

نقش استرس اکسیداتیو بر بیولوژی سرطان

خلاصه

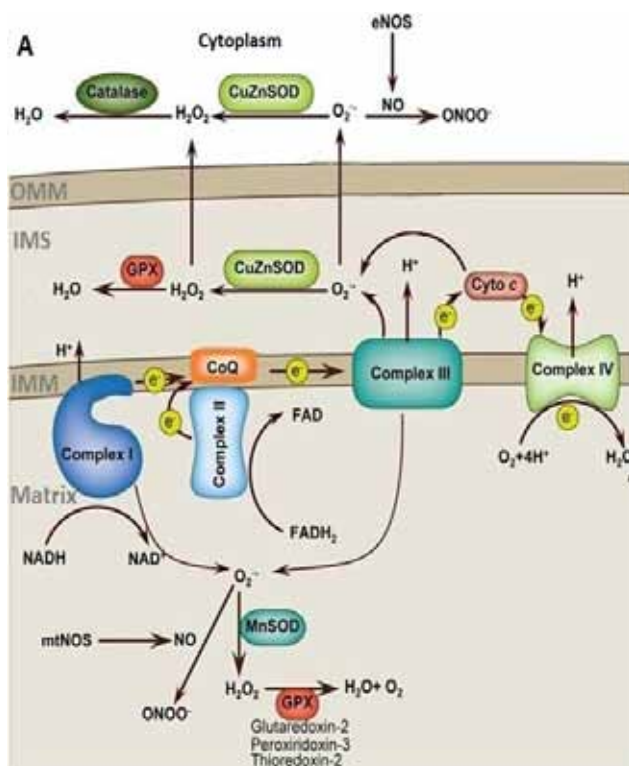
رادیکال‌های آزاد اکسیژندار (ROS) و رادیکال‌های آزاد نیتروژندار (RNS)، به‌عنوان محصولات جانبی متابولیسم به‌طور مداوم در سیستم‌های بیولوژیکی تولید و منجر به آسیب DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها می‌شوند. مطالعات اخیر حاکی از نقش ROS در واکنش‌های آنزیمی، انتقال پیام و فعال‌شدن عوامل نسخه‌برداری هسته‌ای می‌باشد. زنجیره انتقال الکترون میتوکندری، NADPH اکسیداز موجود در غشاء سلول‌های فاگوسیت‌کننده، سیتوکروم P₄₅₀ مونواکسیژناز شبکه آندوپلاسمی، گزانتین اکسیداز، واکنش فنتون و هابر-ویس مسئول تولید ROS در سیستم‌های سلولی می‌باشند. ROS عملکرد پروتئین‌ها را از طریق تنظیم پروتئین‌های حساس به اکسیداسیون - احیا، بیان ژن، پروتئین‌های اتصال حساس به اکسیداسیون احیا، آنزیم‌های تغییر-دهنده حساس به اکسیداسیون - احیا و تنظیم ترن‌اور پروتئین تغییر می‌دهد. سلول‌های سرطانی به‌دلیل شرایط هیپوکسی، جهش ژن‌های هسته‌ای و میتوکندریایی، فعال‌شدن انکوژن‌ها و ازدست‌رفتن ژن‌های سرکوبگر تومور، نسبت به سلول‌های نرمال ROS بیشتری تولید می‌کنند. در سلول‌های سرطانی، سطح پایین تا متوسط ROS برای نمو، تمایز و بقاء سلولی ضروری می‌باشد ولی در سطوح بالا منجر به مرگ سلولی می‌شود. شواهد اخیر حاکی از نقش ROS به‌عنوان پیام‌رسان در تهاجم سلول‌های توموری، رگ‌زایی و متاستاز می‌باشد. این مقاله مروری بر منابع تولید رادیکال‌های آزاد، پیامدهای افزایش ROS در سلول‌ها و نقش آن در عملکرد سلول‌های سرطانی تأکید دارد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، سرطان، NADPH اکسیداز، انکوژن

زهرا محمدی آبگرمی^۱
سعید آبرون^۲
عباس صاحب‌قدم لطفی^۱
مسعود سلیمانی^۲
شهلا محمد گنجی^۳
پروانه بکتاش^۳

۱. گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲. گروه هماتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

نویسنده مسئول: سعید آبرون، تلفن: ۰۲۱۸۲۸۸۴۵۶۳
پست الکترونیک: abroun@modares.ac.ir



تصویر A: تولید ROS در کمپلکس شماره I و III زنجیره انتقال الکترون و مکانیزم های دفاع آنتی اکسیدانی. eNOS، نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیالی؛ mtNOS، نیتریک اکسید سنتاز میتوکندریایی؛ GPX، گلوکوتاتیون پراکسیداز؛ OMM، غشا خارجی میتوکندری؛ IMS، فضای بین دو غشاء؛ IMM، غشاء داخلی میتوکندری (Tang X et al, Frontiers in physiology ۲۰۱۴)

منبع دیگر ROS آنزیم های اکسیژناز می باشند که با انتقال اکسیژن مولکولی به سوبسترا باعث اکسایش آن می شوند. مونواکسیژنازها یا اکسیدازهای با عملکرد مختلط، آنزیم هایی هستند که یکی از اتم های اکسیژن مولکولی را به سوبسترا منتقل و اتم دیگر را به صورت آب احیاء می کنند. مهم ترین مونواکسیژناز، سیتوکروم P₄₅₀ اکسیداز موجود در غشاء شبکه اندوپلاسمی می باشد که با هیدروکسیله کردن دسته وسیعی از مولکول های اندوژن و اگزوژن باعث سم زدایی آن ها می گردد و ضمن این فرآیندها رادیکال های آزادی مانند سوپراکساید نیز تولید می شود [۱۰ و ۱۱]. دی اکسیژنازها یا اکسیژن ترانسفرازها دسته دیگری از اکسیژنازها هستند که هر دو اتم اکسیژن مولکولی را به یک ترکیب آلی اضافه و ترکیبات هیدروکسی پراکسید تولید می کنند. علاوه بر میتوکندری برخی اندامک های تنفسی مانند پراکسیزوم ها نیز به واسطه دارابودن آنزیم گزانتین اکسیداز (XOD) موجود در غشاء و ماتریکس، آنیون سوپراکساید و پراکسید هیدروژن تولید می کنند. این آنزیم یک دهیدروژناز می باشد و هیدروژن را از گزانتین و هیپوگزانتین به DAN⁺ منتقل و NADH تولید می کند [۱۲ و ۱۳].

منبع اندوژن دیگر ROS، کمپلکس آنزیمی موجود در غشاء سلول های

مقدمه

رادیکال آزاد حاصل شکستگی نابرابر پیوندهای یک مولکول پایدار می باشد و خود اتم یا یونی است که دارای یک یا چند الکترون جفت نشده باشد [۱]. رادیکال های آزاد در پاتوژن انواع بیماری ها از قبیل سرطان، بیماری های نروژنراتیو، دیابت، پیری و ... نقش مهمی دارند [۲]. این ترکیبات به انواع مولکول های بیولوژیک حمله می کنند و باعث تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی آن ها می شوند [۳]. اغلب تصور بر این است که گونه های رادیکالی مشتق از اکسیژن گروهی از مولکول ها را تشکیل می دهند که به سلول ها، بافت ها و ارگانیزم ها آسیب می رسانند، با این حال تحقیقات دو دهه اخیر حاکی از نقش آن ها به عنوان پیامبر ثانویه در مسیرهای پیام رسانی سلولی می باشد. این گونه ها در متابولیسم و عملکردهای سلولی، القاء آپوپتوز، القاء ژن های دفاع میزبانی، فعالیت سیستم های انتقال یون، فراخوانی پلاکت ها به محل زخم و انواع پاسخ های التهابی نقش مهمی دارند و عمدتاً به دو صورت رادیکال های آزاد مشتق از اکسیژن (ROS) ^۱ و مشتق از نیتروژن (RNS) ^۲ تقسیم بندی می شوند [۴].

رادیکال های آزاد مهمی که در فرآیند ایجاد بیماری نقش دارند، گونه های مشتق از اکسیژن مولکولی می باشند که شامل رادیکال های سوپراکساید ($O_2^{\cdot -}$)، هیدروکسیل ($\cdot OH$)، پراکسیل ($RO_2^{\cdot}$)، الکوکیل ($RO^{\cdot}$) و هیدروپراکسیل ($HO_2^{\cdot}$) می باشند. برخی مولکول ها مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اسید هیپوکلرو ($HOCl^-$) و اکسیژن منفرد (O_2^1) با اینکه از لحاظ شیمیایی رادیکال آزاد نیستند ولی عملکرد آن ها همانند رادیکال های آزاد می باشد. در کل، به رادیکال های آزاد مشتق از اکسیژن و همچنین ترکیبات غیررادیکالی مشتق از آن اصطلاحاً گونه های فعال اکسیژن گفته می شود. مهم ترین گونه های فعال نیتروژن شامل رادیکال نیتریک اکساید ($NO^{\cdot}$) و پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) می باشند [۵].

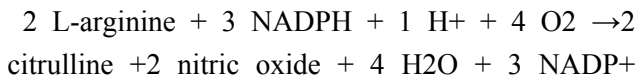
منابع اندوژن و اگزوژن رادیکال های آزاد

میتوکندری مهم ترین منبع تولید ROS می باشد [۶-۸]. ROS به عنوان محصول جانبی فرآیند فسفریلاسیون اکسیداتیو در کمپلکس I ($NADH$ - کوآنزیم Q) و III (کوآنزیم QH₂ سیتوکروم C ردوکتاز) زنجیره انتقال الکترون تولید و به فضای بین دو غشاء میتوکندری و یا ماتریکس میتوکندری آزاد می شود [۹]. منافذ انتقالی نفوذپذیری میتوکندری (mPTP) ^۳ و غشاء بیرونی میتوکندری باعث نشت سوپراکساید به سیتوپلاسم می شود. آنیون سوپراکساید در ماتریکس میتوکندری به وسیله $mnSOD$ و در سیتوپلاسم و فضای بین دو غشاء میتوکندری به وسیله $Cu/ZnSOD$ دیسموته می گردد و پراکسید هیدروژن تولید می شود (تصویر ۱-ا) [۴].

۱. Reactive Oxygen species

۲. Reactive Nitrogen species

۳. Mitochondrial Permeability Transition pore



حضور فلزات فعال از قبیل کاتیون‌های آهن دو - سه ظرفیتی و مس نیز در تولید ROS اهمیت به‌سزایی دارد. طی واکنش فنتون و هابر-ویس، تحت تأثیر پراکسید هیدروژن، یون‌های آهن احیاء می‌گردند و رادیکال هیدروکسیل فعال تولید می‌شود [۲۰].

مرحله اول	$\text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^- \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2$
مرحله دوم واکنش فنتون	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \text{OH}^*$
واکنش کلی واکنش هابر ویس	$\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{OH}^* + \text{OH}^- + \text{O}_2$

عوامل خارجی نیز در تولید ROS دخالت دارند. اشعه‌های یونیزاسیون با تأثیر بر مولکول آب ترکیبات فعالی مانند رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و آنیون سوپراکساید تولید می‌کنند. برخی از عوامل محیطی مانند برخی داروها، الکل، سموم شیمیایی، سیگار و برخی مشتقات اکسیژن مثل هیپرباریک اکسیژن از سایر عوامل تولیدکننده ROS هستند [۲۱ و ۲۲].

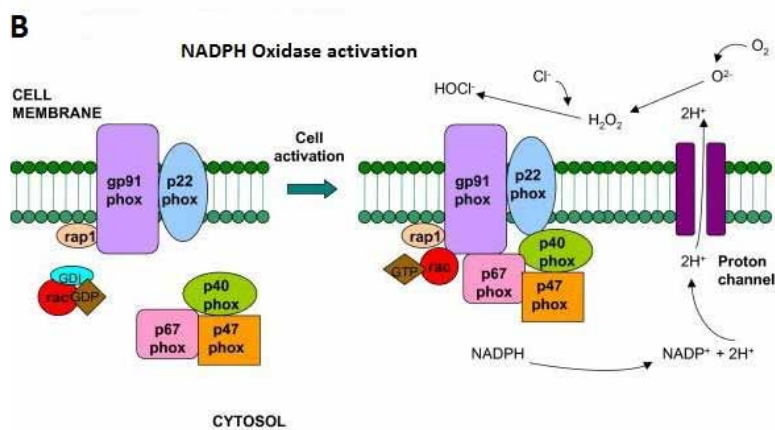
تولید رادیکال‌های آزاد در سلول‌های سرطانی

شواهد متعدد حاکی از آن است که سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال ROS بیشتری تولید می‌کنند و در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارند [۲۳]. از جمله این شواهد می‌توان به افزایش محصولات حاصل از واکنش‌های با واسطه ROS و ردیابی آن‌ها در خون و ادرار و افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاسخ به استرس اکسیداتیو اشاره نمود [۲۴]. در سلول‌های سرطانی افزایش میزان ROS نتیجه افزایش فعالیت متابولیک، نقص عملکرد میتوکندری، فعالیت پراکسیزوم‌ها، افزایش سیگنالینگ‌های با واسطه رسپتور، فعال شدن انکوژن‌ها، افزایش فعالیت اکسیدازها، سیکلواکسیژنازها، لیپواکسیژنازها و تیمیدین فسفزیلاز می‌باشد [۲۵].

بیان ژن‌های مرتبط با ترانسفورماسیون از قبیل Ras، Bcr-Abl و C-Myc تولید ROS را القاء می‌کند. برای عملکرد توموریزیک برخی از این انکوژن‌ها ضروری می‌باشد [۲۳]. جهش‌های انکوژنیک K-Ras با تأثیر بر فعالیت مسیر پروتئین کیناز A و افزایش c-AMP میزان ROS سلولی را افزایش می‌دهد و پرولیفراسیون سلولی را تحریک می‌کند [۲۲]. افزایش بیان انکوژن C-Myc نیز باعث القاء آسیب به DNA، فعال شدن p۵۳ و افزایش سطح ROS می‌گردد [۲۵]. موتاسیون در ژن‌های

فاگوسیت‌کننده (نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها) می‌باشد. طی فرآیند انفجار تنفسی، مصرف اکسیژن در سیستم فاگوسیت‌کننده افزایش می‌یابد فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز اکسیداز اکسیژن مولکولی را به آنیون سوپراکساید تبدیل می‌کند و باعث آسیب به سلول بیگانه می‌گردد [۱۴]. آنیون سوپراکساید توسط سوپراکساید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شود که در حضور میلوپراکسیداز (MPO) موجود در فاگوزوم و یون کلر و تیروزین، ترکیباتی چون گاز کلر و یون هیپوکلریت (HClO) و رادیکال تیزوزین تولید می‌گردد که یکی از عوامل مهم دیگر در آسیب به ارگانیزم بیگانه می‌باشد. آنیون سوپراکساید تولیدشده توسط آنزیم NADPH اکسیداز در pH های پایین وزیکول‌های آندوسیتوزی، پروتونه‌شده و رادیکال هیدروکسیل فعال تر را ایجاد می‌کند. آنیون سوپراکساید به نقاط دیگر منتشر می‌شود و با نیتریک اکساید تولیدشده توسط ماکروفاژها واکنش می‌دهد و گونه‌های واکنش‌پذیرتر دیگری مانند پراکسی نیتريت را تولید می‌کند (تصویر ۱-b) [۱۵-۱۷].

نیتریک اکسید (NO)، رادیکال بسیار واکنش‌پذیر دیگری می‌باشد که به‌عنوان یک سیگنال بیولوژیک مهم در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل اتساع ماهیچه صاف عروق، انتقال نورونی، تنظیم ایمنی و ترشح انسولین نقش دارد. آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS) در یک واکنش اکسیداتیو، مسئول تولید NO از اسیدآمینه آرژنین می‌باشد. این آنزیم در سلول‌های مختلف حضور دارد ولی در ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها فعال تر می‌باشد [۱۸ و ۱۹].



(B) عمل آنزیم NADPH oxidase یا Nox در ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن جهت از بین بردن پاتوژن (توضیح در متن) این آنزیم به‌صورت کمپلکس آنزیمی می‌باشد و از زیر واحدهای سیتوزولی (p۲۲phox، p۴۷phox، p۶۷phox، p۴۰phox، rap1/۲) و ترانس‌ممبران (gp۹۱phox) تشکیل شده است. (Assari T, Medical immunology ۲۰۰۶)

۴. Nitric Oxide Synthases

یافته با فعال کردن NADPH اکسیداز میتوکندری، سطح سوپراکساید داخل سلولی را افزایش می‌دهند [۳۴-۳۰].

تحریکات مزمن، عفونت و التهاب عامل بروز بسیاری از سرطان‌ها می‌باشد. التهاب مرحله مهم پیشرفت تومور می‌باشد. ماکروفاژها با تحریک ترشح محرک‌های مختلفی از قبیل اینترفرون آلفا، تولید ROS در سلول‌های توموری را القا می‌کنند. تولید ROS توسط نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها مکانیسمی برای کشتن سلول‌های توموری می‌باشد. در این سلول‌ها، فعالیت سیستم NADPH اکسیداز منجر به تشکیل سوپراکساید و آسیب به سلول بیگانه می‌شود. ماکروفاژهای فعال شده نیتریک اکساید نیز تولید می‌کنند که با سوپراکساید واکنش می‌دهند و رادیکال‌های پراکسی نیتريت تولید می‌کنند که مشابه رادیکال‌های هیدروکسیل عمل می‌کنند و در آپوپتوز سلول‌های توموری مشارکت می‌کنند [۲۵].

اثرات افزایش ROS بر بیومولکول‌ها

تعادل بین تولید و حذف ROS در سلول‌ها به وسیله مکانیزم‌های آنتی اکسیدانی متعددی حفظ می‌شود. نقص عملکرد هر کدام از این مکانیزم‌ها وضعیت اکسیداسیون-احیاء سلولی را به نفع استرس اکسیداتیو تغییر می‌دهند [۳۵]. سلول‌ها به وسیله آنزیم‌ها (سوپراکساید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتیون پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز و گلوکاتیون S- ترانسفراز) و مولکول‌های آنتی اکسیدان داخل سلولی (گلوکاتیون، سلنیوم، ویتامین‌های C، E، A) از آسیب اکسیداتیو درامان می‌مانند ولی گاهی محرک‌های خارجی و تغییرات متابولیکی داخل سلول منجر به افزایش ROS و یا کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی و به هم خوردن هموستاز ردوکس می‌شود که نتیجه آن مواجهه با مقدار زیادی ROS است که قابل دتوکسیفیکه شدن توسط عوامل آنتی اکسیدان داخل سلولی نیست [۳۶]. در این شرایط ROS/RNS به‌طور برگشتناپذیر وارد ساختار ماکرومولکول‌ها می‌شوند و عملکردهای سلول را تغییر می‌دهند. در حالت کلی اثرات مضر رادیکال‌های آزاد بر روی سلول‌ها شامل آسیب DNA، اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها می‌باشد [۳۷].

لیپیدها ساختار اصلی غشاء پلاسمایی سلول‌ها را تشکیل می‌دهند و در معرض استرس اکسیداتیو قرار دارند. اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFAs) نسبت به تغییرات استرس اکسیداتیو بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون آن‌ها منجر به تشکیل آلدیدهای فعال از قبیل مالون‌دی آلدید (MDA) و ۴-هیدروکسی ۲-نوننال (HNE) می‌شود. مالون‌دی آلدید با بازهای DNA واکنش می‌دهد و جهش ژنی ایجاد می‌کند ولی HNE اغلب با پروتئین‌ها واکنش می‌دهد و منجر به تغییرات عملکردی مهم پروتئین‌های پیام‌رسان از قبیل JNK و کاسپازها می‌شود [۳۸ و ۳۹].

DNA میتوکندری (mtDNA) منجر به نقص زنجیر انتقال الکترون، نشست الکترونی و نهایتاً تولید آنیون سوپراکساید می‌شود که می‌تواند به انواع ROS تبدیل شود [۲۶].

پروتئین p53 به‌عنوان نگهبان ژنوم می‌باشد از دست رفتن عملکرد آن در ۵۰ درصد از سرطان‌های پیشرفته انسانی دیده می‌شود [۲۷]. P53 به‌عنوان یک فاکتور نسخه‌برداری در تنظیم بیان بسیاری از ژن‌های پرواکسیدان و آنتی اکسیدان نقش دارد و نقص عملکرد آن به هم خوردن هموستاز ردوکس، ایجاد استرس اکسیداتیو و نهایتاً موتاژن و رشد تومور را در پی دارد. بدین جهت به نظر می‌رسد ژن مربوطه آنتی اکسیدان‌هایی از قبیل سوپراکساید، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز به‌عنوان تومورسپرسور عمل می‌کند و نقص عملکرد آن‌ها منجر به افزایش ROS در سلول‌های سرطانی می‌شود [۲۳ و ۲۸].

مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt نقش مهمی در سرطان‌های انسانی دارد و بسیاری از اجزای این مسیر در تومورهای انسانی جهش پیدا کرده است. Akt یا پروتئین کیناز B (PKB) در اغلب سرطان‌ها دچار افزایش فعالیت می‌گردد و منجر به افزایش بقاء سلول‌های توموری و مقاومت آن‌ها به شیمی‌درمانی می‌شود. به نظر می‌رسد Akt فرآیند تولید ROS را از چند طریق القاء می‌کند اول اینکه از طریق مسیرهای سیگنالینگ ERK1/2 و Rac به‌عنوان محرک گلیکولیز عمل می‌کند و همزمان با افزایش مصرف اکسیژن، متابولیسم اکسیداتیو را در میتوکندری افزایش می‌دهد و درواقع به‌طور غیرمستقیم ROS داخل سلولی را افزایش می‌دهد. دوم اینکه Akt1,2 خود به‌طور مستقیم بسیاری از آنزیم‌های متابولیک را تنظیم می‌کند. سوم اینکه، Akt با فسفریلاسیون فاکتور نسخه برداری FOXO^۶ باعث مهار آن و تجمع ROS می‌شود. فاکتور نسخه برداری FOXO3a در نسخه برداری آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو از قبیل mnSOD و کاتالاز و ترکیب آنتی اکسیدان سستین-۳ نقش مهمی دارد [۲۹].

در سلول‌های سرطانی اثرات سوء بیولوژیکی فاکتورهای رشد و سایتوکاین‌ها از طریق افزایش ROS اعمال می‌شود. برای مثال در سلول‌های توموری، در پاسخ به اینترفرون گاما (INF- δ) و آلفا (INF- α)، پراکسید هیدروژن و نیتریک اکساید افزایش می‌یابد. فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)، انسولین، فاکتور رشد توموری بتا (TGF- β)، اینترفرون- γ (IL-1)، فاکتور نکروز دهنده تومور آلفا (TNF- α)، آنژیوتانسین و اسیدلیزوفسفاتیدیک نیز تشکیل سوپراکساید را القاء می‌کنند. فعال شدن K-ras Rho GTPase یا موتاسیون انکوژنیک آن نیز با افزایش تولید سوپراکساید و بروز سرطان‌های مختلف مرتبط می‌باشد. به نظر می‌رسد فاکتورهای رشد و K-ras جهش

۵. Protein kinase B

۶. Forkhead box protein O

از قبیل HSP , ANT^9 و $Bcl2$ به وسیله کربونیلایسون مختل می گردد و تیروزین نیتراسیون JNK^{10} , $p38MAPK$ و PKC مانع فعالیت آن ها می شود [۵۱].

۲. تنظیم رونویسی: تعدادی از فاکتورهای رونویسی در محل اتصال به DNA ، دارای ریشه های سیستم های حساس به اکسیداسیون احیاء می باشند [۵۲]. اکسیداسیون ریشه تیول پروتئین های $AP-1^{12}$, $HIF-1^{11}$ و $p53$ مانع اتصال آن ها به DNA می شود [۵۳]. آنزیم هیستون داستیلاز ($HDAC$) و برخی کوآکتیواتورهای نسخه برداری از قبیل $CBP/p300$ که فعالیت هیستون استیلازی دارند از جمله دیگر پروتئین های مهم حساس به ردوکس هستند [۵۴].

۳. تنظیم وابسته به برهمکنش پروتئین های حساس به ردوکس: بسیاری از پروتئین ها از طریق برهمکنش با سایر پروتئین ها پایدار می شوند و اغلب تنظیم کننده منفی یکدیگر می باشند. استرس اکسیداتیو با تأثیر بر پارتنرها، باعث جدا شدن آن ها از کمپلکس پروتئینی و فعال شدن آن ها می شود. از این زوج پروتئین ها می توان به $JNK-GST$ ، $ASK-TRX$ و $JNK-p53$ و $Nrf2-Keap1^{13}$ اشاره نمود [۵۵].

۴. تنظیم آنزیم های مودیفه کننده: وضعیت فسفریلاسیون برخی پروتئین ها عامل مهمی در تنظیم فعالیت آن ها و در نتیجه تعادل بین فعالیت کینازها و فسفاتازها می باشد. اکسیداسیون عامل تیول گیرنده تیروزین کینازها ($RTKs$) منجر به فعال شدن آن ها می شود در حالی که اکسیداسیون پروتئین تیروزین فسفاتازها ($PTPase$) عملکرد آن ها را مهار می کند [۵۶]. علاوه بر $PTPase$ ها، لیپیدها فسفاتاز $PTEN^{14}$ و فسفاتاز با وزن مولکولی پایین $cdc25$ نیز با روش مشابهی تنظیم می شوند [۵۷].

۵. تنظیم ترن اور پروتئین: میزان ترن اور یک پروتئین می تواند تحت تأثیر شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی باشد. بسیاری از پروتئین ها به وسیله سیستم یوبیکوئیتین- پروتئازوم تجزیه می شوند درحالی که برخی پروتئین ها، سوپسترای کاسپازها می-باشند [۵۸]. تحت تأثیر شرایط اکسیداسیون احیاء خاصی، پروتئین هایی از قبیل $Bcl2$ و $p53$ فسفریله می شوند و اتصال آن ها به $E3$ - یوبیکوئیتین لیگاز اختصاصی شان افزایش می یابد این عمل باعث تسریع تجزیه پروتئین به وسیله پروتئازوم می شود [۵۹].

تأثیر ROS بر مسیرهای پیام رسان دخیل در فرآیندهای سلولی

اخیراً نقش ROS در فرآیندهای پیام رسانی سلولی مورد توجه فراوان قرار گرفته است [۶۰]. تأثیر ROS بر مسیرهای پیام رسانی به دلیل تأثیر

اگرچه همه رزیدوهای اسیدهای آمینه پروتئین ها می توانند به وسیله ROS/RNS اکسید شوند، ولی ریشه های جانبی برخی از آن ها مستعدتر می باشند؛ لیزین، آرژنین، هیستیدین، پرولین و ترئونین به اکسیداسیون با واسطه فلز بسیار حساس هستند [۴۰ و ۴۱]. نتیجه اکسیداسیون زنجیرهای جانبی پروتئین ها مشتقات کربونیل است که به سهولت در مایعات بدن قابل ردیابی می باشند و سطح پروتئین کربونیل به عنوان مارکر کمی اکسیداسیون پروتئین ها مورد استفاده قرار می گیرد [۴۲]. رادیکال های مهمی که پروتئین ها را مورد حمله قرار می دهند شامل رادیکال های هیدروکسیل و پراکسی نیتریت می باشند. رادیکال پراکسی نیتریت باعث نیتروزیلاسیون برگشتناپذیر اسید آمینه های سیستمین، متیونین، تریپتوفان و ازدست رفتن عملکرد پروتئین می شود [۴۳]. نیتروزیلاسیون ریشه های تیروزین برخی پروتئین ها فرآیند فسفریلاسیون یا استیلایسون آن ها را مختل می کند و منجر به سوء عملکرد پروتئین می شود [۴۴].

DNA ای هسته ای در مقایسه با لیپیدها و پروتئین ها نسبت به تغییرات اکسیداتیو مقاوم تر می باشد دلیل این امر ساختار دبل هلیکس، غلاف حفاظتی هیستون و حضور سایر پروتئین ها می باشد. ولی تحت شرایط اکسیداتیو بالا ROS روی پورین ها، پیریمیدین ها و پروتئین های کروماتین تأثیر می گذارد و باعث تغییر باز، تغییر DNA و جهش ژنی می شود. رادیکال هیدروکسیل با باز گوانین DNA واکنش می دهد و ۸- هیدروکسی دزوکسی آدنوزین تولید می کند که در نهایت منجر به تغییر جفت GC به TA و جهش نقطه ای می شود. این تغییر قوی ترین شاهد در تأیید نقش استرس اکسیداتیو در فرآیند کارسینوژنز می باشد. ۸- هیدروکسی دزوکسی گوانوزین ($OHdG-8$) حاصل از اکسایش DNA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می گیرد [۴۵-۴۷].

مکانیسم عمل ROS در تنظیم فرآیندهای سلولی

۱. تغییرات اکسیداتیو مستقیم: رادیکال های هیدروکسیل و نیتریک اکساید منجر به تغییر مستقیم پروتئین ها می شوند این تغییرات جزء تغییرات پس از ترجمه پروتئین ها محسوب می شود. اسید آمینه های مختلف حساسیت های متفاوتی به تغییرات اکسیداتیو دارند اسید آمینه های حاوی سولفور (متیونین و سیستمین) بیشتر از بقیه هدف اکسیداسیون مستقیم می باشند. اکسیداسیون ملایم سیستمین باعث گلوآتیونیلایسون برگشت پذیر آن می شود [۴۸]. اینگونه تغییرات اکسیداتیو ملایم در عملکرد بسیاری از پروتئین ها همانند $p53$ ، تیوردوکسین ردوکتاز، RAS ، IKB ، Akt^{15} و پروتئین تیروزین فسفاتازها نقش مهمی دارد [۴۹]. اکسیداسیون برگشت پذیر کالمدولین برای عملکرد آن به عنوان پروتئین تنظیم کننده کلسیم ضروری می باشد [۵۰]. استرس اکسیداتیو شدید، اثرات مخرب تری به جا می گذارد، روند تشکیل اسیدسولفونیک، اسیدسولفونیک و کربونیلایسون پروتئین ها را تسریع می کند. عملکرد پروتئین هایی

۸. nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor

۹. Adenine nucleotide translocator

۱۰. c-Jun N-terminal kinases

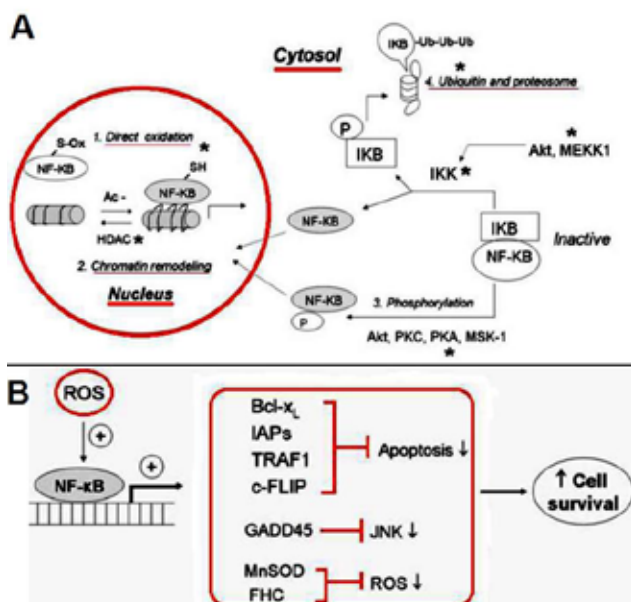
۱۱. Hypoxia-inducible factor ۱-alpha

۱۲. Activator protein ۱

۱۳. nuclear factor E۲-related factor ۲

۱۴. Phosphatase and tensin homolog

فعال می‌کند. این ژن‌ها شامل اعضاء خانواده پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک Bcl2، همولوگ غیرفعال کاسپازها (FLIP)^{۱۵}، مهارکننده‌های کاسپاز از قبیل IAPs، فاکتور مرتبط با رسپتور TNF- α (TRAF1)، آنتی اکسیدان‌هایی از قبیل MnSOD، زنجیر سنگین فریتین و Gadd45 می‌باشد که مرگ سلولی با واسطه JNK را مهار می‌کنند. I κ B فسفریله به وسیله سیستم یوبی کوئیتین-پروتئازوم تجزیه می‌شود با توجه به حساس بودن سیستم یوبی کوئیتین-پروتئازوم به شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی و تأثیر آن بر پایداری I κ B، فعالیت NF- κ B نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد (تصویر ۲) [۲۳].



تصویر ۲: تأثیر اکسیداسیون بر عملکرد NF- κ B (A) و نقش آن در بقاء سلولی (B) (توضیح در متن) Antioxid Redox Signal (Trachootham D, ۲۰۰۸)

نقش ROS در تنظیم مسیر MAPK: مسیر پروتئین‌های فعال شونده با میتوز (MAPK)^{۱۶} در رشد و تقسیم سلولی، پاسخ به استرس، آپوپتوز و کنترل بیان ژن نقش مهمی را ایفا می‌کند. مکانیسم عمل خانواده MAPK به صورت آبشاری می‌باشد بدین صورت که تحریک گیرنده فاکتور رشد (گیرنده تیزوزین کیناز) باعث فعال شدن پروتئین Ras می‌شود و سپس پروتئین‌های MAPKK، MAPKKK و MAPK به طور آبشاری و با فرآیند فسفریلاسیون فعال می‌شوند. خانواده MAPK از کیناز تنظیم‌شونده با سیگنال خارج سلولی JNK^{۱۸}، ERK1/2^{۱۷}

متفاوت بر انواع فاکتورهای نسخه‌برداری به صورت تغییرات مثبت و یا منفی می‌باشد. در حالت کلی ROS حتی در سلول‌های نرمال بسیاری از مسیرهای پیام‌رسانی دخیل در تقسیم سلولی و تمایز را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۶۱]. مخصوصاً آنیون سوپراکساید و نیتریک اکساید با DNA، پروتئین‌ها و لیپیدها واکنش می‌دهد و ساختار آن‌ها را تغییر می‌دهند که در نهایت منجر به فعال شدن و یا غیرفعال شدن برخی ژن‌ها می‌شود این تغییرات می‌تواند بخشی از فرآیند سازگاری یا پاسخ هموستاتیک باشد اما اغلب عملکردهای بافت و سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به سوء عملکرد سلولی، ترانسفورماسیون و یا مرگ سلولی می‌شود [۶۲].

گونه‌های فعال اکسیژن و بخصوص پراکسید هیدروژن در چندین آبشار انتقال پیام سلول‌های سرطانی از قبیل رشدنمو سلولی، آنژیوژنز، متاستاز، متابولیسم گلوکز، تمایز و التهاب دخال دارد و به عنوان یک عامل انکوژنیک، در شروع، توسعه، پیشرفت، تهاجم و متاستاز سرطان نقش مهمی دارند [۶۳]. پراکسید هیدروژن باعث اکسیداسیون برگشت پذیر پروتئین‌های هدفی مانند تیروزین-فسفاتازها، پروتئین تیروزین کینازها، رسپتور تیروزین کینازها و برخی فاکتورهای رونویسی می‌شود. علاوه بر این برخی از فاکتورهای نسخه‌برداری دخیل در رونویسی ژن‌ها نیز نسبت به تغییرات استرس اکسیداتیو حساس می‌باشند، عمده این فاکتورها شامل HIF-1 α ، AP-1، Nrf2، NF- κ B می‌باشند که در بقاء و مرگ سلولی نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

تنظیم اکسیداتیو مسیر NF- κ B: مسیر NF- κ B در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در تکثیر و بقاء سلولی و مقاومت به آپوپتوز نقش مهمی دارد و در بسیاری از سرطان‌های انسانی فعالیت غیرعادی و دائمی آن دیده می‌شود. القاء کننده‌های فعالیت NF- κ B متنوع هستند و عمدتاً شامل گونه‌های فعال اکسیژن، فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا، TNF- α) اینترلوکین ۱-بتا و اشعه‌های یونیزان می‌باشد. NF- κ B یک فاکتور نسخه برداری حساس به شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی می‌باشد اکسیداسیون مستقیم سیستمین شماره ۶۲ این فاکتور، مانع اتصال آن به DNA می‌شود در حالی که احیاء آن توسط تیوردوکسین باعث اتصال آن به DNA و شروع فرآیند نسخه‌برداری ژن‌های هدف می‌شود. گلووتاتیونیل‌اسیون و S-نیتروزیلاسیون از دیگر تغییرات اکسیداتیو NF- κ B می‌باشد [۲۳]. علاوه بر تغییرات ساختاری NF- κ B، تغییرات غیرمستقیم نیز فعالیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعات مختلف حاکی از نقش کلیدی هیستون داستیلازا (HDACs) در انواع سرطان‌ها می‌باشد [۶۴]. ROS با تأثیر مستقیم بر HDACs، در مولکول DNA سوپرکویل ایجاد می‌کند و مانع اتصال NF- κ B به DNA و فعالیت نسخه‌برداری ژن‌های مربوطه می‌شود. اعضاء خانواده NF- κ B به وسیله I κ B (مهارکننده کاپا) در سیتوزول غیرفعال می‌شوند. سایتوکاین‌ها و ROS با فعال کردن I κ B کینازها (IKK)، I κ B را فسفریله می‌کنند و باعث انفصال آن از NF- κ B می‌شوند. NF- κ B آزاد به هسته می‌رود و نسخه‌برداری ژن‌های هدف را

۱۵. FLICE-inhibitory protein

۱۶. Mitogen-activated protein kinases

۱۷. Extracellular signal-regulated kinase

۱۸. c-Jun N-terminal kinases

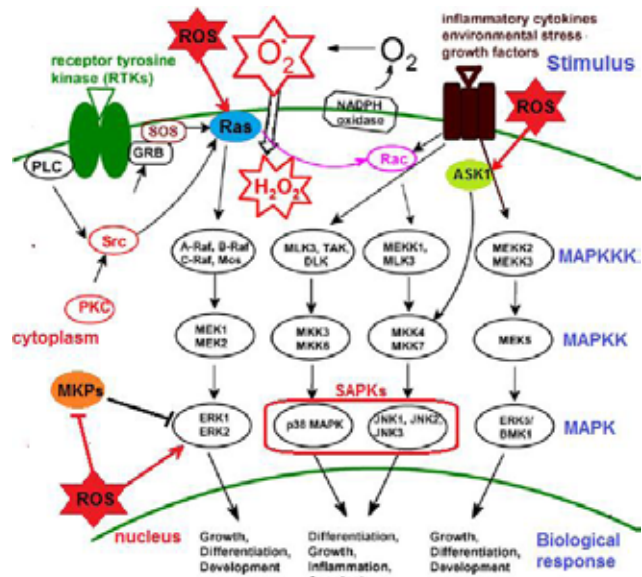
PI3K/Akt می‌باشد. انتقال سیگنال از طریق مسیر PI3K/Akt نقش بسیار مهمی در تنظیم رشد سلولی، پرولیفراسیون، بقا و تحرک سلولی دارد [۷۲]. تأثیر Akt بر رشد و بقا سلولی از طریق فسفریلاسیون و غیرفعال شدن سوپستراهایی از قبیل پروتئین‌های پروآپوئوتیک Bad، Bax، Bim و فاکتور نسخه‌برداری FOXO3a اعمال می‌گردد [۷۳]. به طور کلی فعالیت این مسیر به وسیله تغییرات اکسیداتیو فسفاتازهای وابسته به سیستئین (CDPs) و پروتئین‌کینازها تنظیم می‌شود. فسفاتازهای وابسته به سیستئین، خانواده بزرگی از آنزیم‌ها را تشکیل می‌دهند که در محل کاتالیتیک خود دارای ریشه سیستئین بسیار فعال می‌باشند که تغییرات اکسیداتیو این ریشه، فعالیت آنزیم را مهار می‌کند. CDP هایی که مسیر سیگنالینگ PI3K/Akt را تنظیم می‌کنند، شامل لیپید فسفاتاز، PIP3 فسفاتاز، فسفاتاز PTEN و پروتئین تیروزین فسفاتاز (PTPase) می‌باشند [۷۴].

فعالیت Akt به وسیله کینازهای $mTOR^{21}$ ، $PDK-1^{21}$ و PI3K نیز کنترل می‌گردد. PDK-1 و mTOR با فعال کردن فسفریلاسیون در محل سیستئین ۴۷۳ و تیروزین ۳۰۸ باعث فعال شدن Akt می‌شوند [۷۵]. PI3K، ۳ و ۵ فسفاتیدیل اینوزیتول تری فسفات (PIP3) تولید می‌کند که به عنوان لنگر غشایی عمل می‌کند. در حالی که PTEN به عنوان فسفاتاز وابسته به سیستئین، تنظیم کننده منفی PIP3 می‌باشد و فعالیت Akt را مهار می‌کند. بنابراین غیرفعال شدن اکسیداتیو PTEN به وسیله پراکسید هیدروژن و سوپراکساید، باعث غیرفعال شدن اکسیداتیو مسیر PI3K/Akt می‌شود در صورتی که احیاء PTEN اکسید شده به وسیله سیستم تیوردوکسین / NADPH، مسیر PI3K/Akt را فعال می‌کند. لذا، نقص تنفس میتوکندریایی و متعاقب آن کاهش میزان NADPH، باعث فعال شدن اکسیداتیو PTEN و فعال شدن این مسیر می‌شود. غیرفعال شدن تنظیم کننده‌های منفی گیرنده تیروزین کیناز - PTPase ها - منجر به فعال شدن مداوم مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt می‌شود. شرایط اکسیداتیو منجر به تشکیل پل دی‌سولفیدی بین سیستئین ۲۹۷ و ۳۱۱ در دمین کینازی Akt و غیرفعال شدن آن می‌شود. (تصویر ۴) [۷۶-۸۰].

تأثیر استرس اکسیداتیو بر مرگ سلولی و آپوپتوز

استرس اکسیداتیو با تأثیر بر مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز در تنظیم آن نقش مهمی ایفا می‌کند. افزایش ROS با تأثیر بر سیتوکروم C و فعال شدن کاسپازها منجر به مرگ سلولی می‌شود [۸۱]. متعاقب پیام‌های آپوپتوتیک، رهایش H_2O_2 منجر به فعال شدن JNKs و در نهایت کاهش بیان پروتئین‌های آنتی آپوپتوتیک Bcl-2 و Bcl-XL می‌شود [۸۲].

$p38$ ، ERK3/4 و ERK5/BMK تشکیل شده است. JNK و $p38$ بعضاً با هم در یک گروه تحت عنوان پروتئین کینازهای فعال شونده با استرس (SAPKs) قرار می‌گیرند که در پاسخ سلول به انواع استرس‌ها مانند سیتوکین‌ها، شوک اسمزی و آسیب مکانیکی نقش مهمی دارند [۶۵ و ۶۶]. شواهد متعدد نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو، مسیر ERK را فعال می‌کند به طوری که در پاسخ به استرس اکسیداتیو ملایم، باعث تسریع رشد سلولی می‌شود در حالی که در شرایط آسیب اکسیداتیو، SAPKs باعث القا آپوپتوز از مسیر داخلی و خارجی و همچنین نکروز می‌شوند. در مورد نحوه تأثیر ROS بر ERK1/2 و القاء پرولیفراسیون سلولی نیز شواهدی در دست است که نشان می‌دهد Ras به عنوان فعال کننده ERK1/2، به طور مستقیم در محل سیستئین ۱۱۸ اکسید می‌شود و قابلیت تبدیل GDP/GTP آن مهار می‌شود (تصویر ۳). شواهد دیگر نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو با تأثیر مستقیم بر Ras باعث S- نیتروزیلاسیون و گلو تاتیوناسیون و فعال شدن آن می‌شود علاوه بر این P^{90RSK} به عنوان کیناز بالادست ERK1/2، مستقیماً به وسیله ROS فعال می‌شود [۷۰-۶۷]. KROS در طی پیشرفت سرطان تخمدان باعث تجزیه ناظم منفی ERK1/2 - فسفاتاز شماره ۳ MAPK (MKP3) - می‌شود که در این حالت منجر به فعالیت بی‌رویه ERK1/2 و تومورژنیسته سلول‌های سرطان تخمدان می‌شود [۷۱].



تصویر ۳: تنظیم ردوکس مسیر سیگنالینگ MAPK: ROS با تأثیر بر Ras، ASK1 و فسفاتاز شماره ۳ MAPK (MKP3) سیگنال‌های بقا و مرگ سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

تنظیم اکسیداتیو مسیر PI3K/Akt: گیرنده‌های تیروزین کیناز شبکه‌ای از پاسخ‌های پیام‌رسانی را ایجاد می‌کنند که یکی از آنها مسیر

۱۹. stress-activated protein kinases

۲۰. Protein tyrosine phosphatases

۲۱. ۳-Phosphoinositide-dependent protein kinase-1

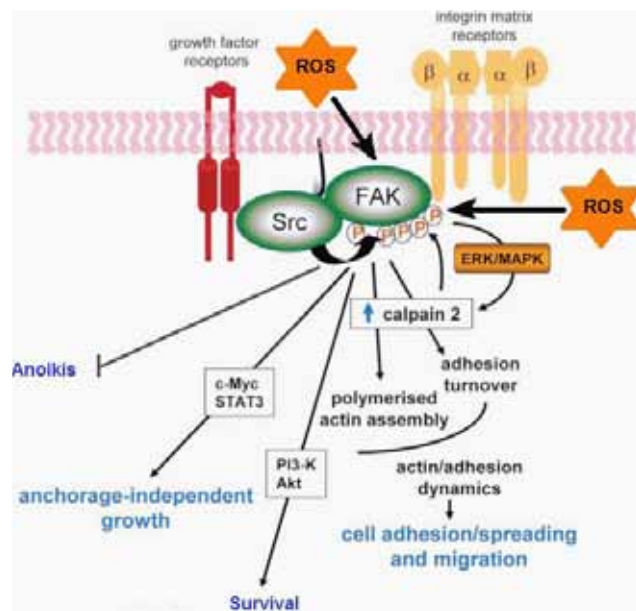
۲۲. mechanistic target of rapamycin

اندوتلیال عروق نقش محوری دارد [۱۰۹ و ۱۱۰]. ترشح لپتین، محرومیت غذایی و هیپوکسی با افزایش ROS باعث افزایش بیان ژن EGFV با دخالت فاکتور القاء شونده توسط هیپوکسی (HIF-1) و p^{300} می‌شوند و آنژیوژنز را القاء می‌کنند [۲۵]. هیپوکسی روی برخی عوامل رگزا مانند IL-1 β , FGF, TNF و IL-8 نیز تأثیر القایی دارد [۱۱۱]. ROS با تأثیر بر آنژیوپوئیتین مهاجرت و پرولیفراسون سلول‌های اندوتلیال عروق را تحریک می‌کند [۱۱۲]. القاء ترشح ماتریکس متالوپروتئیناز-۱ (MMP-1) از سلول‌های توموری فرآیند مهم دیگر در رشد عروق می‌باشد که به شدت تحت تأثیر ROS می‌باشد [۱۱۳]. در صورتی که مهارکننده‌های تولید ROS و یا آنتی‌اکسیدان‌ها آنژیوژنز را مهار می‌کنند [۱۱۴]. ROS با فعال کردن هم اکسیژناز-۱ و تولید مونوکسید کربن و همچنین القاء تشکیل نیتریک اکساید باعث افزایش قطر عروق خونی و خونرسانی بهتر به بافت توموری می‌شود [۱۱۵].

نتیجه‌گیری کلی

تقریباً تمام سلول‌های سرطانی به‌دلیل تغییرات متابولیک، میزان ROS بالایی دارند که بایستی این امر در انواع روش‌های درمانی موردتوجه قرار گیرد. سلول‌های توموری در پاسخ به افزایش نسبی ROS بیان عوامل آنتی‌اکسیدان خود را افزایش می‌دهند و سازگار می‌شوند که این امر در نهایت منجر به مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی می‌شود. مکانیزم‌هایی که ضمن در نظر داشتن مسیرهای پیام‌رسانی سلول‌های سرطانی و کنترل آن‌ها، میزان استرس اکسیداتیو سلول را تغییر می‌دهند، می‌توانند در غلبه بر مقاومت دارویی و حذف سلول‌های توموری نقش مهمی داشته باشند.

نقش دارند [۱۰۴]. اینتگرین‌ها همچنین به‌عنوان گیرنده‌های غشایی در ایجاد پیام‌های داخل سلولی دخیل می‌باشند آن‌ها با تأثیر بر آنزیم‌های سیکلوآکسیژناز ۲، ۵-لیپواکسیژناز (5-LOX) و میتوکنندری میزان ROS سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهند [۱۰۵ و ۱۰۶]. در چنین شرایطی افزایش ROS، به‌طور مستقیم منجر به اکسیدشدن و فعال شدن Src، غیرفعال شدن فسفاتاز FAK و در نهایت تیروزین فسفریلاسیون FAK^{۲۳} در محل تیروزین ۸۶۱ می‌شود [۱۰۷]. تیروزین فسفریلاسیون FAK مسیرهای پیام‌رسان منجر به پرولیفراسیون، گسترش و مهاجرت سلولی و ممانعت از مرگ سلولی آنوبیکس^{۲۴} و بقاء سلول‌های توموری را آغاز می‌کند [۱۰۸] (تصویر شماره ۵).



تصویر ۵: کیناز اتصال فوکل (FAK) تیروزین کینازی است که اتصال آن به اینتگرین باعث اتوفسفریلاسیون ریشه‌های تیروزین و فعال شدن آن می‌شود خاصیت تیروزین کینازی گاهی به‌وسیله محرک‌های متعددی مانند ROS نیز القاء می‌شود. FAK فسفریله شده با Src کمپلکس تشکیل می‌دهد و بسیاری از عملکردهای انکوژنیک Src را با تحریک مسیرهای سیگنال‌دهی مختلف میانجی‌گری می‌کند که در نهایت منجر به رشد مستقل از تماس، بقاء، مقاومت به مرگ سلولی آنوبیکس، گسترش و مهاجرت سلول‌های توموری می‌شود.

تأثیر بر آنژیوژنز: ادامه فرآیند رشد تومور و متاستاز نیازمند خونرسانی کافی به محل و رگزایی می‌باشد. فرآیند آنژیوژنز به‌وسیله فاکتور رشد VEGF^{۲۵} و فعال شدن مسیرهای پیام‌رسان JAK/STAT میانجی‌گری می‌شود. VEGF مترشح از سلول‌های توموری در پرولیفراسیون، مهاجرت، سازماندهی مجدد اسکلت سلولی و مورفوژنز توبولی سلول‌های

۲۳. Focal adhesion kinase

۲۴. Anoikis cell death

۲۵. Vascular endothelial growth factor

References:

1. Halliwell B, Gutteridge J. Free Radicals in Biology and Medicine. 4th Edition, Oxford: Clarendon Press; 2006.
2. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. 2008; 4(2): 89-96.
3. Wu D1, Cederbaum AI. Alcohol Oxidative Stress, and Free Radical Damage. *Alcohol Res Health*. 2003; 27(4): 277-84.
4. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007; 39(1): 44-84.
5. Augusto O, Miyamoto S. Principles of Free Radical Biomedicine. In: Pantopoulos K, Schipper HM, eds. *Oxygen Radicals and Related Species*. São Paulo: Nova Science Publishers; 2011. Vol1 Chapter II .p.1-23.
6. Adam-Vizi, V. and Chinopoulos, C. Bioenergetics and the formation of mitochondrial reactive oxygen species. *Trends Pharmacol Sci*. 2006 Dec; 27(12): 639-45.
7. Andreyev AY, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc)*. 2005; 70(2): 200-14.
8. Balaban RS, Nemoto S, Finkel T. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell*. 2005; 120(4): 483-95.
9. Michael P. MURPHY: How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*. 2009; 417(Pt 1): 1-13.
10. Guengerich FP. Cytochrome P450s and other enzymes in drug metabolism and toxicity. *AAPS J*. 2006; 8(1): E101-11.
11. Guengerich FP, Andrew W. Unusual Cytochrome P450 Enzymes and Reactions. *J Biol Chem*. 2013; 288(24): 17065-73.
12. Chung HY, Baek BS, Song SH. Xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase and oxidative stress. *Age (Omaha)*. 1997; 20(3): 127-40.
13. Zhao J, He X, Yang N, Sun L, Li G. Study of Drug Metabolism by Xanthine Oxidase. *Int J Mol Sci*. 2012; 13(4): 4873-9.
14. Robinson JM. Reactive oxygen species in phagocytic leukocytes. *Histochem Cell Biol*. 2008; 130(2): 281-97.
15. El-Benna J, Dang PM, Gougerot-Pocidalo MA, Elbim C. Phagocyte NADPH oxidase: a multicomponent enzyme essential for host defenses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2005; 53(3): 199-206.
16. Paletta-Silva R, Rocco-Machado N, Meyer-Fernandes JR. NADPH Oxidase Biology and the Regulation of Tyrosine Kinase Receptor Signaling and Cancer Drug Cytotoxicity. *Int J Mol Sci*. 2013; 14(2): 3683-704.
17. DeCoursey TE. Voltage-Gated Proton Channels Find Their Dream Job Managing the Respiratory Burst in Phagocytes. *Physiology (Bethesda)*. 2010; 25(1): 27-40.
18. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012; 33(7): 829-37, 837a-837d.
19. Weidinger A, Kozlody AV. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. *Biomolecules*. 2015; 5(2): 472-84.
20. Kehler JP. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. *Toxicology*. 2000; 149(1): 43-50.
21. Dröge W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*. 2002; 82(1): 47-95.

22. Sikes RA. Chemistry and Pharmacology of anticancer drugs. *Br J Cancer*. 2007; 97(12): 1713.
23. Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, Nilsa RD, Huang P. Redox Regulation of Cell Survival. *Antioxid Redox Signal*. 2008; 10(8): 1343-74.
24. Pelicano H1, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Update*. 2004; 7(2): 97-110.
25. Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. 2010; 44(5): 10.3109/10715761003667554. PMC. Web. 16 Apr. 2017.
26. Trachootham D, Alexandre J, Huang P. Targeting cancer cells by ROS-mediated mechanisms: a radical therapeutic approach? *Nature Reviews Drug Discovery*. 2009; 8(7): 579-91.
27. Saki N, Abroun S, Hajizamani S, Rahim F, Shahjahani M. Association of Chromosomal Translocation and MiRNA Expression with the Pathogenesis of Multiple Myeloma. *Cell J*. 2014; 16(2): 99-110.
28. Bensaad K, Vousden KH. p53: New roles in metabolism. *Trends Cell Biol*. 2007; 17(6): 286-91.
29. Dolado I, Nebreda AR. AKT and Oxidative Stress Team Up to Kill Cancer Cells. *Cancer Cell*. 2008; 14(6): 427-9.
30. Meier B, Radeke HH, Selleh S. Human fibroblasts release reactive oxygen species in response to interleukin-1 or tumor necrosis factor-alpha. *Biochem J*. 1989; 263(2): 539-45.
31. Chen Q, Olashaw N, Wu J. Participation of reactive oxygen species in the lysophosphatidic acid-stimulated mitogen-activated protein kinase kinase activation pathway. *J Biol Chem*. 1995; 270(48): 28499-502.
32. Sundaresan M, Yu ZX, Ferrans VJ, Irani K, Finkel T. Requirement for generation of H₂O₂ for platelet-derived growth factor signal transduction. *Science*. 1995; 270(5234): 296-9.
33. Minamoto T, Mai M, Ronai Z. K-ras mutation: early detection in molecular diagnosis and risk assessment of colorectal, pancreas, and lung cancers. *Cancer Detect Prev*. 2000; 24(1): 1-12.
34. Lo YY, Cruz TF. Involvement of reactive oxygen species in cytokine and growth factor induction of c-fos expression in chondrocytes. *J Biol Chem*. 1995; 270(20): 11727-30.
35. Rodriguez R, Redman R. Balancing the generation and elimination of reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(9): 3175-6.
36. Asaduzzaman Khan M, Tania M, Zhang D, Chen H. *Chin J Cancer Res*. 2010; 22(2): 22: 87.
37. Therond P. Oxidative stress and damages to biomolecules (lipids, proteins, DNA). *Ann Pharm Fr*. 2006; 64(6): 383-9.
38. Pamplona R. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1777(10): 1249-62.
39. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 360438.
40. Zhang W1, Xiao S, Ahn DU. Protein oxidation: basic principles and implications for meat quality. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2013; 53(11): 1191-201.
41. Davies MJ. Protein oxidation and peroxidation. *Biochem J*. 2016; 473(7): 805-25.
42. Suzuki YJ, Carini M, Butterfield DA. Protein Carbonylation. *Antioxid Redox Signal*. 2010; 12(3): 323-5.

43. Vana L, Kanaan NM, Hakala K, Weintraub ST, Binder LI. Peroxynitrite Induced Nitration and Oxidative Modifications Alter Tau Filament Formation. *Biochemistry*. 2011; 50(7): 1203-12.
44. Hess DT, Stamler JS. Regulation by S-Nitrosylation of Protein Post-translational Modification. *J Biol Chem*. 2012 Feb 10; 287(7): 4411-8.
45. Haghdoust S, Czene S, Naslund I, Skog S, Harms-Ringdahl M. Extracellular 8-oxo-dG as a sensitive parameter for oxidative stress in vivo and in vitro. *Free Radic Res*. 2005; 39: 153-62.
46. Tsuzuki T, Nakatsu Y, Nakabeppu Y. Significance of error-avoiding mechanisms for oxidative DNA damage in carcinogenesis. *Cancer Sci*. 2007; 98(4): 465-70.
47. Breen AP, Murphy JA. Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radic Biol Med*. 1995; 18(6): 1033-77.
48. Ghezzi P. regulation of protein function by glutathionylation. *Free Radic Res*. 2005; 39(6): 573-80.
49. Poole LB, Karplus PA, Claiborne A. Protein sulfenic acids in redox signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004; 44: 325-47.
50. Bigelow DJ, Squier TC. Redox modulation of cellular signaling and metabolism through reversible oxidation of methionine sensors in calcium regulatory proteins. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1703(2): 121-34.
51. Schopfer FJ, Baker PR, Freeman BA. NO-dependent protein nitration: a cell signaling event or an oxidative inflammatory response? *Trends Biochem Sci*. 2003; 28(12): 646-54.
52. Haddad JJ. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors. *Cell Signal*. 2002; 14(11): 879-97.
53. Turpaev KT. Reactive oxygen species and regulation of gene expression. *Biochemistry (Moscow)*. 2002; 67(3): 281-92.
54. Ogryzko VV, Schiltz RL, Russanova V, Howard BH, Nakatani Y. The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases. *Cell*. 1996; 87(5): 953-9.
55. Cross JV, Templeton DJ. Regulation of signal transduction through protein cysteine oxidation. *Antioxid Redox Signal*. 2006; 8(9-10): 1819-27.
56. Chiarugi P. PTPs versus PTKs: the redox side of the coin. *Free Radic Res*. 2005; 39(4): 353-64.
57. Cho SH, Lee CH, Ahn Y, Kim H, Kim H, Ahn CY, Yang KS, Lee SR. Redox regulation of PTEN and protein tyrosine phosphatases in H₂O₂ mediated cell signaling. *FEBS Lett*. 2004; 560(1-3): 7-13.
58. Reinstein E, Ciechanover A. Narrative review: protein degradation and human diseases: the ubiquitin connection *Ann Intern Med*. 2006; 145(9): 676-84.
59. Bhaskar PT, Hay N. The two TORCs and Akt. *Dev Cell*. 2007; 12(4): 487-502.
60. Forman HJ, Torres M. Reactive Oxygen Species and Cell Signaling Respiratory Burst in Macrophage Signaling *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166(12 Pt 2): S4-8.
61. Zhou D, Shao L, Spitz DR. Reactive Oxygen Species in Normal and Tumor Stem Cells. *Adv Cancer Res*. 2014; 122: 1-67.
62. Schieber M, Chandel NS. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr Biol*. 2014; 24(10): R453-62.
63. Gupta SC, Kim JH, Prasad S, Aggarwal BB. Regulation of survival, proliferation, invasion, angiogenesis, and metastasis of tumor cells through modulation of inflammatory pathways by nutraceuticals. *Cancer Metastasis Rev*. 2010; 29(3): 405-34.
64. Ahmadvand M, Noruzinia M, Soleimani M, Abroun S. Comparison of expression signature of

histone deacetylases (HDACs) in mesenchymal stem cells from multiple myeloma and normal donors. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016; 17(7): 3605-10.

65.Zhang W, Liu HT. MAPK signal pathways in the regulation of cell proliferation in mammalian cells. *Cell Research*. 2002; 12(1): 9-18.

66.Kato Y, ChaoTH, Hayashi M, Tapping RI, Lee JD. Role of BMK1 in regulation of Growth factor-induced cellular Responses. *Immunol Res*. 2000; 21(2-3): 233-7.

67.Yoshizumi M, Tsuchiya K, Tamaki T. Transduction of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinases in cardiovascular disease. *J Med Invest*. 2001; 48(1-2): 11-24.

68.Katz M, Amit I, Yarden Y. Regulation of MAPKs by growth factors and receptor tyrosine kinases. *Biochim Biophys Acta*. 2007; 1773(8): 1161-76.

69.Arany I, Megyesi JK, Kaneto H, Tanaka S, Safirstein RL. Activation of ERK or inhibition of JNK ameliorates H₂O₂ cytotoxicity in mouse renal proximal tubule cells. *Kidney Int*. 2004; 65(4): 1231-9.

70.López-Camarillo C, Ocampo EA, Casamichana ML, Pérez-Plasencia C, Álvarez-Sánchez E, Marchat LA. Protein Kinases and Transcription Factors Activation in Response to UV-Radiation of Skin: Implications for Carcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2012; 13(1): 142-72.

71.Chan DW, Liu VW, Tsao GS. Loss of MKP3 mediated by oxidative stress enhances tumorigenicity and chemoresistance of ovarian cancer cells. *Carcinogenesis*. 2008; 29(9): 1742-50.

72.Leslie NR. The redox regulation of PI3-kinase-dependent signaling. *Antioxid Redox Signal*. 2006; 8(9-10): 1765-74.

73.Sunters A, Fernández de Mattos S, Stahl M. FoxO3a Transcriptional Regulation of Bim Controls Apoptosis in Paclitaxel-treated Breast Cancer Cell Lines. *J Biol Chem*. 2003; 278(50): 49795-805.

74.Yu CX, Li S, Whorton AR. Redox regulation of PTEN by S-nitrosothiols. *Mol Pharmacol*. 2005; 68(3): 847-54.

75.Sarbassov D, Guertin D, Siraj A, Sabatini M. Phosphorylation and Regulation of Akt/PKB by the Rictor-mTOR Complex. *Science*. 2005; 307(5712): 1098-101.

76.Hornsveld M, Dansen T. The Hallmarks of Cancer from a Redox Perspective. *Antioxid Redox Signal*. 2016; 25(6): 300-25.

77.Cho SH, Lee CH, Ahn Y. Redox regulation of PTEN and protein tyrosine phosphatases in H₂O₂ mediated cell signaling. *FEBS Lett*. 2004; 560(1-3): 7-13.

78.el-Remessy AB, Bartoli M, Platt DH, Fulton D, Caldwell RB. Oxidative stress inactivates VEGF survival signaling in retinal endothelial cells via PI 3-kinase tyrosine nitration. *J Cell Sci*. 2005; 118(Pt 1): 243-52.

79.Murata H, Ihara Y, Nakamura H, Yodoi J, Sumikawa K, and Kondo T. Glutaredoxin exerts an antiapoptotic effect by regulating the redox state of Akt. *J Biol Chem*. 2003; 278(50): 50226-33.

80.Wang Y, Zeigler MM, Lam GK. The role of the NADPH oxidase complex, p38 MAPK, and Akt in regulating human monocyte/macrophage survival. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007; 36(1): 68-77.

81.Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*. 2000; 5(5): 415-8.

82.Conde de la Rosa L, Schoemaker MH, Vrenken TE. Superoxide anions and hydrogen peroxide induce hepatocyte death by different mechanisms: Involvement of JNK and ERK MAP kinases. *J Hepatol*. 2006; 44(5): 918-29.

83.Pervaiz S, Cao J, Chao O, Chinand Y, CleÂment M. Activation of the RacGTPase inhibits apoptosis in human tumor cells. *Oncogene*. 2001; 20(43): 6263-8.

84.Sumbayev VV and Yasinska IM. Regulation

of MAP kinase-dependent apoptotic pathway: implication of reactive oxygen and nitrogen species. *Arch Biochem Biophys*. 2005; 436(2): 406-12.

85.Saitoh M, Nishitoh H, Fujii M. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. *EMBO J*. 1998; 17(9): 2596-606.

86.Gotoh Y, Cooper JA. Reactive oxygen species- and dimerization-induced activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 in tumor necrosis factor- α signal transduction. *J Biol Chem*. 1998; 273(28): 17477-82.

87.Liu H, Nishitoh H, Ichijo H, Kyriakis JM. Activation of apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) by tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 requires prior dissociation of the ASK1 inhibitor thioredoxin. *Mol Cell Biol*. 2000; 20(6): 2198-208.

88.Shrivastava P, Pantano C, Watkin R. Reactive nitrogen species-induced cell death requires Fas-dependent activation of c-Jun N-terminal kinase. *Mol Cell Biol*. 2004; 24(15): 6763-72.

89.Wang F, Nguyen M, Qin FX, Tong Q. SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction. *Aging Cell*. 2007; 6(4): 505-14.

90.Brüne B, von Knethen A, Sandau KB. Nitric oxide and its role in apoptosis *Eur J Pharmacol*. 1998; 351(3): 261-72.

91.Chanvorachote P, Nimmannit U, Wang L. Nitric Oxide Negatively Regulates Fas CD95-induced Apoptosis through Inhibition of Ubiquitin-Proteasome-mediated Degradation of FLICE Inhibitory Protein. *J Biol Chem*. 2005 Dec 23; 280(51): 42044-50.

92.S Abroun. Chemokines in Homeostasis and Cancers. *Yakhteh Medical Journal*. 2008; 10(3): 155-66.

93.Parrish AB, Freel CD, Kornbluth S. Cellular Mechanisms Controlling Caspase Activation and

Function. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013; 5(6). pii: a008672.

94.Borutaite V, Brown GC. Caspases are reversibly inactivated by hydrogen peroxide. *FEBS Lett*. 2001; 500(3): 114-8.

95.Hampton MB, Orrenius S. Dual regulation of caspase activity by hydrogen peroxide: implications for apoptosis. *FEBS Lett*. 1997 Sep 15; 414(3): 552-6.

96.Liou G-Y, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. 2010, 44(5): 10.3109/10715761003667554. PMC. Web. 18 Apr. 2017.

97.Filomeni G, Rotilio G, Ciriolo MR. Cell signaling and the glutathione redox system. *Biochem Pharmacol*. 2002; 64(5-6): 1057-64.

98.Chan DW1, Liu VW, Tsao GS. Loss of MKP3 mediated by oxidative stress enhances tumorigenicity and chemoresistance of ovarian cancer cells. *Carcinogenesis*. 2008 Sep; 29(9): 1742-50.

99.Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Res*. 2004; 24(5A): 2783-840.

100. Deshpande A, Sicinski P, Hinds PW. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective. *Oncogene*. 2005; 24(17): 2909-15.

101. Cullen JJ, Mitros FA, Oberley LW. Expression of antioxidant enzymes in diseases of the human pancreas: another link between chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreas*. 2003; 26(1): 23-7.

102. van Zijl F, Krupitza G, Mikulits W. Initial steps of metastasis: Cell invasion and endothelial transmigration. *Mutat Res*. 2011; 728(1-2): 23-34.

103. Li S, Mao Y, Zhou T. Manganese superoxide dismutase mediates anoikis resistance and tumor metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *Oncotarget*. 2016; 7(22): 32408-20.

104. Hood JD, Cheresch DA. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer*. 2002 Feb; 2(2): 91-100.
105. Broom OJ, Massoumi R, Sjolander A. Alphabeta1 integrin signaling enhances cyclooxygenase-2 expression in intestinal epithelial cells. *J Cell Physiol*. 2006; 209(3): 950-8.
106. Svineng G, Ravuri C, Rikardsen O, Huseby NE, Winberg JO. The role of reactive oxygen species in integrin and matrix metalloproteinase expression and function. *Connect Tissue Res*. 2008; 49(3): 197-202.
107. Ben Mahdi MH, Andrieu V, Pasquier C. Focal adhesion kinase regulation by oxidative stress in different cell types. *IUBMB Life*. 2000 Oct-Nov; 50(4-5): 291-9.
108. Chiarugi P. From anchorage dependent proliferation to survival: lessons from redox signaling. *IUBMB Life*. 2008; 60(5): 301-7.
109. Abroun S, Saki N, Ahmadvand M, Asghari F, Salari F, Rahim F. STATs: An Old Story, Yet Mesmerizing. *Cell J*. 2015; 17(3): 395-411.
110. Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, Wildiers H, Van Oosterom AT, De Bruijn EA. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Pharmacol Rev*. 2004; 56(4): 549-80.
111. Fei J, Hong A, Dobbins TA. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor in squamous cell carcinomas of the tonsil in relation to human papillomavirus status and epidermal growth factor receptor. *Ann Surg Oncol*. 2009; 16(10): 2908-17.
112. Harfouche R, Malak NA, Brandes RP, Karsan A, Irani K, Hussain SN. Roles of reactive oxygen species in angiopoietin-1/tie-2 receptor signaling. *FASEB J*. 2005; 19(12): 1728-30.
113. Wartenberg M, Budde P, De Mareés M. Tumor-induced angiogenesis and matrix-metalloproteinase expression in confrontation cultures of embryo bodies and tumor spheroids by plant ingredients used in traditional chinese medicine. *Lab Invest*. 2003; 83 (1): 87-98.
114. Polytaichou C, Papadimitriou E. Antioxidants inhibit angiogenesis in vivo through down-regulation of nitric oxide synthase expression and activity. *Free Radical Research*. 2004; 38(5): 501-8.
115. Milligan SA, Owens MW, Grisham MB. Augmentation of cytokine-induced nitric oxide synthesis by hydrogen peroxide. *Am J Physiol*. 1996; 271(1 Pt 1): L114-20.