

Ekspresi Sirt1 pada Karsinoma Payudara Tikus yang Diinduksi Dimethylbenz (α) Anthracene dan Hubungannya dengan Derajat Histologis, Ukuran Tumor serta Ekspresi PCNA

Novrita Padauleng¹, Dewajani Purnomosari², Sri Herwiyanti², Harjadi³, Irianiwati², Sitarina Widyarini⁴

Abstrak

Latar belakang: Karsinoma payudara terjadi melalui proses kompleks yang melibatkan mutasi serta modifikasi epigenetik. Kontribusi Sirt1 pada modifikasi epigenetik terjadi melalui aktivitas deasetilasi Sirt1 terhadap beberapa gen penekan maupun pemicu pertumbuhan karsinoma, sehingga transkripsi gen-gen tersebut menjadi inaktif. Penelitian ini bertujuan membandingkan ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus yang diinduksi DMBA dengan kelenjar normal, serta melihat ada tidaknya hubungan antara ekspresi Sirt1 dengan derajat histologis, ukuran tumor, dan ekspresi PCNA.

Metode: Sebanyak 30 ekor tikus *Sprague dawley* betina, dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu pakan, kontrol *vehicle* (minyak jagung), dan karsinoma payudara (induksi DMBA). Analisis jaringan payudara menggunakan teknik imunohistokimia untuk protein Sirt1 dan PCNA, serta pengecatan hematoxylin eosin untuk derajat histologis.

Hasil: Ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus lebih tinggi secara bermakna dibandingkan ekspresinya di kelenjar payudara normal (26,12 vs 0,05; $p=0,004$). Ekspresi Sirt1 positif lebih banyak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis buruk (56,2%), dan tidak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis baik. Uji statistik menunjukkan hubungan yang sangat bermakna antara ekspresi Sirt1 dengan ukuran tumor (textitp=0,009; $r=0,877$) dan ekspresi PCNA ($p=0,000$; $r=0,790$).

Kesimpulan: Protein Sirt1 pada penelitian ini cenderung sebagai pemicu pertumbuhan karsinoma payudara, dan ekspresi Sirt1 positif lebih banyak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis buruk. Peningkatan ekspresi Sirt1 disertai dengan peningkatan ukuran tumor dan ekspresi PCNA.

Katakunci

ekspresi Sirt1, karsinoma payudara tikus yang diinduksi DMBA, derajat histologis, ekspresi PCNA, ukuran tumor.

¹Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Mataram

²Bagian Histologi dan Biologi Sel Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

³Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada

⁴Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada

*e-mail: novrita9888@yahoo.com

1. Pendahuluan

Sirt1 memiliki dua peran, yaitu sebagai pemicu (promoter) sekaligus penekan (supresor) pertumbuhan karsinoma payudara. Berbagai studi mengenai ekspresi Sirt1 pada kanker, khususnya karsinoma payudara menunjukkan hasil yang kontroversial, dan di antara studi tersebut belum ada yang mempelajari ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus yang diinduksi Dimethylbenz (α)anthracene (DMBA). Perbedaan ekspresi Sirt1 pada kelenjar payudara normal dengan karsinoma payudara tikus yang diinduksi DMBA dapat memberikan ilustrasi mengenai sisi yang lebih dominan teregulasi pada hewan

model eksperimental ini.

Hubungan antara ekspresi Sirt1 dengan beberapa faktor prognosis karsinoma payudara.^{1,2} seperti derajat histologis, ukuran tumor, serta ekspresi PCNA sebagai marker proliferasi, perlu dilakukan untuk melihat ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara dengan karakteristik derajat histologis, ukuran tumor, serta ekspresi PCNA tertentu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA, dengan kelenjar payudara normal, serta ada tidaknya hubungan antara ekspresi Sirt1 dengan derajat histologis, ukuran tumor, dan ekspresi PCNA.

2. Metode Penelitian

Sebanyak 30 ekor tikus *Sprague dawley* betina, berusia 30 hari, terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok pakan, pakan dan minyak jagung (kontrol pelarut), dan kelompok yang diinduksi karsinogen DMBA. Variabel yang diteliti adalah ekspresi Sirt1, derajat histologis, ukuran tumor, dan ekspresi PCNA. Ekspresi Sirt1, derajat histologis, dan ekspresi PCNA, dianalisis setelah masa observasi selama 10 minggu, terhitung sejak induksi DMBA yang terakhir, dengan 20 mg/KgBB karsinogen DMBA dalam 0,5 ml minyak jagung; 2 kali seminggu, selama 5 minggu.³ Keberadaan nodul tumor serta ukurannya diobservasi setiap minggu dengan palpasi dan alat ukur kaliper geser.

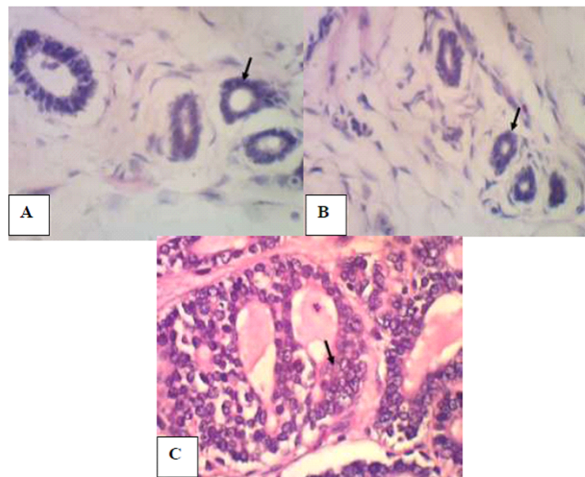
Metode imunohistokimia (IHC) untuk Sirt1 dan PCNA dilakukan menggunakan sistem deteksi *Trekki Universal Link*, pada preparat setebal (4- μ m), dari jaringan payudara dan karsinoma payudara, yang difiksasi dengan formalin, dan diembedding dalam parafin. Peroksidase endogen diatasi dengan inkubasi 0,3% *hydrogen peroxide* selama 15 menit, suhu kamar. Preparat direndam dalam larutan buffer sitrat selama 25 menit, suhu tinggi, untuk mendapatkan antigen, diikuti dengan inkubasi antibodi primer, antibodi monoklonal Sirt1 1:400 (abcam110304) semalam, dan antibodi poliklonal PCNA 1:1000 (bioscience8120365) selama 10 menit. Jaringan dikategorikan sebagai Sirt1-positif jika lebih dari 30% sel menunjukkan Sirt1 imunopositif intranuklear.⁴

Penilaian derajat histologis dilakukan pada preparat dengan pengecatan hematoxilin eosin. Derajat histologis dari masing-masing preparat diperoleh berdasarkan penilaian formasi tubulus, pleomorfisme nuklear, dan hitung mitosis, menurut sistem klasifikasi Elston-Ellis modifikasi Bloom Richardson, setiap parameter diberi skor 1 hingga 3 poin.⁵ Derajat histologis diperoleh dari penambahan skor, dengan ketentuan sebagai berikut: 3-5, derajat 1 (baik); 6-7, derajat 2 (sedang); and 8-9, derajat 3 (buruk). Gambaran mitosis diamati menggunakan teknik IHC untuk PCNA.

Perbandingan ekspresi Sirt1 pada ketiga kelompok dianalisis dengan uji statistik *one way ANOVA*. Perbedaan ekspresi Sirt1 berdasarkan histologisnya (normal dan karsinoma) dianalisis dengan uji T. Hubungan antara ekspresi Sirt1 (cut off point 30%) dengan derajat histologis dianalisis dengan uji korelasi Spearman, sementara uji korelasi Pearson untuk menganalisis hubungan antara ekspresi Sirt1 dengan ukuran tumor maupun ekspresi PCNA.

3. Hasil Penelitian

Insidensi karsinoma payudara pada kelompok tikus yang diinduksi DMBA sebesar 60%, atau sebanyak 6 ekor tikus yang dianalisa lebih lanjut, sementara 4 ekor tikus tanpa pertumbuhan nodul maupun gambaran mikroskopis karsinoma, dieksklusi dari penelitian ini. Pertumbuhan nodul maupun gambaran mikroskopis karsinoma tidak ditemukan pada kelompok 1 dan 2.



Gambar 1. Gambaran histologis payudara tikus *Sprague dawley* pada 3 kelompok penelitian (HE, 400x). A. Kelenjar payudara normal tikus kelompok 1; dan B. kelompok 2. Duktus kelenjar payudara dengan lapisan epitel kuboid simpleks (tanda panah); C. Karsinoma duktal dengan proliferasi sel yang pleomorfik (tanda panah) pada tikus kelompok 3.

Karakteristik karsinoma payudara pada tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA menunjukkan masa latensi dengan rerata 6,4 minggu, dan jumlah nodul sebanyak 1 hingga 2 per tikus. Ukuran nodul bervariasi dari volume terkecil 60 mm³ hingga terbesar 18.790 mm³ (Tabel 1). Penentuan histologis kelenjar payudara dengan pengecatan hematoxilin eosin menunjukkan gambaran histologis kelenjar yang normal pada kelompok 1 dan 2; serta karsinoma duktal pada tikus kelompok 3 (Gambar 1).

Hasil statistik pada tabel 2 menunjukkan perbedaan ekspresi Sirt1 yang bermakna ($p=0,000$) pada ketiga kelompok penelitian, dan ekspresi Sirt1 pada kelompok 3 berbeda dengan dua kelompok lainnya, yaitu kelompok 1 dan 2 (X 29,01 vs 0,04; 0,05). Perbandingan ekspresi Sirt1 berdasarkan histologisnya, antara kelenjar payudara normal dengan karsinoma payudara tikus menunjukkan perbedaan ekspresi Sirt1 yang bermakna (X 0,05 vs 26,12; $p=0,004$). Analisis hubungan antara ekspresi Sirt1 (Gambar 2) dengan derajat histologis menunjukkan bahwa karsinoma payudara dengan ekspresi Sirt1 positif lebih banyak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis buruk, dan tidak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis baik (Tabel 3). Namun demikian, perhitungan analisis statistik mengenai hubungan antara ekspresi Sirt1, baik positif maupun negatif, dengan derajat histologis tidak menunjukkan korelasi yang bermakna ($p=0,097$; $r=0,285$).

Uji statistik Pearson menunjukkan hubungan positif yang bermakna antara ekspresi Sirt1 dengan ukuran tumor ($p=0,009$; $r=0,877$); dan ekspresi PCNA ($p=0,000$; $r=0,790$).

Tabel 1. Karakteristik karsinoma payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA

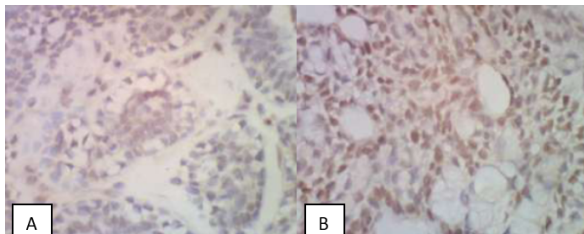
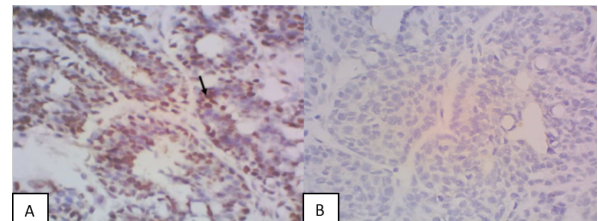
Tikus	Karakteristik karsinoma payudara			
	Jumlah Nodul	Latensi (Minggu ke-)	Ukuran (mm ³)	Tipe histologis
		(%)	(%)	(%)
1	2	4	18.790	Karsinoma
		6	1.200	Karsinoma
2	1	7	210	Karsinoma
3	1	6	1.060	Karsinoma
4	1	6	1.550	Karsinoma
5	1	6	1.980	Karsinoma
6	1	10	60	Karsinoma

Tabel 2. Perbandingan ekspresi Sirt1 dan histologis kelenjar payudara pada ketiga kelompok penelitian

Tikus	Kelompok 1		Kelompok 2		Kelompok 3	
	Ekspresi Sirt1(%)	Histologis)	Ekspresi Sirt1(%)	Histologis)	Ekspresi Sirt1(%)	Histologis)
1	0.00	Normal	0.00	Normal	36.185	Karsinoma
2	0.00	Normal	0.03	Normal	24.93	Karsinoma
3	0.16	Normal	0.05	Normal	25.75	Karsinoma
4	0.10	Normal	0.19	Normal	27.90	Karsinoma
5	0.00	Normal	0.08	Normal	32.71	Karsinoma
6	0.02	Normal	0.00	Normal	9,27	Karsinoma

Tabel 3. Korelasi antara ekspresi Sirt1 dengan derajat histologis pada karsinoma payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA

Ekspresi Sirt1	Derajat Histologis			Total
	1	2	3	
Positif (≥30%)	0 (0%)	7 (43,7%)	9 (56,3%)	16
Negatif (<30%)	2 (10,5%)	11 (57,9%)	6 (31,6%)	19
Total	2	18	15	35
p 0,097; r 0,285				

**Gambar 2.** Ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA (400x). A. Ekspresi Sirt1 negatif; B. Ekspresi Sirt1 positif**Gambar 3.** Ekspresi PCNA pada karsinoma payudara tikus *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA (400x). A. Ekspresi PCNA diperoleh dengan menghitung perbandingan jumlah sel imunopositif PCNA (tanda panah) dengan jumlah sel total per lapang pandang. B. Kontrol negatif

4. Pembahasan

Ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara dapat memberikan gambaran mengenai peran Sirt1 dalam karsinogenesis karsinoma payudara. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi Sirt1 pada karsinoma payudara tikus jauh lebih tinggi dari ekspresinya di kelenjar payudara normal (26,12 vs 0,05; $p = 0,004$). Hal tersebut menunjukkan peran Sirt1 pada karsinoma payudara hewan model eksperimental ini adalah sebagai pemicu (promoter) pertumbuhan kanker. Fakta ini diperkuat oleh adanya korelasi positif yang bermakna antara ukuran nodul serta marker proliferasi PCNA dengan ekspresi

Sirt1, dimana pertambahan variabel ukuran nodul dan ekspresi PCNA berbanding lurus dengan pertambahan ekspresi Sirt1 ($p = 0,009$; $p = 0,000$).

Lebih tingginya ekspresi Sirt1 pada jaringan kanker dibandingkan jaringan normal juga telah dibuktikan oleh beberapa penelitian sebelumnya, baik pada karsinoma payudara, maupun jenis kanker yang lain seperti kanker prostat dan kolon.⁶⁻⁸ Mekanisme Sirt1 dalam memicu pertumbuhan karsinoma payudara dapat dijelaskan melalui reaksi deasetilasi Sirt1 terhadap berbagai target substrat yang merupakan protein pro-apoptosis, diantaranya p53, E2F1, Foxo, RB, dan Ku70.

Deasetilasi p53 oleh Sirt1 mampu mencegah apoptosis sel yang disebabkan oleh stress dan kerusakan DNA.^{9;10} Target substrat lain, E2F1, merupakan faktor transkripsi yang berperan dalam regulasi siklus sel selama fase transisi G0/G1-S, serta pada proses apoptosis sel (p53-dependent), sehingga deasetilasi E2F1 oleh Sirt1 dapat menghambat apoptosis serta diferensiasi sel.¹¹ Aktivitas deasetilasi Sirt1 terhadap Foxo, menyebabkan inaktivasi faktor transkripsi yang berperan dalam regulasi pertumbuhan sel dan proliferasi tersebut.^{12 13}

Peran Sirt1 dalam mendeasetilasi RB dapat memicu progresi siklus sel. RB (Retinoblastoma) berinteraksi dengan faktor transkripsi E2F dalam regulasi siklus sel. RB menjadi aktif jika dalam keadaan hipofosforilasi dan terasetilasi. Dengan demikian aktivitas deasetilasi Sirt1 menyebabkan inaktivasi RB, sehingga faktor transkripsi E2F menjadi aktif dalam proses transkripsi gen-gen fase S, dan siklus sel terus berlanjut.¹⁴

Penelitian oleh Jeong et al., membuktikan bahwa Sirt1 mampu meregulasi aktivitas reparasi DNA. Kerusakan DNA akibat proses radiasi, akan memicu terjadinya apoptosis sel (Bax-mediated). Namun dengan kemampuan Sirt1 dalam membentuk kompleks dan mendeasetilasi protein Ku70, maka terjadi peningkatan reparasi DNA serta *cell survival*.¹⁵

Protein pro-apoptosis diatas hanya sebagian dari target substrat yang menjadi inaktif akibat proses deasetilasi oleh protein Sirt1. Hal tersebut menjelaskan peran Sirt1 dalam karsinogenesis karsinoma payudara, yaitu sebagai pemicu pertumbuhan karsinoma yang ditandai dengan peningkatan ekspresinya di jaringan karsinoma payudara dibandingkan kelenjar normal. Ekspresi Sirt1 juga dipengaruhi oleh beberapa faktor yang berperan dalam regulasinya. Faktor tersebut merupakan beberapa protein yang mampu memodulasi ekspresi dan fungsi Sirt1, seperti E2F1, c-MYC, HIC1, dan Foxo 3a pada level transkripsi^{16;17} HuR pada level post-transkripsi,¹⁸ dan DBC1 pada level post-translasi.^{19;20}

Regulasi ekspresi Sirt1 pada level transkripsi dipengaruhi oleh beberapa protein, seperti E2F1, c-MYC, HIC1, dan Foxo 3a. Protein E2F1 dan c-MYC dapat berikatan dengan promotor Sirt1 dan menginduksi ekspresi gen Sirt1. Pada proses transformasi onkogenik, seringkali terjadi deregulasi dan overekspresi E2F1 dan c-MYC, akibatnya terjadi peningkatan ekspresi Sirt1, seperti yang tampak pada penelitian ini dan beberapa jaringan kanker.¹¹ Sementara itu, Foxo 3a mampu menginduksi peningkatan kadar mRNA Sirt1 dan kadar protein Sirt1 hingga 4 kali lipat. Delesi Foxo 3a menyebabkan penurunan kadar Sirt1.¹⁷

Lain halnya dengan HIC1 (Hypermethylated in Cancer 1), adanya kerusakan DNA akan memicu interaksi antara HIC1 dengan promotor *Sirt1*. Interaksi ini menghambat transkripsi *Sirt1*, akibatnya p53 menjadi terasetilasi dan stabil, untuk kemudian menginduksi proses apoptosis.¹⁶ *Silencing HIC1* karena modifikasi epigenetik (hipermetilasi), menyebabkan terjadinya *up-regulation* ekspresi Sirt1 dan deasetilasi p53. Sehingga adanya kerusakan DNA tidak disertai dengan kematian

sel, melainkan Sirt1 dalam hal ini memicu *survival* sel dan meningkatkan resiko transformasi.

Regulasi ekspresi Sirt1 pada level post-transkripsi, dipengaruhi oleh HuR, protein pengikat mRNA Sirt1, yang berfungsi menstabilkan transkrip sehingga ekspresi protein Sirt1 meningkat.¹⁸ Pada kondisi stres oksidatif, HuR terfosforilasi oleh CHK2, sehingga ikatannya dengan Sirt1 mengalami disosiasi, diikuti dengan degradasi mRNA Sirt1 dan penurunan ekspresinya. Regulasi ekspresi Sirt1 pada level post-translasi antara lain dipengaruhi oleh protein DBC1 (Deleted in Breast Cancer-1). Interaksinya dengan katalitik domain dari protein Sirt1 mampu menghambat aktivitas deasetilasi protein ini.^{19;20}

Analisis hubungan antara ekspresi Sirt1 dengan derajat histologis menunjukkan bahwa karsinoma payudara dengan ekspresi Sirt1 positif lebih banyak dijumpai pada jaringan karsinoma payudara dengan derajat histologis buruk, dan tidak dijumpai pada karsinoma payudara dengan derajat histologis baik. Namun demikian, perhitungan analisis statistik mengenai hubungan antara ekspresi Sirt1, baik positif maupun negatif, dengan derajat histologis tidak menunjukkan korelasi yang bermakna ($p = 0,097$; $r = 0,285$). Tidak bermaknanya hubungan ini secara statistik, mungkin disebabkan oleh jumlah sampel yang sedikit (35 slide preparat dari 6 tikus), serta distribusi kasus yang tidak merata (2 slide derajat 1; 18 slide derajat 2; dan 15 slide derajat 3).

Peningkatan ekspresi Sirt1 akan meningkatkan aktivitas deasetilasi Sirt1 terhadap beberapa protein pro apoptosis, seperti E2F1, RB, p53, dan Foxo. Hal ini menyebabkan pertumbuhan karsinoma payudara yang semakin progresif, ditandai dengan berkurangnya jumlah struktur tubulus dengan luminal yang jelas (formasi tubulus), akibat desakan sel-sel karsinoma yang terus berproliferasi, serta tingginya parameter aktivitas mitosis pada penilaian derajat histologis.

Korelasi positif ditemukan antara ekspresi Sirt1 dengan ukuran tumor, dan ekspresi PCNA. Aktivitas deasetilasi Sirt1 terhadap berbagai protein pro apoptosis, seperti dikemukakan di atas, diduga menjadi penyebab hiperaktivasi sinyal proliferasi, ditandai dengan peningkatan ekspresi PCNA dan ukuran tumor seiring dengan peningkatan ekspresi Sirt1 pada hewan model eksperimental ini.

5. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian ini, yaitu Sirt1 berperan sebagai pemicu pertumbuhan karsinoma, ditandai dengan lebih tingginya ekspresi Sirt1 di jaringan kanker payudara daripada jaringan kelenjar payudara normal tikus. Hal ini didukung oleh peningkatan ukuran tumor, dan ekspresi PCNA seiring dengan peningkatan ekspresi Sirt1. Namun demikian, perlu dilakukan konfirmasi lebih lanjut dengan melihat ekspresi target substrat yang terdeasetilasi serta protein regulator Sirt1 pada jaringan tersebut.

6. Ucapan Terimakasih

Penelitian ini didanai oleh proyek HPEQ dan LPDP.

Daftar Pustaka

1. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer: College of American Pathologists consensus statement 1999. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2000;124(7):966–978.
2. Schonborn MMEK Minguiillon C. 3. In: PCNA as potential prognostic marker. *Breast*; 1994. p. 97–102.
3. Meiyanto E, Tasminatun S, Susilowati S, Murwanti R. Penghambatan karsinogenesis kanker payudara tikus terinduksi DMBA pada fase post inisiasi oleh ekstrak etanolik daun *Gynura procumbens* (Lour), Merr. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2007;.
4. Lee H, Kim KR, Noh SJ, Park HS, Kwon KS, Park BH, et al. Expression of DBC1 and SIRT1 is associated with poor prognosis for breast carcinoma. *Human pathology*. 2011;42(2):204–213.
5. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology*. 1991;19(5):403–410.
6. Huffman DM, Grizzle WE, Bamman MM, Kim Js, Eltoum IA, Elgavish A, et al. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer research*. 2007;67(14):6612–6618.
7. Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, et al. The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PloS one*. 2008;3(4):e2020.
8. Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annual review of pathology*. 2010;5:253.
9. Luo J, Nikolaev AY, Imai Si, Chen D, Su F, Shiloh A, et al. Negative control of p53 by Sir2 α promotes cell survival under stress. *Cell*. 2001;107(2):137–148.
10. Vaziri H, Dessain SK, Eaton EN, Imai SI, Frye RA, Pandita TK, et al. hSIR2SIRT1 functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*. 2001;107(2):149–159.
11. Wang C, Chen L, Hou X, Li Z, Kabra N, Ma Y, et al. Interactions between E2F1 and SirT1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nature cell biology*. 2006;8(9):1025–1031.
12. Zou Y, Tsai WB, Cheng CJ, Hsu C, Chung YM, Li PC, et al. Forkhead box transcription factor FOXO3a suppresses estrogen-dependent breast cancer cell proliferation and tumorigenesis. *Breast Cancer Research*. 2008;10(1):1–13.
13. Motta MC, Divecha N, Lemieux M, Kamel C, Chen D, Gu W, et al. Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors. *Cell*. 2004;116(4):551–563.
14. Wong S, Weber JD. Deacetylation of the retinoblastoma tumour suppressor protein by SIRT1. *Biochemical Journal*. 2007;407(3):451–460.
15. Jeong J, Juhn K, Lee H, Kim S, Min B, Lee K, et al. SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Experimental and Molecular Medicine*. 2007;39(1):8.
16. Chen WY, Wang DH, Yen RC, Luo J, Gu W, Baylin SB. Tumor suppressor HIC1 directly regulates SIRT1 to modulate p53-dependent DNA-damage responses. *Cell*. 2005;123(3):437–448.
17. Nemoto S, Fergusson MM, Finkel T. Nutrient availability regulates SIRT1 through a forkhead-dependent pathway. *Science*. 2004;306(5704):2105–2108.
18. Abdelmohsen K, Pullmann R, Lal A, Kim HH, Galban S, Yang X, et al. Phosphorylation of HuR by Chk2 regulates SIRT1 expression. *Molecular cell*. 2007;25(4):543–557.
19. Kim JE, Chen J, Lou Z. DBC1 is a negative regulator of SIRT1. *Nature*. 2008;451(7178):583–586.
20. Zhao W, Kruse JP, Tang Y, Jung SY, Qin J, Gu W. Negative regulation of the deacetylase SIRT1 by DBC1. *Nature*. 2008;451(7178):587–590.