REVIEW ARTICLE

The Role of Oxidative Stress in Proliferation and Cell Death

Laya Khoshtabiat[1],
Majid Mahdavi[2]

[1] MSc in Biochemistry, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

(Received December 3, 2014 ; Accepted July 28, 2015)

Abstract

During normal cellular activities Reactive Oxygen Species (ROS) and Reactive Nitrogen Species (RNS) are produced. In addition to beneficial functions they play a critical role in cell death and prevent apoptosis. Every cell is equipped with an extensive antioxidant defense system to combat the excessive production of active radicals. Oxidative stress occurs with destruction of cellular antioxidant defense in overproduction of these reactive species induced by exogenous (e.g. ultraviolet rays) and endogenous (at the cellular level where mitochondria are involved). ROS and RNS can be beneficial or harmful to cells and tissues. At physiological low levels, reactive oxygen species act as redox messengers in intracellular signaling and regulation, whereas excess ROS induce oxidative modification of cellular macromolecules, inhibit protein function, and promote cell death. A full understanding of the redox control of apoptosis induction and inhibition can develop therapeutic interventions associated with oxidative stress-related disorders. In this review, major sources of ROS and RNS in a cell, the role of these reactive species in normal physiology and carcinogenesis and the role of antioxidants as regulators of oxidative stress and apoptosis are described. Finally, the relationship between oxidative stress and cell death are demonstrated.

Keywords: Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species, oxidative stress, antioxidant defense, cell death

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(127): 130-145 (Persian).

مـــروری

مجـلـــه دانـشـــگاه عـــلـــوم پـــزشـــکـــی مـــازنـــدران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۷ مرداد سال ۱۳۹۴ (۱۴۵-۱۳۰)

نقش استرس اکسیداتیو در تکثیر بی‌رویه و مرگ سلولی

لعیا خوش طبیعت[1]

مجید مهدوی[2]

چکیده

در طی فعالیت‌های نرمال سلولی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و نیتروژن (RNS) تولید می‌گردد که علاوه بر عملکردهای سودمند، در مرگ سلولی وجلوگیری از آپوپتوز نقش حیاتی دارند. هرسلول برای جلوگیری از تولید بیش از حد این رادیکال‌های فعال به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مجهز می‌شود. استرس اکسیداتیو طی تولید بیش از حد این گونه‌های فعال، ناشی از منشا خارجی (به عنوان مثال اشعه ماورای بنفش) و منشا درونی (در سطح سلولی که میتوکندری درگیر است)، با تخریب دفاع آنتی‌اکسیدانی سلولی اتفاق می‌افتد. ROS و RNS می‌تواند برای سلول‌ها و بافت‌ها سودمند و یا مضر باشد. گونه‌های فعال اکسیژن در سطح پایین فیزیولوژیکی به عنوان پیام رسان ردوکس (اکسیداسیون و احیا)، در پیام رسانی و تنظیم درون سلولی عمل می‌کنند در حالی که در سطح بالا در ماکرومولکول‌ها تغییرات اکسیداتیو ایجاد کرده و باعث مهار عملکرد پروتئین و پیشبرد مرگ سلولی می‌شوند. درک کاملی از کنترل ردوکس و تاثیر آن در القاء و مهار آپوپتوز می‌تواند اقدامات درمانی در ارتباط با اختلالات مرتبط با استرس اکسیداتیو را توسعه دهد. در این مقاله منابع اصلی گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در سلول، نقش آن‌ها در فیزیولوژی طبیعی بدن و سرطان زایی، و عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان تنظیم کننده استرس اکسیداتیو و آپوپتوز (به عنوان نوعی از مرگ سلولی) مورد بررسی قرار گرفته و در نهایت ارتباط آن‌ها با مرگ سلولی بیان می‌گردد.

واژه های کلیدی: گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، گونه‌های فعال نیتروژن (RNS)، استرس اکسیداتیو، دفاع آنتی‌اکسیدانی، مرگ سلولی

مقدمه

اصطلاحات " رادیکال های آزاد " و " گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن " توجه تعداد زیادی از محققین را به خود جلب کرده است. در طی فعالیت‌های نرمال سلولی، گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن تولید می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یک اصطلاح کلی است که بیان‌کننده رادیکال‌های آزاد مشتق از O_2 مانند سوپراکسید آنیون ($O_2^{\circ-}$) و رادیکال های هیدروکسیل (HO°) و گونه‌های غیر رادیکالی مشتق از O_2 مانند هیدروژن پراکسید (H_2O_2) می باشد که به طور مداوم در ارگانیسم‌ها تولید می‌شوند(۱). آن‌ها گونه‌های گذرایی هستند که قدرت واکنش‌پذیری بالایی با DNA، پروتئین، کربوهیدرات و لیپیدها دارند. گونه‌های نیتروژن فعال (RNS) نیز اکنون به عنوان رادیکال‌های مهم شناخته شده‌اند. اکسید نیتریک (NO) درون سلولی از اکسیداسیون L-آرژنین به L- سیترولین توسط NO سنتاز وابسته به NADPH تشکیل می‌شود که

مولف مسئول: مجید مهدوی-تبریز: دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه زیست شناسی جانوری E-mail: majid.mahdavi@tabrizu.ac.ir

۱. کارشناس ارشد بیوشیمی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۳/۹/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۹/۱۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۴/۵/۶

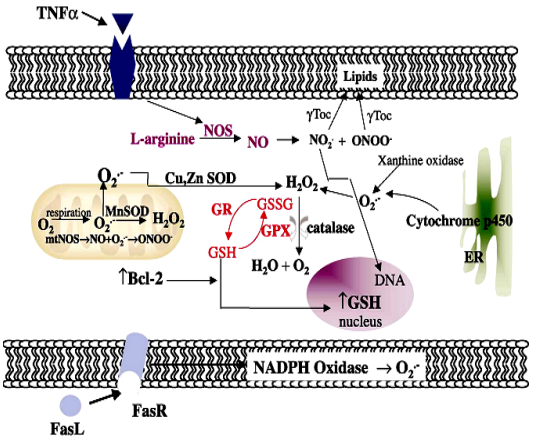
می‌تواند در اشکال مختلف شیمیایی (NO^-، NO^+ و NO°) وجود داشته باشد. هم‌چنین NO می‌تواند با $O_2^{\cdot-}$ ترکیب و به فرم پراکسی نیتریت ($ONOO^-$) درآید که می‌تواند آزادانه در داخل و میان سلول‌ها پخش شود(۲). به این ترتیب اکسید نیتریک دامنه گسترده‌ای از واکنش‌های شیمیایی و نقش‌های بیولوژیکی مختلفی از جمله تنظیم سیستم قلبی عروقی، شل شدن عضلات صاف، انتقال ترانسمیتورها، انعقاد و تنظیم ایمنی بدن را دارا می‌باشد. ROS و RNS علاوه بر عملکردهای سودمند، در آپوپتوز و سرطان که دو پدیده متضاد هستند نقش گسترده‌ای ایفا می‌کنند(۳).

آنتی‌اکسیدان‌های سلولی در سم‌زدایی این گونه‌ها نقش دارند، اما هنگامی که تعادل از بین رفته باشد شرایط استرس اکسیداتیو ایجاد می‌گردد. در صورت ادامه یافتن استرس اکسیداتیو، آسیب‌های اکسیداتیو به بیومولکول‌های حیاتی (مانند ژنوم) وارد آمده و تجمع این آسیب‌ها منجر به برخی اثرات بیولوژیکی مانند تغییر در انتقال پیام، تغییر در بیان ژن، میتوژن، تبدیل[1]، جهش و مرگ سلولی می‌گردد(۴). سلول‌ها به سرعت با مجموعه‌ای از پاسخ‌های بیولوژیکی مانند توقف چرخه سلولی، رونویسی از ژن، شروع مسیرهای انتقال پیام و تعمیر آسیب‌های DNA به عدم تعادل ردوکس (اکسیداسیون و احیا) پاسخ می‌دهند. به احتمال زیاد این وقایع اوّلیه تعیین کننده سرنوشت سلول خواهد بود که آیا سلول دچار نکروز، پیری یا آپوپتوز گردد و یا زنده مانده و تکثیر یابد(۵).

منابع ROS و RNS

ROS و RNS می‌توانند در اندامک‌های مختلف در پاسخ به محرک‌های گوناگون تولید گردند. منابع اصلی تولید ROS شامل میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی، غشای پلاسمایی و سیتوزول می‌باشد. در حالی که RNS اغلب در سیتوزول یا میتوکندری تشکیل می‌گردد (تصویر شماره ۱).

1. Transformation



تصویر شماره ۱: منابع درون سلولی تولید ROS و مکانیسم‌های دفاعی. NOS، نیتریک اکسید سنتاز؛ SOD، سوپراکسید دیسموتاز؛ GPX، گلوتاتیون پراکسیداز؛ GR، گلوتاتیون ردوکتاز؛ $ONOO^-$، پراکسی نیتریت؛ $O_2^{\cdot-}$، سوپراکسید آنیون؛ NO، نیتریک اکسید؛ GSH، فرم احیا گلوتاتیون؛ GSSG، فرم اکسید شده گلوتاتیون؛ TNFα، فاکتور نکروزه کننده آلفا؛ FasL، لیگاند Fas؛ FasR، رسپتور Fas؛ ER، شبکه آندوپلاسمی

میتوکندری شایع‌ترین منبع ROS در طول آپوپتوز است. در سلول‌های نرمال ۱ تا ۲ درصد از الکترون‌های منتقل شده توسط زنجیره انتقال الکترون میتوکندری از این مسیر نشت کرده و تولید رادیکال‌های آزاد سوپراکسید می‌کنند. کمپلکس I (NADH- یوبی‌کوئیتین اکسیدوردوکتاز) و کمپلکس II (یوبی‌کوئینل سیتوکروم C اکسیدوردوکتاز) دو جایگاهی هستند که سوپراکسید تولید می‌شود(۶). غلظت بالای آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Mn-SOD) در ماتریکس میتوکندری بیانگر این است که سطح تولید سوپراکسید در میتوکندری بالا بوده ولی قبل از آن که منجر به آسیب سلول شود خنثی می‌گردد. در شبکه آندوپلاسمی NADPH سیتوکروم P_{450} ردوکتاز می‌تواند با انتقال الکترون به O_2 تولید $O_2^{\cdot-}$ کند. سوپراکسید هم‌چنین طی فعالیت سیستم دساچوراز که باندهای C-C را به اسیدهای چرب غیراشباع تبدیل می‌کند، شکل می‌گیرد(۷). تولید هیدروژن پراکسید از طریق دیسموتاسیون سوپراکسید انجام می‌گیرد. بنابراین هر سیستم بیولوژیکی تولید کننده $O_2^{\cdot-}$ قادر به تولید H_2O_2 خواهد بود. با این وجود، آنزیم‌هایی در پراکسی‌زوم قرار دارند که H_2O_2 را بدون وساطت $O_2^{\cdot-}$ تولید می‌کنند(۸).

NO توسط خانواده‌ای از آنزیم‌ها که نیتریک اکسید سنتاز (NOS) نامیده می‌شود تولید می‌گردد. سه فرم اصلی از این آنزیم وجود دارد. NOS عصبی (nNOS)، NOS اندوتلیال (eNOS) که وابسته به کالمودولین/Ca^{2+} بوده و در طیف وسیعی از سلول‌ها بیان می‌شود و NOS القایی (iNOS) که وابسته به Ca^{2+} است و در سلول‌های سیستم ایمنی و سلول‌های دیگر در پاسخ به محرک‌ها بیان می‌گردد(۹). nNOS، eNOS و iNOS همگی در سیتوپلاسم وجود دارند. به تازگی NOS میتوکندریایی (mNOS) کشف شده که منحصراً در میتوکندری وجود دارد. همه آنزیم‌های NOS به صورت همودایمر عمل می‌کنند. آن‌ها نیتریک اکسید را طی دو مرحله اکسیداسیون آمینواسید L-آرژنین به L-سیترولین و NO از طریق ترکیب واسط N-هیدروکسی L-آرژنین تولید می‌کنند(۱۰). بسیاری از سیگنال‌های آپوپتوزی از طریق ROS و RNS ایجاد می‌شوند. بنابراین، رسپتورها (گیرنده‌ها)، پروتئین‌های درون سلولی مانند فاکتورهای رشد، سیستم ایمنی، مسیرهای متابولیکی و مواد شیمیایی خارجی همگی قادر به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیتروژن در سلول هستند.

رسپتور

فاکتور نکروزه کننده‌ی تومور الفا (TNFα) می‌تواند به رسپتور فاکتور نکروزه‌کننده تومور TNFR1 یا TNFR2 متصل شود. اتصال TNFα به TNFR1 منجر به تولید ROS و RNS در بسیاری از سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود. تولید ROS توسط TNFα برای پاسخ سیستم ایمنی فاگوسیتوزی در مقابل تهاجم عوامل بیماری‌زا حیاتی است. اثبات شده است که اتصال TNFα به TNFR1 بیان iNOS را القا می‌کند که منجر به فعال شدن کاسپازها و آپوپتوز می‌گردد(۱۱). یافته‌های دیگر نشان می‌دهد که TNFα از طریق تشکیل سرآمید، eNOS را فعال می‌کند که تولید NO در این سیستم باعث مهار آپوپتوز می‌شود. این نتایج متناقص به طور برجسته‌ای اثر دوگانه RNS و ROS را در سلول‌های مختلف نشان می‌دهد(۱۲). گیرنده‌های Fas یکی دیگر از اعضای فوق خانواده TNFR هستند. لیگاند طبیعی آن لیگاند Fas است. اتصال لیگاند Fas به رسپتور Fas باعث القای آپوپتوز ازطریق کاسپاز ۳ و ۸ می‌شود.ROS در طی آپوپتوز از طریق Fas و فعال شدن NADPH-اکسیداز، به عنوان منبع اولیه ROS، تولید می‌شود(۱۳).

فاکتورهای رشد

فاکتورهای رشد درحالت کلی برای بقا و تکثیر سلولی در سلول‌های پستانداران مورد نیاز هستند. سلول‌های غیر سرطانی در غیاب فاکتور رشد به روش آپوپتوز خواهند مرد. فاکتور رشد عصبی (NGF) برای زیستایی اغلب سلول‌های عصبی ضروری است. حذف NGF منجر به فعال شدن آنزیم NADPH اکسیداز و القای آپوپتوز می‌گردد(۱۴). تولید ROS به دنبال حذف فاکتور رشد، برای فاکتور رشد اپی‌تلیال نیز ثبت شده است(۱۵).

سیستم ایمنی

RNS/ROS نقش مهمی درسیستم ایمنی‌بازی می‌کنند. فاگوسیت‌ها از جمله ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها به ترتیب قادر به تولید مقدار زیادی ROS/RNS هستند. این رادیکال‌های آزاد برای فاگوسیتوز ضد میکروبی و پاسخ ایمنی مهم است(۱۶). گزارش شده است که تولید NO برای القای آپوپتوز توسط ماکروفاژها در برخی سلول‌ها ضروری است(۱۷).

برخلاف NGF و EGF، اینترلوکین 1B و رسپتور T-cell (TCR) مولکول‌های پروآپوپتوزی هستند. آپوپتوز در آستروسیت توسط IL1B و با تولید NO انجام می‌گیرد که مهار NOS تا حدی می‌تواند منجر به مهار آپوپتوز در این سلول‌ها گردد. سلول‌های β جزایر لانگرهانس برای القای بیان iNOS و تولید NO نیاز به اتصال IL1B و IFNγ به رسپتورهای مربوطه دارند(۱۸). NOS همچنین در مرگ توسط TCR نقش دارد. در تیموس تحریک TCR منجر به حذف CD_4 و CD_8 دوبار مثبت تیموسیت‌ها می‌شود که بیان iNOS و تولید NO مسیرهای اولیه پاسخگویی به این فرایند است(۱۹).

مسیرهای متابولیکی و ROS

مسیرهای متابولیکی ممکن است در تولید RNS/ROS نقش داشته باشند. برخی از ترکیبات درون و خارج سلولی تحت واکنش‌های آنزیمی گونه‌هایی از رادیکال‌های آزاد مانند سوپراکسید و نیتریک اکسید تولید می‌کنند. به عنوان مثال، آمینواسید پرولین و اسید چرب غیراشباع آرشیدونیک اسید چنین ترکیباتی هستند. پتانسیل احیا پرولین اکسیداز از طریق سیتوکروم c به ETC (زنجیره انتقال الکترون) منتقل می‌شود. این پتانسیل احیای خارجی در ETC تولید ROS را پشتیبانی می‌کند(۲۰). آرشیدونیک اسید یک پیش‌ساز چربی برای سنتز لوکوترین و پروستاگلاندین‌ها است. تحت شرایط خاصی متابولیسم آرشیدونیک تولید ROS می‌کند(۲۱).

نقش‌های فیزیولوژیک ROS

انتقال پیام و تنظیم تکثیر سلولی

کنترل تولید ROS برای فعالیت مسیرهای انتقال پیام ضروری است. دسته گسترده‌ای از مولکول‌های پیام‌رسان، پروتئین‌های کینازی فعال شده توسط میتوژن (MAPKs) هستند که عملکردشان تحت تاثیر ROS قرار دارد. MAPKs از سه زیرخانواده تشکیل شده‌اند: کینازهای تنظیم شده با پیام‌های خارج سلولی (ERKs)، کینازهای C-jun N-terminal (JNKs)، و کینازهای p38(۲۲). معمولاً ERKs در تنظیم تکثر سلولی دخیل هستند و JNKs و کینازهای p38در پاسخ به شرایط استرسی وارد عمل می‌شوند که درنهایت منجر به آپوپتوز می‌گردند(۲۳).

فعالیت ERKs به طور معمول منجر به بقای سلول‌ها در پاسخ به ROS می‌شود اما تحت شرایط ویژه هم‌چنین می‌تواند منجر به آپوپتوز گردد. برای مثال، ERK می‌تواند آپوپتوز القا شده توسط هیپوکسی را در سلول‌های ماکروفاژ و یا آپوپتوز القا شده توسط سیس‌پلاتین را در سلول‌های HeLa تسهیل کند(۲۴). این که ERK بقا یا مرگ سلولی را پیش می‌برد ممکن است توسط ویژگی‌های فعال شدن ERK تعیین گردد. بقا با فعالیت سریع و گذرای ERK ظاهر می‌شود، در حالی که آپوپتوز در نتیجه فعالیت آهسته و پایدار ERK می‌باشد(۲۳). دو خانواده دیگر MAPKs یعنی خانواده JNK و p38 گاهی به عنوان پروتئین‌های کینازی فعال شده توسط استرس (SAPKs) نام برده می‌شوند که به علت نقش‌شان در پاسخ سلول به استرس‌های مختلف مانند سیتوکین‌ها، پرتوها، شوک اسمزی، آسیب‌های مکانیکی، شوک حرارتی و آسیب‌های اکسیداتیو است. تحت شرایط ردوکس نرمال تیوردوکسین (Trx) به کیناز تنظیم‌کننده آپوپتوز ۱ (ASK1) متصل و آن را مهار می‌کند. در حالی که شرایط استرس اکسیداتیو موجب جدایی کمپلکس Trx-ASK1شده و منجر به فعالیت JNK و p38 توسط ASK1 می‌گردد(۲۴).

بیان ژن

ROS می‌تواند با تغییر در سطح بیان ژن تصمیم‌گیری سلول به تکثیر یا آپوپتوز را تحت تاثیر قرار دهد. ROS با فسفریلاسیون و فعال کردن JNKs، فعال شدن فاکتور رونویسی AP1 (Activating protein-1) را پیش می‌برد که منجر به رونویسی از ژن‌های تنظیم شده توسط AP1 می‌گردد(۲۵). علاوه بر AP1، فاکتور رونویسی القایی توسط هیپوکسی- ۱ (HIF-1) مثال دیگری از تنظیم کننده‌های رونویسی تحت تاثیر ROS است. HIF-1 در رونویسی از ژن‌های اریتروپویتین و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی شرکت می‌کند(۲۶). یک مثال دیگر فاکتور رونویسی هسته‌ای کاپا B (NFκB) است که در فرایندهای زیستی متنوعی شامل التهاب و کنترل رشد و آپوپتوز شرکت می‌کند. ROS می‌تواند با تخریب مهارکننده NFκB (IκB) یا تاثیر مستقیم روی فاکتور رونویسی NFκB فعالیت NFκB را تحت تاثیر قرار دهد. ژن‌های تنظیم شده توسط NFκB مانند رسپتور نکروزه کننده تومور و مهارکننده‌های سلولی پروتئین‌های آپوپتوزی هستند که خاصیت آنتی‌آپوپتوزی دارند(۲۷،۲۶).

پاسخ ایمنی

مشاهده شده است که ROS نقش مهمی در عملکرد

مناسب سیستم ایمنی ذاتی، فعال شدن سیستم ایمنی اکتسابی و مهار التهاب بر عهده دارد. بی‌نظمی یا اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می‌تواند منجر به بیماری‌های التهابی مانند آترواسکلروز و سرطان گردد. برای نابودی عوامل بیماری‌زا تولید سطح بالایی از سوپراکسید آنیون، هیدروژن پراکسید و انفجار اکسیداتیو توسط NADPH-اکسیداز نیاز است. ROS می‌تواند مسیرهای پیام‌رسان NFαB را که منجر به فعال شدن NADPH- اکسیداز می‌شود القا نماید. فعالیت سیستم ایمنی اکتسابی با سنتز سیتوکین‌های پیش التهابی مانند فاکتور نکروزه کننده تومور (TNFα)، IL6، IL1H و IL8 همراه است. برای تولید این سیتوکین‌ها، فعال شدن مسیرهای ERK و p38 توسط ROS ضروری می‌باشد. تولید ROS در طی پاسخ ایمنی ذاتی می‌تواند موجب اختلال در فرایند آپوپتوزی نوتروفیل گردد. نقص در این فرایند می‌تواند منجر به التهاب مزمن پاتولوژی گردد(۲۹،۲۸).

بیماری‌زایی و ایجاد سرطان

نقش ROS در بیماری‌هایی مثل دیابت، آلزایمر و دیگر بیمارهای عصبی مانند آترواسکلروز که منجر به بیماری‌های قلبی و عروقی[1] (CVD) و سرطان می‌شود، نشان داده شده است. بخش عمده‌ای از تحقیقات روی نقش ROS در سرطان و CVD متمرکز شده است و تلاش‌های زیادی در تعیین این که آیا مکمل‌های آنتی اکسیدانی می‌توانند در جلوگیری و درمان شرایط مختلف مفید باشند صورت گرفته است(۳۱،۳۰).

گونه‌های فعال اکسیژن و سرطان‌زایی

عدم تعادل ROS

گروهی از محققین متوجه افزایش تولیدات ROS در سلول‌های سرطانی شده‌اند که ممکن است به علت اختلال در تولید کننده‌های ROS و یا سم‌زداها باشد. تنظیم نادرست سطوح RNS/ROS نقش مهمی در سرطان‌زایی دارد. در محیط سلولی که تولید ROS و سم‌زدایی به طور صحیح کنترل نمی‌شود، به نوبه خود منجر به تنظیم نادرست مولکول‌های پایین دست و وقایعی مانند تجاوز در تکثیر و مهاجرت سلولی می‌شود که همگی روی پیشرفت سرطان تاثیر گذار است. افزایش سوپر اکسید دیسموتاز منجر به کاهش سوپراکسید آنیون و افزایش هیدروژن پراکسید می‌گردد که با رده سلول سرطان سینه در ارتباط است(۳۲).

تغییرات ژنتیکی و ژن‌های هدف

ایجاد جهش در DNA آغازکننده وقایع سرطان‌زایی است. جهش‌های موثر بر بیان یا عملکرد ژن به ویژه ژن‌های سرکوب کننده تومور و پرتوانکوژن‌ها می‌تواند منجر به رشد نامنظم سلول‌ها گردد. شرایط استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون باز آلی گوانین و تشکیل 8-oxo-deoxy guanosine (8-oxo-dG) می‌شود. این اختلالات، جایگزینی C:G (transversion) به A:T را موجب می‌شود. چنین اختلالاتی در انکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر تومور (مانند p53) نقش مهمی در سرطان‌زایی دارند. این اختلالات همچنین در شرایط التهابی مزمن با هپاتیت و سیروز و در بافت معده با عفونت هلیکو باکتریایی همراه است(۳۴،۳۳).

متابولیسم و ویژگی‌های فیزیکی تومور

تعدادی از ویژگی‌های فیزیکی تومورها می‌تواند منجر به تولید ROS گردد که شامل محرومیت از گلوکز، هیپوکسی و التهاب ناشی از نفوذ ماکروفاژها (infiltrating) می‌باشد. ROS تولید شده در نتیجه محرومیت از گلوکز و هیپوکسی می‌تواند در تنظیم ژن‌های دخیل در آنژیوژنز (نظیر فاکتور رشد اندوتلیال عروقی یا VEGF) که منجر به رگ‌زایی می‌گردد نقش داشته باشد(۳۵). هم‌چنین نفوذ ماکروفاژ در تومور منجر به افزایش تولید ROS می‌گردد که با فعال شدن مسیرهای انتقال پیام همراه است. فعالیت‌های پایدار MAPK در پاسخ به ROS در سلول‌های Hela مشاهده

1. Cardiovascular disease

شده است(۳۶). هایپرفسفریلاسیون JNK و افزایش فعالیت AP-1 در سلول‌های کارسینومای سینه MCF_7 با افزایش تکثیر همراه است. فعال شدن ERK1/ERK2 در رده سلول‌های سرطانی سینه مقاوم به داروهای چندگانه، در پاسخ به استرس اکسیداتیو القا شده توسط محرومیت گلوکزی، گزارش شده است(۳۵،۳۷).

تاثیر بر چرخه سلولی

ROS هم‌چنین می‌تواند با تاثیر بر وقایع مربوط به چرخه سلولی در پیشبرد سرطان‌زایی نقش داشته باشد. نشان داده شده است که ROS، تلومرازهای سلولی در سلول‌های اندوتلیال را فعال کرده و فرایند پیری را به تاخیر می‌اندازد(۳۸).

مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی

برای جلوگیری از عدم تعادل ردوکس و آسیب‌های اکسیداتیو، دفاع‌های آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی را می‌توان به دو بخش اصلی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی تقسیم کرد. سیستم دفاع اوّلیه (آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان) شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، کاتالاز و تیوردوکسین ردوکتاز است. ترکیبات متعلق به سیستم دفاع ثانویه (آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی) شامل آسکوربیک اسید (vitamin C)، توکوفرول α (vitamin E)، گلوتاتیون (GSH)، بتاکاروتن، ویتامین A، NADPH و اورات می‌باشد(۳۹).

سوپراکسید دیسموتاز (EC 1.15.1.1)

تاکنون چهار ایزوفرم از SOD شناسایی شده است که شامل Mn-SOD، Zn-SOD و Cu، Ni-SOD و SOD خارج سلولی است. تمام چهار کلاس آنزیم SOD رادیکال‌های بسیار واکنش‌پذیر سوپراکسید را به پراکسیدهای کمتر واکنش‌پذیر H_2O_2 تبدیل می‌کنند.

$$\rightarrow O_2^{\circ-} + O_2^{\circ-} + 2H \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

کاتالاز (EC 1.11.1.6)

کاتالاز آنزیمی بافعالیت بالا است که با H_2O_2 واکنش داده و با تولید آب و مولکول اکسیژن اثر سمی آن را از بین می‌برد. این آنزیم هم‌چنین با دهندگان H^+ مانند متانول، اتانول، فرمیک اسید یا فنول‌ها واکنش می‌دهد(۴۰).

$$\rightarrow 2H_2O_2 \xrightarrow{CAT} 2H_2O_2 + O_2$$

$$\rightarrow ROOH + AH_2 \xrightarrow{CAT} H_2O + ROH + A$$

سیستم ردوکس گلوتاتیون و آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (EC1.11.1.19)

تری‌پپتید GSH (γ-Glu-Cys-Glu) نه تنها به عنوان جاروبگر ROS بلکه به‌عنوان تنظیم‌کننده حالت ردوکس درون سلولی نیز عمل می‌کند. این سیستم شامل GSH، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون‌ردوکتاز است. گلوتاتیون پراکسیداز احیای هیدروپراکسیدهای مختلف (H_2O_2 و ROOH) را کاتالیز کرده و GSH را به فرم اکسید شده آن [دی‌سولفید (GSSG)] تبدیل می‌کند. GSSG توسط گلوتاتیون ردوکتاز مجددا به GSH احیا می‌شود(۴۱).

$$\rightarrow ROOH + 2GSH \xrightarrow{GPX} ROH + GSSG + H_2O$$

سیستم ردوکس تیوردوکسین و آنزیم تیوردوکسین ردوکتاز (EC 1.6.4.5)

تیوردوکسین‌ها پروتئین‌های همه جا حاضر کوچکی هستند که شامل دو سیستئین فعال در جایگاه کاتالیتیک می‌باشند (Cys-xx-Cys). تیوردوکسین‌ها احیای برگشت‌پذیر باندهای دی‌سولفیدی پروتئین‌ها را کاتالیز می‌کنند. سیستئین‌های جایگاه فعال توسط تیوردوکسین‌ردوکتاز و NADPH بازسازی و احیا می‌گردد(۴۲). یکی از مهم‌ترین سیستم‌های سم‌زدایی بدن عنصر کمیاب سلنیوم (selenium) است. این عنصر به برخی از پروتئین‌ها متصل شده و تشکیل سلنوپروتئین‌ها را می‌دهد که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند. از جمله آنزیم‌های وابسته به سلنیوم آنزیم پراکسید گلوتاتیون و تیورودوکسین ردوکتاز می‌باشد. پایین بودن مقدار سلنیوم

در بدن بیماران سرطانی نشانگر آن است که کمبود دریافت سلنیوم ممکن است به سرطان‌زایی کمک کند. دلیل احتمالی آن می‌تواند نارسایی گلوتاتیون پراکسیداز در از بین بردن رادیکال‌های آزاد باشد(۴۳).

سیستم ردوکس نوکلئوتید پیریدینی NADPH

NADPH با پتانسیل ردوکس تقریبا ۴۰۰ میلی‌ولت (mV)، دهنده الکترون در بازسازی حالت ردوکس Trx و GSH است. سیستم ردوکس نوکلئوتیدهای پیریدین در مجموع اکسیداسیون و احیای $NADH/NAD^+$ و $NADPH/NADP^+$ را شامل می‌شوند که در دفاع از استرس اکسیداتیو و تنظیم ردوکس نقش دارند(۴۴).

NAD^+ و عملکرد پروتئین‌های Sirtuin

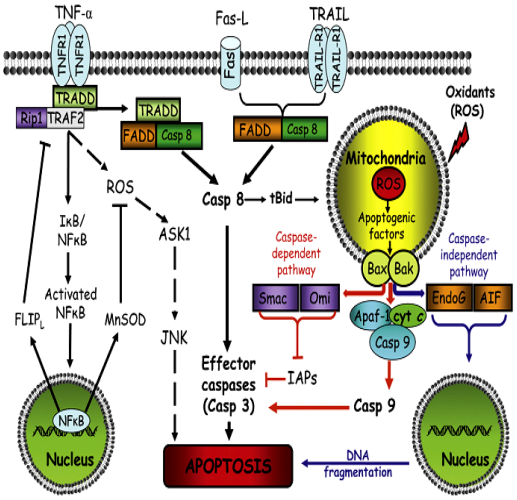
پروتئین‌های Sirtuin که به sirts نیز معروف هستند، خانواده حفاظت شده از داستیلاز وابسته به NAD^+ و مونو- ADP ریبوزیل ترانسفرازها می‌باشند که در فرایندهای سلولی مانند خاموش کردن ژن، تعمیر DNA، افزایش طول عمر و آپوپتوز سلولی نقش دارند. این پروتئین‌ها به عنوان رئوستات[1] عمل کرده که تغییرات در انرژی و حالت ردوکس را حس می‌کنند. برای مثال، افزایش در نسبت $NAD^+/NADH$ داستیلاسیون پروتئین را افزایش داده در حالی که بالا بودن NADH یا نیکوتین آمید فعالیت sirts را کند می‌کند(۴۶،۴۵).

Bcl-2 به عنوان یک آنتی اکسیدان

پروتوانکوژن Bcl-2 در ابتدا با توانایی منحصر به فرد در جلوگیری از مرگ سلولی کشف شد. تاکنون ۱۵ عضو از خانواده Bcl-2 شناسایی شده است که همگی حداقل یکی ازموتیف‌های حفاظت شده، به‌عنوان دمین‌های همولوژی Bcl-2 را دارا می‌باشند. خانواده Bcl-2 شامل هر دو عضو پروآپوپتوزی مانند Bax، Bad، Bid، Bik و اعضای آنتی‌آپوپتوزی مانند Bcl-2، Bcl-xl، Bcl-w و Bcl-1 می‌باشد. تجمع Bcl-2 در جایگاه‌های درون سلولی مانند سطوح سیتوپلاسمی، غشای بیرونی میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی و غشای هسته‌ای که منبع تولید رادیکال‌های آزاد هستند، منجر به مطالعه خاصیت احتمالی آنتی‌اکسیدانی برای Bcl-2 در شرایط استرس اکسیداتیو می‌گردد. بیان بالای Bcl-2 منجر به افزایش سطح GSH درون سلولی از طریق سنتز یا انتقال GSH از سیتوزول به هسته می‌شود. چنین تغییری به نوبه خود می‌تواند پتانسیل ردوکس هسته را تغییر دهد و یک محیط احیای قوی در داخل سلول ایجاد کند که منجر به مهار آپوپتوز می‌گردد(۴۸،۴۷). فاکتورهای رونویسی p53، AP-1 و NFκB نسبت به تغییر ردوکس حساس هستند و طی یک مکانیسم حساس به ردوکس به DNA متصل می‌شوند(۴۹).

ROS و ارتباط آن با آپوپتوز

در ابتدا مروری بر مسیرهای گیرنده‌های مرگ و مسیر میتوکندریایی آپوپتوزی خواهیم داشت (تصویر شماره ۲)(۵۰).



تصویر شماره ۲: مسیرهای میتوکندریایی و گیرنده مرگ القا کننده آپوپتوز(۵۰). TNFα، فاکتور نکروزه کننده آلفا؛ TNFR، رسپتور TNF؛ TRAIL، لیگاند القاکننده آپوپتوز توسط TNF؛ TRADD، دمین مرگ همراه رسپتور TNF؛ TRAF-2، فاکتور همراه رسپتور TNF؛ FADD، دمین مرگ همراه Fas؛ tBid، بریده شده Bid؛ RIP، کیناز میانکنش دهنده با رسپتور؛ FLIP$_L$، پروتئین مهار کننده FLICE؛ ASK1، کیناز تنظیم

1. Rheostat

کننده سیگنال آپوپتوز؛ Apaf-1، فاکتور فعال کننده پروتئاز آپوپتوزی؛ JNK، کیناز N–ترمینال c-Jun؛ NFκB، فاکتور رونویسی هسته کاپای بتا؛ IAP، پروتئین مهارکننده آپوپتوز؛ AIF، فاکتور القاکننده آپوپتوز؛ IκB/NF-κB، فرم غیرفعال NF-κB همراه با مهارکننده آن.

مسیرهای گیرنده‌های مرگ

در مسیر خارجی آپوپتوز اتصال گیرنده به لیگاند موجب آغاز میان‌کنش پروتئین- پروتئین در غشای سلولی می‌گردد که کاسپازهای آغازی را فعال می‌کند. رسپتورهای اصلی شناخته شده شامل رسپتور Fas (CD95 یا Apo-1)، رسپتور TNF-1 (TNFR1) و گیرنده لیگاند القاکننده آپوپتوز توسط TNF (TRAIL-R1) و TRAIL-R2 می‌باشند(۵۱).

سیستم Fas/FasL یکی از سیستم های القا کننده آپوپتوز توسط رسپتور مرگ است. در هنگام اتصال Fas/FasL، Fas همراه با دمین مرگ و پروآپوپتوز ۸، با عمل اندوسیتوز، کمپلکس پیام رسان القاکننده مرگ (DISC) را تشکیل می‌دهد. رهایی DISC اندوزومال از رسپتور به عنوان DISC سیتوزولی به طور مستقیم یا از طریق یک حلقه تقویتی شامل میتوکندری و پروتئین پروآپوپتوزی tBid منجر به فعالیت کاسپاز ۸ آغازی می‌گردد(۵۲).

TNFR1 گیرنده مرگی است که عملکرد بیولوژیکی TNFα را میانجی‌گری می‌کند. اتصال TNFα–TNFR1 موجب‌تری‌مریزاسیون رسپتور و رها شدن مهارکننده‌های دمین مرگ و به دنبال آن فعال شدن کمپلکس I، القاکننده مسیر بقا و یا کمپلکس II، القاکننده مسیرهای پیام رسان آپوپتوزی می‌گردد. در کمپلکس I، اتصال TRADD که در تعامل با پروتئین۱ (RIP1) و فاکتور همراه با TNF و رسپتور۲ (TRAF2) می‌باشد، به رسپتور TNFR1 موجب فعال شدن NFκB و p53 می‌شود. فعال شدن NFκB با القای پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوزی مانند $FLIP_L$، Bcl-xl، A1/Bfl، XIAP و CIAP موجب القای پیام بقا می‌گردد. کمپلکس I هم‌چنین فعال شدن JNK را از طریق فعال شدن کیناز تنظیم‌کننده سیگنال آپوپتوزی (ASK1) توسط ROS القا می‌کند. در کمپلکس II، TRADD با اتصال به FADD و پروکاسپاز ۸ موجب فعال شدن کاسپاز ۸ می‌گردد که فعال شدن کاسپاز ۳ اجرایی و در نهایت آپوپتوز را القا می‌کند(۵۳). وضعیت سلولی $FLIP_L$ و RIP1 یک نقطه تنظیمی مهم در تعیین القای آپوپتوز یا بقا توسط TNFR1 می‌باشد. غلظت بالای $FLIP_L$ به صورت رقابتی اتصال کاسپاز ۸ را در کمپلکس II مهارکرده و از تشکیل DISC جلوگیری می‌کند.

رسپتور TRAIL همانند کمپلکس II با اتصال به FADD و پروکاسپاز ۸ آغاز می‌شود و منجر به فعال شدن کاسپاز ۸ و ۳ و در نهایت القای آپوپتوز می‌گردد(۵۴).

مسیر میتوکندریایی آپوپتوز

تحریک مسیر داخلی یا میتوکندریایی آپوپتوز با نفوذپذیر کردن غشای خارجی و انتقال سیتوکروم c، فاکتور القاکننده آپوپتوز (AIF) و یا smac/Diablo پیش می‌رود که منجر به پیام رسانی سیتوزولی وابسته به کاسپاز یا مستقل از کاسپاز می‌گردد(۵۵). در پیام‌رسانی وابسته به کاسپاز سیتوکروم c به همراه فاکتور فعال‌کننده پروتئاز آپوپتوزی (Apaf-1) و پروکاسپاز ۹ کمپلکس آپوپتوزوم را تشکیل می‌دهد که فعال شدن کاسپاز ۳ و ۷ را القا می‌کند. به علاوه، آنتاگونیست smac/Diablo اثر مهاری روی پروتئین‌های مهار کننده آپوپتوز (IAPs) دارد و فعالیت کاسپاز را افزایش می‌دهد. AIF پیام‌رسانی آپوپتوزی مستقل از کاسپاز را از طریق جابه‌جایی از سیتوزول به هسته القا می‌کند که موجب متراکم شدن کروماتین هسته‌ای و قطعه قطعه شدن DNA می‌گردد. رهایی فاکتورهای آپوپتوزی میتوکندریایی از طریق منفذ انتقال دهنده نفوذپذیر (PTP) صورت می‌گیرد. اعضای کلیدی آنتی‌آپوپتوزی (Bcl-2، Bcl-xl، Bcl-w) و پروآپوپتوزی (Bid،Bim، Bax، Bak، Bad) از فوق خانواده Bcl-2، در نفوذپذیری غشای بیرونی میتوکندری نقش مهمی بر عهده دارند. در حضور محرک آپوپتوزی، tBid الیگومریزاسیون و تجمع Bax/Bak در غشای

میتوکندری را پیش می‌برد که منجر به تشکیل منفذ PTP می‌شود(۵۶).

تنظیم آپوپتوز توسط RNS

یکی از تنظیم‌کننده‌های توانمند آپوپتوز NO می‌باشد که دارای توانایی القا و مهار آپوپتوز است. اثر آنتی‌آپوپتوز NO با قرارگرفتن سلول در معرض سطح پایینی از NO (10nm-1μm) حاصل می‌شود(۵۷). مکانیسم‌هایی جهت نشان دادن توانایی حفاظتی NO در برابر مرگ سلولی ارائه گردیده است که به دو دسته تقسیم می‌شوند: مکانیسم‌های وابسته به cGMP و مکانیسم‌های مستقل از cGMP.

در مکانیسم‌های وابسته به cGMP، NO می‌تواند از طریق فعال کردن گوانیلیل سیکلاز محلول تولید cGMP را تحریک نماید. NOهای تولیدکننده cGMP درون سلولی حفاظت در برابر آپوپتوز را در سلول‌های لنفوسیت، ائوزینوفیل، نورون‌های حرکتی جنین، سلول‌های PC12 و فولیکول‌های تخمدانی نشان می‌دهد. در سلول‌های PC12 تصور می‌شود پروتئین کیناز G فعال شده و از فعال شدن کاسپازها و رها شدن سیتوکروم c جلوگیری می‌کند(۵۸).

در مکانیسم‌های مستقل از cGMP، حفاظت NO از مرگ سلولی به صورت غیر وابسته به cGMP از طریق مکانیسم‌های مهار پراکسیداسیون لیپید یا جاروب کردن رادیکال‌های پراکسیل، جلوگیری از شکافتگی Bcl-2 و رها شدن سیتوکروم c، و القای پروتئین‌های حفاظتی مانند Hsp70 و Bcl-2 انجام می‌گیرد. به علاوه، تعدادی از فعالیت‌های حفاظتی با S-nitrosylation پروتئین‌ها توسط NO صورت می‌گیرد. S-nitrosylation شامل انتقال یک گروه نیتریک به سولفیدریل سیستئین می‌باشد که منجر به تشکیل nitrosothiol می‌شود. کاسپازها به علت دارا بودن تعداد زیادی آمینواسید سیستئین درجایگاه فعال خود هدف S-nitrosylation قرار می‌گیرند. علاوه بر این، NO به عنوان تخریب کننده p53 نیز گزارش شده است(۵۸).

مکانیسم انجام آپوپتوز با القای NO در حال حاضر شدیدا مورد بررسی قرار گرفته و تاحدودی اثر آن بر روی آپوپتوز مشخص شده است که از طریق فعال کردن گیرنده مرگ Fas با افزایش بیان لیگاند Fas، تولید پراکسی‌نیتریت، مهار ATP سنتاز میتوکندری و مهار چندین آنزیم آنتی‌اکسیدانی انجام می‌گیرد. به علاوه، NO سیکل‌های گوانیلات را فعال کرده و باعث افزایش کلسیم درون سلولی از طریق کانال cGMPgated می‌شود که به عنوان مکانیسمی از القای آپوپتوز با NO در سلول‌های رتینال در شرایط in vivo نشان داده شده است(۵۹).

قرار گرفتن سلول در معرض نیتریک اکسید (NO) با غلظت بالاتری از ۱ μM منجر به مهار آپوپتوز می‌گردد. با این حال، اگرچه آپوپتوز مهار گردیده ولی مرگ نکروزی رخ می‌دهد. NO با غیرفعال کردن برگشت‌پذیر سیتوکروم c اکسیداز، که پذیرنده الکترون نهایی در زنجیره تنفسی است، عملکرد میتوکندری را مختل می‌کند که منجر به تولید سوپراکسید توسط زنجیره تنفسی، تولید پراکسی نیتریت و کاهش ATP می‌گردد. در این فرایند کمپلکس‌های I و II نیز توسط NO غیرفعال می‌شوند. تصور می‌شود که مهار کمپلکس I القا شده توسط NO باتشکیل S-nitrosylation سیستئین‌های حیاتی غیرفعال شده درحالی که کمپلکس II در in vivo توسط مکانیسمی شبیه استرس اکسیداتیو القا شده توسط $ONOO^-$ غیرفعال می‌گردد(۵۹،۶۰). منافذ انتقالی نفوذپذیر میتوکندری (PTP) جایگاه فعالیت دیگری برای NO است. مهار باز شدن PTP منجر به کاهش سیتوکروم c در دسترس برای آغاز آپوپتوز و رخداد نکروز خواهد شد(۶۱).

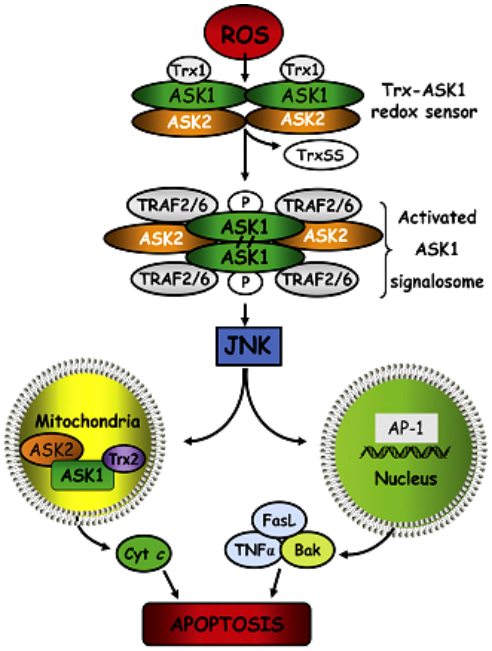
تنظیم آپوپتوز توسط ROS

پیام‌رسانی آپوپتوز القا شده توسط ROS با کاهش سطح GSH سلولی و از بین رفتن تعادل ردوکس سلولی همراه است. کاهش GSH سلولی از طریق اکسیداسیون GSH توسط ROS یا خروج GSH از سلول اتفاق

مـی‌افتـد. هموسـتازی حالـت ردوکـس GSH/GSSG میتوکندریایی برای حفـظ عملکـرد آن در طـی اسـترس اکسیداتیو حیاتی است. ROS می‌تواند با آسیب بـه DNA میتوکندریایی موجب مرگ سلولی گـردد. mtDNA در ناحیه نوکلئوئیـدی در نزدیکـی زنجیـره انتقـال الکتـرون قرار گرفته که منبع تولید ROS است که در نتیجه مستعد آسیب اکسیداتیو می‌باشد. به علت این کـه mtDNA ۱۳ پلـی‌پپتیـد زنجیـره تنفسـی را کـد مـی‌کنـد، اخـتلال در رونویسـی میتوکنـدریایی ممکـن اسـت در تولیـد ATP میتوکندریایی اختلال ایجاد کنـد. اخـتلال یـا آسـیب در mtDNA باعث القای کاهش عملکرد تنفسی و افـزایش تولید ROS می‌گردد که در نهایت منجر به مرگ سلولی آپوپتوز می‌گردد(۶۲).

همراه با کاهش mtGSH، تولید ROS میتوکندریایی، از دست رفتن پروتئین‌های غشـای میتوکنـدریایی و رهـا شدن سیتوکروم c از میتوکندری به سـیتوزول نیـز اتفـاق می‌افتد. سیتوکروم c یک پروتئین حـاوی هـم و محلـول در آب اسـت کـه از طریـق میـان‌کـنش بـا فسـفولیپید کاردیولیپین به قسمت بیرونی غشای داخلی میتوکنـدری متصل می‌شود. رها شدن سـیتوکروم c از میتوکنـدری بـه سیتوزول با اکسید شدن کاردیولیپین در لایه بیرونی غشـای میتوکندری توسط ROS تحقق می‌یابد(۶۳).

ROS می‌تواند منجـر بـه القـای آپوپتـوز وابسـته بـه JNK گردد (تصویر شماره ۳) (۶۴،۵۰). در بالادسـت JNK، MAPK کیناز حساس به ردوکـس (ASK1) قـرار دارد. TNFα فعال‌کننده قوی آبشار MAPK اسـت. القـای اثـر آنتی‌آپوپتوزی یا پروآپوپتوزی TNFα به میزان و مـدت زمان فعالیت JNK در حضـور ROS بسـتگی دارد. فعـال شدن گذرا و موقتی JNK، با بیان ژن‌های آنتی‌آپوپتوزی توسط NF-κB، موجب حیات سلول می‌گردد. درحـالی که فعال‌شدن طولانی و قوی JNK با آپوپتوز سـلولی، از طریق پیام رسانی ASK1، همراه اسـت. سـطح پـایینی از ROS موجب میان‌کنش Trx1 با دمین N ترمینال ASK1 می‌شود کـه از فعـال شـدن ASK1 و بـه راه افتـادن پیـام آپوپتوزی جلوگیری مـی‌کنـد. بـالا رفـتن ROS سـلولی تفکیک Trx1 اکسید شده را از کمپلکس القـا مـی‌کنـد و به ASK1 اجـازه الیگومریزاسـیون مـی‌دهـد کـه یـک فعالیت کامل از کیناز ASK1 به دسـت مـی‌آیـد. اتصـال کمپلکس ASK1 signalosome به TRAF2/6 موجـب اتوفسفریلاسیون ASK1 شده و فعال شدن JNK را پـیش می‌برد. ASK2 یکی دیگر از اعضای خـانواده ASK اسـت که با اتصال به ASK1 باعث تثبیت آن در سیتوزول، هسـته و میتوکندری می‌گـردد. ROS فعـال شـدن ASK1 را بـا تفکیک پروتئین‌های الحاقی یا مسدود کردن اثر مهـاری پروتئین‌های فسفاتازی PP5 و PP2A پیش می‌برد(۶۵).



تصویر شماره ۳: القای سیگنالینگ ASK1/JNK و آپوپتوز توسط ROS (۵۰). ROS، گونه‌های فعال اکسیژن؛ ASK1, 2، کیناز تنظیم کننده سـیگنال آپوپتـوزی ۱ و ۲؛ TRAF2/6، فـاکتور ۲ و ۶ همـراه رسـپتور TNFα؛ Trx1، فرم احیا شده تیوردوکسین ۱؛ TrxSS، فرم اکسـید شـده تیرودوکسین؛ Trx2، آنزیم میتوکندریایی تیرودوکسین ۲؛ JNK، کیناز N–ترمینال c-Jun؛ Bak، پـروتئین پروآپوپتـوزی؛ Cyt c، سـیتوکروم c؛ TNFα، فاکتور نکروزه کننده تومور آلفا؛ FasL، لیگاند Fas

اثرات مستقیم ROS روی فعالیت کاسپازها به اثبات رسیده است. کاسپازهای سلولی به یک خـانواده شـدیداً حفاظت شده سیستئین پروتئاز تعلق دارند. سیسـتئین‌هـای

جایگاه فعال کاتالیتیکی کاسپازها مستعد اکسیداسیون، نیتروزاسیون (nitrosation) یا گلوتاتیولاسیون (glutathiolation) هستند. به عنوان مثال، H_2O_2 به دست آمده از منابع تولید کننده درونی و بیرونی با اکسیداسیون سیستئین جایگاه کاتالیتیک در کاسپاز ۳ و ۸ می‌تواند آن‌ها را به صورت برگشت‌پذیر غیرفعال کند. به علاوه، H_2O_2 اتواکتیواسیون کاسپاز ۹ درون میتوکندریایی را القا می‌کند که منجر به دایمریزاسیون پروکاسپاز ۹ و فعال شدن آن می‌گردد(۶۶).

بحث

آپوپتوز به عنوان روش معمولی از مرگ سلولی در فرایندهای زیستی و آسیب‌های مختلف است. یافته‌های کنونی در مورد تنظیم آپوپتوز علیرغم نواقص آن، ROS را به عنوان کنترل کننده پیام‌رسانی معرفی می‌کند. شواهد به‌دست آمده تاکید می‌کند که مکانیسم‌هایی مانند رها شدن سیتوکروم c از میتوکندری به سیتوزول، S-nitrosation و S-glutathiolation سیستئین جایگاه کاتالیتیک کاسپازها که در آغاز و مهار آپوپتوز نقش دارند از مکانیسم‌های وابسته به ردوکس می‌باشند. استرس اکسیداتیو موجب آسیب به سلول و القای جهش‌های ژنی می‌گردد که در اغلب موارد آنتی‌اکسیدان‌ها با مسدود کردن جریان آپوپتوز منجر به ترمیم آسیب سلولی می‌شوند. با این وجود، در شرایطی که تعادل ردوکس از بین رفته و سطح آنتی‌اکسیدان‌ها کاهش یابد مشکلاتی مانند پیشروی در فرایند سرطان‌زایی ایجاد می‌گردد. گونه‌های فعال اکسیژن در عملکردهای بیولوژیکی دارای تناقض هستند؛ از یک سو با کمک به سیستم ایمنی، شرکت در پیام‌رسانی سلولی و داشتن نقش ضروری در آپوپتوز از بیماری‌ها جلوگیری می‌کنند و از سوی دیگر می‌توانند به ماکرومولکول‌های مهم سلولی آسیب وارد کنند و ممکن است موجب سرطان‌زایی یا بیماری‌های قلبی عروقی گردند. تحقیقات نشان می‌دهد که تولید ROS یک فرایند فیزیولوژیکی نرمال است که حضور آن برای ایمنی و ایجاد هماهنگی در مسیرهای انتقال پیام ضروری است. با این وجود، تولید بی‌رویه و تصادفی ROS به عنوان عوامل اولیه بیماری و پیری شناخته شده است. تنظیم بیان ژن از طریق اکسید کننده‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها یک روش درمانی امید بخش است.

References

1. Chen J, Bhandar B, Kavdia M. Interaction of ROS and RNS with GSH and GSH/GPX Systems. The FASEB Journal 2015; 29(Supplement 1): 636-637.
2. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. Science 1992; 258(5090): 1898-1902.
3. Tanaka K, Pracyk JB, Takeda K, Yu ZX, Ferrans VJ, Deshpande SS, et al. Expression of Id1 results in apoptosis of cardiac myocytes through a redox-dependent mechanism. J Biol Chem 1998; 273(40): 25922-25928.
4. Schieber M, Chandel NS.ROS function in redox signaling and oxidative stress. Curr Biol 2014; 24(10): R453-462.
5. Limoli CL, Hartmann A, Shephard L, Yang CR, Boothman DA, Bartholomew J. Apoptosis, reproductive failure, and oxidative stress in Chinese hamster ovary cells with compromised genomic integrity. Cancer Res 1998; 58(16): 3712-3718.
6. Beyer RE. An analysis of the role of coenzyme Q in free radical generation and as an antioxidant. Biochem Cell Biol 1992; 70(6): 390-403.

7. Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. Biochim Biophys Acta 1991; 1057(3): 281-298.
8. Trenam CW, Blake DR, Morris CJ. Skin inflammation: reactive oxygen species and the role of iron. J Invest Dermatol 1992; 99(6): 675-682.
9. Nathan C. Inducible nitric oxide synthase: what difference does it make? J Clin Invest 1997; 100(10): 2417-2423.
10. Tatoyan A, Giulivi C. Purification and characterization of a nitric-oxide synthase from rat liver mitochondria. J Biol Chem 1998; 273(18): 11044-11048.
11. Woo CH, Eom YW, Yoo MH, You HJ, Han HJ, Song WK. Tumor necrosis factor-alpha generates reactive oxygen species via a cytosolic phospholipase A2-linked cascade. J Biol Chem 2000; 275(41): 32357-32362.
12. Bulotta S, Barsacchi R, Rotiroti D, Borgese N, Clementi E. Activation of the endothelial nitric-oxide synthase by tumor necrosis factor-alpha. A novel feedback mechanism regulating cell death. J Biol Chem 2001; 276(9): 6529-6536.
13. Suzuki Y, Ono Y, Hirabayashi Y. Rapid and specific reactive oxygen species generation via NADPH oxidase activation during Fas-mediated apoptosis. FEBS Lett 1998; 425(2): 209-212.
14. Tammariello SP, Quinn MT, Estus S. NADPH oxidase contributes directly to oxidative stress and apoptosis in nerve growth factor-deprived sympathetic neurons. J Neuro Sci 2000; 20(1): RC53.
15. Lieberthal W, Triaca V, Koh JS, Pagano PJ, Levine JS. Role of superoxide in apoptosis induced by growth factor withdrawal. Am J Physiol 1998; 275(5 Pt 2): F691-702.
16. Ganeshan K, Chawla A. Metabolic regulation of immune responses. Annu Rev Immunol 2014; 32: 609-634.
17. Cui S, Reichner JS, Mateo RB, Albina JE. Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or-independent mechanisms. Cancer Res 1994; 54(9): 2462-2467.
18. Dupraz P, Cottet S, Hamburger F, Dolci W, Felley-Bosco E, Thorens B. Dominant negative MyD88 proteins inhibit interleukin-1beta /interferon-gamma -mediated induction of nuclear factor kappa B-dependent nitrite production and apoptosis in beta cells. J Biol Chem 2000; 275(48): 37672-37678.
19. Tai XG, Toyo-oka K, Yamamoto N, Yashiro Y, Mu J, Hamaoka T, et al. Expression of an inducible type of nitric oxide (NO) synthase in the thymus and involvement of NO in deletion of TCR-stimulated double-positive thymocytes. J Immunol 1997; 158(10): 4696-4703.
20. Donald SP, Sun XY, Hu CA, Yu J, Mei JM, Valle D, et al. Proline oxidase, encoded by p53-induced gene-6, catalyzes the generation of proline-dependent reactive oxygen species. Cancer Res 2001; 61(5): 1810-1815.
21. Cadenas E, Sies H, Nastainczyk W, Ullrich V. Singlet oxygen formation detected by low-level chemiluminescence during enzymatic reduction of prostaglandin G2 to H2. Hoppe Seylers Z Physiol Chem 1983; 364(5): 519-528.
22. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002; 82(1): 47-95.
23. Holbrook NJ, Ikeyama S. Age-related decline in cellular response to oxidative stress: links to growth factor signaling pathways with

common defects. Biochem Pharmacol 2002; 64(5-6): 999-1005.

24. Martindale JL, Holbrook NJ. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. J Cell Physiol 2002; 192(1): 1-15.
25. D'Arcy P, Brnjic S, Mazurkiewicz M, Linder S. Abstract B18: Induction of tumor cell apoptosis by a proteasome deubiquitinase inhibitor is associated with oxidative stress and activation of JNK/AP1 mediated signaling. Mol Cancer Ther 2013; 12(11 Supplement): B18-B.
26. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol Rev 2002; 82(1): 47-95.
27. Bours V, Bonizzi G, Bentires-Alj M, Bureau F, Piette J, Lekeux P, et al. NF-kappaB activation in response to toxical and therapeutical agents: role in inflammation and cancer treatment. Toxicology 2000; 153(1-3): 27-38.
28. Segal BH, Leto TL, Gallin JI, Malech HL, Holland SM. Genetic, biochemical, and clinical features of chronic granulomatous disease. Medicine (Baltimore) 2000; 79(3): 170-200.
29. Ryan KA, Smith MF Jr, Sanders MK, Ernst PB. Reactive oxygen and nitrogen species differentially regulate Toll-like receptor 4-mediated activation of NF-kappa B and interleukin-8 expression. Infect Immun 2004; 72(4): 2123-2130.
30. Seifried H, Anderson D, Fisher E, Milner J. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. JNB 2007; 18(9): 567-579.
31. Pohanka M. Alzheimer´s disease and oxidative stress: a review. Curr Med Chem 2014; 21(3): 356-364.
32. Policastro L, Molinari B, Larcher F, Blanco P, Podhajcer OL, Costa CS, et al. Imbalance of antioxidant enzymes in tumor cells and inhibition of proliferation and malignant features by scavenging hydrogen peroxide. Mol Carcinog 2004; 39(2): 103-113.
33. Collins AR, Cadet J, Möller L, Poulsen HE, Viña J. Are we sure we know how to measure 8-oxo-7,8-dihydroguanine in DNA from human cells? Arch Biochem Biophys 2004; 423(1): 57-65.
34. Yang Y, Karakhanova S, Werner J, Bazhin AV. Reactive oxygen species in cancer biology and anticancer therapy. Curr Med Chem 2013; 20(30): 3677-3692.
35. Lee YJ, Galoforo SS, Berns CM, Chen JC, Davis BH, Sim JE, et al. Glucose deprivation-induced cytotoxicity and alterations in mitogen-activated protein kinase activation are mediated by oxidative stress in multidrug-resistant human breast carcinoma cells. J Biol Chem 1998; 273(9): 5294-5299.
36. Wang X, Martindale JL, Liu Y, Holbrook NJ. The cellular response to oxidative stress: influences of mitogen-activated protein kinase signalling pathways on cell survival. Biochem J 1998; 333(Pt 2): 291-300.
37. Brown NS, Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress: its effects on the growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer. Breast Cancer Res 2001; 3(5): 323-327
38. Vasa M, Breitschopf K, Zeiher AM, Dimmeler S. Nitric oxide activates telomerase and delays endothelial cell senescence. Circ Res 2000; 87(7): 540-542.
39. Matés JM, Sánchez-Jiménez FM. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol 2000; 32(2): 157-170.

40. Matés JM, Sánchez-Jiménez FM. Role of reactive oxygen species in apoptosis: implications for cancer therapy. Int J Biochem Cell Biol 2000; 32(2): 157-170.
41. Jornot L, Petersen H, Junod AF. Hydrogen peroxide-induced DNA damage is independent of nuclear calcium but dependent on redox-active ions. Biochem J 1998; 335(Pt 1): 85-94.
42. Trenam CW, Blake DR, Morris CJ. Skin inflammation: reactive oxygen species and the role of iron. J Invest Dermatol 1992; 99(6): 675-682.
43. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. Public Health Nutr 2001; 4(2B): 593-599.
44. Kim HJ, Kang BS, Park JW. Cellular defense against heat shock-induced oxidative damage by mitochondrial NADP+ -dependent isocitrate dehydrogenase. Free Radic Res 2005; 39(4): 441-448.
45. Singh R, Mailloux RJ, Puiseux-Dao S, Appanna VD. Oxidative stress evokes a metabolic adaptation that favors increased NADPH synthesis and decreased NADH production in Pseudomonas fluorescens. J Bacteriol 2007; 189(18): 6665-6675.
46. Mellini P, Valente S, Mai A. Sirtuin modulators: an updated patent review (2012-2014). Expert Opin Ther Pat 2015; 25(1): 5-15.
47. McCullough KD, Martindale JL, Klotz LO, Aw TY, Holbrook NJ. Gadd153 sensitizes cells to endoplasmic reticulum stress by down-regulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state Mol Cell Biol 2001; 21(4): 1249-1259.
48. Jagani H, Kasinathan N, Meka SR, Josyula VR. Antiapoptotic Bcl-2 protein as a potential target for cancer therapy: A mini review. Artif Cells Nanomed Biotechnol 2015; 1-10. (Epub ahead of print).
49. Morel Y, Barouki R.Repression of gene expression by oxidative stress. Biochem J 1999; 342 Pt 3: 481-496.
50. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Free Radic Biol Med 2010; 48(6): 749-762.
51. Ashkenazi A, Dixit VM. Apoptosis control by death and decoy receptors. Curr Opin Cell Biol 1999; 11(2): 255-260.
52. Watanabe N, Kuriyama H, Sone H, Neda H, Yamauchi N, Maeda M, et al. Continuous internalization of tumor necrosis factor receptors in a human myosarcoma cell line. J Biol Chem 1988; 263(21): 10262-10266.
53. Shim JH, Xiao C, Paschal AE, Bailey ST, Rao P, Hayden MS, et al. TAK1, but not TAB1 or TAB2, plays an essential role in multiple signaling pathways in vivo. Genes Dev 2005; 19(22): 2668-2681.
54. Deng Y, Lin Y, Wu X. TRAIL-induced apoptosis requires Bax-dependent mitochondrial release of Smac/DIABLO. Genes Dev 2002; 16(1): 33-45.
55. Ryter SW, Kim HP, Hoetzel A, Park JW, Nakahira K, Wang X, et al. Mechanisms of cell death in oxidative stress. Antioxid Redox Signal 2007; 9(1): 49-89.
56. Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. Nature 1999; 397(6718): 441-446.
57. Nishikawa M, Sato EF, Kuroki T, Utsumi K, Inoue M. Macrophage-derived nitric oxide induces apoptosis of rat hepatoma cells in vivo. Hepatology 1998; 28(6): 1474-1480.
58. Kim YM, Chung HT, Kim SS, Han JA, Yoo YM, Kim KM, et al. Nitric oxide protects

PC12 cells from serum deprivation-induced apoptosis by cGMP-dependent inhibition of caspase signaling. J Neurosci 1999; 19(16): 6740-6747.

59. Curtin JF, Donovan M, Cotter TG. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. J Immunol Methods 2002; 265(1-2): 49-72.
60. Sinha K, Das J, Pal PB, Sil PC. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. Arch Toxicol 2013; 87(7): 1157-1180.
61. Borutaite V, Morkuniene R, Brown GC. Nitric oxide donors, nitrosothiols and mitochondrial respiration inhibitors induce caspase activation by different mechanisms. FEBS Lett 2000; 467(2-3): 155-159.
62. Oh SH, Lim SC. A rapid and transient ROS generation by cadmium triggers apoptosis via caspase-dependent pathway in HepG2 cells and this is inhibited through N-acetylcysteine-mediated catalase upregulation. Toxicol Appl Pharmacol 2006; 212(3): 212-223.
63. Gonzalvez F, Pariselli F, Dupaigne P, Budihardjo I, Lutter M, Antonsson B, et al. tBid interaction with cardiolipin primarily orchestrates mitochondrial dysfunctions and subsequently activates Bax and Bak. Cell Death Differ 2005; 12(6): 614-626.
64. Dhanasekaran DN, Reddy EP. JNK signaling in apoptosis. Oncogene 2008; 27(48): 6245-6251.
65. Saitoh M, Nishitoh H, Fujii M, Takeda K, Tobiume K, Sawada Y, et al. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase (ASK) 1. EMBO J 1998; 17(9): 2596-2606.
66. Borutaite V, Brown GC. Caspases are reversibly inactivated by hydrogen peroxide. FEBS Lett 2001; 500(3): 114-118.