لیزر در پزشکی؛ ۱۳۹۶، دورهٔ ۱۴، شمارهٔ ۳، صفحات: ۴۴-۳۰ .

مقاله مروری

نقش استرس اکسیداتیو بر بیولوژی سرطان

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، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۲. *گروه هماتولوژی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران*

۳. *پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری*

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

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. زنجیرهٔ انتقال الکترون میتوکندری، NADPH اکسیداز موجود در غشاء سلول‌های فاگوسیت‌کننده، سیتوکروم P_{450} مونواکسیژناز شبکهٔ 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 اتصالی حساس به اکسیداسیون احیاء، آنزیم‌های تغییر-دهندهٔ حساس به اکسیداسیون- احیاء و تنظیم ترن اور پروتئین تغییر می دهد. سلول‌های سرطانی به‌دلیل شرایط هیپوکسی، جهش ژن‌های هسته‌ای و میتوکندریایی، فعال‌شدن انکوژن‌ها و ازدست‌رفتن ژن‌های سرکوبگر تومور، نسبت‌به 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 می باشد. این مقالهٔ 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

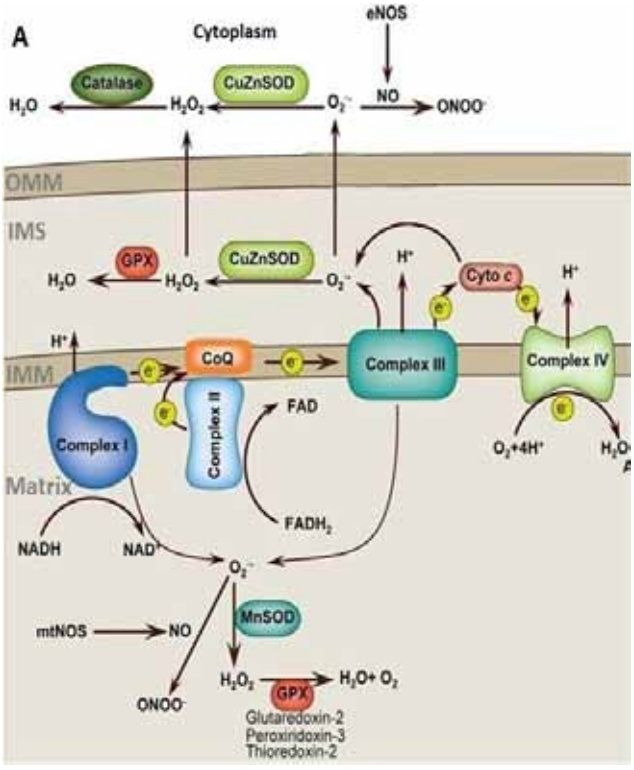
مقدمه

رادیکال آزاد حاصل شکستگی نابرابر پیوندهای یک مولکول پایدار می‌باشد و خود اتم یا یونی است که دارای یک یا چند الکترون جفت نشده باشد[۱]. رادیکال‌های آزاد در پاتوژنز انواع بیماری‌ها ازقبیل سـرطان، بیماری‌های نرودژنراتیـو، دیابت، پیـری و ... نقش مهمی دارنـد[۲]. این ترکیبات به انواع مولکول‌هـای بیولوژیک حمله می‌کنند و باعث تغییرات سـاختاری و بیوشـیمیایی آن‌ها می‌شـوند[۳]. اغلب تصور بر این است که گونه‌های رادیکالی مشـتق از اکسـیژن گروهی از مولکول‌ها را تشکیل می‌دهند که به سـلول‌ها، بافت‌ها و ارگانیزم‌ها آسیب می‌رسانند، با این حال تحقیقات دو دهۀ اخیر حاکی‌از نقش آن‌ها به‌عنوان پیامبر ثانویه در مسیرهای پیام رسـانی سلولی می‌باشـد. این گونه‌ها درمتابولیسم و عملکردهای سلولی، القاء آپوپتوز، القاء ژن‌های دفاع میزبانی، فعالیت سیسـتم‌های انتقال یون، فراخوانـی پلاکت‌ها به محل زخم و انواع پاسـخ‌های التهابی نقش مهمی دارند و عمدتاً به دو صورت رادیکال‌های آزاد مشـتق از اکسیژن (ROS)[۱] و مشتق از نیتروژن (RNS)[۲] تقسیم‌بندی می‌شوند[۴].

رادیکال‌های آزاد مهمی که در فرآیند ایجاد بیماری نقش دارند، گونه‌های مشـتق از اکسیژن مولکولی می‌باشند که شامل رادیکال‌های سوپراکساید ($O^{\cdot}_2$)، هیدروکسـیل ($^{\cdot}OH$)، پراکسـیل ($RO^{\cdot}_2$)، الکوکسیل ($RO^{\cdot}$) و هیدروپراکسـیل ($HO^{\cdot}_2$) می‌باشـند. برخی مولکول‌ها مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اسید هیپوکلرو ($HOCL^-$) و اکسیژن منفرد ($^1O_2$) با اینکه از لحاظ شیمیایی رادیکال آزاد نیستند ولی عملکرد آن‌ها همانند رادیکال‌های آزاد می‌باشـد. درکل، به رادیکال‌های آزاد مشتق از اکسیژن و همچنیـن ترکیبات غیررادیکالی مشـتق از آن اصطلاحاً گونه‌های فعال اکسیژن گفته می‌شـود. مهم‌ترین گونه‌های فعال نیتروژن شامل رادیکال نیتریک اکساید ($NO^{\cdot}$) و پراکسی‌نیتریت ($ONOO^-$) می‌باشند[۵].

منابع اندوژن و اگزوژن رادیکال‌های آزاد

میتوکنـدری مهم‌ترین منبـع تولید ROS می‌باشـد[۶-۸]. ROS به عنوان محصول جانبی فرآیند فسفریلاسـیون اکسـیداتیو در کمپلکس I (NADH- کوآنزیـم Q) و III (کوآنزیمQH2 سـیتوکروم C ردوکتاز) زنجیـرۀ انتقـال الکترون تولیـد و به فضای بین دو غشـاء میتوکندری و یـا ماتریکـس میتوکندری آزاد می‌شـود[۹]. منافذ انتقالـی نفوذپذیری میتوکنـدری (mPTP)[۳] و غشـاء بیرونـی میتوکنـدری باعـث نشـت سوپراکسـاید به سیتوپلاسـم می‌شود. آنیون سوپراکسـاید در ماتریکس میتوکندری به‌وسـیلۀmnSOD و در سیتوپلاسم و فضای بین دو غشاء میتوکندری به‌وسـیلۀ Cu/ZnSOD دیسـموته می‌گردد و پراکسـید هیدروژن تولید می‌شود (تصویر a-۱) [۴].



تصویـر۱: A) تولیدROS در کمپلکس شـمارۀ I وIII زنجیرۀ انتقـال الکترون و مکانیزم هـای دفـاع آنتی‌اکسـیدانی. eNOS، نیتریـک اکسیدسـنتاز اندوتلیالـی؛ mtNOS، نیتریک‌اکسـید سـنتاز میتوکندریایـی؛ GPX، گلوتاتیـون پراکسـیداز؛ OMM، غشـا خارجـی میتوکنـدری؛ IMS،فضـای بین دو غشـاء؛ IMM، غشـاء داخلـی میتوکندری (Tang X et al, Frontiers in physiology ۲۰۱۴)

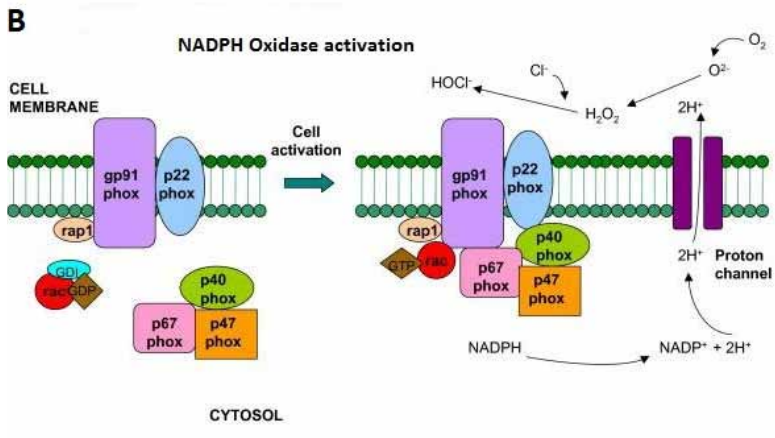
منبع دیگر ROS آنزیم‌های اکسـیژناز می‌باشـند که با انتقال اکسیژن مولکولی به سوبسـترا باعث اکسـایش آن می‌شـوند. مونواکسـیژنازها یا اکسـیدازهای با عملکرد مختلط، آنزیم‌هایی هسـتند که یکی از اتم‌های اکسـیژن مولکولی را به سوبسترا منتقل و اتم دیگر را به‌صورت آب احیاء می‌کننـد. مهم‌ترین مونواکسـیژناز، سـیتوکروم P_{450} اکسـیداز موجود در غشـاء شـبکۀ اندوپلاسمی می‌باشـد که با هیدروکسـیله‌کردن دستۀ وسـیعی از مولکول‌های اندوژن و اگزوژن باعث سـم‌زدایی آن‌ها می‌گردد و ضمـن این فرآیندهـا رادیکال‌های آزادی مانند سوپراکسـاید نیز تولید می‌شـود[۱۰و۱۱]. دی‌اکسیژنازها یا اکسـیژن ترانسفرازها دستۀ دیگری از اکسـیژنازها هستند که هر دو اتم اکسـیژن مولکولی را به یک ترکیب آلـی اضافـه و ترکیبـات هیدروکسی‌پراکسـید تولید می‌کننـد. علاوه‌بر میتوکندری برخی اندامک‌های تنفسـی مانند پراکسیزوم‌ها نیز به‌واسطۀ دارابودن آنزیم گزانتین اکسـیداز (XOD) موجود در غشاء و ماتریکس، آنیون سوپراکسـاید و پراکسـیدهیدروژن تولید می‌کننـد. این آنزیم یک دهیدروژناز می‌باشـد و هیدروژن را از گزانتین و هیپوگزانتین به DAN^+ منتقل و NADH تولید می‌کند[۱۲و ۱۳].

منبع اندوژن دیگر ROS، کمپلکس آنزیمی موجود در غشاء سلول‌های

۱. Reactive Oxygen species
۲. Reactive Nitrogen species
۳. Mitochondrial Permeability Transition pore

فاگوسیت‌کننده (نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها) می‌باشد. طی فرآیند انفجار تنفسی، مصرف اکسیژن در سیستم فاگوسیت‌کننده افزایش می‌یابد فعالیت آنزیم NADPH اکسیداز اکسیژن مولکولی را به آنیون سوپراکساید تبدیل می‌کند و باعث آسیب به سلول بیگانه می‌گردد[۱۴]. آنیون سوپراکساید توسط سوپراکساید دیسموتاز به پراکسیدهیدروژن 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 تیروزین تولید می‌گردد که یکی از عوامل مهم دیگر در آسیب به ارگانیزم مهاجم می‌باشد. در حضور یون‌های فلزی، از آنیون سوپراکساید و پراکسید هیدروژن رادیکال هیدروکسیل تشکیل می شود که یک عامل مهم دیگر در آسیب به ارگانیسم بیگانه می‌باشد. آنیون سوپراکساید تولیدشده توسط آنزیم NADPH اکسیداز در pH های پایین وزیکول‌های آندوسیتوزی، پروتونه‌شده و رادیکال هیدروکسیل فعال‌تر را ایجاد می‌کند. آنیون سوپراکساید به نقاط دیگر منتشر می‌شود و با نیتریک‌اکساید تولیدشده توسط ماکروفاژها واکنش می‌دهد و گونه‌های واکنش‌پذیرتر دیگری مانند پراکسی‌نیتریت را تولید می‌کند(تصویر b-۱) [۱۵-۱۷].

نیتریک‌اکسید (NO)، رادیکال بسیار واکنش‌پذیر دیگری می‌باشد که به‌عنوان یک سیگنال بیولوژیک مهم در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیک شامل اتساع ماهیچهٔ صاف عروق، انتقال نورونی، تنظیم ایمنی و ترشح انسولین نقش دارد. آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز (NOS)[۴] در یک واکنش اکسیداتیو، مسئول تولید NO از اسیدامینهٔ آرژنین می باشد. این آنزیم در سلول‌های مختلف حضور دارد ولی در ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها فعال‌تر می‌باشد[۱۸و۱۹].



B) عمل آنزیم NADPH oxidase یا Nox درایجاد گونه‌های فعال اکسیژن جهت از بین بردن پاتوژن (توضیح در متن) این آنزیم به‌صورت کمپلکس آنزیمی می‌باشد و از زیرواحدهای سیتوزولی (rac۱/۲، p۴۰phox، p۶۷phox، p۴۷phox) و ترانسممبران (p۲۲phox و gp۹۱phox) تشکیل شده است. (Assari T, Medical immunology ۲۰۰۶)

۴. Nitric Oxide Synthases

2 L-arginine + 3 NADPH + 1 H+ + 4 O2 →2 citrulline +2 nitric oxide + 4 H2O + 3 NADP+

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 پراکسیدهیدروژن، یون‌های آهن احیاء می‌گردند و رادیکال هیدروکسیل فعال تولید می‌شود[۲۰].

مرحلهٔ اول	$Fe^{3+} + O^{\bullet}_2{}^{-} \rightarrow Fe^{2+} + O_2$
مرحلهٔ دوم واکنش فنتون	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^{\bullet}$
واکنش کلی واکنش هابر ویس	$O^{\bullet}_2{}^{-} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet} + OH^- + O_2$

عوامل خارجی نیز در تولید ROS دخالت دارند. اشعه‌های یونیزاسیون با تأثیر بر مولکول آب ترکیبات فعالی مانند رادیکال هیدروکسیل، پراکسیدهیدروژن و آنیون سوپراکساید تولید می‌کنند. برخی‌از عوامل محیطی مانند برخی داروها، الکل، سموم شیمیایی، سیگار و برخی مشتقات اکسیژن مثل هیپرباریک اکسیژن از سایر عوامل تولیدکنندهٔ ROS هستند[۲۱ و۲۲].

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]. ازجملهٔ این شواهد می‌توان به افزایش محصولات حاصل‌از واکنش‌های با واسطهٔ 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 نتیجهٔ افزایش فعالیت متابولیک، نقص عملکرد میتوکندری، فعالیت پراکسیزوم‌ها، افزایش سیگنالینگ‌های با واسطهٔ رسپتور، فعال‌شدن انکوژن‌ها، افزایش فعالیت اکسیدازها، سیکلواکسیژنازها، لیپواکسیژنازها و تیمیدین فسفریلاز می‌باشد[۲۵].

بیان ژن‌های مرتبط با ترانسفورماسیون از قبیل Ras، Bcr-Abl و C-Myc تولید ROS را القاء می‌کند. ROS برای عملکرد تومورژنیک برخی از این انکوژن‌ها ضروری می‌باشد[۲۳]. جهش‌های انکوژنیک K-Ras با تأثیر بر فعالیت مسیر پروتئین‌کیناز 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

DNA میتوکنـدری (mtDNA) منجربه نقص زنجیـر انتقال الکترون، نشـت الکترونی و نهایتاً تولید آنیون سوپراکسـاید می‌شـود که می‌تواند به انواع ROS تبدیل شود[۲۶].

پروتئین p53 به‌عنوان نگهبان ژنوم می‌باشـد ازدست‌رفتن عملکرد آن در ۵۰ درصد از سـرطان‌های پیشرفتهٔ انسـانی دیده می‌شود[۲۷]. P۵۳ به‌عنـوان یـک فاکتور نسـخه‌برداری در تنظیم بیان بسـیاری از ژن‌های پرواکسیدان و آنتی‌اکسـیدان نقش دارد و نقص عملکرد آن به‌هم‌خوردن هموستاز ردوکس، ایجاد استرس اکسیداتیو و نهایتاً موتاژنز و رشد تومور را درپی دارد. بدین جهت به‌نظر می‌رسـد ژن مربوط‌به آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل سوپراکساید، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به‌عنوان تومورساپرسور عمل می‌کند و نقص عملکرد آن‌ها منجر به افزایش ROS در سـلول‌های سرطانی می‌شود[۲۳و۲۸].

مسیر پیام‌رسانی PI3K/Akt نقش مهمی در سرطان‌های انسانی دارد و بسـیاری از اجزای این مسـیر در تومورهای انسـانی جهش پیدا کرده است. Akt یا پروتئین‌کیناز B (PKB)[۵] در اغلب سرطان‌ها دچار افزایش فعالیت می‌گردد و منجر به افزایش بقاء سلول‌های توموری و مقاومت آن‌ها به شـیمی‌درمانی می‌شـود. به‌نظر می‌رسـد Akt فرآیند تولید ROS را از چنـد طریق القاء می‌کند اول اینکه از طریق مسـیرهای سـیگنالینگ ERK1/2 و Rac به‌عنوان محـرک گلیکولیز عمل می‌کند و همزمان با افزایش مصرف اکسـیژن، متابولیسم اکسیداتیو را در میتوکندری افزایش می‌دهد و درواقع به‌طور غیرمستقیم ROS داخل سلولی را افزایش می‌دهد. دوم اینکه Akt1,2 خود به‌طور مسـتقیم بسیاری از آنزیم‌های متابولیک را تنظیـم می‌کنـد. سـوم اینکه، Akt با فسفریلاسـیون فاکتور نسـخه برداری FOXO[۶] باعث مهار آن و تجمع ROS می‌شـود. فاکتور نسـخه برداری FOXO3a در نسـخه-برداری آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو از قبیل mnSOD و کاتـالاز و ترکیب آنتی‌اکسـیدان سسـترین-۳ نقش مهمی دارد[۲۹].

در سـلول‌های سـرطانی اثرات سـوء بیولوژیکـی فاکتورهای رشـد و سـایتوکاین‌ها ازطریـق افزایـش ROS اعمال می‌شـود. بـرای مثال در سلول‌های توموری، در پاسخ به اینترفرون گاما (INF-δ) و آلفا (INF-α)، پراکسیدهیدروژن و نیتریک‌اکساید افزایش می‌یابد. فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)، فاکتور رشـد اپیدرمی (EGF)، انسولین، فاکتور رشد توموری بتـا (TGF-β)، اینترلوکیـن-۱ (IL-۱)، فاکتـور نکروزدهندهٔ تومور آلفا (TNF-α)، آنژیوتانسـین و اسیدلیزوفسـفاتیدیک نیزتشکیل سوپراکسـاید را القـاء می‌کنند. فعال شـدن K-ras Rho GTPase یا موتاسیون انکوژنیک آن نیز با افزایش تولید سوپراکساید و بروز سرطان‌های مختلف مرتبط می‌باشد. به‌نظر می‌رسد فاکتورهای رشد و K-ras جهش 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 مرحلهٔ مهم پیشـرفت تومور می‌باشد. ماکروفاژها با تحریک ترشح محرک‌های مختلفی از قبیل اینترفرون آلفا، تولید ROS در سـلول‌های تومـوری را القا می‌کنند. تولید ROS توسـط نوتروفیل‌هـا و ماکروفاژها مکانیسـمی برای کشتن سـلول‌های توموری می‌باشـد. در این سلول‌ها، فعالیت سیسـتم NADPH اکسـیداز منجر به تشـکیل سوپراکساید و آسیب به سلول بیگانه می‌شود. ماکروفاژهای فعال‌شده نیتریک‌اکساید نیز تولید می‌کنند که با سوپراکساید واکنش می‌دهند و رادیکال‌های پراکسی نیتریت 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 سـلول‌ها به‌وسیلهٔ مکانیزم‌های آنتی اکسیدانی متعددی حفظ می‌شود. نقص عملکرد هرکدام از این مکانیزم‌ها وضعیت اکسیداسـیون-احیاء سلولی را به نفع اسـترس اکسیداتیو تغییر می‌دهند[۳۵]. سـلول‌ها به‌وسیلهٔ آنزیم‌ها (سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌پراکسـیداز، گلوتاتیـون ردوکتاز و گلوتاتیون S- ترانسـفراز) و مولکول‌های آنتی‌اکسیدان داخل سلولی(گلوتاتیون، سلنیوم، ویتامین‌های E، C و A) از آسـیب اکسـیداتیو درامان می‌مانند ولی گاهی محرک‌های خارجی و تغییرات متابولیکی داخل سـلول منجـر به افزایش ROS و یا کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و به‌هم خوردن هموستاز ردوکس می-شود که نتیجهٔ آن مواجهه با مقدار زیادی ROS است که قابل دتوکسیفه‌شدن توسـط عوامل آنتی‌اکسـیدان داخل سلولی نیسـت[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 برروی سلول‌ها شامل آسیب DNA، اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها می‌باشد[۳۷].

لیپیدها ساختار اصلی غشاء پلاسمایی سلول‌ها را تشکیل می‌دهند و در معرض اسـترس اکسیداتیو قرار دارند. اسـیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFAs)[۷] نسـبت به تغییرات اسـترس اکسیداتیو بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون آن‌ها منجر به تشکیل آلدهیدهای فعال از قبیل مالون‌دی‌آلدهید(MDA) و ۴-هیدروکسی۲-نوننال(HNE) می شـود. مالون‌دی‌آلدهید با بازهای DNA واکنـش می‌دهد و جهش ژنی ایجـاد می‌کند ولی HNE اغلب با پروتئین‌ها واکنش می‌دهد و منجر به تغییرات عملکردی مهم پروتئین‌های پیام‌رسان از قبیل JNK و کاسپازها می‌شود[۳۸ و۳۹].

۵. **Protein kinase B**

۶. **Forkhead box protein O**

۷. **Polyunsaturated fatty acids**

اگرچه همهٔ رزیدوهای اسیدهای آمینه پروتئین‌ها می‌توانند به‌وسیلهٔ ROS/RNS اکسید شوند، ولی ریشه‌های جانبی برخی از آن‌ها مستعدتر می‌باشند؛ لیزین، آرژنین، هیستیدین، پرولین و ترئونین به اکسیداسیون با واسطهٔ فلز بسیار حساس هستند[۴۰و ۴۱]. نتیجهٔ اکسیداسیون زنجیرهای جانبی پروتئین‌ها مشتقات کربونیل است که به‌سهولت در مایعات بدن قابل ردیابی می‌باشند و سطح پروتئین کربونیل به‌عنوان مارکر کمی اکسیداسیون پروتئین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد[۴۲]. رادیکال های مهمی که پروتئین‌ها را مورد حمله قرار می‌دهند شامل رادیکال های هیدروکسیل و پراکسی‌نیتریت می‌باشند. رادیکال پراکسی‌نیتریت باعث نیتروزیلاسیون برگشت‌ناپذیر اسیدآمینه‌های سیستئین، متیونین، تریپتوفان و ازدست‌رفتن عملکرد پروتئین می‌شود[۴۳]. نیتروزیلاسیون ریشه‌های تیروزین برخی پروتئین‌ها فرآیند فسفریلاسیون یا استیلاسیون آن‌ها را مختل می‌کند و منجر به سوء عملکرد پروتئین می‌شود[۴۴].

DNA ای هسته‌ای در مقایسه با لیپیدها و پروتئین‌ها نسبت به تغییرات اکسیداتیو مقاوم‌تر می‌باشد دلیل این امر ساختار دوبل هلیکس، غلاف حفاظتی هیستون و حضور سایر پروتئین‌ها می‌باشد. ولی تحت شرایط اکسیداتیو بالا ROS روی پورین‌ها، پیریمیدین‌ها و پروتئین‌های کروماتین تأثیر می‌گذارد و باعث تغییر باز، تغییر DNA و جهش ژنی می‌شود. رادیکال هیدروکسیل با باز گوانین DNA واکنش می‌دهد و ۸- هیدروکسی‌دزوکسی‌آدنوزین تولید می‌کند که درنهایت منجربه تغییر جفت GC به TA و جهش نقطه‌ای می‌شود. این تغییر قوی‌ترین شاهد در تأیید نقش استرس اکسیداتیو در فرآیند کارسینوژنز می‌باشد. ۸- هیدروکسی‌دزوکسی‌گوانوزین(OHdG-8) حاصل از اکسایش DNA به عنوان مارکر استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد[۴۷- ۴۵].

مکانیسم عمل ROS در تنظیم فرآیندهای سلولی

۱.تغییرات اکسیداتیو مستقیم: رادیکال‌های هیدروکسیل و نیتریک اکساید منجربه تغییر مستقیم پروتئین‌ها می‌شوند این تغییرات جزء تغییرات پس از ترجمهٔ پروتئین‌ها محسوب می‌شود. اسیدآمینه‌های مختلف حساسیت‌های متفاوتی به تغییرات اکسیداتیو دارند اسیدآمینه‌های حاوی سولفور (متیونین و سیستئین) بیشتر از بقیه هدف اکسیداسیون مستقیم می‌باشند. اکسیداسیون ملایم سیستئین باعث گلوتاتیونیلاسیون برگشت پذیر آن می‌شود[۴۸]. اینگونه تغییرات اکسیداتیو ملایم در عملکرد بسیاری از پروتئین‌ها همانند p53، تیوردوکسین ردوکتاز RAS، IKB[8] Akt و پروتئین تیروزین‌فسفاتازها نقش مهمی دارد[۴۹]. اکسیداسیون برگشت‌پذیر کالمودولین برای عملکرد آن به‌عنوان پروتئین تنظیم‌کنندهٔ کلسیم ضروری می‌باشد[۵۰]. استرس اکسیداتیو شدید، اثرات مخرب تری به‌جا می‌گذارد، روند تشکیل اسیدسولفینیک، اسیدسولفونیک و کربونیلاسیون پروتئین‌ها را تسریع می‌کند. عملکرد پروتئین‌هایی از قبیل HSP, ANT[9] و Bcl2 به‌وسیلهٔ کربونیلاسیون مختل می‌گردد و تیروزین‌نیتراسیون p38MAPK, JNK[10] و PKC مانع فعالیت آن‌ها می‌شود[۵۱].

۲.تنظیم رونویسی: تعدادی از فاکتورهای رونویسی در محل اتصال به DNA، دارای ریشه‌های سیستئین حساس به اکسیداسیون احیاء می باشند[۵۲]. اکسیداسیون ریشهٔ تیول پروتئین های NF-KB, AP-1[12], HIF-1[11] و p53 مانع اتصال آن‌ها به DNA می‌شود[۵۳]. آنزیم هیستون‌داستیلاز(HDAC) و برخی کواکتیواتورهای نسخه‌برداری از قبیل CBP/p[300] که فعالیت هیستون استیلازی دارند از جملهٔ دیگر پروتئین‌های مهم حساس به ردوکس هستند[۵۴].

۳.تنظیم وابسته به برهمکنش پروتئین‌های حساس به ردوکس: بسیاری از پروتئین‌ها از طریق برهمکنش با سایر پروتئین‌ها پایدار می‌شوند و اغلب تنظیم‌کنندهٔ منفی یکدیگر می‌باشند. استرس اکسیداتیو با تأثیر بر پارتنرها، باعث جداشدن آن‌ها از کمپلکس پروتئینی و فعال شدن آن‌ها می‌شود. از این زوج پروتئین‌ها می‌توان به،JNK-GST ، ASK-TRX JNK-p۵۳ و Nrf2-Keap1[13] اشاره نمود[۵۵].

۴.تنظیم آنزیم‌های مودیفه‌کننده: وضعیت فسفریلاسیون برخی پروتئین‌ها عامل مهمی در تنظیم فعالیت آن‌ها و درنتیجه تعادل بین فعالیت کینازها و فسفاتازها می‌باشد. اکسیداسیون عامل تیول گیرندهٔ تیروزین‌کینازها (RTKs) منجر به فعال شدن آن‌ها می‌شود درحالی‌که اکسیداسیون پروتئین تیروزین‌فسفاتازها(PTPase) عملکرد آن‌ها را مهار می‌کند[۵۶]. علاوه‌بر PTPaseها، لیپیدها فسفاتاز PTEN[14] و فسفاتاز با وزن مولکولی پایین cdc۲۵ نیز با روش مشابهی تنظیم می‌شوند[۵۷].

۵.تنظیم ترن‌اور پروتئین: میزان ترن‌اور یک پروتئین می‌تواند تحت‌تأثیر شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی باشد. بسیاری از پروتئین‌ها به‌وسیلهٔ سیستم یوبیکوئیتین- پروتئازوم تجزیه می‌شوند درحالیکه برخی پروتئین ها، سوبسترای کاسپازها می-باشند[۵۸]. تحت تأثیر شرایط اکسیداسیون احیاء خاصی، پروتئین‌هایی از قبیل Bcl2 و p53 فسفریله می‌شوند و اتصال آن‌ها به E۳- یوبیکوئیتین‌لیگاز اختصاصی شان افزایش می‌یابد این عمل باعث تسریع تجزیهٔ پروتئین به‌وسیلهٔ پروتئازوم می‌شود[۵۹].

تأثیر ROS بر مسیرهای پیام‌رسان دخیل در فرآیندهای سلولی

اخیراً نقش ROS در فرآیندهای پیام‌رسانی سلولی مورد توجه فراوان قرار گرفته است[۶۰]. تأثیرROS بر مسیرهای پیام‌رسانی به‌دلیل تأثیر

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

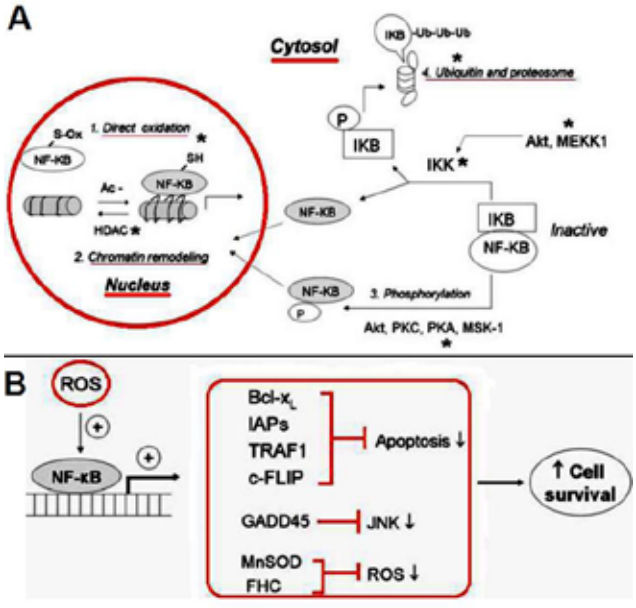
۱۳. nuclear factor E۲-related factor ۲

۱۴. Phosphatase and tensin homolog

متفاوت بر انواع فاکتورهای نسـخه‌برداری به‌صـورت تغییرات مثبت و یا منفی می‌باشد. در حالت کلی ROS حتی در سلول‌های نرمال بسیاری از مسـیرهای پیام‌رسانی دخیل در تقسیم سلولی و تمایز را تحت تأثیر قرار می‌دهد[۶۱]. مخصوصاً آنیون سوپراکسـاید و نیتریک‌اکسـاید باDNA، پروتئینها و لیپیدها واکنش می‌دهد و سـاختار 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 قرارمی‌دهد و منجر به سوء عملکرد سلولی، ترانسفورماسیون و یا مرگ سلولی می‌شود[۶۲].

گونه‌هـای فعال اکسـیژن و بخصـوص پراکسـیدهیدروژن در چندین آبشار انتقال پیام سـلول‌های سرطانی از قبیل رشدونمو سلولی، آنژیوژنز، متاسـتاز، متابولیسـم گلوکز، تمایز و التهاب دخالت دارد و به‌عنوان یک عامل انکوژنیک، در شـروع، توسعه، پیشـرفت، تهاجم و متاستاز سرطان نقش مهمی دارند[۶۳]. پراکسـید هیدروژن باعث اکسیداسـیون برگشت پذیـر پروتئین‌های هدفـی مانند تیروزین-فسـفاتازها، پروتئین تیروزین کینازها، رسـپتور تیروزین‌کینازها و برخی فاکتورهای رونویسی می‌شود. علاوه‌براین برخی از فاکتورهای نسـخه‌برداری دخیل در رونویسـی ژن‌ها نیز نسـبت‌به تغییرات اسـترس اکسیداتیو حسـاس می‌باشند، عمدهٔ این فاکتورها شامل HIF -1α و AP-1، Nrf_2 ، NF-κB می‌باشند که در بقاء و مرگ سلولی نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

تنظیم اکسـیداتیو مسـیر NF-κB: مسـیر NF-κB در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در تکثیر و بقاء سـلولی و مقاومت به آپوپتوز نقش مهمی دارد و در بسـیاری از سرطان‌های انسـانی فعالیت غیرعادی و دائمی آن دیده می‌شـود. القاءکننده‌های فعالیت NF-κB متنوع هسـتند و عمدتاً شامل گونه‌های فعال اکسیژن، فاکتور نکروزدهندهٔ تومور آلفا، (TNF-α) اینترلوکین ۱-بتا و اشعه‌های یونیزان می‌باشد. NF-κB یک فاکتور نسخه برداری حساس به شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی می‌باشد اکسیداسیون مسـتقیم سیستئین شماره ۶۲ این فاکتور، مانع اتصال آن به DNA می شود درحالی‌که احیاء آن توسط تیوردوکسین باعث اتصال آن به DNA و شروع فرآیند نسخه‌برداری ژن‌های هدف می‌شود. گلوتاتیونیلاسیون و S-نیتروزیلاسیون از دیگر تغییرات اکسیداتیو NF-κB می‌باشد[۲۳]. علاوه بر تغییرات سـاختاری NF-κB، تغییرات غیرمسـتقیم نیز فعالیت آن‌را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مطالعات مختلف حاکی از نقش کلیدی هیستون داستیلازها (HDACs) در انواع سرطان‌ها می‌باشد[۶۴]. ROS با تأثیر مسـتقیم بر HDACs، در مولکول DNA سـوپرکویل ایجاد می‌کند و مانع اتصال NF-κB به DNA و فعالیت نسـخه‌برداری ژن‌های مربوطه می‌شـود. اعضاء خانوادهٔ NF-κB به‌وسـیلهٔ IκB (مهارکنندهٔ کاپابتا) در سـیتوزول غیرفعال می‌شوند. سـایتوکاین‌ها و ROS با فعال‌کردن IκB کینازها (IKK)، IκB را فسفریله می‌کنند و باعث انفصال آن از NF-κB می‌شـوند. NF-κB آزاد به هسته می‌رود و نسخه‌برداری ژن‌های هدف را فعال می‌کند. این ژن‌ها شامل اعضاء خانوادهٔ پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl2، همولوگ غیرفعال کاسـپازها (FLIP)[۱۵]، مهارکننده‌های کاسـپاز از قبیـل IAPs، فاکتـور مرتبـط بـا رسـپتور TNF-α ($TRAF_1$)، آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل mnSOD، زنجیر سنگین فریتین و $Gadd_{45}$ می‌باشـد که مرگ سلولی با واسطهٔ JNK را مهار می‌کنند. IκB فسفریله به‌وسـیلهٔ سیسـتم یوبی‌کوئیتین-پروتئازوم تجزیه می‌شـود با توجه به حساس بودن سیسـتم یوبی کوئیتین-پروتئازوم به شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی و تأثیر آن بر پایداری IκB، فعالیت NF-κB نیز تحت تأثیر قرار می‌گیرد(تصویر۲) [۲۳].

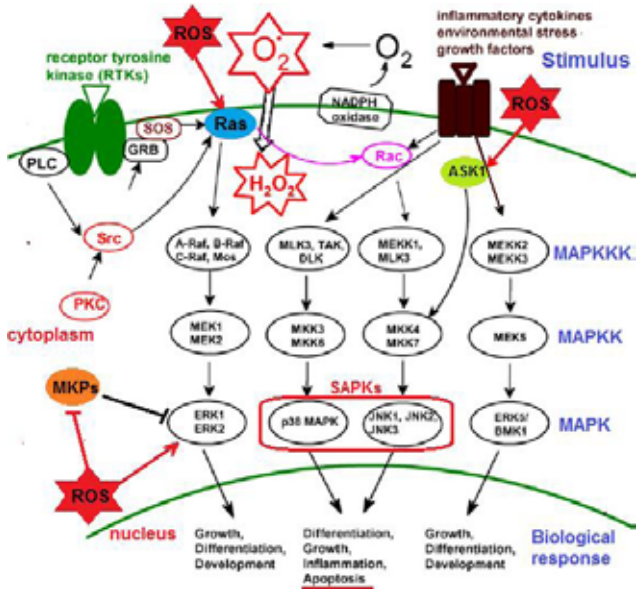


تصویـر۲: تأثیر اکسیداسـیون بـر عملکـرد NF-κB (A) و نقش آن در بقاء سـلولی(B) (توضیح در متن) Antioxid Redox Signal (Trachootham D, ۲۰۰۸)

نقش ROS در تنظیم مسـیر MAPK: مسیر پروتئین‌کینازهای فعال شونده با میتوژن (MAPK)[۱۶] در رشد و تقسیم سلولی، پاسخ به استرس، آپوپتوز وکنترل بیان ژن نقش مهمی را ایفا می‌کند. مکانیسم عمل خانوادهٔ MAPK به‌صورت آبشـاری می‌باشـد بدین‌صورت‌کـه تحریک گیرندهٔ فاکتور رشـد (گیرنده تیروزیـن کیناز) باعث فعال شـدن پروتئین Ras می‌شود و سـپس پروتئین‌های MAPKK، MAPKKK و MAPK به‌طور آبشاری و با فرآیند فسفریلاسیون فعال می‌شوند. خانوادهٔ MAPK از کیناز تنظیم‌شـونده با سیگنال خارج سلولی JNK[18]، (ERK1/2)[17]

۱۵. FLICE-inhibitory protein
۱۶. Mitogen-activated protein kinases
۱۷. Extracellular signal-regulated kinase
۱۸. c-Jun N-terminal kinases

p^{38}، ERK3/4 و ERK5/BMK تشکیل‌شده‌است. JNK و p^{38} بعضاً باهم در یک گروه تحت عنوان پروتئین‌کینازهای فعال‌شونده با استرس (SAPKs)[۱۹] قرار می‌گیرند که در پاسخ سلول به انواع استرس‌ها مانند سیتوکین‌ها، شوک اسمزی و آسیب مکانیکی نقش مهمی دارند[۶۵و۶۶]. شواهد متعدد نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو، مسیر ERK را فعال می‌کند به‌طوری‌که در پاسخ به استرس اکسیداتیو ملایم، باعث تسریع رشد سلولی می‌شود درحالی‌که در شرایط آسیب اکسیداتیو، SAPKs باعث القا آپوپتوز از مسیر داخلی و خارجی و همچنین نکروز می‌شوند. درمورد نحوهٔ تأثیرROS بر ERK1/2 و القاء پرولیفراسیون سلولی نیز شواهدی در دست است که نشان می‌دهد Ras به‌عنوان فعال‌کنندهٔ ERK1/2، به‌طور مستقیم در محل سیستئین ۱۱۸ اکسید می‌شود و قابلیت تبدیل GDP/GTP آن مهار می‌شود (تصویر۳). شواهد دیگر نشان می‌دهد استرس اکسیداتیو با تأثیر مستقیم بر Ras باعث S- نیتروزیلاسیون و گلوتاتیوناسیون و فعال شدن آن می‌شود علاوه‌براین P^{90RSK} به‌عنوان کیناز بالادست ERK1/2، مستقیماً به‌وسیلهٔ ROS فعال می‌شود[۷۰-۶۷]. KROS در طی پیشرفت سرطان تخمدان باعث تجزیهٔ ناظم منفی ERK1/2 - فسفاتاز شمارهٔ۳ MAPK (MKP3) - می‌شود که در این حالت منجر به فعالیت بی‌رویهٔ ERK1/2 و تومورژنیسیتهٔ سلول‌های سرطان تخمدان می‌شود[۷۱].



تصویر۳: تنظیم ردوکس مسیر سیگنالینگ MAPK: ROS با تأثیر بر ASK۱، Ras و فسفاتاز شمارهٔ۳ MAPK (MKP۳) سیگنال‌های بقاء و مرگ سلولی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد.

تنظیم اکسیداتیو مسیر PI3K/Akt: گیرنده‌های تیروزین‌کیناز شبکه‌ای از پاسخ‌های پیام‌رسانی را ایجاد می‌کنند که یکی از آن‌ها مسیر PI3K/Akt می‌باشد. انتقال سیگنال از طریق مسیر PI3K/Akt نقش بسیار مهمی در تنظیم رشد سلولی، پرولیفراسیون، بقاء و تحرک سلولی دارد[۷۲]. تأثیر Akt بر رشد و بقاء سلولی از طریق فسفریلاسیون و غیرفعال‌شدن سوبستراهایی از قبیل پروتئین‌های پروآپوپتوتیک Bad، Bax، Bim و فاکتور نسخه‌برداری FOXO3a اعمال می‌گردد[۷۳]. به طورکلی فعالیت این مسیر به‌وسیلهٔ تغییرات اکسیداتیوفسفاتازهای وابسته به سیستئین (CDPs) و پروتئین‌کینازها تنظیم می‌شود. فسفاتازهای وابسته به سیستئین، خانوادهٔ بزرگی از آنزیم‌ها را تشکیل می‌دهند که در محل کاتالیتیک خود دارای ریشهٔ 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)[۲۰] می‌باشند[۷۴].

فعالیت Akt به‌وسیلهٔ کینازهای PDK-1[۲۱]، mTOR[۲۲] 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، ۳و۴و۵ فسفاتیدیل اینوزیتول‌تری‌فسفات (PIP3) تولید می‌کند که به‌عنوان لنگر غشایی عمل می‌کند. درحالی‌که PTEN به‌عنوان فسفاتاز وابسته به سیستئین، تنظیم‌کنندهٔ منفی PIP3 می‌باشد و فعالیت Akt را مهار می‌کند. بنابراین غیرفعال‌شدن اکسیداتیو PTEN به‌وسیله پراکسیدهیدروژن و سوپراکساید، باعث غیرفعال‌شدن اکسیداتیو مسیر PI3K/Akt می‌شود درصورتی‌که احیاء PTEN اکسیدشده به وسیلهٔ 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 فعال‌شدن این مسیر می‌شود. غیرفعال شدن تنظیم‌کننده‌های منفی گیرندهٔ تیروزین‌کیناز PTPaseها - منجربه فعال‌شدن مداوم مسیر پیام‌رسانی PI3K/ Akt می‌شود. شرایط اکسیداتیو منجر به تشکیل پل‌دی‌سولفیدی بین سیستئین ۲۹۷ و ۳۱۱ در دمین کینازی Akt و غیرفعال‌شدن آن می‌شود. (تصویر۴) [۸۰-۷۶].

تأثیر استرس اکسیداتیو بر مرگ سلولی و آپوپتوز

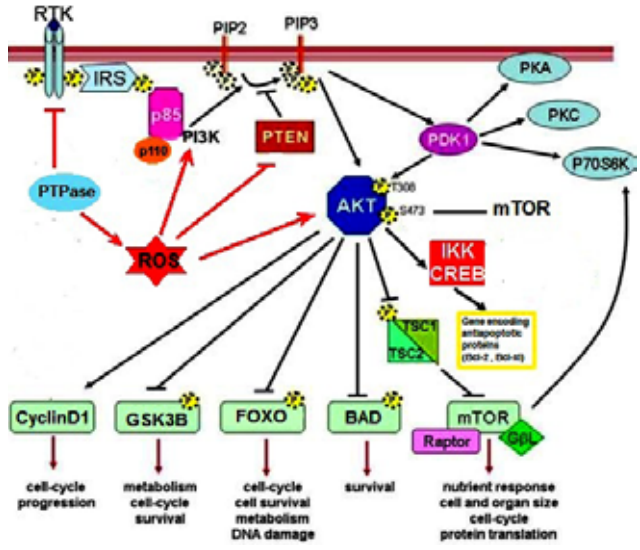
استرس اکسیداتیو با تأثیر بر مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز در تنظیم آن نقش مهمی ایفا می‌کند. افزایش ROS با تأثیر بر سیتوکروم‌c و فعال‌شدن کاسپازها منجر به مرگ سلولی می‌شود[۸۱]. متعاقب پیام‌های آپوپتوتیک، رهایش H2O2 منجربه فعال‌شدن JNKs و درنهایت کاهش بیان پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl-2 و Blc-XL می‌شود[۸۲].

۱۹. stress-activated protein kinases

۲۰. Protein tyrosine phosphatases

۲۱. ۳-Phosphoinositide-dependent protein kinase-۱

۲۲. mechanistic target of rapamycin



تصویر ۴: تنظیم مسیر PI۳K/Akt بهوسیلهٔ ROS: فسفریلاسیون پروتئین‌های هدف به وسیلهٔ Akt منجر به غیرفعال شدن پروتئین‌های پروآپوپتوتیک و فعال شدن فاکتورهای نسخه‌برداری دخیل در رونویسی ژن‌های مربوطبه پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک می‌شود. تحت شرایط استرس‌اکسیداتیو این مسیر بهوسیلهٔ فعال شدن Akt و غیرفعال شدن اکسیداتیوفسفاتارها (PTEN و PTPase) القاء می‌شود.

JNKs حتی الگوی کمپلکس $Bax\text{-}Bcl_2$ را با افزایش بیان Bax تغییر می‌دهد در این شرایط هومودیمر Bax تشکیل می‌شود و باعث به‌هم ریختن یکپارچگی غشاء میتوکندری می‌شود[۸۳]. پروتئین ASK_1 مهم‌ترین سنسور ردوکس آبشار SAPK و یکی از عوامل مهم در کنترل فعالیت P^{38} MAPK و JNK می‌باشد[۸۴]. فعالیت این پروتئین توسط برهمکنش با تیوردوکسین تنظیم می‌شود. در شرایط طبیعی سلول ASK_1 به‌صورت کمپلکس غیرفعال تیوردوکسین- ASK_1 می‌باشد ولی در اثر پیام‌های آپوپتوتیک و ROS، ریشهٔ سیستئین‌تیوردوکسین اکسید و باعث انفصال آن از ASK_1 می‌شود. ASK_1 به‌صورت مولتیمر درمی‌آید و فعالیت کینازی پیدا می‌کند که درنهایت منجربه فعال‌شدن JNK و P^{38} و شروع فرایند آپوپتوز می‌گردد[۸۵]. فعال شدن اکسیداتیو JNK منجر به فسفریلاسیون پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک Bcl- 2، Bcl-vl و Mcl-1 و مهار خاصیت آنتی‌آپوپتوتیک آن‌ها می‌شود درحالی‌که فسفریلاسیون Bmf، Bim و Bad بهوسیلهٔ JNK درنهایت موجب تسریع فعال‌شدن Bax/Bak و آپوپتوز با واسطهٔ میتوکندری می شود[۸۶و۸۷]. علاوه‌براین JNK فعال‌شده موجب جداشدن آن از p53، پایداری p53 و درنهایت ورود Bax به میتوکندری و شروع فرآیند آپوپتوز می‌گردد[۸۴]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که مسیرهای SAPK می‌توانند آپوپتوز را از طریق مسیر وابسته به گیرنده نیز القاء کنند[۸۸]. در پاسخ به استرس اکسیداتیو FOXO3a و p53 نیز از عوامل مهم در القاء آپوپتوز در سلول‌های توموری می‌باشند[۸۹]. نیتریک‌اکساید (NO) به‌دلیل فعال‌کردن گیرندهٔ مرگ Fas (CD95) و افزایش بیان لیگاند Fas (FasL)، مهار ATP سنتاز میتوکندریایی و مهار برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در القاء آپوپتوز نقش دارد[۹۰]. NO همچنین با غیرفعال کردن سیتوکروم c اکسیداز و غیرفعال‌کردن کمپلکس‌های I و II زنجیر انتقال الکترون، آپوپتوز را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد[۹۰و۹۱]. کاسپازها عضو خانوادهٔ سیستئین‌پروتئازها می‌باشند که در جایگاه فعال خود دارای ریشهٔ سیستئین حساس به اکسیداسیون، نیتروزاسیون و گلوتاتیوناسیون می‌باشند[۹۲و۹۳]. پراکسید هیدروژن با تأثیر بر سیتئین جایگاه فعال کاسپاز ۳ و ۸ باعث غیرفعال‌شدن برگشت‌پذیر آن می‌شود درصورتی‌که درمورد کاسپاز۹، موجب فعال شدن آن می‌گردد[۹۴و۹۵].

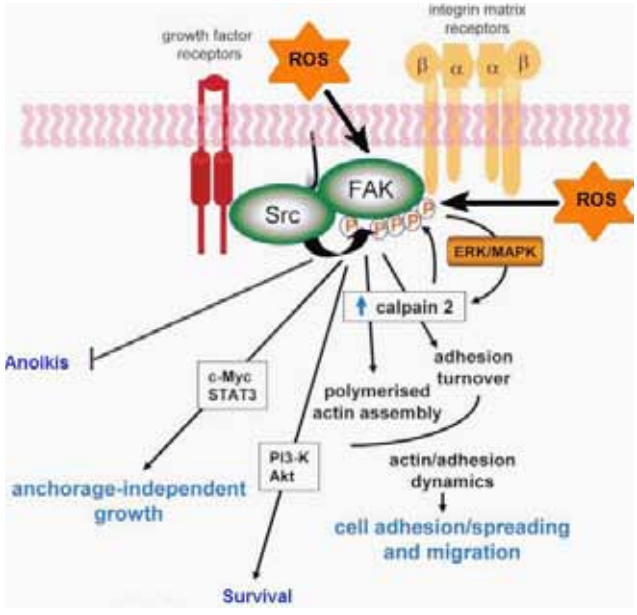
عملکردهای اختصاصی ROS در سلول‌های سرطانی

باتوجه به تأثیرROS بر مسیرهای پیام‌رسانی انتظار می‌رود که تمامی رفتارهای سلول‌های سرطانی ازقبیل رشد و نمو، پیشرفت چرخهٔ سلولی، آپوپتوز، متابولیسم انرژی، مورفولوژی سلولی، چسبندگی سلول - سلول و تحرک سلولی تحت‌تأثیر قرار گیرد[۹۶].

تأثیر بر پرولیفراسیون سلولی: ROS با تأثیر بر گیرنده‌های فاکتور رشد و مسیرهای پیام‌رسانی داخل‌سلول روند پرولیفراسیون سلولی را تسریع می‌کند. پروتئین تیروزین‌فسفاتازها (PTPs) با دفسفریله‌شدن گیرنده‌های تیروزین‌کیناز باعث غیرفعال‌شدن آن می‌شوند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد ROS با مهار پروتئین تیروزین‌فسفاتازها، باعث طولانی‌شدن عمل گیرنده های تیروزین کیناز و تکثیر بی‌رویهٔ سلول‌های توموری می‌شود[۹۷]. فسفاتاز شمارهٔ ۳ MAPK (MKP3) پروتئین ناظم منفی ERK1/2 می‌باشد. تجمع ROS درطی پیشرفت سرطان تخمدان باعث تجزیهٔ MKP3 و افزایش فعالیت ERK1/2 و درنهایت توموری شدن سلول‌های سرطان تخمدان می‌شود[۹۸]. علاوه‌بر گیرنده‌های فاکتور رشد، برخی از فاکتورهای نسخه‌برداری از قبیل NF-κB و AP-1 نیز توسط ROS فعال می‌شوند. این فاکتورها چندین ژن دخیل در رشد و نمو سلولی را فعال می‌کنند[۹۹]. گونه‌های فعال اکسیژن باعث افزایش بیان سیکلین های B1، D3، E1 و E2 می‌شوند. این سیکلین‌ها در تسریع گذر از فاز G1 به S نقش مهمی دارند[۱۰۰]. درصورتی‌که افزایش بیان و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌هایی چون سوپراکسایددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز، تقسیم سلولی سلول‌های سرطان پانکراس را مهار می‌کند[۱۰۱].

تأثیر بر تحرک سلولی و متاستاز: مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطانی مهم‌ترین مرحله در ایجاد متاستاز می‌باشد[۱۰۲]. به‌هم خوردن شرایط اکسیداسیون احیاء سلولی چه از نوع افزایش سطح ROS و چه کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیلmn-SOD، مانع چسبندگی سلول به ماتریکس خارج سلولی می‌شود و فرآیند مهاجرت سلولی و متاستاز را تسهیل می‌کند[۱۰۳]. اینتگرین‌ها، پروتئین‌های سطح سلولی هستند که در اتصال سلول‌ها به ماتریکس خارج سلولی، چسبندگی و مهاجرت سلولی

نقش دارند[۱۰۴]. اینتگرین‌ها همچنین به‌عنوان گیرنده‌های غشایی در ایجاد پیام‌های داخل سلولی دخیل می‌باشند آن‌ها با تأثیر بر آنزیم‌های سیکلواکسیژناز۲، ۵-لیپواکسیژناز (5-LOX) و میتوکندری میزان ROS سلول‌های سرطانی را افزایش می‌دهند[۱۰۵و۱۰۶]. در چنین شرایطی افزایش ROS، به‌طور مستقیم منجر به اکسیدشدن و فعال‌شدن Src، غیرفعال‌شدن فسفاتاز FAK و درنهایت تیروزین فسفریلاسیون FAK[۲۳] در محل تیروزین ۸۶۱ میشود[۱۰۷]. تیروزین فسفریلاسیون FAK مسیرهای پیام رسان منجر به پرولیفراسیون، گسترش و مهاجرت سلولی و ممانعت از مرگ سلولی آنویکیس[۲۴] و بقاء سلول‌های توموری را آغاز می‌کند[۱۰۸] (تصویر شماره ۵).



تصویر ۵: کیناز اتصال فوکال (FAK) تیروزین‌کینازی است که اتصال آن به اینتگرین باعث اتوفسفریلاسیون ریشه‌های تیروزین و فعال شدن آن می‌شود خاصیت تیروزین کینازی گاهی به‌وسیلهٔ 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 درنهایت منجر به رشد مستقل از تماس، بقاء، مقاومت به مرگ سلولی آنویکیس، گسترش و مهاجرت سلول‌های توموری می‌شود.

تأثیر بر آنژیوژنز: ادامهٔ فرآیند رشد تومور و متاستاز نیازمند خونرسانی کافی به محل و رگزایی می‌باشد. فرآیند آنژیوژنز به‌وسیلهٔ فاکتور رشد VEGF[۲۵] و فعال شدن مسیرهای پیام‌رسان JAK/STAT میانجی‌گری می‌شود.VEGF مترشحه از سلول‌های توموری در پرولیفراسیون، مهاجرت، سازماندهی مجدد اسکلت سلولی و مورفوژنز توبولی سلول‌های اندوتلیال عروق نقش محوری دارد[۱۰۹و۱۱۰]. 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-FGF،TNF، 1β 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 به‌شدت تحت‌تأثیرROS می‌باشد[۱۱۳]. درصورتی‌که مهارکننده‌های تولید ROS و یا آنتی‌اکسیدان‌ها آنژیوژنز را مهار می‌کنند[۱۱۴]. ROS با فعال‌کردن هم اکسیژناز-۱ و تولید مونوکسیدکربن 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 درنهایت منجر به مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی می‌شود. مکانیزم هایی که ضمن درنظر 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.

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, Kozlodv AV. Biological Activities of Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Oxidative Stress versus Signal Transduction. Biomolecules. 2015; 5(2): 472-84.

20. Kehrer 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 Nitrative 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.Haghdoost 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 phos phatases in H(2)O(2) 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 HJ1, 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 SC1, 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 Respunses. 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-alpha 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, Cheresh 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 embroider bodies and tumor spheroids by plant ingredients used in traditional chinese medicine. Lab Invest. 2003; 83 (1): 87–98.

114. Polytarchou 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.