

Sirtuine, restrizione calorica e longevità

Ruolo del resveratrolo

Sirtuins, calorie restriction and life-span extension

Role of resveratrol

Summary

The most challenging aim of gerontology is to extend human life span to 150-160 years. Recent studies performed on yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) aim precisely at achieving this. Certain protein deacetylases, called sirtuins (silent information regulators), are able to slow down ageing, extend life span and counter numerous diseases, such as Alzheimer's, Parkinson's, diabetes mellitus and some cardiovascular complaints, by suppressing the formation of toxic extrachromosomal rDNA circles.

Calorie restriction (CR) can also significantly extend life span. Although the benefits of CR have been known for many years, its mechanism remains unclear. Its complexity lies in its multiple effects, including metabolic, neuroendocrine and apoptotic changes.

Resveratrol is a polyphenolic compound found in grapes, red wine, purple grape juice, peanuts and some berries. It stimulates Sir2 activity and extends the life span of yeast by 70%. However, it is not known whether resveratrol is able to affect human life span.

Cacciapuoti F, Cacciapuoti F. Sirtuins, calorie restriction and life-span extension. Role of resveratrol. *Trends Med* 2008; 8(2):73-82.

© 2008 Pharma Project Group srl

Federico Cacciapuoti

Fulvio Cacciapuoti

Dipartimento di Gerontologia e
Malattie del Metabolismo
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Seconda Università di Napoli

Key-words:

sirtuine
caloric restriction
longevity
cellular metabolism
resveratrol

Federico Cacciapuoti

Cattedra di Medicina Interna
Piazza L. Miraglia, 2
Università degli Studi di Napoli
80138-Napoli

La durata media della vita si aggira attualmente intorno ai 75-85 anni, almeno nei Paesi maggiormente industrializzati. La moderna Gerontologia tende ad una dilatazione degli attuali limiti, fino a raggiungere una sopravvivenza che arrivi fino ai 150-160 anni. A tale proposito, alcuni Ricercatori del Johns Hopkins Hospital e dell'Università del Wisconsin hanno scoperto già da qualche anno, che una famiglia di proteine presente nei lieviti e denominata Sir2 (Silent Information Regulator2), è in grado di prolungare significativamente la vita di questi organismi^{1,2}. Ciò si verifica per un incremento della respirazione cellulare, vale a dire di quel processo che (utilizzando l'ossigeno) trasforma le calorie in energia,

che avviene a spese della fermentazione. Studiando il metabolismo dei batteri, il gruppo di Ricercatori del Johns Hopkins ha scoperto infatti che le Sirtuine controllano l'enzima acetil-CoA sintetasi, che trasforma l'acetato (una sorgente calorica) in acetil-CoA (un componente-chiave della respirazione cellulare). L'acetil-CoA così formatosi, evolve ulteriormente in acido citrico ed energia. Più specificamente, le sirtuine agiscono rimuovendo i gruppi acetilici mediante il NAD⁺ e pertanto sono anche denominate NAD⁺-deacetilasi^{3,5}. Bisogna aggiungere che la modalità ultima che spiega il rapporto tra sirtuine e longevità e delle reazioni chimiche che lo regolano è quella che inibisce la formazione di DNA ricombi-

nante (rDNA) extracromosomiale, che è tossico per l'organismo e che favorisce quelle modificazioni organiche tipiche dell'invecchiamento. Più precisamente, una delezione di Sir2 aumenta la ricombinazione del DNA, provocando un accorciamento della durata di vita, mentre la sua sovraespressione consegue effetti opposti.

Oltre che allungare la durata della vita nei lieviti, nei vermi e nelle farfalle, esse sono coinvolte in numerosi altri processi cellulari, che vanno dalla stabilità del genoma, alla riparazione del DNA, ai processi trascrizionali, all'apoptosi all'adipogenesi e ad altri importanti fenomeni vitali.

Ricerche recenti suggeriscono che la restrizione calorica (RC), cioè quella pratica che limita l'introduzione di cibo con la dieta, può determinare gli stessi effetti provocati dalle sirtuine sulla durata della vita. Questa condizione è di solito contrassegnata da valori bassi di colesterolo, da una riduzione del tasso sierico di glucosio a digiuno, da bassi valori di pressione arteriosa. Al contrario, l'eccessiva introduzione di cibo si traduce in una condizione di sovrappeso o di obesità franca, caratterizzata dall'accumulo di tessuto adiposo in sede viscerale (VAT) che, a differenza del grasso sottocutaneo, si associa ad una condizione di insulino-resistenza, dislipidemia, ipertensione, infiammazione, squilibri dell'assetto ormonale e alterazione di alcuni fattori della crescita. Ciò si verifica perché il tessuto adiposo viscerale, per la sua vicinanza al fegato (organo deputato alla maggior parte delle attività metaboliche), si comporta come un

vero e proprio organo endocrino, capace di indurre le alterazioni sopra-dette, che diventano spesso responsabili dello sviluppo di diabete mellito, aterosclerosi e finanche di alcune forme di cancro.

Riferendoci all'Uomo, non è ancora noto se un regime di RC caratterizzato però dall'apporto di tutti i micronutrienti essenziali, sia in grado di rallentare il processo di invecchiamento. Questo tipo di osservazione appare di difficile evidenziazione, anche se un modo per verificare tale evenienza sarebbe quello di valutare se una RC cronica induce nell'Uomo le stesse modificazioni metaboliche-ormonali precedentemente riferite.

Gli effetti della RC sulla durata della vita appaiono conseguenti sia alla prevalenza della respirazione cellulare sulla fermentazione che alla condizione di stress in cui si viene a trovare una cellula sottoposta ad un regime dietetico. Le due condizioni attive avrebbero alcune sirtuine intramitochondriali (Sirt3 e Sirt4) che, a loro volta, aumentano la produzione intramitochondriale di Nicotin-Amide Dinucleotide (NAD). E' sufficiente l'attivazione di tale meccanismo per proteggere la cellula dall'invecchiamento e dalla morte. Infatti il NAD favorisce la rimozione dei gruppi acetilici, evitando la formazione di prodotti tossici.

Tuttavia, considerare la RC quale causa della maggior durata della vita resta per ora solo un'affascinante ipotesi, soprattutto per la complessità dei fenomeni genetici e molecolari coinvolti nel processo di invecchiamento. Dobbiamo anche considerare che la gran parte delle ricerche riportate

si riferiscono ad organismi uni- o oligocellulari e che l'invecchiamento di questi è molto diverso da quello degli esseri umani, nei quali più difficilmente il processo può essere rallentato da una singola sostanza o mediante un singolo meccanismo biochimico. In ogni caso, il significativo prolungamento della vita indotto nei procarioti (*Saccharomyces cerevisiae*), sembra avallare questa che è molto più di una semplice congettura.

A sostegno delle perplessità legate alla RC quale causa di longevità vi è la constatazione che l'aggiunta di Sir2 alla dieta dei topi non è riuscita ad aumentarne la durata della vita. Risultati positivi sono stati invece riportati da Sinclair e Guarente per i lieviti e i moscerini⁶. Queste diverse conclusioni ribadiscono la mancanza di automaticità nel trasferire i risultati ottenuti agli organismi pluricellulari e all'uomo.

Sirtuine

La famiglia delle sirtuine è la principale responsabile del fenomeno della longevità, anche se interviene pure in numerose altre attività fondamentali per la vita. Strutturalmente, esse sono costituite da due domini globulari: uno piccolo e uno largo, separati da un'ampia scanalatura.

Negli organismi oligocellulari, questi enzimi sono divisi in cinque classi (I-IV ed U), a loro volta ulteriormente suddivisi in tre e due sottogruppi rispettivamente.

Come gli organismi unicellulari, anche il genoma umano comprende numerose sirtuine (sette) localizzate sia nel nucleo che nel citoplasma, in gra-

do di svolgere azioni diverse⁷. Analogamente a quanto avviene negli organismi inferiori, nei mammiferi le loro funzioni variano dal riconoscimento del DNA, all'interazione tra le proteine, alla regolazione delle varie fasi della divisione cellulare, all'organizzazione dei microtubuli all'interno della cellula, alla risposta cellulare agli agenti che danneggiano il DNA, alla stabilità della cellula e alla lunghezza dei telomeri. Queste sostanze proteiche sono anche implicate nel regolare i meccanismi molecolari del processo di invecchiamento⁸.

E' stato pure dimostrato che nell'uomo, una loro riduzione si associa ad un aumento del rischio di sviluppare patologie croniche anche molto gravi, quali il diabete mellito, il cancro ed alcune malattie neuro-degenerative come la malattia di Alzheimer o il morbo di Parkinson, nonché ad una ridotta aspettativa di vita⁹.

Sirtuine umane a localizzazione nucleare

La Sirt 1, la Sirt 6 e la Sirt 7 sono situate nel nucleo. Tra queste, la più studiata è la prima che interviene antagonizzando lo stress ossidativo e l'eventuale danneggiamento del DNA. Essa svolge inoltre un ruolo preminente nella regolazione di molti processi fisiologici che si verificano negli organi dotati di attività metabolica, come il pancreas e il fegato.

Due studi eseguiti recentemente hanno documentato che la Sirt1 induce e facilita la secrezione insulinica delle beta-cellule del pancreas susseguente alla somministrazione di glucosio^{10,11}, riportando

alla norma il tasso sierico di glucosio innalzatosi dopo somministrazione dello zucchero. Sappiamo inoltre che l'omeostasi glicidica in risposta alle modificazioni delle condizioni nutritive è mantenuta dal fegato. Durante il digiuno le cellule epatiche provocano un processo di gluconeogenesi che serve a rifornire di zuccheri gli altri organi. Alcuni studiosi hanno notato che anche questa risposta nutritiva è sotto il controllo della Sirt1, fornendo così un'ulteriore prova dell'esistenza di un legame tra Sirt1 e metabolismo¹².

La proteina svolge anche un'azione protettiva verso i neuroni, in particolare verso la malattia di Alzheimer¹³ e nei confronti del Parkinson¹⁴. A tal proposito, è stato evidenziato che la sostanza facilita la sopravvivenza dei neuroni in cultura, agendo come un fattore anti-apoptico¹⁵ ed è pure coinvolta nella protezione assonale tipica della degenerazione Walleriana¹⁶.

Anche la Sirt6 è una proteina a localizzazione nucleare. La sua principale azione consiste nella riparazione del DNA eventualmente danneggiato¹⁷. Infine, la Sirt7 è indovata nel nucleolo delle cellule umane¹⁸, soprattutto degli organi caratterizzati da un'elevata proliferazione come il fegato o la milza, mentre è assente nei tessuti dotati di scarsa attività proliferativa, quale il muscolo cardiaco, il cervello e i muscoli.

In rapporto a queste sue localizzazioni preferenziali, è stato dimostrato recentemente che la Sirt7 è in grado di regolare la crescita cellulare ed il metabolismo¹⁹. La proteina interviene anche nei processi

di divisione cellulare, nella crescita e nella sopravvivenza delle cellule¹⁹.

Sirtuine umane a localizzazione citoplasmatica

Tra le sirtuine localizzate nel citoplasma dei mammiferi è compresa la Sirt2²⁰. La sua azione più importante consiste nell'allungamento della durata della vita dei lieviti e di alcuni organismi batterici²¹. Essa interviene pure nella regolazione del ciclo cellulare di determinate culture cellulari, aumentando la sua concentrazione all'interno della cellula specialmente durante la fase mitotica²². Recentemente è stato puntualizzato il ruolo ricoperto da questa proteina nella patogenesi del cancro ed è stato sottolineato che la sua espressione è severamente ridotta nelle cellule gliomatose²³. A ciò dobbiamo aggiungere i risultati ottenuti da questi stessi ricercatori, che hanno dimostrato che la Sirt2 agisce come soppressore tumorale e svolge pure una funzione di controllo del ciclo cellulare.

Alcune sirtuine sono localizzate nei mitocondri che, come sappiamo, sono delle strutture intracitoplasmatiche che rivestono un ruolo ben definito nei processi apoptotici e nello stress ossidativo. Essi rappresentano anche il sito in cui si producono le Specie Reattive dell'Ossigeno (ROS), che sono, tra l'altro, responsabili dell'invecchiamento dei mammiferi²⁴.

La localizzazione intramitochondriale della Sirt3 e della Sirt5 è indicativa delle loro azioni. Pure queste proteine sono associate al processo di invecchiamento e ad alcune patologie piuttosto comuni,

quali il diabete mellito, determinate malattie neuro-degenerative e il cancro²⁵. La Srt3 interviene inoltre nella composizione del tessuto adiposo e regola alcune funzioni mitocondriali, come l'attività dell'acetil-CoA sintetasi²⁶. E' stato anche evidenziato che questa Sirtuina favorisce la longevità nell'uomo e allunga la vita in alcuni animali da esperimento²⁷.

Un'altra proteina a localizzazione mitocondriale è la Sirt4, che riveste un ruolo strategico nel favorire la secrezione insulinica da parte delle cellule beta-pancreatiche²⁸.

Anche la Sirt5 è situata in sede mitocondriale. Tuttavia, il suo ruolo specifico nella funzionalità della cellula non è stato ancora perfettamente definito.

Restrizione calorica

Per RC si intende la produzione di una minor quantità di calorie derivanti dal metabolismo degli alimenti introdotti²⁹. Vale la pena ricordare che però la RC non è equivalente ad una generica minore introduzione di cibo. Anzi, con la diminuzione della produzione delle calorie, la qualità della dieta deve essere migliorata in modo che non vengano a mancare quantità sufficienti di sostanze nutrienti essenziali, quali le vitamine, i sali minerali ed alcuni aminoacidi³⁰. Per tali motivi si comprende perchè alcune popolazioni sottotritate dell'Africa non vivono più a lungo di quelle sufficientemente alimentate. Questo significa che la dieta, pur se prevede una minor quantità di produzione calorica, deve essere equilibrata, soprattutto per quanto concerne i suoi componenti essenziali. Qualora

vengano rispettate tali condizioni, meno calorie si producono, meno ossigeno si brucia e meno radicali liberi si liberano. La ridotta produzione di radicali liberi allunga la vita, fino ad una restrizione calorica del 50%, almeno per i roditori³¹. Scendendo al di sotto di tale limite, si entra in uno stadio in cui la mortalità aumenta con la progressiva riduzione dell'introito di cibo. Il meccanismo di azione della RC come causa di longevità non è stato ancora pienamente compreso, anche perché probabilmente non è unico ma deriva da più eventi. Si pensa che la diminuita produzione calorica determini³²:

- 1) maggiori possibilità dell'organismo nel riparare il DNA danneggiato;
- 2) una ridotta produzione di radicali liberi;
- 3) un'augmentata produzione di alcune sostanze proteiche dotate di azione protettiva e di riparazione nelle reazioni da stress;
- 4) un più efficiente metabolismo degli zuccheri;
- 5) un rallentamento del declino immunologico età-dipendente.

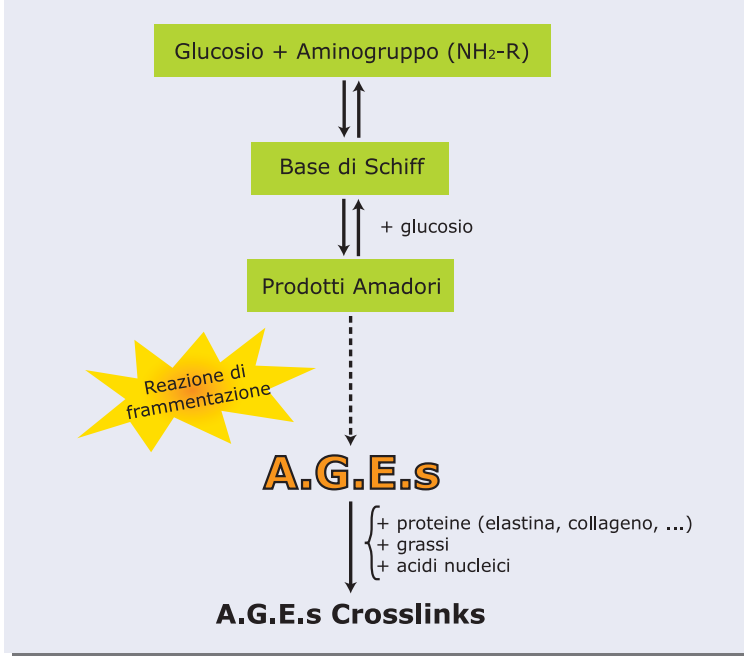
Si può anche ipotizzare che la diminuzione nella produzione di calorie induca una ottimizzazione del metabolismo degli zuccheri: provochi cioè un più efficiente uso del glucosio come combustibile, evitando così il suo accumulo con le conseguenze negative che tale fenomeno determina³³. In conseguenza di uno o più di tali effetti, la RC è in grado di allungare la durata della vita nei lieviti³⁴, nei ragni³⁵, nei pesci³⁶, nei roditori³⁷ e negli animali di laboratorio.

Per ottenere tale effetto, si pensa che sono in gioco una

riduzione del metabolismo basale, dei processi infiammatori sistemici e dello stress ossidativo, assieme ad una riduzione dell'insulino-resistenza, modificazioni a carico del sistema neuroendocrino e del sistema catecolaminergico³⁸⁻⁴². Lo stress ossidativo è sicuramente un importante mediatore dell'invecchiamento. Le ricerche condotte in tal senso evidenziano infatti una stretta correlazione tra danno ossidativo ed invecchiamento precoce dei tessuti⁴³. Molti studi dimostrano anche l'efficacia della RC nel ridurre lo stress ossidativo⁴⁴. In proposito è stato evidenziato che le Specie Reattive all'Ossigeno (ROS), prodotte nel corso della respirazione cellulare, inducono un danneggiamento del DNA, dell'RNA e delle sostanze proteiche⁴⁵⁻⁴⁸. Inoltre, alcuni Ricercatori hanno anche dimostrato che la iper-espressione dell'enzima super-ossido dismutasi (che riduce la produzione dei ROS) aumenta la durata della vita nella *Drosophila*⁴⁹. Un'altra teoria suggerisce che una delle cause dell'invecchiamento precoce è costituito dal ridotto turnover delle proteine^{50,51} o da un'augmentata sintesi delle stesse, che avverrebbe insieme ad un aumento della loro degradazione⁵². E' anche stato preso in considerazione un incremento della glicosilazione proteica, che porta alla produzione di Prodotti Avanzati di Glicosilazione (AGEs) secondo la reazione di Maillard (figura 1).

I legami crociati che si stabiliscono tra gli A.G.E.s e le strutture proteiche connettivali, i grassi e gli acidi nucleici sarebbero responsabili delle modificazioni età-dipen-

Figura 1. Reazione di Maillard, che conduce alla formazione degli AGEs-cross-lines.



denti del connettivo interstiziale, dell'alterato metabolismo dei grassi e delle modificazioni degli acidi nucleici.

Ma la teoria che lega il regime dietetico alle Sirtuine è quella per la quale la RC induce una iper-espressione di queste ultime. Esse limitano l'accumulo di rDNA extramicrosomi che, come si è detto, si traduce in un allungamento della vita dei lieviti.

Il dettagliato meccanismo di azione prevede che, per una ridotta presenza intracellulare di zuccheri (come si verifica nella RC), le cellule del lievito rispondano deviando il metabolismo verso il ciclo degli acidi tricarbossilici (TCA) o ciclo di Krebs⁵³. Questo "shift" metabolico favorisce la formazione di NAD che, a sua volta, stimola l'iper-espressione delle sirtuine, che inducono un allungamento della durata della vita (longevità), secondo lo schema riportato nella figura 2.

In realtà, non si è ancora pienamente compreso in che modo la RC induca questo "switch" delle vie metaboliche. Si pensa tuttavia che la ridotta introduzione di cibo (RC) determini l'attivazione di una via metabolica (respirazione) che facilita la sopravvivenza durante questa fase di ristrettezza.

L'attivazione della respirazione cellulare trasforma una maggiore quantità di NADH in NAD^+ , con aumento del rapporto NAD^+/NADH . Sarebbe proprio lo spostamento verso il NAD^+ di questo rapporto a favorire l'attivazione della Sir2. Nella figura 3 vengono riportati gli innumerevoli effetti della RC e del conseguente spostamento del rapporto NAD^+/NADH verso il

numeratore. Oltre che sulla longevità, sono indicati anche gli effetti organo-specifici, quelli sulla morte cellulare programmata (apoptosi) e sulla resistenza allo stress.

Un'altra possibilità è che l'aumento della respirazione cellulare indotta dalla RC rallenti la glicolisi e che quest'ultima attivi la Sir2, anche se con modalità ancora non conosciute.

Il riconoscimento dei meccanismi coinvolti nella RC rappresenta un passaggio fondamentale per l'individuazione di molecole di sintesi o di derivazione naturale, in grado di mimare gli effetti positivi di questo regime dietetico, senza dover ricorrere necessariamente a una diminuzione della produzione e del consumo di calorie. Tra questi composti chimici, Sinclair e Guarente hanno recentemente trova-

Figura 2. Schema che indica come lo "shift" metabolico a favore della respirazione cellulare (ciclo TCA) favorisca la formazione di NAD, che si traduce in un aumento della durata della vita (longevità).

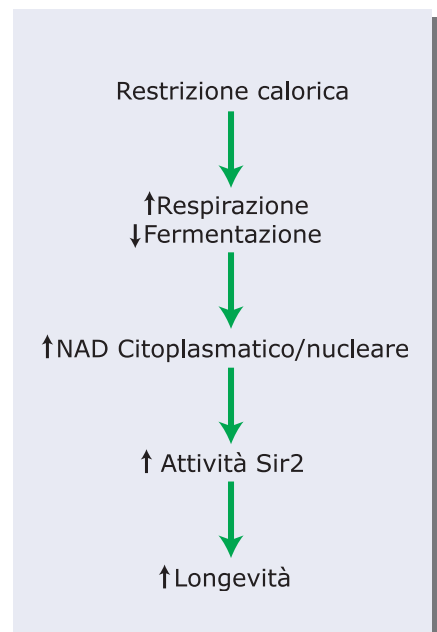
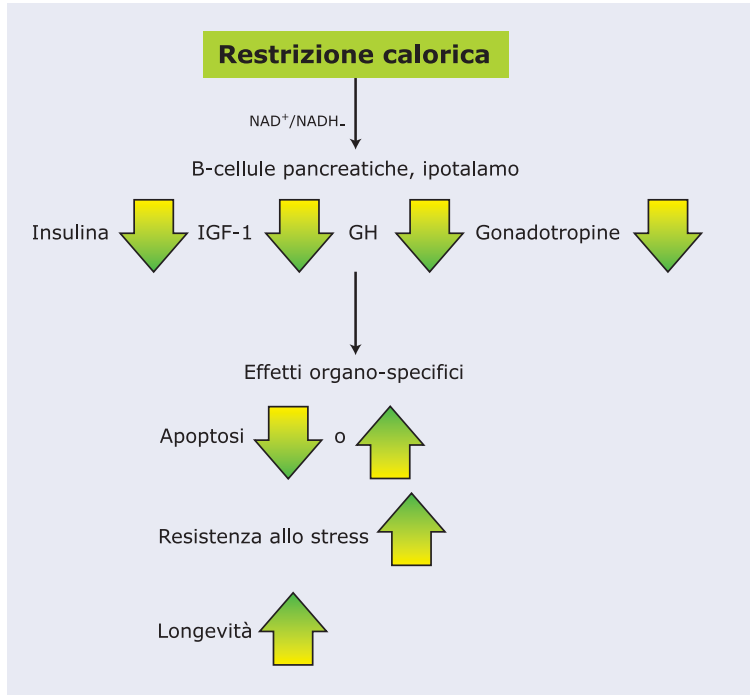


Figura 3. Effetti della restrizione calorica. (Modificato da Koubova 2003⁸⁰).

to che il resveratrolo, un composto polifenolico presente nella buccia dell'uva, nel vino rosso e, in minor misura, in alcuni oli di arachidi, è uno dei più potenti attivatori delle sirtuine nelle cellule di lievito e perciò una sostanza capace di allungarne la vita di circa il 60% (figura 4)⁵⁴.

Il suo effetto sull'allungamento della durata della vita è dovuto alle sue azioni, che sono del tutto simili a quelle prodotte da una RC e dalle sirtuine.

Nella figura 5 è riportata la capacità di attivazione delle sirtuine da parte di diversi polifenoli. Appare evidente che la più intensa azione di stimolo è quella svolta dal resveratrolo.

E' stato dimostrato che questo composto, assunto in modica quantità, è in grado di neutralizzare i radicali liberi ed altri ossidanti⁵⁵ e inibisce anche l'ossidazione delle LDL^{56,57}.

In relazione ai suoi effetti anti-ossidanti svolti soprattutto sull'apparato cardiovascolare,

uno studio epidemiologico aveva evidenziato come, nonostante l'elevato consumo di burro e grassi con la dieta, gli abitanti della Francia soffrivano di eventi infartuali con una percentuale che era ben al di sotto di quella rilevata negli altri Paesi Europei inclusa l'Italia, caratterizzati da un'alimentazione molto più sana. Tale fenomeno, noto col nome di "paradosso francese" è stato messo in relazione all'elevato consumo di vino rosso, tipico di alcune regioni francesi che, per effetto del suo contenuto in resveratrolo, funzionerebbe da protettivo per il sistema cardiovascolare⁵⁸.

A parte il suo ruolo di agente coronaroprotettore, il resveratrolo possiede anche altre proprietà farmacologiche, comprese quelle antivirali, antineoplastiche e antiinfiammatorie^{59,60}. Tra gli effetti della sostanza vale pure la pena ricordare la sua azione antiossidante, che si concretizza sia nella disattivazione dei ROS che nella sintesi del NO^{61,62}, nella notevole attività antinfiammatoria^{63,64} e in quella di prevenzione dei fenomeni aterosclerotici^{65,66}. Gli effetti oncoprotettivi della sostanza si esplicano infine sia sulla induzione che nella fase di progressione e di stabilità dell'oncogenesi. In particolare si è osservato che il resveratrolo riduce l'oncogenesi inibendo la cicloossigenasi-1, un enzima che converte l'acido arachidonico in sostanza pro-infiammatoria che stimola la crescita delle cellule tumorali^{67,68}. La molecola svolge pure un effetto antiaggregante e vasodilatante che la rendono particolarmente utile, sia anche in dosi limitate, negli in-

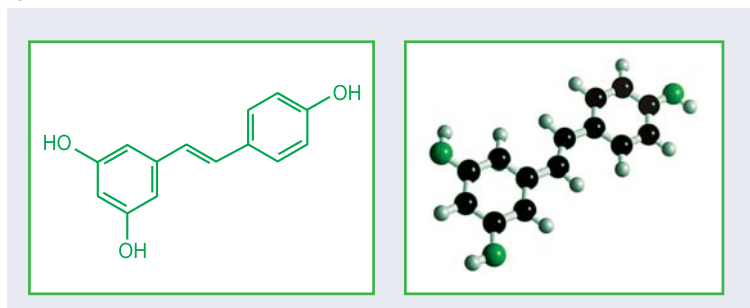
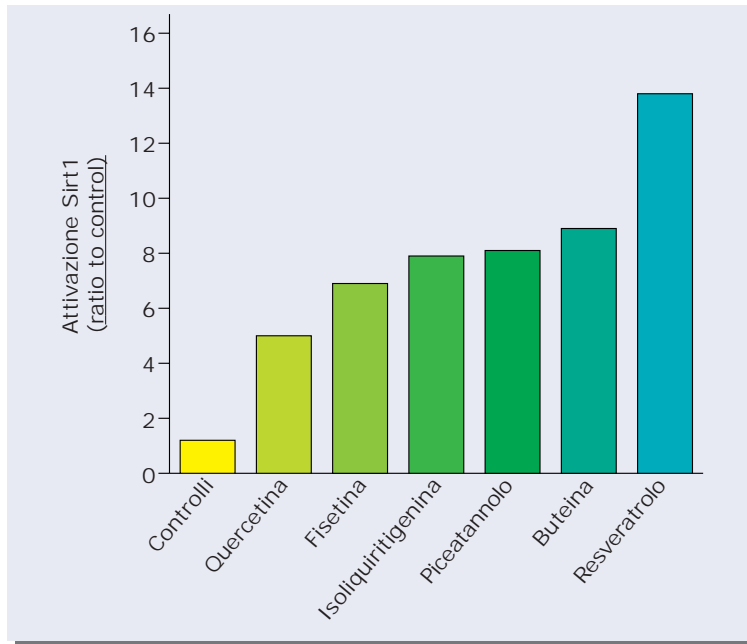
Figura 4. Formula di struttura del resveratrolo e sua conformazione spaziale tridimensionale.

Figura 5. Attivazione della sirtuina 1 da parte di diversi polifenoli. (Adattata da Howitz 2003⁷²).



fartuati soprattutto con alterazioni del metabolismo glucidico, come abbiamo recentemente dimostrato⁶⁹.

Tuttavia, l'effetto del resveratrolo sulla produzione delle sirtuine e quindi sulla longevità è molto più rilevante della sue proprietà^{70,71}. A proposito degli effetti sull'allungamento della vita, è stato segnalato che fornendo questa molecola ai lieviti, si induce un'aumentata attività del gene Sir2 mimandone l'azione sulla stabilizzazione dell'rDNA mitocondriale e favorendo un incremento della durata di vita, fino ad un massimo del 70%⁷². La molecola si è mostrata in grado di allungare la vita dei vermi (*Caenorhabditis elegans*) e di alcuni parassiti della frutta (*Drosophila melanogaster*)⁷³.

Sebbene sia stato evidenziato che il resveratrolo aumenti l'attività dell'omologo enzima umano Sir, tuttavia non si conosce in che modo esso influ-

isca positivamente della durata della vita nell'uomo.

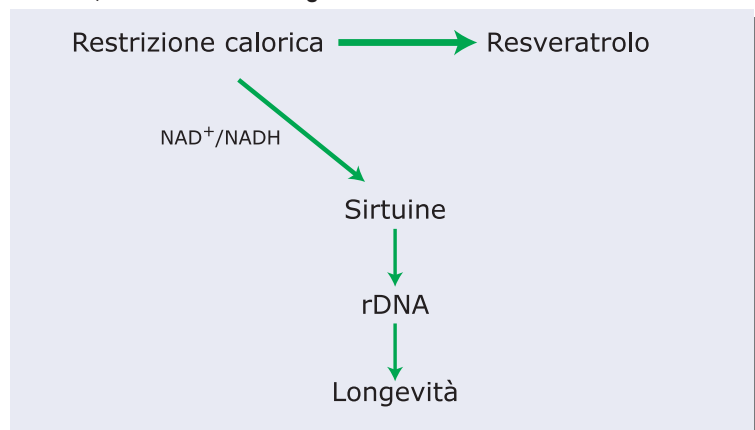
Conclusioni

In questi ultimi decenni, l'aspettativa di vita è aumentata in modo esponenziale e vi sono buone ragioni per ipotizzare che nel 2050 oltre il 5% della popolazione dei Paesi maggiormente evoluti supererà gli 85 anni, contro l'1% del

1994⁷⁴. Questo avanzamento demografico è dovuto alla prevenzione e alla lotta di affezioni prima mortali ed alla drastica riduzione della mortalità infantile. Contemporaneamente però abbiamo assistito ad un vertiginoso incremento delle cosiddette "malattie della prosperità", di cui è un tipico esempio il diabete mellito, imputabile ad un'aumentata produzione di adipocitochine increte dal tessuto adiposo. Queste affezioni hanno contribuito a limitare il progressivo allungamento della vita e a favorire l'insorgenza di alcune comuni affezioni degenerative.

Attualmente, la longevità massima è attestata intorno ai 110-120 anni; quella dei topi di laboratorio si aggira intorno ai 39 mesi, ma è possibile arrivare fino ad un massimo di 56 mesi che, in termini umani, corrispondono a 158-160 anni. E' stato dimostrato che questa meta si può raggiungere nei lieviti e negli organismi oligocellulari attraverso un'attivazione delle sirtuine o mediante la RC. Le numerose esperienze riferite dimostrano come sia possibile attivare, almeno in alcuni procarioti ed

Figura 6. Ipotesi circa i rapporti intercorrenti tra sirtuine, restrizione calorica, resveratrolo e longevità.



organismi a struttura cellulare semplice, l'iper-espressione delle sirtuine, in grado di prolungare significativamente la loro vita, tramite determinati processi biochimici tra cui riveste un ruolo preponderante la stabilizzazione dell'rDNA. Anche la RC influisce positivamente sulla durata della vita, pur se con modalità non ancora completamente conosciute. Certamente essa induce un'attivazione delle sirtuine mediante un innalzamento del rapporto NAD^+/NADH . Bisogna anche ricordare che la diminuita produzione di O_2 derivante dalla RC è alla base di una riduzione dello stress ossidativo, mentre

il ridotto introito di zuccheri aumenta l'insulino-sensibilità, prolungando le aspettative di vita⁷⁵⁻⁷⁷.

Accanto a questi meccanismi va menzionata l'azione di una sostanza, il resveratrolo, che agirebbe analogamente alla RC, inducendo cioè una iper-espressione delle sirtuine e favorendo quindi la stabilità del DNA (inibizione dell'rDNA), come illustrato in figura 6.

Ad ulteriore dimostrazione del rallentamento del processo di invecchiamento, è stato anche segnalato come esso provochi una ridotta velocità del fisiologico deterioramento età-dipendente della funzione diastolica ventricolare⁷⁸.

La maggiore durata di vita così ottenuta, pur nella diversità dei meccanismi patogenetici invocati, è caratterizzata univocamente da un aumento dell'insulino-sensibilità, da una ridotta presenza di combustibile nelle cellule, da una più contenuta produzione dei radicali dell'ossigeno, da un aumentato rapporto NAD^+/NADH e in definitiva, da una stabilità della ricombinazione del DNA extramicrosomi.

Sono queste le condizioni che si associano alla longevità. Quest'ultima condizione può essere mimata dall'assunzione giornaliera di moderata quantità di vino rosso⁷⁹. **TiM**

Bibliografia

1. Brachmann CB, Sherman JM, Devine SE, *et al.* The SIR2 gene family, conserved from bacteria to humans, function silencing, cell cycle progression, and chromosome stability. *Genes. Dev* 1995; 9:2888-2902.
2. Fritze CE, Verschueren K, Strich R, *et al.* Direct evidence for SIR2 modulation of chromatin structure in yeast rDNA. *EMBO J* 1997; 16: 6495-6509.
3. Guarente L, Imai S, Armstrong CM, *et al.* Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* 2000; 403:795-800.
4. Smith JS, Brachmann CB, Celic I, *et al.* A phylogenetically conserved NAD^+ -dependent protein deacetylase activity in the Sir2 protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:6658-6663.
5. Landry J, Sutton A, Tafrov ST, *et al.* The silencing protein Sir2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:5807-5811.
6. Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles-a cause of aging in yeast. *Cell* 1997; 91:1033-1042.
7. Frye RA. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 273:793-798.
8. Haigis CM, Guarente LP. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction. *Genes & Dev* 2006; 20:2913-2921.
9. Mastro AJ. Calorie restriction and ageing: an update. *Exp Gerontol* 2000; 45:299-305.
10. 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; 2:105-117.
11. Bordone L, Motta MC, Picard F, *et al.* Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta-cells. *PloS Biol* 2006; 4:31.
12. Frescas D, Valenti L, Accili D. Nuclear trapping of the forkhead transcription factor FoxO1 via Sirt-dependent deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. *J Biol Chem* 2005; 280:20589-20695.
13. Zhu H, Guo Q, Mattson MP. Dietary restriction protects hippocampal neurons against the death promoting action of a presenilin-1-mutation. *Brain Res* 1999; 842:224-229.
14. Duan W, Mattson MP. Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 1999; 57:195-206.
15. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, *et al.* Negative control of p53 by Sir2a promotes cell survival under stress. *Cell* 2001; 107:137-148.
16. Araki T, Sasaki Y, Milbrandt J. Increased nuclear NAD biosynthesis and SIRT1 activation prevent axonal degeneration. *Science* 2004; 305:1010-1013.
17. Listz G, Ford E, Kurtev M, *et al.* Mouse Sir2 homolog SIRT6 is a nuclear ADP-ribosyltransferase. *J. Biol. Chem.* 2005; 280:21313-21320.
18. Michshita E, Park JY, Burneskis JM, *et al.* Evolutionarily conserved and non conserved cellular

- locations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell* 2005; 16:4623-4635.
19. Ford E, Voit R, Liszt G, *et al.* Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes & Dev* 2006; 20:1075-1080.
 20. North BJ, Marshall BL, Borra MT, *et al.* The human Sirt2 ortholog, SIRT2, is an NAD⁺-dependent tubulin deacetylase. *Mol Cell* 2003; 11:437-444.
 21. Lamming DW, Latorre-Esteves M, Mcdevedik O, *et al.* HST2 mediates SIR2-independent life-span extension by calorie restriction. *Science* 2005; 309:1861-1864.
 22. Dryden SC, Nahhas FA, Nowak JE, *et al.* Role of human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle. *Mol Cell Biol* 2003; 23:3173-3185.
 23. Hiratsuka M, Inoue T, Toda T, *et al.* Proteomics-based identification of differentially expressed genes in human gliomas: down-regulation of SIRT2 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309:558-566.
 24. Harmon D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11:298.
 25. Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005; 39:359-407.
 26. Hallows WC, Lee S, Denu JM. Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103:10230-10235.
 27. Rose G, Dato S, Altomare K, *et al.* Variability of the SIRT3 gene, human silent information regulator Sir2 homologue, and survivorship in the elderly. *Exp Gerontol* 2003; 38:1065-1070.
 28. 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; 126:941-954.
 29. Weindruch R. Caloric restriction and aging. *Scientific American* 1996; 274:46-52.
 30. Weindruch R. The retardation of aging and disease by dietary restriction. In Walford RL. ed. 1988, 0-398:05496-05497.
 31. Kaerberlein M, Hu D, Kerr EO, *et al.* Increased life-span due to calorie restriction in respiratory-deficient yeast. *PLoS Genet* 2005; 1:e69.
 32. Roth GS, Lane MA, Ingram DK, *et al.* Biomarkers of calorie restriction may predict longevity in humans. *Science* 2002; 297:811.
 33. Lane MA, George S, Ingram DK. Deoxy-D- glucose feeling in rats mimics physiologic effects of caloric restriction. *Journal of Anti-Aging Med* 1998; 4:327-337.
 34. Lin SJ, Kaerberlein M, Andalis AA, *et al.* Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* life-span by increasing respiration. *Nature* 2002; 418:344-348.
 35. Austad SN. Life extension by dietary restriction in the bowl and doily spider, *Frontinella pyramitela*. *Exp Gerontol* 1989; 24:83-92.
 36. Comfort A. Effect of delayed and resumed growth on the longevity of a fish (*Lestifis reticulatus*, Peters) in captivity. *Gerontologia* 1963; 49:150-155.
 37. McCay CM, Crowell MF, Maynard LA. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *J Nutr* 1935; 10:63-79.
 38. Barzilai N, Banerjee S, Hawkins M, *et al.* Caloric restriction reverses hepatic insulin resistance in aging rats by decreasing visceral fat. *J Clin Invest* 1998; 101:1353-1361.
 39. Matsuzaki J, Kuwamura M, Yamaji R, *et al.* Inflammatory responses to lipopolysaccharide are suppressed in 40% energy-restricted mice. *J. Nutr.* 2001; 131, 2139-2144.
 40. Macites J. Evidence that underfeeding acts via the neuroendocrine system in influence aging processes. *Prog Clin Biol Res* 1989; 287:169-180.
 41. Hursting SD, Lavigne JA, Berigan D, *et al.* Calorie restriction, aging, and cancer prevention: mechanism of action and applicability in humans. *Annu Rev Med* 2003; 54:131-152.
 42. Landsberg L, Young JB. Diet-induced changes in sympathetic nervous activity. In Bassett EG. ed. *Nutritional factors: modulating effects on metabolic processes*. New York: Raven Press 1981:155-174.
 43. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78:547-581.
 44. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction and aging. *Science* 1996; 273:59-63.
 45. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, *et al.* Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4533-4537.
 46. Stadman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992; 257:1220-1224.
 47. Head E, Liu J, Hagen TM, *et al.* Oxidative damage increases with age in a canine model of human brain aging. *J. Neurochem* 2002; 82:375-381.
 48. Liu J, Head E, Gharib AM, *et al.* Memory loss in old rats is associated with brain mitochondrial decay and RNA/DNA oxidation: partial reversal by feeding acetyl-L-carnitine and/or R- α -lipoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:2356-2361.
 49. Parkes TL, Elia AJ, Dickinson D, *et al.* Extension of *Drosophila* lifespan by overexpression of human SOD1 in motoneurons. *Nat Gen* 1998; 19:171-174.
 50. Lavie L, Reznick AZ, Gershon D. Decreased protein and puromycinyl-peptide degradation in livers of senescent mice. *Biochem J* 1982; 202:47-51.
 51. Gracy RW, Chapman ML, Cini JK, *et al.* Molecular basis of the accumulation of abnormal proteins in Progeria and aging fibroblasts. *Basic Life Sci.* 1985; 35:427-442.
 52. Lee CK, Klopp RG, Weindruch R, *et al.* Gene expression profile of aging and its retardation by caloric restriction. *Science* 1999; 285:1390-1393.
 53. Lin SJ, Kaerberlein M, Andalis AA, *et al.* Calorie restriction ex-

- tends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration. *Nature* 2002; 418:344-348.
54. **Sinclair DA, Guarente L.** Unlocking the secrets of longevity genes. *Scientific American* 2006;48-57.
 55. **Stojanovic S, Sprinz H, Brede O.** Efficiency and mechanism of the antioxidant action of trans-resveratrol and its analogues in the radical liposome oxidation. *Arch Biochem Biophys* 2001; 391:79-89.
 56. **Brito P, Almeida LM, Dinis TC.** The interaction of resveratrol with ferrimyoglobin and peroxynitrite protection against JDL oxidation. *Free Radic Res* 2002; 36:621-631.
 57. **Frankel EN, Waterhouse AL, Kinsella JE.** Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 1993; 341:1103-1104.
 58. **Renaud SG, de Lorgeril M.** Wine, alcohol, platelets and the French Paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339:1523-1526.
 59. **Kaerberlein M, McDonagh T, Heltweg B, et al.** Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem* 2005; 280:17038-17045.
 60. **Borra MT, Smith BC, Denu JM.** Mechanism of human SIRT1 activation by resveratrol. *J Biol Chem* 2005; 280:17187-17195.
 61. **Leonard S, Xia C, Jiang BH, et al.** Resveratrol scavengers reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Comm* 2003; 309:1017-1026.
 62. **Martinez J, Moreno JJ.** Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol* 2000; 59:865-870.
 63. **Puxeddu I, Ribatti D, Crivellato E.** Mast cells and eosinophilia, a novel link between inflammation and angiogenesis in allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116:531-536.
 64. **Dalgleish AG, O'Byrne K.** Inflammation and cancer: the role of the immune response and angiogenesis. *Cancer Treat Res* 2006; 130:1-38.
 65. **Ragione FD, Cucciola V, Borriello A, et al.** Resveratrol arrests the cell division cycle at S/G2 phase transition. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 250:53-58.
 66. **Joe AK, Liu H, Suzui M, et al.** Resveratrol induces growth inhibition, AS-phase arrest, apoptosis, and changes in biomarker expression in several human cancer cell lines. *Clin Cancer Res* 2002; 8:893-903.
 67. **Mgbonyebi OP, Russo L, Russo IH.** Anti-proliferative effect of synthetic resveratrol on human breast epithelial cells. *Int J Oncol* 1998; 12:865-869.
 68. **Levenson AS, Gehm BD, Pearce ST, et al.** Resveratrol acts as on a estrogen receptor (ER) agonist in breast cancer cells stably transfected with ERα. *Int. J. Cancer* 2003; 104:587-596.
 69. **Marfella R, Cacciapuoti F, Siniscalchi M, et al.** Effect of moderate wine intake on cardiac prognosis after recent acute myocardial infarction of subjects with type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2006; 23: 974-981.
 70. **Ferguson LR.** Role of plant polyphenols in genomic stability. *Mutat Res* 2001; 475:89-111.
 71. **Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC.** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Res* 2000; 52:673-751.
 72. **Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al.** Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425:191-196.
 73. **Wood JG, Rogina B, Lavu S, et al.** Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 2004; 430:686-689.
 74. **Tuljapukur S, Li N, Boe C.** An universal pattern of mortality decline in the G7 countries. *Nature* 2000; 405:789-792.
 75. **Verdey RB, Wilford RI.** Changes in plasma lipids and lipoproteins in humans during a 2-year period of dietary restriction in Biosphere 2. *Arch. Intern. Med.* 1998; 158:900-906.
 76. **Fontana L, Meyer TE, Klein S, et al.** Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:6659-6663.
 77. **Meyer TE, Kovaks SJ, Ehsani AA, et al.** Long-term caloric restriction ameliorates the decline in diastolic function in humans. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:398-402.
 78. **Taffet GE, Pharm TT, Hartley CJ.** The age-associated alterations in late diastolic function in mice are improved by caloric restriction. *J Gerontol* 1997; 52A:B285-B290.
 79. **Averna M, Manzato E, Iannello P, et al.** Effetti biologici del Resveratrol. Dalla sperimentazione alla supplementazione. *Therapeutica* 2007; 1:67-86 .
 80. **Koubova J, Guarente L.** How does calorie restriction work? *Genes & Development* 2003; 17:313-321.