingstone; 2003.
5. Jeong S.M.; Xiao C.; Finley L.W.; Lahusen T.; Souza A.L.; Pierce K. et al. SIRT4 Has Tumor-Suppressive Activity and Regulates the Cellular Metabolic Response to DNA Damage by Inhibiting Mitochondrial Glutamine Metabolism. *Cancer Cell*. 2013, 23(4): 450-463.
6. Grabowska W.; Sikora E.; Bielak-Zmijewska A. Sirtuins, a promising target in slowing down the ageing process. *Biogerontology*. 2017, 18(4): 447-476.
7. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2001, 410(6825):227-230.
8. Viswanathan M, Guarente L. Regulation of *caenorhabditis elegans* lifespan by sir-2.1 transgenes. *Nature*. 2011, 477(7365).
9. Imai S, Armstrong CM, Kaeberlein M, Guarente L. Transcriptional silencing and longevity protein sir2 is an nad-dependent histone deacetylase. *Nature*. 2000, 403(6771): 795-800.
10. Klar AJ, Fogel S, Macleod K. Mar1-a regulator of the hma and hmalpha loci in *saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*. 1979, 93(1): 37-50.
11. Peck B.; Chen. C.; Ho K.; Fruscia P. D.; Myatt S. S.; Coombes R. C. SIRT Inhibitors Induce Cell Death and p53 Acetylation through Targeting Both SIRT1 and SIRT2. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2010, 9(4): 844-855.
12. Chang, H.C.; Guarente, L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2014, 25(3): 138-45.
13. Domez, G et al. SIRT1 supresses beta-amyloid production by activating the alpha-secretase gene ADAM10. *Cell*. 2010, 142: 320-332.
14. Domez G et al. SIRT1 protects against alpha-synuclein aggregation by activating molecular chaperones. *J. Neurosci*. 2012, 32: 124-132.
15. Li, X. SIRT1 and energy metabolism. *Acta Biochim. Biophys. Sin*. 2013, 45: 51-60.
16. Jung, KJ et al. Effect of short term calorie restriction on pro-inflammatory NF-κB and AP-1 in aged rat kidney. *Inflamm. Res*. 2009, 58: 143-150.
17. Haigis, MC and Sinclair, DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu. Rev. Pathol*. 2010, 5: 253-295.
18. Yuan, H. et al. The emerging and diverse roles of sirtuins in cancer: a clinical perspective. *Oncotargets Ther*. 2013, 6: 1399-1416.
19. Bosch-Presegue L, Vaquero A. The dual role of sirtuins in cancer. *Genes Cancer* 2011, 2(6):648-662.