

SIRTUINY – INTRYGUJĄCE WIELOZADANIOWE „STRAŻNICZKI” PROCESÓW ŻYCIOWYCH

Adam Bielawski, Irena Nalepa (Kraków)

Streszczenie

Epigenetyka stara się wyjaśnić procesy decydujące o tym, w jaki sposób środowisko wpływa na ujawnienie się cech zapisanych w genomie organizmu. Wśród decydujących o tym mechanizmów wyróżniają się modyfikacje białek histonowych, na które nawinięta jest nić DNA i które stanowią element konstrukcyjny chromatyny. Jedną z takich modyfikacji jest reakcja deacetylacji, czyli odłączenie grupy acetylowej od N-końca histonu, przeprowadzana przez enzymy zwane deacetylazami histonowymi, do których zaliczamy interesujące nas sirtuiny. U ssaków rozróżniamy 7 sirtuin w zależności od rozmieszczenia w komórce oraz ich działania. Najlepiej poznane są SIRT1 i SIRT6, które wykazują wielokierunkowe działanie o niezwykle korzystnych efektach fizjologicznych. SIRT1 między innymi zapobiega przerostowi mięśnia sercowego i zwiększa jego odporność na niedotlenienie, stabilizuje poziom cholesterolu, reguluje gospodarkę kwasami tłuszczowymi. Natomiast SIRT6 hamuje procesy zapalne oraz rozwój chorób sercowo-naczyniowych i nowotworów, przyczynia się do zwiększenia długości życia, a także reguluje procesy metaboliczne związane z gospodarką energetyczną komórki. Trudno przecenić znaczenie sirtuin dla prawidłowego działania organizmu. Modulowanie ich aktywności może być wielką nadzieją dla medycyny w zwalczaniu chorób i poprawianiu jakości naszego życia.

Abstract

Epigenetics deals with phenomena of the processes determining how the environment affects the appearance of traits stored in the genome of the organism. Among the decisive mechanisms involved in such phenomena are the modifications of histone proteins which constitute a structural element of chromatin and function as “anchors” around which the DNA strands are wound. One such modification is the reaction of deacetylation, i.e. the disconnection of the acetyl group from the N-terminal of the histone, carried out by the enzymes called histone deacetylases, including sirtuins that are of our interest. In mammals, the seven sirtuins have been classified depending on their distribution in the cell and the influence on cellular processes. The best known are SIRT1 and SIRT6, which show a multidirectional action with extremely beneficial physiological effects. SIRT1, among others, prevents hypertrophy of the myocardium and increases its resistance to hypoxia, stabilizes cholesterol, regulates the metabolism of fatty acids. Whereas SIRT6 inhibits inflammatory processes and the development of cardiovascular diseases and cancers, contributes to the increase of lifespan and regulates metabolic processes related to the energy management of the cell. It is hard to overestimate the importance of sirtuins for the proper functioning of the organism. Modulation of their activity may be a great hope for medicine in combating diseases and improving the quality of our life.

Na początek trochę historii: narodziny terminu „epigenetyka”

„Geny ładują broń, ale to środowisko pociąga za spust” – to stwierdzenie trafnie, choć w uproszczeniu, opisuje wnioski płynące z przeprowadzonych dotychczas badań nad mechanizmami dziedziczenia cech i ich ujawniania się w czasie życia organizmów. Otóż od samych narodzin genetyki badacze zastanawiali się, jak to jest możliwe, że poszczególne komórki w organizmie mogą tak bardzo różnić się pomiędzy sobą budową i pełnić odmienne funkcje

pomimo faktu, że każda komórka posiada taki sam zestaw genów, identyczny materiał genetyczny pochodzący od tej jednej, jedynej komórki – zapłodnionej komórki jajowej. Prof. Conrad H. Waddington, brytyjski naukowiec z Uniwersytetu w Edynburgu, starając się wytłumaczyć ten proces w podręczniku *An introduction to modern genetics* (1939 r.), użył po raz pierwszy terminu „epigenotyp” na określenie zbioru czynników współdziałających razem z genotypem (zespołem genów – sekwencji DNA danego osobnika) oraz z zewnętrznymi warunkami środowiskowymi w wykształceniu fenotypu (zespołu cech

i właściwości danego osobnika) [22]. Określenia „epigenetyka” tenże C.H. Weddington użył w 1942 roku w publikacji „*The Epigenotype*” na nazwanie procesów, które współdziałają z mechanizmami genetycznymi w czasie embriogenezy, różnicowania komórek i wykształcania się tkanek podczas rozwoju organizmu [23]. Termin ten wywodzi się z greckiego przedrostka „epi-” oznaczającego „ponad”, „w dodatku do” i odnosił się pierwotnie do procesów, które zachodziły z udziałem lub w obrębie genów, wspomaganymi przez procesy oparte na strukturze jądra komórkowego. Współcześnie epigenetyką nazywamy naukę zajmującą się badaniem dziedziczonych zmian w ekspresji genów, które nie są oparte na zmianach w sekwencji nukleotydowej DNA. I okazuje się, że epigenetyczna kontrola ekspresji genów odgrywa kluczową rolę, zarówno w prawidłowym rozwoju, jak i w procesie starzenia oraz patogenezie wielu chorób [5, 8, 18, 24]. A pojęcie dziedziczenia epigenetycznego, czyli dziedziczenia pozagenowego, trwale wpisało się w podręczniki z obszaru nauk przyrodniczych.

Mechanizmy epigenetyczne

Zjawiska epigenetyczne dotyczą chromatyny, substancji występującej w jądrze komórkowym, zbudowanej głównie z DNA i histonów, a także z niehistonowych białek i małej ilości RNA. Mechanizmy epigenetyczne polegają na biochemicznych modyfikacjach DNA i białek histonowych. Wyróżniamy kilka podstawowych mechanizmów epigenetycznych odpowiadających za to, że tylko część genów w każdej komórce ulega ekspresji. Są to: metylacja DNA, modyfikacje białek histonowych (Ryc. 1) i udział tak zwanego niekodującego RNA. Poszczególne mechanizmy epigenetyczne współdziałają ze sobą, w ten sposób zwiększając swoją efektywność i często są wzajemnie od siebie zależne.

Metylacja DNA polega na przyłączeniu grup metylowych ($-\text{CH}_3$) do reszt azotowych cytozyny w obrębie dinukleotydu CpG i jest z reguły symetryczna, tzn. obejmuje obie komplementarne nici DNA. Ułatwia to przekazywanie wzorca metylacji komórkom potomnym po podziale komórki. Metylacja związana jest z hamowaniem ekspresji genów. Promotory nieaktywnych transkrypcyjnie genów są z reguły wysoce zmetylowane, podczas gdy transkrypcyjnie aktywne mają niską metylację. Grupy metylowe utrudniają dostęp czynników transkrypcyjnych do rejonów promotorowych, ale także ułatwiają przyłączanie białek wiążących zmetylowane DNA, co ma wpływ na zwiększenie kondensacji chromatyny. Proces metylacji DNA, jak i demetylacji, jest kon-

trolowany przez enzymy zwane metylotransferazami DNA (DNMT). W wyniku ich działania kształtuje się wzór metylacji DNA, który jest swoisty tkankowo, a ponadto także dziedziczny. Takie zmiany w metylacji mogą towarzyszyć wielu chorobom. Na przykład zmiany w poziomie metylacji (w odniesieniu do grupy kontrolnej) obserwowano w wielu loci w DNA pozyskanym pośmiertnie z kory przedczołowej mózgu pacjentów, którzy cierpieli na schizofrenię i chorobę afektywną dwubiegunową [5]. Z kolei zmiany w metylacji DNA w komórkach nowotworowych obejmują ogólną hypometylację genomu z równoczesną lokalną hypermetylacją dotyczącą promotorów genów supresorowych [18].

Histony są białkami podstawowymi dla budowy strukturalnej chromatyny, która składa się z nukleosomów – łańcuchów DNA nawiniętych na cztery pary histonów rdzeniowych oraz łączących je odcinków łącznikowych DNA owiniętych na histon łącznikowy. Histony mogą podlegać modyfikacjom polegającym na zmianach struktury DNA oraz samych białek histonowych. Może to być przemieszczanie się nukleosomów wzdłuż nici DNA, wymiana histonów rdzeniowych na inne ich warianty oraz także potranslacyjna modyfikacja kowalencyjna N-końców ogonków histonowych. I tak N-końce mogą podlegać różnym biochemicznym modyfikacjom: metylacji, fosforylacji, ubikwitynacji, biotynylacji, sumoilacji oraz ADP-rybozylacji czy wreszcie acetylacji i deacetylacji. Modyfikacja N-końców pełni krytyczną rolę w regulacji transkrypcji genów [8].

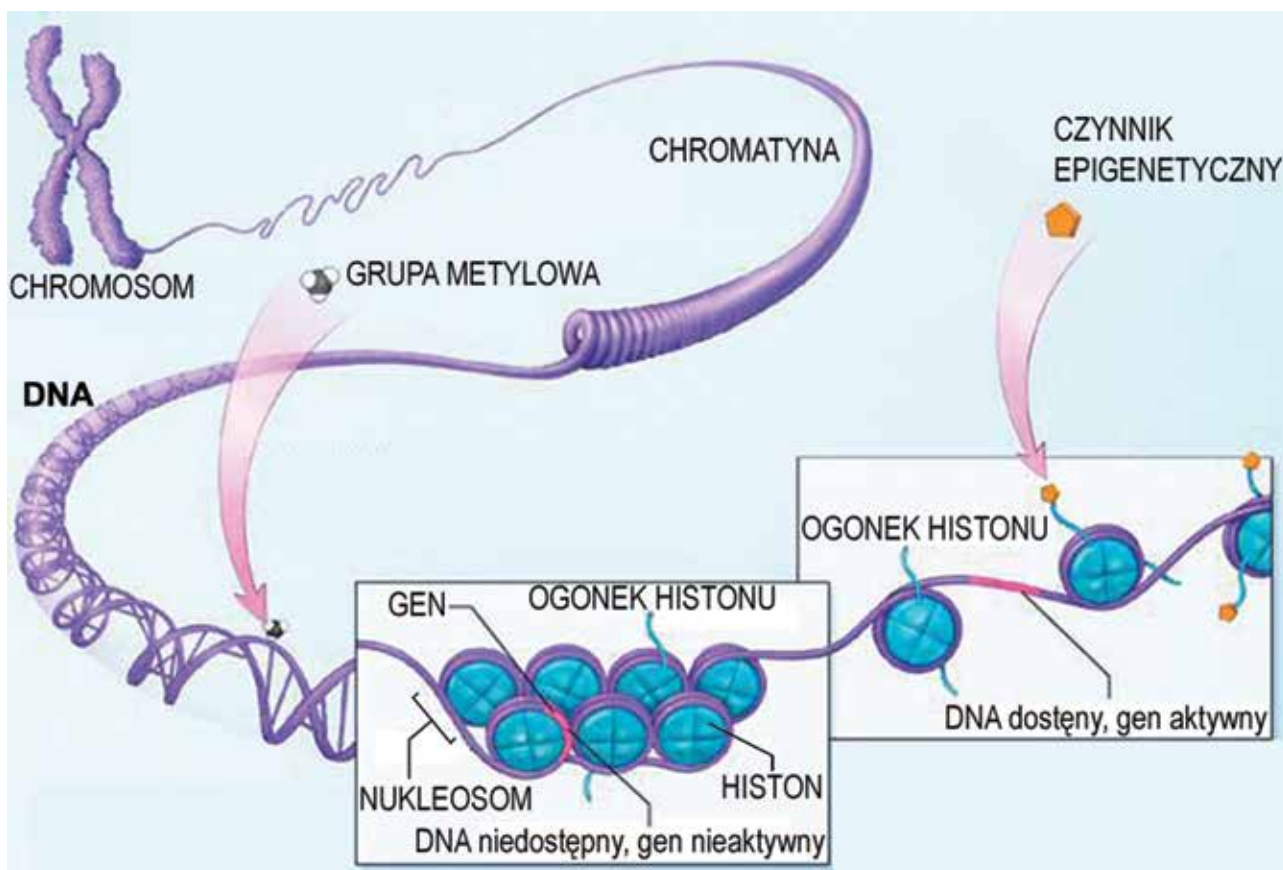
Za metylację i demetylację aminokwasu lizyny w histonach są odpowiedzialne enzymy metylotransferazy (HMTs) i demetylazy histonowe, które mogą zarówno wyciszać, jak i aktywować transkrypcję genów, w zależności od tego, które z reszt lizynowych i w którym histonie rdzeniowym są metylowane. Fosforylacja ogonków histonowych przez kinazy białkowe powoduje dekondensację chromatyny i ułatwia dostęp czynników transkrypcyjnych do rejonów promotorowych genów. Ubikwitynacja rozluźnia strukturę chromatyny i tym samym ułatwia transkrypcję, jest też warunkiem następującej po niej metylacji.

Z kolei proces acetylacji przeprowadzają acetylotransfazy histonowe (HATs) przez dodanie do reszt lizyny grupy acetylowej ($\text{CH}_3-\text{C}(\text{O})-$), powodując rozluźnienie struktury chromatyny i ułatwiając transkrypcję. Deacetylacja odwraca reakcję acetylacji i jest katalizowana przez enzymy zwane deacetylazami histonowymi (HDACs), które usuwają grupy acetylowe z reszt lizynowych z N-końców ogonków histonowych. Mówiąc ogólnie, acetylacja histonów związana jest z rozluźnieniem chromatyny

i zwiększeniem poziomu ekspresji genów, podczas gdy antagonisticzna deacetylacja histonów powoduje ściślejsze upakowanie chromatyny i hamowanie transkrypcji. U ssaków wszystkie HDACs możemy podzielić na 4 klasy w zależności od posiadanych do-

w acetylacji histonów pojawiają się w chorobie Huntingtona [8].

Ostatnim mechanizmem epigenetycznym, którym należy wspomnieć, jest działanie tzw. niekodującego RNA (ncRNA). NcRNA pełni rolę poprzez rozpozna-



Ryc. 1. Mechanizmy epigenetyczne, w tym metylacja DNA i modyfikacja histonów. Źródło ryciny: National Institutes of Health - <http://commonfund.nih.gov/epigenomics/figure.aspx>, (zmodyfikowane).

men, będące swoiste substratowo i różnie regulowane. Klasę pierwszą stanowią HDACs zlokalizowane w jądrze komórki i rozpowszechnione w całym organizmie. Klasa II obejmuje HDACs wykazujące swoistość tkankową i regulowane poprzez przemieszczanie jądrowo-plazmatyczne. Klasę III HDACs stanowią sirtuiny, którymi zajmiemy się szczegółowo w dalszym ciągu tego artykułu, a klasa IV ma jednego przedstawiciela o nieco odmiennym od reszty HDACs sposobie działania.

Zaburzenia w procesie modyfikacji histonów mogą być jedną z przyczyn w rozwoju wielu chorób, w tym neurodegeneracyjnych. Na przykład w przebiegu choroby Alzheimera (AD) stwierdzono zwiększoną acetylację lizyny histonów oraz działanie neuroprotektoryjnego enzymu HDAC1, powodującego deacetylację. Z kolei badania nad mechanizmami choroby Parkinsona wykazały, że toksyczne działanie białka alfa-synukleiny może się wiązać z hamowaniem procesu acetylacji histonów. Podobnie zaburzenia

wanie specyficznych miejsc lub sekwencji w DNA, RNA, kompleksach DNA:RNA oraz przez interakcję z białkami wiążącymi RNA. Do ncRNA należą tzw. mikro RNA (miRNA), krótkie odcinki (21-23 nukleotydy) RNA. Istnieje ok. 1000 rodzajów miRNA i regulują one prawdopodobnie ponad 1/3 wszystkich ludzkich genów. Działanie miRNA polega na hamowaniu mRNA na etapie posttranskrypcyjnym lub na etapie translacji poprzez jego degradację lub unieczynnienie. miRNA wpływają na strukturę chromatyny poprzez bezpośredni wpływ na geny kodujące enzymy modyfikujące tę strukturę. Są to m.in. metylotransferazy (HMTs) i deacetylazy (HDACs) histonowe [8].

W dalszym ciągu artykułu omówione zostaną sirtuiny, które z uwagi na ich wielozadaniowość reprezentują szczególnie interesującą grupę białek.

SŁOWNICZEK

- acH3K18** – histon H3 acetylowany na lizynie 18
- adiponektyna** – hormon regulujący przemianę glukozy i kw. tłuszczowych
- AMPK** – kinaza aktywowana 5'AMP, reguluje metabolizm energetyczny komórki
- Ang II** – angiotensyna II, regulator ciśnienia krwi
- Bax** – białko z rodziny Bcl-2 indukujące apoptozę
- c-Fos, c-Jun** – czynniki transkrypcyjny współtworzące czynnik transkrypcyjny AP-1, geny wczesnej odpowiedzi indukowanej przez czynniki stresowe
- c-Myc** – czynnik transkrypcyjny z rodziny Myc, protoonkogen komórkowy, bierze udział w nowotworzeniu
- CRTC2** – regulowany przez CREB koaktywator transkrypcji 2, kluczowy regulator ekspresji genów glukoneogenezy
- DNA-PK** – kinaza serynowo-threoninowa zależna od DNA, bierze udział w naprawie dwuniciowego DNA
- ELK1** – aktywator transkrypcji zawierający domenę ETS, reguluje wiązanie DNA do docelowej sekwencji
- eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu, udział w procesach zapalnych
- FoxO1** – czynnik transkrypcyjny z rodziny FoxO, reguluje działanie insuliny
- HIF-1alfa** – podjednostka alfa czynnika transkrypcyjnego indukowanego niedotlenieniem
- ICAM-1** – międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna 1, glikoproteina grająca dużą rolę w reakcjach alergicznych
- IGF/Akt** – insulinopodobny czynnik wzrostu/kinaza białkowa serynowo-threoninowa Akt, współdziałając biorą ważny udział w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej
- IL** – interleukiny, udział w procesach odpornościowych
- JAK2** – niereceptorowa kinaza tyrozynowa Janus, bierze udział w przesyłaniu sygnału wewnątrzkomórkowego
- LKB1** – wątrobowa kinaza serynowo-threoninowa B1, rola w modelowaniu chromatyny i regulacji metabolizmu energetycznego
- LXRalfa** – jądrowy, wątrobowy receptor alfa, reguluje funkcje makrofagów, rola w utrzymywaniu homeostazy lipidowej i procesach zapalnych
- Kaspaza 1** – enzym z grupy proteaz cysteinowych, aktywuje prekursor interleukiny 1 w odpowiedzi zapalnej organizmu
- MCP-1** – białko chemotaktyczne monocytów, bierze udział w procesach zapalnych
- MMP** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej, enzym proteolityczny, rola w przekazywaniu sygnału
- NF-kappaB** – czynnik transkrypcyjny będący kompleksem białkowym, bierze udział w procesach zapalnych
- Notch3** – białko receptorowe należące do rodziny Notch, bierze udział w rozwoju neuronów oraz mięśni gładkich
- NRF2** – czynnik transkrypcyjny indukowany stresem oksydacyjnym
- p-16, p-21** – inhibitory kinaz zależnych od cyklin, białka hamujące wzrost nowotworu
- PAI-1** – inhibitor proteaz serynowych, hamuje aktywator plazminogenu, odgrywa rolę w miażdżycy
- PARP1** – polimeraza ADP-rybozy, bierze udział w naprawie pojedynczej nici DNA
- PCBP2** – białko wiążące regiony poli-rC (rybonukleotydy), rola w wiązaniu RNA
- Pesk9** – enzym z rodziny peptydaz konwertaz proproteinowych, aktywujących inne białka, wiąże się z receptorem dla lipoprotein
- PGAM-1** – enzym mutaza fosfoglicerynianu 1, bierze udział w szlaku glikolizy
- PGC-1alfa** – koaktywator transkrypcyjny receptorów steroidowych i jądrowych, udział w regulacji metabolizmu energetycznego
- PPARalfa, PPARgamma** – steroidowe jądrowe receptory alfa i gamma aktywowane proliferatorami peroksydomów, regulują metabolizm węglowodanów i tłuszczów
- Prdm16** – koregulator transkrypcyjny, rola w rozwoju komórek tłuszczowych
- SREBP1c** – czynnik transkrypcyjny wiążący się do sekwencji DNA regulowanej sterolami, rola w biosyntezie steroli
- TNF-alfa** – czynnik martwicy nowotworu alfa
- TRPM2** – podjednostka nieselektywnego kanału dla kationów, zaangażowana w procesach zapalnych i wydzielaniu insuliny
- Twist1** – czynnik transkrypcyjny Twist, bierze udział w procesie rozwoju embrionalnego i różnicowaniu komórek
- VCAM-1** – cząsteczka adhezyjna śródbłonki naczyń, rola w zjawisku przylegania białych krwinek do ścianek naczyń krwionośnych

Charakterystyka sirtuin

Sirtuiny (enzymy tworzące III klasę HDACs, deacetylaz histonowych) są enzymami wszędybyskimi, których aktywność zależy od dostępności dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego (NAD^+). Zostały znalezione w wielu organizmach, zarówno prokariotycznych, jak i eukariotycznych, ich budowa jest wysoce konserwatywna i zachowywana w toku ewolucji. Sirtuiny mają wpływ na szereg procesów w komórce, biorą udział w wielu procesach fizjologicznych i patologicznych, między innymi takich jak starzenie, odpowiedź na restrykcje kaloryczne w odżywianiu, oporność na stres, a także są zaangażowane w procesie stanu zapalnego oraz w apoptotycznej śmierci komórek. Pierwszym zidentyfikowanym członkiem rodziny sirtuin było białko SIR2, odkryte u drożdży *Sacharomycers cerevisiae* i opisane jako białko, które w kompleksie z innymi białkami wyciszało transkrypcję sekwencji telomerowych oraz genów związanych z procesem koniugacji u drożdży. U ssaków białkami homologicznymi do SIR2 jest grupa siedmiu sirtuin (SIRT1-7), które zostały zakwalifikowane do czterech klas. Klasa I składa się z SIRT1, 2 i 3, klasa II jest reprezentowana przez SIRT4, klasa III to SIRT 5, klasa IV obejmuje SIRT 6 i 7. Ssacze sirtuiny możemy również podzielić ze względu na ich wewnątrzkomórkową lokalizację. I tak SIRT1, 6 i 7 są obecne w jądrze komórkowym, SIRT3, 4 i 5 znajdujące się w mitochondriach, a SIRT2 zlokalizowaną głównie w cytoplazmie [13].

Wszystkie sirtuiny posiadają konserwatywną domenę katalityczną wielkości około 275 aminokwasów, która jest otoczona sekwencjami N- i C-końca o zmiennej długości. Końce te mogą być modyfikowane potranslacyjnie, co jest bardzo ważne dla regulowania aktywności sirtuin. Zasadniczo C-koniec jest niezbędny dla właściwej lokalizacji sirtuin w jądrze, bowiem zawiera 7-aminokwasową sekwencję sygnałową NLS (nuclear localization signal). Natomiast N-koniec ma znaczenia dla wiązania chromatyny oraz aktywności katalitycznej sirtuin. Katalityczny (główny) region zawiera domenę większą, o dużej homologii strukturalnej, która posiada domenę zwaną „zgięciem / fałdą Rossmanna” wiążącą kofaktor (NAD^+) oraz bardziej zróżnicowaną domenę mniejszą, zawierającą motyw wiążący cynk. Region wiążący kofaktor i łączący mniejszą domenę z fałdą Rossmanna tworzy pętlę stanowiącą centrum aktywne enzymu, do którego wiążą się zarówno NAD^+ , jak i substraty zawierające acetylowane reszty lizynowe. W obecności acetylowanej lizyny NAD^+ przechodzi zmianę konformacyjną, prowadzącą do odcięcia od

niego amidu kwasu nikotynowego (nikotynoamidu), a grupa acetylowa na lizynie ulega hydrolizie, wskutek czego powstaje końcowy deacetylowany polipeptyd oraz acetyl-ADP-ryboza. I to właśnie cechą odróżniającą sirtuiny (III klasa HDACs) od innych klas deacetylaz histonowych jest zależność ich aktywności od dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego NAD^+ , będącego ich kofaktorem.

Oprócz opisanej wyżej funkcji deacetylacji histonów czy innych białek chromosomalnych oraz enzymów, sirtuiny mogą także wykazywać inne aktywności enzymatyczne przydatne w regulacji metabolizmu komórki. I tak przykładowo SIRT2 posiada również zdolność usuwania długołańcuchowych tłuszczowych grup acylowych, natomiast SIRT4 posiada aktywność lipoamidazy, a SIRT5 może działać jako demalonylaza, desukcynylaza czy deglutarylaza, usuwając specyficznymi odpowiednimi grupami malonylowe, sukcylnowe i glutarylowe z aminokwasu lizyny w licznych białkach, co na etapie potranslacyjnym reguluje ich aktywność. Co jest ważne, enzymy SIRT4 i 6 posiadają także aktywność transferazy mono-ADP-rybozylowej [3, 10, 13, 17].

Najlepiej poznane i najszerzej scharakteryzowane wydają się być SIRT1 i 6, które zostaną omówione osobno w dalszym ciągu tego artykułu. Natomiast pozostałe enzymy przedstawiamy po krótko poniżej.

SIRT2 występuje przeważnie w cytoplazmie, koloalizuje z mikrotubulami cytoszkieletu komórkowego i prowadzi deacetylację ich głównego składnika, alfa-tubuliny, na lizynie 40. Podczas cyklu komórkowego, przy przejściu z fazy G2 do M, SIRT2 przemieszcza się do jądra komórkowego i deacetyluje histon H4 na lizynie 16, prowadząc do kondensacji chromatyny podczas metafazy. Ponadto SIRT2 deacetyluje czynniki transkrypcyjne FoxO1 i FoxO3 oraz lizynę katalitycznej domeny acetylotransferazy histonowej p300 – enzymu, który odgrywa znaczącą rolę w procesach wzrostu i podziału komórek i stąd bierze także udział w powstawaniu nowotworów.

SIRT3 pozytywnie reguluje aktywność mitochondrium przez deacetylację i aktywację wielu komponentów kompleksów I i II łańcucha transportującego elektrony (łańcucha oddechowego) i syntetazy acetylo-CoA, związku, który pełni kluczową rolę w metabolizmie energetycznym oraz przemianach lipidowych.

SIRT4, zlokalizowana w macierzy mitochondrium, powszechnie występuje w komórkach nerek, serca, mózgu, w wątrobie oraz w komórkach beta w trzustce. Działanie SIRT4 prowadzi do hamowania wydzielania insuliny w odpowiedzi na glukozę, SIRT4 współdziała także z enzymem degradującym

insulinę (IDE). Przez przeniesienie reszty ADP-rybozy, SIRT4 dezaktywuje dehydrogenazę glutaminianu (GDH), która konwertuje w mitochondrium glutaminian do alfa-ketoglutaranu.

SIRT5, zlokalizowana również w macierzy mitochondrialnej, obecna jest głównie w mózgu, sercu, wątrobie i nerkach. SIRT5 deacetyluje enzym, syntazę karbomoilową 1 (CPS1), która katalizuje pierwszy etap cyklu mocznikowego. Deacetylacja CPS1 przez SIRT5 prowadzi do podwyższenia aktywności tego enzymu w tym cyklu. Badania wykazały, że CPS1 jest deacetylowany w sytuacji restrypcji kalorycznej i jego aktywność wzrasta w diecie nisko-kalorycznej. Wzrost deacytacji i aktywności oksydazy moczaznowej (UOX), enzymu zaangażowanego w metabolizm puryn, jest obserwowany u myszy z nadekspresją SIRT5 w wątrobie.

SIRT7 uczestniczy w aktywacji transkrypcji katalizowanej przez polimerazy RNA I i III. Może także współdziałać z czynnikami indukowanymi niedotlenieniem HIF-1alfa i HIF-2alfa, powodując zmniejszenie ich ekspresji. SIRT7 jest jądrowym regulatorem homeostazy mitochondrialnej działającym na białko GABPbeta1, główny regulator biogenezy i funkcji mitochondrium. Wykazano również, że SIRT7 podtrzymuje złośliwą transformację nowotworową komórek poprzez deacetylację H3K18, biomarkera pojawiającego się w złośliwych nowotworach. Wykazano, że wysoki poziom ekspresji SIRT7 jest skorelowany z agresywnością nowotworu i krótszym okresem życia, podczas gdy obniżenie poziomu / aktywności tego enzymu prowadzi do wystąpienia mniej agresywnego fenotypu [2, 5]. Stąd wydaje się, że SIRT7 jest obiecującym celem dla epigenetycznie nakierowanych terapii przeciwnowotworowych.

Różnorodne „oblicza” SIRT1

SIRT1 jest najlepiej scharakteryzowanym członkiem rodziny sirtuin. Bierze udział w formowaniu heterochromatyny, reguluje też wiele szlaków związanych z normalnym metabolizmem i funkcjonowaniem poszczególnych organów u ssaków. SIRT1 wydaje się mieć podwójną rolę: supresora i promotora nowotworzenia podczas kancerogenezy [9]. Jej działanie zostało dobrze poznane w toku badań dotyczących procesu starzenia oraz zmian wywołanych restrypcją kaloryczną. Ta ostatnia sytuacja jest ściśle powiązana z metabolizmem glukozy. Homeostaza glukozy jest regulowana przez komórki wątroby. Przy niskim poziomie glukozy (spowodowanym głodówką i restrypcją kaloryczną) dochodzi do rozkładu glikogenu w procesie glikogenolizy w celu zapewnia-

nia podaży glukozy i do produkcji ciał ketonowych, co ma zapobiec powstałemu deficytowi energii. Wiele czynników transkrypcyjnych jest zaangażowanych w czasie adaptacji do tego deficytu, a pośredniczy w tym SIRT1 (Ryc. 2).

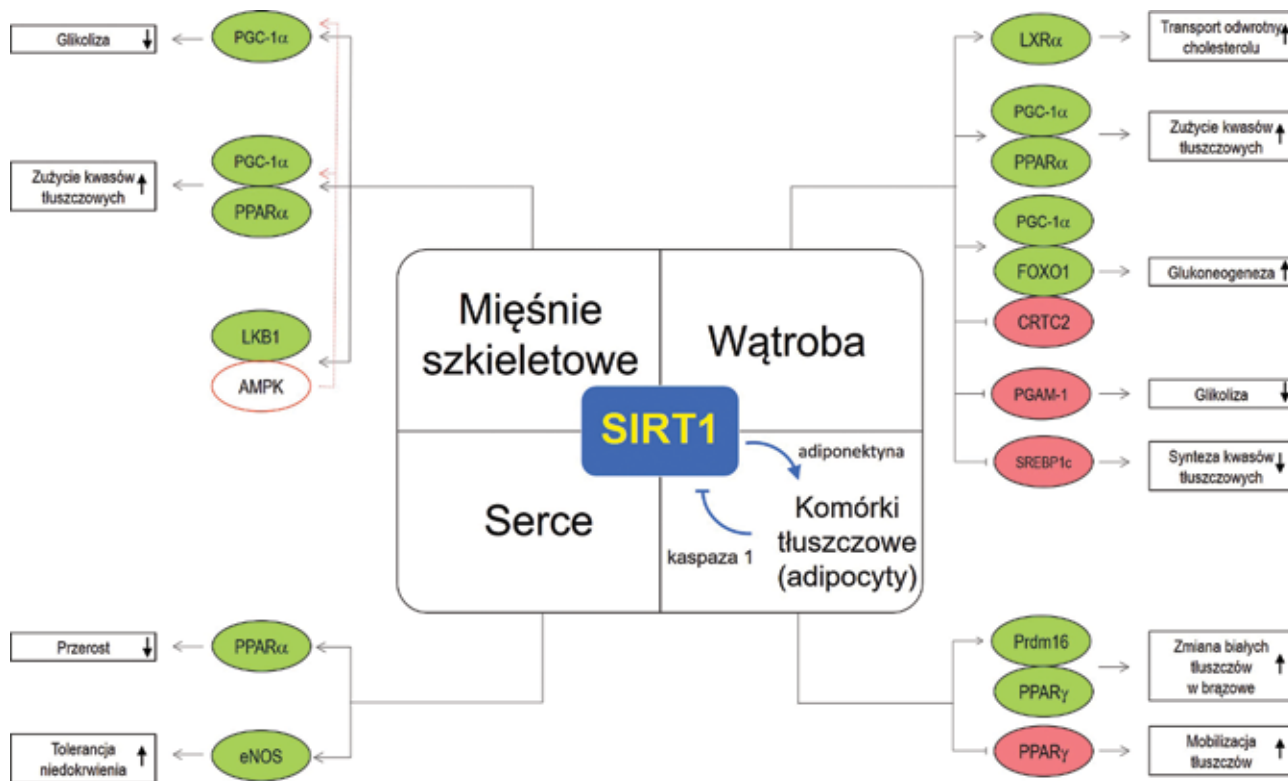
Innym procesem kontrolowanym przez wątrobę i zachodzącym z zaangażowaniem SIRT1, jest homeostaza lipidowa i cholesterolowa. Podczas głodówki synteza tłuszczu i cholesterolu w wątrobie jest wyłączona, a faworyzowana jest lipoliza w białej tkance tłuszczowej (WAT). Głównymi czynnikami transkrypcyjnymi zaangażowanymi w tym procesie są białka należące do rodziny białek wiążących regulatorowy element steroli (SREBP). W czasie głodówki SIRT1 przeprowadza deacetylację SREBP1 i w konsekwencji „przeznacza” to białko do degradacji przez system ubikwityna / proteasom. W efekcie dochodzi do zahamowania syntezy cholesterolu i tłuszczów. Ważna rola SIRT1 jest potwierdzona przez badania prowadzone w modelach genetycznie zmodyfikowanych zwierząt i pokazujące, że nokaut genu kodującego SIRT1 w wątrobie myszy prowadzi do stłuszczenia i marskości wątroby u tych zwierząt. Ponadto SIRT1 reguluje aktywność receptora oksysterolu (LXRalfa) (przez zwiększenie transkrypcji jego genu), który uczestniczy w transporcie zwrotnym cholesterolu z tkanek obwodowych do wątroby, co ma związek z rozwojem i cofaniem się zmian miażdżycowych.

Z kolei w mięśniach szkieletowych podczas głodówki lub wysiłku fizycznego dochodzi do przełączenia produkcji energii z węglowodanów na tłuszcze. W czasie tego procesu SIRT1 deacetyluje PGC-1alfa i aktywuje geny konieczne dla oksydacji tłuszczów. Deficyt energii aktywuje (poprzez zwiększenie poziomu adenylozomonofosforanu, AMP) także kinazę aktywowaną AMP (AMPK), która aktywuje ekspresję PGC-1alfa w tych warunkach. Łącznym efektem jest zwiększona biogeneza mitochondrialna i oksydacja kwasów tłuszczowych w mięśniach. Efekt SIRT1 i AMPK może być wzmocniony przez pozytywne sprzężenie zwrotne, w którym AMPK prowadzi do zwiększenia ekspresji genu kodującego enzym rybozylotranferazę nikotynoamidową (NAMPT), enzymu kluczowego do syntezy NAD, i poprzez zwiększenie poziomu NAD⁺ aktywuje SIRT1. W zamian SIRT1 może poprzez deacetylację serynowo-treoninowej wątrobowej kinazy B1 (LKB1) aktywować AMPK, stymulując dodatkowo oksydację kwasów tłuszczowych i produkcję energii.

WAT reguluje fizjologię poprzez wydzielanie adipokin, takich jak leptyny czy adiponektyny. Adiponektyna zwalcza otyłość i cukrzycę, podwyższa wrażliwość na insulinę i sprzyja prawidłowej

homeostazie glukozy. Podczas wysiłku fizycznego mięśniowy receptor dla adiponektyny jest aktywo-

na funkcjonowanie naczyń krwionośnych. Kluczowym czynnikiem w utrzymywaniu funkcjonalności



Ryc. 2. Korzystny udział SIRT1 w metabolizmie w różnych tkankach. W wątrobie SIRT1 wspiera glukoneogenezę i zużycie kwasów tłuszczowych, hamuje glikolizę i syntezę kwasów tłuszczowych, reguluje homeostazę cholesterolu. W mięśniach szkieletowych również zwiększa zużycie kwasów tłuszczowych i hamuje glikolizę. W sercu SIRT1 zwiększa tolerancję na niedotlenienie i chroni przed hipertrofią (przerostem mięśnia sercowego). W tkance tłuszczowej zwiększa zdolności wykorzystywania energetycznego tłuszczów. Opis białek regulowanych przez SIRT1, patrz: Słowniczek. (↑) - hamowanie; (↓) - zwiększanie (wg. [4], zmodyfikowane).

wany i indukuje ekspresję SIRT1, AMPK i PGC-1α w sposób zależny od wapnia, co z kolei napędza oksydację kwasów tłuszczowych i biogenezę mitochondrialną. Podczas głodówki SIRT1 pobudza mobilizację tłuszczów z WAT poprzez podtrzymywanie oksydacji tłuszczów w wątrobie i komórkach mięśniowych. Dalej SIRT1 może indukować komórki WAT do zmiany w metabolicznie aktywne komórki brązowego tłuszczu poprzez deacetylację dwóch kluczowych reszt lizynowych na PPARgamma. Odwrotnie, nadmiar energii, który może być powodowany przez dietę wysokotłuszczową, indukuje aktywację kaspazy 1, która, jako część inflamasomu, rozszczepia SIRT1 w WAT. To zredukowanie występowania SIRT1 w adipocytach ma swój udział w dysfunkcji metabolizmu wywoływanej przez dietę wysokotłuszczową [4].

Jedną z powszechnie występujących i związanych z wiekiem chorób jest miażdżyca, która jest spowodowana częściowo przez przewlekłe zapalenie naczyń krwionośnych. Postępujące wraz ze starzeniem osłabienie lub brak zdolności regeneracyjnych oraz starzenie się i śmierć samych komórek silnie wpływa

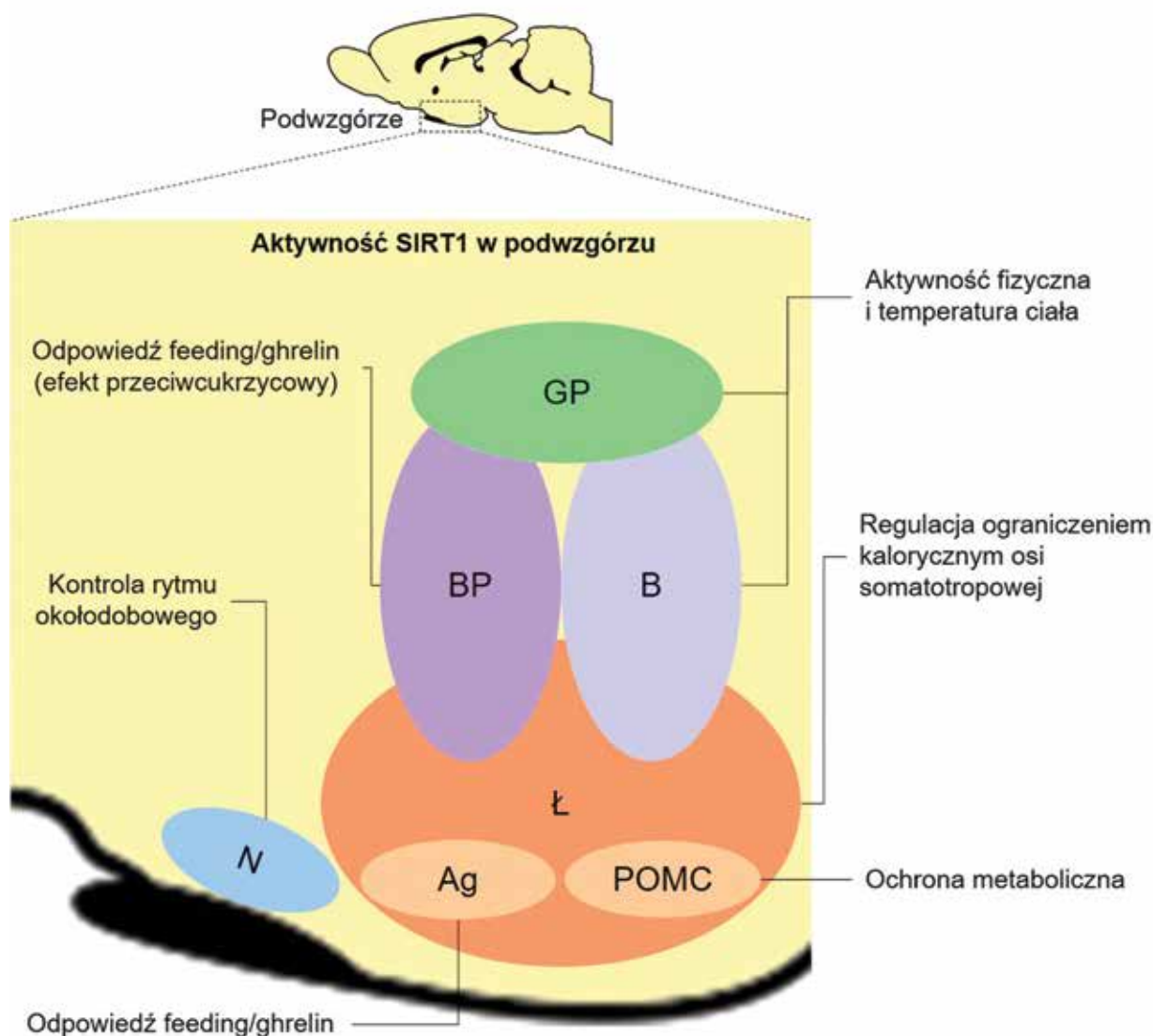
śródbłonna naczyniowego jest tlenek azotu (NO), który może podtrzymywać angiogenezę i proliferację tkanki mięśni gładkich, a także redukuje akumulację płytek starczych. Co więcej, produkcja NO przez endotelialną syntazę tlenku azotu (eNOS) ma także znaczenie dla relaksacji mięśni, obniżenia ciśnienia krwi i ogólnie, dla utrzymania dobrej kondycji śródbłonna naczyń krwionośnych. I tutaj ponownie powracamy do ważnej roli SIRT1. Otóż SIRT1 i eNOS tworzą pętlę pozytywnego sprzężenia zwrotnego. Podczas restrykcji kalorycznej eNOS indukuje ekspresję SIRT1, która z kolei podnosi aktywność eNOS przez deacetylację tego enzymu. W mięśniu serca eNOS odgrywa rolę w odpowiedzi na restrykcję kaloryczną przez ułatwianie przemieszczania się SIRT1 do jądra komórki, co z kolei podnosi tolerancję komórek mięśni serca na niedokrwienie. Dodatkowo SIRT1 przyczynia się do ochrony serca przed przerostem mięśnia poprzez aktywację PPARgamma i nasilenia utleniania tłuszczów [16].

SIRT1 odgrywa również ważną rolę dla prawidłowego przebiegu procesów zachodzących w komórkach mózgu. Szczególnie interesujące są wyniki

badań pokazujące zaangażowanie SIRT1 w aktywację monoaminoooksydazy A (MAO-A) i sugerujące udział SIRT1 w zaburzeniach lękowych i depresyjnych [14, 15]. Regionem w mózgu ważnym dla systemowej koordynacji fizjologii ssaków jest podwzgórze. Specyficzne neurony podwzgórza „zarządzają” codziennymi aktywnościami organizmu, takimi jak pobieranie pokarmu, temperatura ciała i wieloma procesami metabolicznymi. Poziom SIRT1 w podwzgorzu zmienia się w odpowiedzi na rodzaj diety i wtedy ujawnia się jej rola jako pośrednika w kontroli sprawowanej przez podwzgórze. Przykładowo, odpowiedź osi somatotropowej (której częścią jest podwzgórze) na restrykcje kaloryczną jest zablokowana w mózgu myszy z nokautem genu dla SIRT1. Podczas restrykcji kalorycznej poziom SIRT1 wzrasta w takich regionach podwzgórza jak jądro grzbietowo-przyśrodkowe czy

część boczna. Nadekspresja SIRT1 w neuronach tych regionów powoduje zwiększenie aktywności fizycznej i podnosi temperaturę ciała. Z kolei w neuronach pro-opiomelanokortynowych (POMC) SIRT1 jest istotna dla procesów prawidłowego zużycia energii. Myszy selektywnie pozbawione SIRT1 w neuronach POMC są podatne na otyłość indukowaną dietą.

Ponadto w mózgowym jądrze nadskrzyżowaniowym, które pośredniczy w centralnej kontroli rytmu okołodobowego u ssaków, SIRT1 może wpływać na amplitudę rytmu okołodobowego przez kontrolowanie czynnika transkrypcyjnego BMAL1 i innych elementów zegara dobowego. Co jest ważne, poziom SIRT1 w tym jądrze spada z wiekiem, i faktycznie, nadekspresja SIRT1 może opóźniać związane z wiekiem upośledzenie funkcjonowania rytmu okołodobowego. Co więcej, nadekspresja SIRT1 w części bocz-



Ryc. 3. Centralna regulacja funkcji metabolicznych przez SIRT1 poprzez podwzgórze. Główne regiony mysiego mózgu zaangażowane w jej oddziaływanie to: GP - jądro grzbietowo-przyśrodkowe; BP - jądro brzuszno-przyśrodkowe; B - część boczna; Ł - jądro łukowate; Ag - neurony produkujące białka agouti; POMC - neurony produkujące pro-opiomelanokortynę; N - jądro nadskrzyżowaniowe (wg. [4], zmodyfikowane).



Kruszczyk błotny (*Epipactis palustris* (L.) Crantz) fragment kwiatostanu. Kostrze, okolice Krakowa, czerwiec. Fot. Wojciech Paul.

FLORA POGÓRZA KARPACKIEGO



Ląka mieczykowo-mietlicowa. Kwitnie mieczyk dachówkowaty (*Gladiolus imbricatus* L) oraz świerzbica polna (*Knautia arvensis* L) (fioletowe kwiatostany) i jarzmianka większa (*Astragalus major* L) (białe kuliste kwiatostany). Widoczne trawy: kostrzewa łąkowa (*Festuca pratensis* Huds), drzęczka średnia (*Briza media* L), grzebieńca pospolita (*Cynosurus cristatus* L). Beskid Żywiecki, Rycerka Górna, lipiec. Fot. Bogusław Binkiewicz.



0

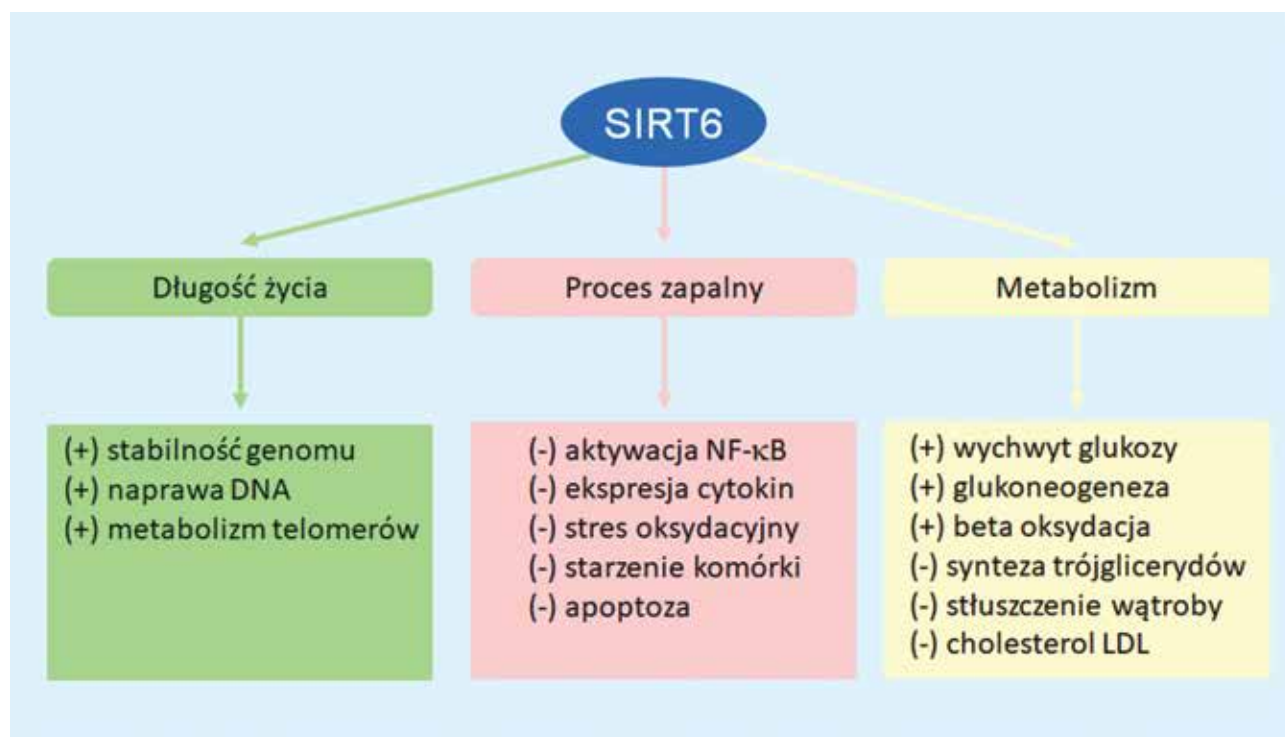
Iszyna z młodymi pędami ciemieżycy zielonej (*Veratrum lobelianum* Bernh.). Okolice leśniczówki Katary koło Tarnowa. Fot. Wojciech Paul.

nej i jądrze grzbietowo-przyśrodkowym spowalnia starzenie i pozytywnie wpływa na długość życia. Widzimy więc wyraźnie, że mózgowy SIRT1 występująca w podwzgórzcu pełni ważną rolę w kontroli procesów związanych ze starzeniem organizmu (Ryc. 3).

Zróźnicowane funkcje SIRT6

SIRT6, podobnie jak SIRT1, jest również enzymem o wielu funkcjach, uczestniczy w kontroli różnych procesów życiowych, takich jak długość życia, stan zapalny czy metabolizm glukozy i lipidów, i jest najlepiej scharakteryzowana jako NAD⁺ zależna deacetylaza lizyny 9 histonu H3 (H3K9), lizyny 56 histonu H3 (H3K56), lizyny 18 histonu H3 (H3K18), która dodatkowo wykazuje aktywność do katalizowania mono-ADP- rybozylacji (Ryc. 4). Ze względu na kompleksową i często przeciwstawną funkcjonalną rolę SIRT6, nazywana jest ona „mieczem obosiecznym”. Tym niemniej jej zdolność do regulowania

przekierowanie komórki na drogę przedwczesnego starzenia. Ta genomowa niestabilność obserwowana przy braku SIRT6 może być wytłumaczona poprzez utratę połączenia białka WRN (ang. *Werner syndrome protein*) z chromatyną. Białko to odgrywa główną rolę podczas replikacji DNA i w metabolizmie telomerów i jest niezbędne do prawidłowego ograniczania telomerów przez kompleks telosomów. Jednostka chorobowa nazwana Werner syndrom jest autosomalnym recesywnym schorzeniem, które przejawia się przedwczesnym starzeniem i predyspozycją do zapadania na nowotwory. Komórki pacjentów cierpiących na syndrom Wernera wykazują podwyższoną niestabilność genomową i nadwrażliwość na czynniki uszkodzające DNA (np. promieniowanie jonizujące, nadtlenek wodoru). Ponadto SIRT6 bierze udział w naprawianiu pęknięć pojedynczych i podwójnych nici DNA w procesach zwanych odpowiednio naprawą SSB (ang. *single strand break*) i DSB (ang. *double strand break*) [12, 21].



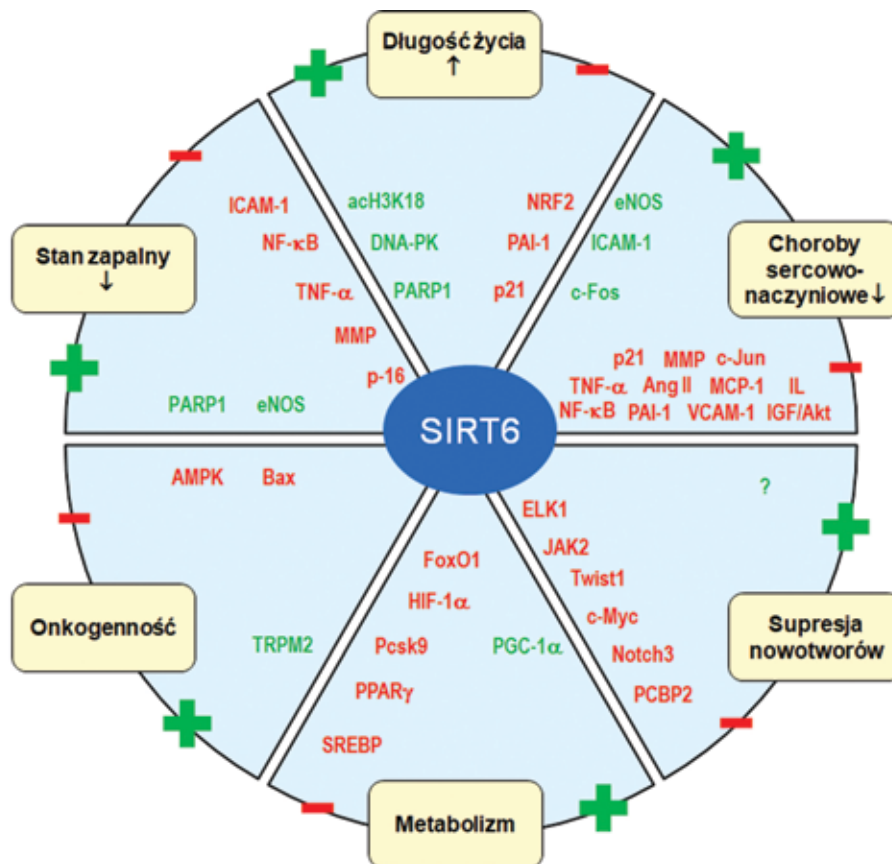
Ryc. 4. Rola SIRT6 w regulacji długości życia, procesów zapalnych i metabolizmu. (+) - regulacja pozytywna; (-) - regulacja negatywna (wg. [20] zmodyfikowane).

telomerów i chromatyny oraz dynamicznego wiązania do chromatyny czynników naprawczych DNA są szczególnie warte podkreślenia. Jedną z bardzo ważnych funkcji SIRT6 jest udział w utrzymaniu i zachowaniu funkcji telomerów. Brak SIRT6 prowadzi do formowania dysfunkcyjnych telomerów z utratą niektórych ich sekwencji, dochodzi wtedy do akumulacji ognisk telomerowych uszkodzeń DNA oraz do genomowej niestabilności, która ułatwia

SIRT6 jest ważnym regulatorem homeostazy glukozy w organizmie, a jej działanie wpływa zarówno na glikolizę, jak i na glukoneogenezę. Myszy z niedoborem białka SIRT6 wykazują ciężką hipoglikemię, która prowadzi do śmierci myszy w wieku 1 miesiąca, przy czym nie jest to powodowane defektami we wchłanianiu glukozy w jelitach czy zwiększonym wydalaniem przez nerki. U tych myszy stwierdzono natomiast wyraźne zwiększenie wychwytu gluko-

zy, zarówno w mięśniach, jak i w brunatnej tkance tłuszczowej (ang. *brown adipose tissue*, BAT), co mogłoby tłumaczyć hipoglikemię. Ten zwiększony wychwyt glukozy przy braku SIRT6 był skorelowany ze wzrostem ekspresji błonowego transportera glukozy GLUT1 i ze zwiększoną glikolizą, natomiast dochodziło wtedy jednocześnie do zahamowania oddychania mitochondrialnego. SIRT6 jest znana ze zdolności modulowania w sposób skoordynowany wielu genów potrzebnych do aktywacji glikolizy i jednoczesnego hamowania oddychania mitochondrialnego [19].

za to jest zdolność SIRT6 do pobudzania odpowiedzi wapniowej wewnątrz komórki poprzez modulowanie wewnątrzkomórkowego poziomu ADP-rybozy. SIRT6 także wpływa na procesy immunologiczne i odpowiedź organizmu na stres, ograniczając efekt aktywacji zapalnego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. Jej działanie polega na wiązaniu się do regionów promotorowych genów docelowych dla NF- κ B [7] (Ryc. 5). Niniejszy podrozdział nie wyczerpuje tematu zróżnicowania funkcji SIRT6. Jednak mnogość przykładów zaangażowania tego



Ryc. 5. Wielokierunkowe działanie i różnorodność celów SIRT6. Wewnątrzkomórkowe punkty uchwytu aktywności SIRT6 w kontroli długości życia oraz mechanizmach chorób, w tym schorzeń powodowanych wiekiem, nowotworów i chorób sercowo-naczyniowych. Opis białkowych punktów uchwytu, patrz: Słowniczek. (+) - regulacja pozytywna; (-) - regulacja negatywna; (?) - nie zbadane; (↓) - hamowanie; (↑) - zwiększanie (wg. [20], zmodyfikowane).

Myszy z niedoborem SIRT6 prezentują zwiększoną ekspresję genów związanych z glukoneogenezą, która jest odpowiedzią aktywności wątroby na hipoglikemię. Okazało się, że rzeczywiście SIRT6 kontroluje również glukoneogenezę w wątrobie poprzez zwiększenie ekspresji genów związanych z glukoneogenezą [6].

SIRT6 odgrywa także krytyczną rolę w procesach zapalnych i wydzielaniu cytokin. Na przykład w komórkach trzustki SIRT6 indukuje ekspresję pro-zapalnych cytokin, takich jak IL-8 czy czynnik martwicy nowotworu TNF-alfa. Częściowo odpowiedzialna

enzymu w różnych procesach biochemicznych i jej biologicznie ważne role wskazują, że SIRT6 ma wpływ na schorzenia mięśnia sercowego i zaburzenia sercowo-naczyniowe, cukrzycę, otyłość, stan zapalny i proces nowotworzenia, a wszystko to wpływa na naturalne starzenie się organizmu z SIRT6 w tle.

Modulowanie aktywności sirtuin: Sirtuiny – nadzieja dla medycyny?

Obecnie znane są związki, które posiadają zdolność wpływania na aktywność sirtuin, nasilając ją

bądź hamując. Najwięcej wiemy o związkach modulujących aktywność SIRT1. Najbardziej znany aktywator SIRT1 to resweratrol, związek organiczny z grupy polifenoli, naturalnie występujący przede wszystkim w winogronach, a zwłaszcza w ich skórkach. Mechanizm jego działania polega na zwiększeniu powinowactwa SIRT1 do będącego jego substratem acetylowanego białka. W efekcie SIRT1 zwiększa deacetylację PGC-1 α , powodując efekt biologiczny. W wyniku aktywacji SIRT1 dochodzi do redukcji masy ciała, zmniejszenia oporności na insulinę, do wzrostu funkcji motorycznych oraz wydłużenia życia myszy z otyłością spowodowaną dietą wysokotłuszczową. Niedawno zidentyfikowano związki nazwane SRT, selektywne wobec SIRT1 i cechujące się podobnym korzystnym działaniem jak resweratrol, ale mające potencjalnie wielokrotnie większą od niego zdolność aktywacji SIRT1. Niektóre z nich, z powodu obiecujących właściwości, są na etapie badań klinicznych jako potencjalne leki na choroby związane ze starzeniem. Ostatnio doniesiono o istnieniu aktywatora SIRT3, którym jest naturalny związek honokiol, wykazujący działanie zapobiegające przerostowi mięśnia sercowego [1].

Oprócz aktywatorów istnieją także inhibitory sirtuin. Mogą to być zarówno małe cząsteczki, jak i całe peptydy bądź pseudopeptydy, czyli peptydy zmodyfikowane przez zastąpienie reszty acetylowej lizyny innymi grupami chemicznymi, np. tioacetylową,

própiionylową czy butyrylową. Cząsteczka o nazwie splitomycyna, hamująca SIRT2, stała się wyjściową do syntezy wielu związków hamujących selektywnie wybrane sirtuiny. Wśród nich jest HR-73, który w wyniku hamowania SIRT1 hamuje zarazem transkrypcję wirusa HIV, a ponadto wykazuje działanie antyproliferacyjne i hamuje wzrost niektórych nowotworów. EX-527, również inhibitor SIRT1, działa korzystnie w chorobie Huntingtona i jest obecnie w fazie badań klinicznych. AK-7, związek hamujący SIRT2, wykazuje działanie neuroprotekcyjne w modelach choroby Parkinsona. Pochodne mocznika zwane tenowinami także mogą osłabiać aktywność sirtuin. Obiecująco wygląda tenowina-6, która efektywnie ogranicza rozwój nowotworu skóry, czerniaka (melanomy). Cząsteczka o odmiennej budowie, inozylna, hamuje SIRT1 i zwiększa zależną od białka p53 apoptozę komórek nowotworowych [3, 11, 20].

Szeroko zakrojona analiza obecnie dostępnej wiedzy i ostatnie zdobycze nauki w tematyce sirtuin wyraźnie wskazują, że modulacja aktywności sirtuin przynosi pozytywne efekty dla terapii co najmniej kilku schorzeń, w tym nowotworów i neurodegeneracji. Dalsze badania nowosyntetyzowanych aktywatorów i inhibitorów sirtuin stworzą nowe możliwości i zrodzą nadzieję na nowe farmakologiczne strategie dla terapii schorzeń, które obecnie są jeszcze nieuleczalne.

Bibliografia:

1. Beauharnois, J. M., Bolivar B. E., Welch J. T., 2013. Sirtuin 6: a review of biological effects and potential therapeutic properties. *Molecular BioSystems* 9: 1789-1806.
 2. Barber, M. F., Michishita-Kioi, E., Xi, Y., Tasselli, L., Kioi, M., Moqtaderi, Z., Tennen RI, Paredes S, Young NL, Chen K, Struhl K, Garcia BA, Gozani O, Li W, Chua, K. F., 2012. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature* 487:114-118.
 3. Carafa, V., Rotili, D., Forgione, M., Cuomo, F., Serrettiello, E., Hailu, G. S., Jarho, E., Lahtela-Kakkonen, M., Mai, A., Altuci, L., 2016. Sirtuin functions and modulation: from chemistry to the clinic. *Clinical Epigenetics* 8: 61-82.
 4. Chang, H. C., Guarente, L., 2014. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 25: 138-145.
 5. Dmitrzak-Węglarz, M., Hauser, J., 2009. Mechanizmy epigenetyczne w chorobach psychicznych i zaburzeniach funkcji poznawczych. *Psychiatria* 6:51-60.
 6. Etchegaray, J. P., Zhong, L., Mostoslavsky R., 2013. The histone deacetylase SIRT6: at the crossroads between epigenetics, metabolism and disease. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13: 2991-3000.
 7. Gertler, A. A., Cohen H. Y., 2013. SIRT6, a protein with many faces. *Biogerontology* 14: 629-639.
 8. Gruber, B. M., 2011. Epigenetyka a etiologia chorób neurodegeneracyjnych. *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej* 65: 542-551.
-

9. Hall, J. A., Dominy, J. E., Lee, Y., Puigserver, P., 2013. The sirtuin family's role in aging and age-associated pathologies *Journal of Clinical Investigation* 123:973-979.
10. Houtkooper, R. H., Pirinen, E., Auwerx J., 2012. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 13:225-238.
11. Hu, J., Jing, H., Lin, H., 2014. Sirtuin inhibitors as anticancer agents. *Future Medicinal Chemistry* 6:945-966.
12. Kugel, S., Mostoslavsky, R., 2014. Chromatin and beyond: the multitasking roles for SIRT6. *Trends in Biochemical Sciences* 39: 72-81.
13. Kupis, W., Palyga, L., Tomal, E., 2016. The role of sirtuins in cellular homeostasis. *Journal of Physiology and Biochemistry* 72: 371-380.
14. Libert, S., Pointer, K., Bell, E. L., Das, A., Cohen, D. E., Asara, J. M., Kapur, K., Bergmann, S., Preisig, M., Otowa, T., Kendler, K. S., Chen, X., Hettema, J. M., van den Oord, E. J., Rubio, J. P., Guarente, L., 2011. SIRT1 activates MAO-A in the brain to mediate anxiety and exploratory drive. *Cell* 147:1459-1472.
15. Lu, G., Li, J., Zhang, H., Zhao, X., Yan, L. J., Yang, X., 2018. Role and Possible Mechanisms of Sirt1 in Depression. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018:8596903. doi: 10.1155/2018/8596903.
16. Matsushima, S., Sadoshima, J., 2015. The role of sirtuins in cardiac disease. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 309: H1375-1389.
17. O'Callaghan, C., Vassilopoulos, A., 2017. Sirtuins at the crossroads of stemness, aging, and cancer. *Aging Cell* 16: 1208-1218.
18. Paluszczak, J., Baer-Dubowska, W., 2005. Zjawiska epigenetyczne w patogenezie nowotworów. Nowe możliwości profilaktyki i terapii ? *Postępy Biochemii* 51: 244-250.
19. Tasselli, L., W., Zheng, W., Chua, K. F., 2017. SIRT6: Novel Mechanisms and Links to Aging and Disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 28: 168-185.
20. Villalba, J. M., Alcaín, F. J., 2012. Sirtuin activators and inhibitors. *Biofactors* 38:349-359.
21. Vitiello, M., Zullo, A., Servillo, L., Mancini, F. P., Boriello, A., Giovane, A., Ragione, F. D., D'Onofrio, N., Balestrieri, M. L., 2017. Multiple pathways of SIRT6 at the crossroads in the control of longevity, cancer, and cardiovascular diseases. *Ageing Research Reviews* 35: 301-311.
22. Waddington, C.H., 1939. An introduction to modern genetics. New York, The Macmillan company.
23. Waddington C.H., 1942. The epigenotype. *Endeavor* 1:18–20. Reprinted in: *International Journal of Epidemiology* 2012;41:10–13.
24. Wierzbicki A.T., 2004. Dziedziczenie epigenetyczne. *Kosmos* 53:271-280.

Mgr Adam Bielawski jest biologiem, specjalność biologii molekularnej, pracuje w Zakładzie Biochemii Mózgu w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. E-mail: bielaw@if-pan.krakow.pl

Prof. dr hab. Irena Nalepa, neurobiolog, neuropsychofarmakolog i biochemik, członek European Dana Alliance for the Brain (EDAB), jest kierownikiem Zakładu Biochemii Mózgu w Instytucie Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie. E-mail: nfnalepa@cyf-kr.edu.pl