

## 稳定性心绞痛患者 SIRT1 表达与氧化应激的相关性研究

俞建,钱琦

(南京医科大学第二附属医院心内科,江苏 南京 210011)

**[摘要]** 目的:检测冠心病稳定性心绞痛患者外周血单个核细胞(PBMC)中沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)蛋白表达和血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平,探讨 SIRT-1 和氧化应激的相关性。方法:选择稳定性心绞痛患者 25 例,并与 20 名健康者(对照组)做比较。采用 Western blot 法检测 PBMC 中 SIRT1 蛋白表达和血清 MDA、SOD 水平,分析 SIRT1 蛋白表达和氧化应激相关性。结果:与对照组相比,稳定性心绞痛患者 PBMC 中 SIRT1 蛋白表达显著降低( $P<0.05$ );血清 MDA 升高,SOD 降低( $P$ 均 $<0.05$ );Pearson 直线相关法分析稳定性心绞痛患者的 SIRT1 蛋白表达水平与血清 MDA 呈显著负相关( $r=-0.539, P<0.05$ ),与 SOD 呈正相关( $r=0.630, P<0.05$ )。结论:冠心病稳定性心绞痛患者 SIRT1 蛋白表达水平降低,与血清 MDA 呈负相关,与 SOD 呈正相关,提示 SIRT1 与稳定性心绞痛患者机体内氧化应激关系密切。

**[关键词]** 稳定性心绞痛;SIRT1;氧化应激

**[中图分类号]** R541.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)05-0637-02

**doi:**10.7655/NYDXBNS20170526

稳定性心绞痛是一种心肌暂时的供氧和需氧不平衡所引起的临床综合征,氧化应激是其重要的发病机制之一。沉默信息调节因子 2 相关酶 1(SIRT1)是一种重要的抗炎和抗氧化应激蛋白,与机体的氧化应激关系密切<sup>[1]</sup>。本实验观察了稳定性心绞痛外周血单个核细胞(PBMC)中 SIRT1 蛋白表达与氧化应激的变化,探讨 SIRT1 蛋白表达与机体氧化应激的相关性。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

选择 2015 年 1 月—12 月在本院门诊诊治的稳定性心绞痛患者 25 例,既往冠脉造影提示冠脉狭窄 $\geq 50\%$ 。年龄 56~75 岁,平均(64.1 $\pm$ 5.2)岁。同时设本院门诊诊治的正常对照组 20 例,既往冠脉造影提示冠脉未见狭窄,年龄 54~74 岁,平均年龄(65.6 $\pm$ 5.3)岁,为健康人群。两组之间的年龄、病程等差异无统计学意义( $P>0.05$ )。排除标准:严重肾功能不全、感染性疾病、恶性肿瘤等。所有研究对象均被告知实验内容并征得患者及家属的知情同意。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 PBMC 中 SIRT1 蛋白表达

清晨患者空腹抽取静脉血 8 mL,加入淋巴细胞分离液,分离 PBMC,提取细胞中总蛋白使用全蛋白提取试剂盒,BCA 法测蛋白浓度,Western blot 蛋白

印迹法检测 PBMC 中 SIRT1 蛋白的表达水平,以  $\beta$ -actin 作为内参,10%SDS-PAGE 凝胶电泳,电转印将蛋白质移至 PVDF 膜上。5%脱脂奶粉封闭,加入稀释度为 1:1 000 的抗 SIRT1 单克隆抗体(Abcam 公司,美国)4 $^{\circ}$ C 过夜,后加入二抗常温下孵育 90 min。使用 TBST 洗涤,及 ECL 发光显影,Bio-Rad Quantity One 软件分析数据。

##### 1.2.2 血清氧化应激指标检测

清晨患者空腹抽取静脉血 8 mL,标本以 3 000 r/min 转速离心 15 min,分离血清,-80 $^{\circ}$ C 低温冰箱保存。血清中超氧化物歧化酶(SOD)浓度使用黄嘌呤氧化法检测,血清丙二醛(MDA)水平使用硫代巴比妥比色法检测,南京建成生物工程研究所提供以上试剂盒,按说明书进行检测。

##### 1.2.3 统计学方法

所有数据采用 SPSS18.0 软件进行统计分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。组间两两比较采用 SNK- $q$  检验,两变量间关系采用 Pearson 线性相关进行相关性分析, $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

稳定性心绞痛组患者 PBMC 中 SIRT1 蛋白表达较对照组显著降低(0.28 $\pm$ 0.09 vs. 0.49 $\pm$ 0.09, $P<0.05$ );血清 MDA 水平显著升高(3.87 $\pm$ 0.45 vs. 2.10 $\pm$ 0.39, $P<0.05$ );血清 SOD 水平显著降低

(92.48±6.73 vs. 119.67±9.41,  $P<0.05$ )。

Pearson 直线相关法分析, SIRT-1 蛋白表达水平与血清 MDA 水平呈显著负相关 ( $r=-0.539, P<0.05$ ), 与血清 SOD 水平呈正相关( $r=0.630, P<0.05$ )。

### 3 讨论

冠心病稳定性心绞痛是一种常见的心血管疾病, 是引起广泛关注的健康问题之一。SIRT1 是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性的组蛋白去乙酰化酶, 具有抗炎、抗氧化应激等特性, 位于心脏组织细胞的细胞核<sup>[2]</sup>。

氧化/抗氧化系统失衡是稳定性心绞痛重要的发病机制之一, 氧化应激产物通过影响血管内皮细胞的功能, 促进血管平滑肌细胞的增殖和迁移、诱导血管内皮细胞的凋亡等多方面, 对动脉血管壁细胞造成损伤, 导致冠脉内特异性炎症以及临床症状加重<sup>[3]</sup>。MDA 含量的高低反映体内自由基氧化损伤的程度, SOD 是唯一具有抗超氧化物自由基活性的蛋白酶超家族成员, 是维持体内氧化/抗氧化平衡的抗氧化酶之一<sup>[4]</sup>。既往研究急性冠脉综合征(ACS)患者外周血抗氧化因子 SOD 的活性降低, 考虑 ACS 患者由于动脉粥样硬化斑块的破裂, 伴有表面血栓形成, 在血管内皮细胞功能紊乱、组织缺血缺氧等各种因素下, 血管内皮细胞损伤加重, 炎症细胞的黏附、激活, 使机体处于急性炎症的氧化应激状态, ACS 患者组 SOD 的活性低于稳定性心绞痛组<sup>[5]</sup>。在本研究中, 稳定性心绞痛患者与正常对照组相比血浆 MDA 水平升高, SOD 水平降低, 本研究结果说明稳定性心绞痛患者机体内氧化/抗氧化系统失衡明显。本研究未做与 ACS 患者氧化/抗氧化系统失衡研究的比较, 稳定性心绞痛与 ACS 患者机体内氧化/抗氧化系统失衡水平的比较还需要进一步的深入研究。

SIRT1 通过去乙酰化作用于核因子 (NF)- $\kappa$ B 亚单位 RelA/p65, 抑制 NF- $\kappa$ B 与核内炎症基因的结合, 发挥抗氧化应激、抗炎及调节细胞免疫等功能<sup>[6]</sup>。同时研究表明, SIRT1 能够去乙酰化多种基因如 eNOS、P53、NF- $\kappa$ B、FOXO 家族、PPAR- $\gamma$ 、PGC-1 $\alpha$  等, SIRT1 通过多种途径对冠心病产生保护作用<sup>[7-8]</sup>。在心力衰竭患者外周血白细胞中 SIRT1 表达与机

体的氧化应激水平密切相关<sup>[9]</sup>。在本研究中稳定性心绞痛患者 PBMC 中 SIRT1 蛋白表达与正常对照组相比明显降低, 提示 SIRT1 表达下降可能与稳定性心绞痛有一定联系。此外, Pearson 直线相关法分析显示稳定性心绞痛患者 PBMC 中 SIRT-1 蛋白表达水平与患者血清 MDA 呈显著负相关, 与血清 SOD 呈中度正相关, 说明 SIRT1 蛋白表达与稳定性心绞痛患者机体氧化应激状态密切相关, SIRT1 作为稳定性心绞痛发病机制中氧化应激相关的新指标值得进一步关注。

### [参考文献]

- [1] Salminen A, Kaamiranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: Impact on the aging process[J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(2):3834-3859
- [2] Finkel T, Deng CX, Mostoslavsky R. Recent progress in the biology and physiology of sirtuins [J]. *Nature*, 2009, 460(7255):587-591
- [3] Migdal C, Serres M. Reactive oxygenspecies and oxidative stress[J]. *MedSci(Paris)*, 2011, 27(4):405-412
- [4] Tousoulis D, Psaltopoulou T, Androulakis E, et al. Oxidative stress and early atherosclerosis: novel antioxidant treatment [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2015, 29(1):75-88
- [5] 叶胜汤, 圣兴. 氧化应激对不同类型冠心病的影响及其因素分析 [J]. *实用医学杂志*, 2015, 31(24):4151-4152.
- [6] Balistreri CR, Candore G, Accardi G, et al. NF- $\kappa$ B pathway activators as potential ageing biomarkers: targets for new therapeutic strategies [J]. *Immun Ageing*, 2013, 10(1):24
- [7] Zhao ZC, Wang SH, Yan CS, et al. Targeting cardiovascular disease with novel SIRT1 pathways [J]. *Future Cardiol*, 2012, 8(1):89-100
- [8] Sundaresan NR, Pillai VB, Gupta MP. Emerging roles of SIRT1 deacetylase in regulating cardiomyocyte survival and hypertrophy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(4):614-618
- [9] Akkafa F, Halil Altiparmak I, Erkus ME, et al. Reduced SIRT1 expression correlates with enhanced oxidative stress in compensated and decompensated heart failure [J]. *Redox Biol*, 2015, 6:169-173

[收稿日期] 2016-11-23