



## Biología y terapia del cáncer

ISSN: 1538-4047 (impreso) 1555-8576 (en línea) Página web <http://www.tandfonline.com/loi/kcbt20>

# Muerte de células cancerosas a través de ROS: aumentar o disminuir, esa es la cuestión

Jie Wang y Jing Yi


**Para citar este artículo:** Jie Wang & Jing Yi (2008) Cancer cell killing via ROS: To increase or decline, that is the question, Cancer Biology & Therapy, 7:12, 1875-1884, DOI: [10.4161/cbt.7.12.7067](https://doi.org/10.4161/cbt.7.12.7067)

**Para enlazar a este artículo:** <https://doi.org/10.4161/cbt.7.12.7067>



Publicado en línea: 01 Dec 2008.




Envíe su artículo a esta revista 




Vistas del artículo:  
2002



Ver artículos relacionados 



Citando artículos: 163 Ver artículos citados 

Los términos y condiciones completos de acceso y uso se pueden encontrar en  
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=kcbt20>

## Revisión

# Destrucción de células cancerosas a través de ROS

Aumentar o disminuir, esa es la cuestión

Jie Wang y Jing Yi\*

Departamento de Biología Celular; Laboratorio Clave del Ministerio de Educación para Diferenciación Celular y Apoptosis; Institutos de Ciencias Médicas; Escuela de Medicina de la Universidad Jiao Tong de Shanghai; Shanghai, China

**Abreviaturas:** ANT, nucleótido de adenina translocasa; ATG: gen relacionado con la autofagia; AP-1: proteína activadora 1; ATO: trióxido de arsénico; LMA: leucemia mieloide aguda; BSO: buthionine sulfoximine; LLC: leucemia linfocitaria crónica; GSH: glutatión; G R: glutatión reductasa; GPx: glutatión peroxidasa; GST: glutatión transferasa; HIF-1 $\alpha$ : factor 1 $\alpha$  inducible por hipoxia; IFN $\alpha$ : interferón- $\alpha$ ; IL-2: interleucina-2; JNK: C-Jun NH2-quinasa teminal; MMP: proteína metálica de matriz; ADNmt: ADN mitocondrial; MDR: resistencia a múltiples fármacos; NF $\kappa$ B: factor nuclear  $\kappa$ B; NK: asesino natural; PT: transición de permeabilidad; PEITC: isotiocianato de  $\beta$ -feniletilo; P-gp: P-glicoproteína; TFD: terapia fotodinámica; ROS: especies reactivas de oxígeno; SOD: superóxido dismutasa; SAPKs: proteína quinasa activada por estrés; Trx: tioredoxina; TrxR: tioredoxina reductasa; VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular; XOD, xantina oxidasa **Palabras clave:** ROS, terapia contra el cáncer, redox, antioxidante, toxicidad, células tumorales, células no tumorales

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) actúan como un segundo mensajero en la señalización celular y son esenciales para diversos procesos biológicos en células normales. Cualquier aberrancia en el equilibrio redox puede estar relacionada con la patogénesis humana, incluidos los cánceres. Dado que las ROS generalmente aumentan en las células cancerosas debido a la activación de oncogenes, la falta relativa de suministro de sangre u otras variaciones y las ROS implican el inicio, la progresión y la metástasis de los cánceres, las ROS se consideran oncogénicas. Irónicamente, la producción de ROS es un mecanismo compartido por todos los enfoques terapéuticos no quirúrgicos para los cánceres, incluida la quimioterapia, la radioterapia y la terapia fotodinámica, debido a su implicación en el desencadenamiento de la muerte celular, por lo tanto, ROS también se usa para matar células cancerosas. Debido a la propiedad de espada de doble filo de ROS en la determinación del destino celular, se han propuesto terapias pro o antioxidantes para los tratamientos de cáncer. Sobre la base de cada lado, una serie de fármacos, agentes y enfoques se desarrollan o en el progreso del desarrollo, algunos de los cuales han demostrado ser clínicamente prometedores. Esta revisión resume la comprensión actual sobre las estrategias de manipulación de ROS en el tratamiento del cáncer y los mecanismos subyacentes. Se clasifican los agentes productores o eliminadores de ROS y los posibles fármacos en este aspecto. Se hace un esfuerzo en particular para discutir la paradoja en los fundamentos de dos estrategias opuestas de manipulación de ROS y las preocupaciones por su uso. La selectividad entre células tumorales y no tumorales puede depender de la diferencia de sus entornos redox. Un conjunto combinacional de parámetros celulares que incluyen el estado redox, la expresión de enzimas antioxidantes, la señalización celular y los

perfiles de activación del factor de transcripción, a saber, "firma de señalización redox", está esperando ser

\*Correspondencia a: Jing Yi; 280 S. Chongqing Road; Shanghai 200025 China; Teléfono: +86.21.63846590; Fax: +86.21.64670177; Correo electrónico: yijjing@shsmu.edu.cn

Presentado: 05/06/08; Revisado: 29/08/08; Aceptado: 09/24/08

Publicado previamente en línea como una *publicación electrónica* de Biología y Terapia del Cáncer:

<http://www.landesbioscience.com/journals/cbt/article/7067>

desarrollado para elegir una terapia de elevación o agotamiento de ROS específica para cierto tipo de células cancerosas. En el entorno clínico, la elección individualizada de una terapia óptima de manipulación de ROS puede requerir mediciones precisas y convenientes para ROS, así como "firma de señalización redox" para la predicción de la eficacia y la toxicidad sistémica.

## Antecedentes: Dos estrategias paradójicas de manipulación de ROS en el tratamiento del cáncer

Tradicionalmente, las especies reactivas de oxígeno (ROS), que consisten principalmente en el radical anión superóxido ( $O_2^-$ ), oxígeno singlete, peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo altamente reactivo, se consideran simplemente como un grupo de moléculas dañinas para las células, tejidos y organismos. Sin embargo, las investigaciones durante las últimas dos décadas han manifestado que las ROS sirven como un segundo mensajero en la señalización celular y son esenciales para diversos procesos biológicos en las células normales.<sup>1-3</sup> Las ROS generadas fisiológicamente normalmente se reducen con agentes antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos, como glutatión (GSH), tioredoxina (Trx), superóxido

dismutasa (SOD), catalasa y peroxidasas. El estrés oxidativo celular, un desequilibrio del estado redox, resulta de la exposición a niveles más altos de ROS, que no son desintoxicados por agentes antioxidantes celulares. Por lo tanto, como es bien sabido, las ROS, cuando están presentes en una concentración muy alta, pueden dañar las proteínas celulares, los lípidos y el ADN, dando lugar a lesiones senescentes, degenerativas o fatales en las células, que están relacionadas con muchas enfermedades humanas, incluidos cánceres, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas.<sup>3,4</sup> Cabe destacar que los avances de la investigación en el campo de la redox durante la última década han actualizado nuestro conocimiento sobre el papel causal de las ROS en las enfermedades humanas. Una de las principales perspectivas novedosas es que el bajo estrés oxidativo en el que las ROS aumentan a una magnitud modesta y no fatal puede inducir un nuevo equilibrio redox y dar lugar a una adaptación celular que puede presentarse como, por ejemplo, proliferación.<sup>3,5,6</sup> Cualquier aberrancia en estos procesos puede conducir a la patogénesis humana. Por lo tanto, las ROS que aumentan a un nivel no letal para las células, en particular durante un largo período, también desempeñan un papel en muchas enfermedades, especialmente cánceres.<sup>5</sup>

Está bien documentado que las ROS actúan en múltiples cascadas de señalización relacionadas con diversos comportamientos en las células cancerosas, como la supervivencia, la proliferación, la angiogénesis y la metástasis. Por lo tanto, las ROS se consideran responsables de la iniciación, el desarrollo, la progresión, la invasión y la metástasis de los cánceres.<sup>1,2,7,8</sup> Las ROS son oncogénicas. Irónicamente, la producción de ROS es un mecanismo compartido por todos los enfoques terapéuticos no quirúrgicos para los cánceres, incluida la quimioterapia, la radioterapia y la terapia fotodinámica, debido a su implicación en el desencadenamiento de la muerte celular.<sup>9,10</sup> Por lo tanto, las ROS también se utilizan para matar las células cancerosas.<sup>9,11</sup> En este sentido, las ROS son supresores tumorales.<sup>5</sup> Debido a la propiedad de espada de doble filo de ROS en la determinación del destino celular, se han propuesto terapias pro o antioxidantes para el tratamiento del cáncer.<sup>6,9,12,13</sup> Sobre la base de cada lado, se desarrollan varios fármacos, agentes y enfoques o están en progreso de desarrollo, algunos de los cuales han demostrado ser clínicamente prometedores. Sin embargo, debido a la complejidad particular del papel de ROS en células tumorales y no tumorales, tanto las estrategias de elevación como las de agotamiento de oxidantes muestran ventajas y desventajas complicadas. Es un enigma para los científicos y los médicos ver qué aspecto es predominante y decidir qué estrategia es mejor para su aplicación.<sup>14</sup> Esta revisión resumirá la situación actual de las estrategias de manipulación de ROS en el tratamiento del cáncer y describirá las evidencias proporcionadas por las investigaciones recientes que aclaran los mecanismos subyacentes. Se hace un esfuerzo en particular para discutir la paradoja en los fundamentos de dos estrategias opuestas de manipulación de ROS y las preocupaciones por su uso.

## Razones para la terapia antioxidante contra el cáncer

**Las ROS contribuyen a la iniciación, promoción y progresión del cáncer, así como al mantenimiento de los fenotipos de células tumorales.** Las células cancerosas han aumentado la generación de ROS en comparación con sus contrapartes no cancerosas. El aumento de ROS generalmente se acompaña con la activación del oncogén que son los pasos iniciales de la

transformación maligna. Aunque la relación causal del aumento de ROS y la activación de oncogén sigue sin estar clara, durante mucho tiempo se ha pensado que el daño oxidativo del ADN desempeña un papel en la carcinogénesis y la transformación maligna. Sin embargo, el daño oxidativo del ADN puede ser necesario, pero no suficiente, para el desarrollo del cáncer.<sup>15</sup> Además de la inestabilidad genómica inducida por ROS, el aumento de ROS podría mediar varias cascadas de señalización relacionadas con la supervivencia, proliferación, resistencia a la apoptosis, angiogénesis y metástasis en células precancerosas, así como en células cancerosas, lo que puede promover el inicio y la progresión del cáncer.<sup>15</sup> En las células cancerosas existentes, un aumento de la generación de ROS puede atribuirse, en parte, al ambiente isquémico y al aumento de las tasas de metabolismo.

**ROS vs. inestabilidad genómica.** Las ROS pueden actuar sobre pirimidinas, purinas y proteínas de cromatina, lo que resulta en modificaciones de bases, aducción de ADN y mutación genética, que pueden ser cancerígenas.<sup>4</sup> Los radicales hidroxilo, por ejemplo, reaccionan con la guanosina para formar 8-hidroxí-2'-desoxiadenosina que podría conducir a una mutación puntual de tipo transversión G: C a T: A. Esta es también una de las evidencias más fuertes de que el estrés oxidativo está íntimamente asociado con la carcinogénesis.<sup>16</sup> Mutaciones mediadas por ROS en el ADN mitocondrial han surgido recientemente como otra variable importante en la carcinogénesis.<sup>4</sup> Sin embargo, es controvertido acerca de la asociación del daño del ADN inducido por ROS con la carcinogénesis.<sup>15</sup> Al menos es poco probable que los efectos pro-cancerígenos de ROS se deban a un daño oxidativo elevado en el ADN. Por ejemplo, el intestino delgado (SI) es más vulnerable al daño oxidativo que el intestino grueso (LI), pero el cáncer en SI es relativamente raro en comparación con el cáncer en LI. La respuesta al daño oxidativo del ADN de las células parece más determinante que la extensión del daño.<sup>17</sup>

**ROS vs. proliferación.** Los tumores se caracterizan por un crecimiento excesivamente rápido que puede atribuirse en gran medida a la activación mejorada de los receptores del factor de crecimiento y la vía de señalización intracelular relacionada con la proliferación. Las ROS pueden promover la proliferación celular y contribuir al desarrollo del cáncer al afectar estos dos eventos.<sup>6</sup>

Después de la activación mediada por ligandos, la señalización de los receptores del factor de crecimiento se suprime rápidamente por la desfosforilación mediada por la proteína tirosina fosfatasa (PTP) o la degradación mediada por ubiquitina. Ambos mecanismos reguladores negativos pueden ser aliviados por ROS que se ha demostrado que inhiben PTP18,19 y la ubiquitina ligasa relacionada con el factor de crecimiento, como la ligasa E3 c-Cb1,20,21 oxidando residuos esenciales de cisteínas en sus sitios activos. Por lo tanto, ROS puede causar la activación prolongada de los receptores del factor de crecimiento, lo que conduce a una proliferación aberrantemente mejorada de células tumorales.

Además, las moléculas de señalización relacionadas con el crecimiento intracelular están estrechamente moduladas por ROS. Por ejemplo, la acumulación de ROS durante la progresión del cáncer de ovario puede causar la degradación de la fosfatasa MAPK 3 (MKP3), un regulador negativo de ERK1/2, que a su vez conduce a la activación aberrante de ERK1/2 y contribuye a la tumorigenicidad de las células de cáncer de ovario humano.<sup>22</sup> Los niveles elevados de ROS también son responsables de la activación constitutiva de

factores de transcripción, como el factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) y la proteína activadora 1 (AP-1), que activan múltiples genes que promueven la proliferación celular durante el inicio y la progresión del cáncer.<sup>23</sup>

**ROS vs. angiogénesis.** Las ROS juegan un papel importante en la neovascularización durante el crecimiento tumoral. Arbiser y et al.<sup>24</sup> demostraron que el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inducido por Nox1 aumenta la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la actividad del receptor VEGF y la proteína metálica de la matriz (MMP), marcadores del interruptor angiogénico, promoviendo así la vascularización y la rápida expansión de los tumores. Los tumores derivados de células de riñón de rata normales transformadas en k-Ras (KNRK) transformadas por nox1siRNA muestran una marcada disminución de la neovascularización.<sup>25</sup>

El importante papel de la NADPH oxidasa en la angiogénesis tumoral puede atribuirse al hecho de que es la principal fuente de ROS en las células endoteliales cuya proliferación, migración y formación de tubos capilares son necesarias para la neovascularización.<sup>1</sup> Además, la NADPH oxidasa participa en la estabilización y activación del factor 1 $\alpha$  inducible por hipoxia (HIF-1 $\alpha$ ) que podría estimular aún más la producción y secreción de VEGF de las células tumorales para facilitar la neovascularización. Xia C, et al. han demostrado que NOX4 knockdown en células de cáncer de ovario disminuye la expresión de VEGF y HIF-1 $\alpha$  y angiogénesis tumoral.<sup>26</sup>

Las ROS derivadas de mitocondrias también juegan un papel importante en el desencadenamiento de la estabilización de HIF-1 $\alpha$ , ya que la estabilización de HIF-1 $\alpha$  se bloquearía en condiciones hipóxicas si se abroga la producción de ROS.<sup>27</sup> Sin embargo, no está claro si la generación de ROS dependientes de mitocondrias está directamente asociada con la angiogénesis tumoral.<sup>1</sup>

**ROS vs. metástasis.** En muchos tipos de tumores, incluyendo cáncer de próstata, melanoma y cáncer de mama, el aumento de la capacidad metastásica de las células tumorales se relaciona positivamente con su nivel intracelular de ROS.<sup>28</sup> La administración exógena de ROS mejoraría ciertas etapas de la metástasis,<sup>29</sup> mientras que el tratamiento antioxidante podría atenuar el progreso metastásico.<sup>30</sup> Incluso los procedimientos quirúrgicos, una opción primaria para tratar tumores, pueden conducir a un mayor crecimiento de tumores metastásicos mediante la generación de ROS.<sup>13</sup> Los posibles mecanismos implican la expresión aberrante de integrinas y MMP y la supresión de anoikis, como lo indican los estudios in vitro.<sup>15</sup> Curiosamente, Ishikawa K. y sus colegas recientemente han proporcionado evidencia directa para confirmar la relación causal entre ROS y metástasis tumoral. Después de ser reemplazado con ADN mitocondrial (ADNmt) derivado de una línea celular tumoral de ratón altamente metastásica, una línea celular originalmente mal metastásica adquiere el potencial metastásico. El ADNmt transferido contiene mutaciones que producen una deficiencia en la actividad del complejo respiratorio I y se asocian con la sobreproducción de ROS. El pretratamiento de las células tumorales altamente metastásicas con ROS eliminadores suprime su potencial metastásico en ratones.<sup>31</sup>

**ROS vs. escapar del inmunoataque.** Los linfocitos intratumorales en muchos tumores malignos humanos son responsables de atacar las células tumorales. Sin embargo, podrían ser inhibidos por ROS derivados de NADPH oxidasa en monocitos / macrófagos

adyacentes (MO). Los datos in vitro sugieren que las citoquinas inmunoterapéuticas como la interleucina-2 (IL-2) o el interferón- $\alpha$  (IFN $\alpha$ ) solo activan débilmente las células T o las células asesinas naturales (NK) en un entorno reconstituido de estrés oxidativo.<sup>32,33</sup>

## Varias terapias antioxidantes contra el cáncer

Debido al papel crítico de ROS en iniciar o promover los fenotipos malignos de las células tumorales, el tratamiento de enfermedades inducidas por ROS como el cáncer con antioxidantes ha sido durante mucho tiempo un enfoque terapéutico aceptado.<sup>34</sup> De hecho, los antioxidantes dietéticos como el vino tinto y los polifenoles del té verde se han recomendado durante mucho tiempo para la prevención del cáncer.<sup>35,36</sup> Las verificaciones recientes de su papel en el retraso de la angiogénesis los convierten en una estrategia antiangiogénica prometedora en la terapia del cáncer.<sup>2</sup> Sin embargo, el uso de suplementos antioxidantes está recibiendo actualmente mucha atención debido a los estudios epidemiológicos que vinculan el uso de algunos antioxidantes con el aumento de la mortalidad en poblaciones principalmente de mayor riesgo y la falta de datos sólidos de eficacia para la protección contra el cáncer, al menos en poblaciones con un consumo dietético de referencia adecuado.<sup>37</sup> Además de la terapia antioxidante dietética, han surgido varias otras estrategias para revertir el fenotipo canceroso mediante la reducción del estrés oxidante, algunas de las cuales parecen altamente potenciales clínicamente (ver Tabla 1).

**Para la ingesta de antioxidantes dietéticos o suplementarios.** El uso de antioxidantes para la prevención del cáncer se ha generalizado desde la década de 1980. Junto con la evidencia de beneficios positivos, sin embargo, se ha desarrollado un compendio sustantivo de los efectos negativos del uso de antioxidantes, especialmente en relación con la suplementación dietética con vitaminas C y E,  $\beta$ -caroteno y selenio.<sup>37</sup> De principal preocupación son los efectos potencialmente nocivos de los suplementos antioxidantes en los niveles de ROS, especialmente cuando se necesita una modulación precisa de los niveles de ROS para permitir la función celular normal o para promover la muerte celular apoptótica de células precancerosas o transformadas.<sup>37</sup>

El uso de antioxidantes durante la terapia del cáncer también es actualmente un tema candente. Algunos datos sugieren que los antioxidantes pueden mejorar los efectos secundarios tóxicos de la terapia sin afectar la eficacia del tratamiento, mientras que otros sugieren que los antioxidantes interfieren con la radioterapia o la quimioterapia, que dependen en gran medida de las ROS para inducir citotoxicidad en los tumores.<sup>14,38</sup> Los datos preclínicos actualmente no son concluyentes para abordar dicho debate, mientras que un número limitado de estudios clínicos no han encontrado ningún beneficio para la suplementación de antioxidantes durante la terapia del cáncer.<sup>39</sup> Por lo tanto, antes de emerger fuertes evidencias clínicas sobre la ventaja de tomar antioxidantes simultáneamente con quimioterapia o radioterapia, se debe aconsejar a los pacientes que tengan cuidado al tomar antioxidantes dietéticos durante la terapia contra el cáncer.

**Para mejorar las enzimas de eliminación de ROS.** Esta estrategia está respaldada por estudios que muestran que la sobreexpresión de SOD, glutatión peroxidasa o catalasa inhibe el crecimiento de células cancerosas.<sup>40-42</sup> La administración dirigida

recientemente inventada de catalasa o SOD a sitios donde las células tumorales hacen metástasis por el método de conjugación PEG muestra cierta promesa.<sup>12,43</sup> No hay agentes específicos disponibles que induzcan selectivamente estos sistemas enzimáticos, por lo tanto, esta estrategia necesita enfoques de transferencia de genes que enfrenen los desafíos de la administración dirigida.

**Para atacar la NADPH oxidasa.** El minodronato, un bifosfonato que contiene nitrógeno recientemente desarrollado, inhibe completamente la señalización del VEGF al suprimir la generación de ROS endoteliales mediada por NADPH oxidasa, probablemente a través de la inhibición de la geranilgeranilación de Rac, un componente de la NADPH oxidasa.<sup>44</sup> La eficacia del minodronato en el tratamiento, especialmente de las metástasis óseas del cáncer de mama, se ha demostrado a través de modelos de ratones y a través de ensayos clínicos.<sup>45,46</sup>

Las propiedades inmunopotenciadoras de la histamina en sinergia con IL-2 e IFN $\alpha$  para inducir la muerte de células tumorales humanas también dependen de su efecto inhibitorio sobre la NADPH oxidasa en monocitos / macrófagos a través de receptores de histamina tipo H2. A través de este mecanismo, la histamina protege a las células NK y las células T contra la disfunción inducida por ROS y la apoptosis y también mantiene su activación por IL-2 y otras citoquinas utilizadas en la inmunoterapia contra el cáncer.<sup>33</sup> Los ensayos clínicos de fase III han demostrado su eficacia en el tratamiento del cáncer, especialmente para tratar la leucemia mieloide aguda (LMA) y el mieloma metastásico.<sup>47</sup>

**Para manipular compuestos de nitrógeno.** Los nitroxidos cíclicos son una gama de radicales libres estables que tienen propiedades antioxidantes únicas. Por lo tanto, se ha encontrado que Tempol, un compuesto de nitrógeno, reduce la incidencia tumoral en ratones con deficiencia de C3H y ATM al reducir todo el nivel de ROS. Además de actuar como un agente quimiopreventivo, Tempol ha demostrado tratar tumores existentes mediante la inhibición de la proliferación y la inducción de la apoptosis.<sup>48</sup>

## Razones para la terapia contra el cáncer prooxidante

**Las ROS son responsables de desencadenar la muerte celular y revertir la quimiorresistencia en los tumores.** Aunque el tratamiento de los tumores inductores de ROS con antioxidantes es razonable, irónicamente, el mecanismo subyacente a que muchos agentes quimioterapéuticos y radiación ionizante ejercen sobre la destrucción de células tumorales no está asociado con el aumento de antioxidantes, sino más bien con la producción de más ROS que conduce a un estrés oxidativo irreversible.<sup>34</sup> Un creciente cuerpo de documentos ha demostrado que no solo varios enfoques terapéuticos dependen de ROS, sino que también una mayor elevación de ROS celular puede matar efectivamente más células cancerosas.<sup>9,49</sup>

**ROS vs. apoptosis.** Tanto la apoptosis mediada por el receptor de muerte como la mitocondriada dependen mucho de las ROS.<sup>9</sup>

El ligando Fas (FasL) desencadena una rápida formación de ROS que deriva principalmente de la NADPH oxidasa como un evento aguas arriba de la activación de Fas y la inducción de apoptosis. La activación de la NADPH oxidasa por FasL podría implicar una fosforilación dependiente de esfingomielinasa y PKCzeta de p47phox. Se requiere una respuesta ROS inducida por FasL para las interacciones Yes / EGFR / Fas como eventos aguas arriba de la

fosforilación de Fas-tirosina, que es una señal para el reclutamiento posterior del dominio de muerte asociado a Fas y la inducción de caspasa 8 y apoptosis.<sup>50-53</sup> Además, las ROS inducidas por FasL median la ubiquitinación y la posterior degradación por el proteasoma de la proteína inhibidora de FLICE (FLIP) para mejorar aún más la activación de Fas.<sup>54</sup>

La apoptosis mediada por mitocondrias se caracteriza por una apertura del complejo de poros de transición de permeabilidad (PT) que resulta en la liberación del citocromo  $c$ , la formación de apoptosomas y la activación culminante de las caspasas. Se sabe que las ROS afectan la estabilidad del complejo de poros PT tanto a través de la cascada de señalización celular como a través de la modificación oxidativa de los componentes del complejo de poros PT.

La quinasa C-Jun NH2-terminal (JNK), también denominada proteína quinasa activada por estrés (SAPK) es una importante molécula de señalización que media la apertura inducida por ROS del complejo de poros PT.<sup>55</sup> ROS activan la cascada de señal JNK a través de los siguientes mecanismos: (1) Para inducir la dimerización y activación de ASK1;<sup>56</sup> (2) Liberar MEKK1 o ASK1 de la unión con moléculas inhibitorias como TRX y GST;<sup>57-59</sup> y (3) Inhibir la actividad de la proteína tirosina fosfatasa (PTP) para aliviar la actividad de Src para iniciar la cascada aguas abajo.<sup>60</sup> Después de la activación por ROS, JNK se translocaría cerca de la membrana mitocondrial para activar proteínas desestabilizadoras de poros (Bax / Bak) o para inhibir proteínas estabilizadoras de poros (Bcl-2 y Bcl-xl), lo que lleva a la apertura del complejo de poros PT.<sup>56</sup>

Tabla 1 Agentes en las estrategias de manipulación de ROS para el tratamiento del cáncer

Mecanismo	Agente para terapia	Referencias
<b>Terapia antioxidante</b>	Estrategias de manipulación de ROS en la terapia del cáncer	
Ingesta de antioxidantes	Vitaminas C, E, $\beta$ -caroteno, selenio PEG	37
Sobreexpresión de la enzima ROS eliminadora	conjugado SOD, glutatión peroxidasa, catalasa	40–42
Inhibición de la NADPH oxidasa	Minodronato	45, 46
	Histamina	47
manipulación de compuestos de nitrógeno	Tempol	48
<b>Terapia prooxidante</b>		
Generación de ROS	Arsénico	79
	Imexon	78
	Emodina	94, 99, 102
	Terapia fotodinámica $\beta$ -feniletil isotiocianato (PEITC)	80–82
Agotamiento de GSH	Buthionine sulfoximine (BSO) cobre N-(2-hidroxiacetofenona) glicinato (CuNG)	85
	Motexafin gadolinio	11, 78, 86, 87
	Metoxiestradiol (2-ME)	84
Inhibición del sistema Trx	Disulfiram	4,89
Inhibición de SOD	ATN224	6
		91
		92

Se ha planteado la hipótesis de que el complejo de poros PT mitocondrial que abarca las membranas mitocondriales externas e internas consiste mínimamente en el canal aniónico dependiente del voltaje (VDAC) en la membrana externa, la translocasa de adenina-nucleótido (ANT) en la membrana interna y la ciclofilina-D en la matriz.<sup>4,61</sup> El superóxido desencadena la apoptosis a través de la permeabilización dependiente de VDAC de la membrana externa mitocondrial sin contribución aparente de la proteína proapoptótica de la familia Bcl-2.<sup>62</sup> ANT en las mitocondrias membranas internas es otro objetivo de la modulación de ROS. La reticulación de disulfuro inducida por oxidación de Cys160 con Cys257 altera la conformación de ANT,<sup>63</sup> inhibiendo su capacidad para unirse a nucleótidos y permitiendo la entrada de calcio. Se postula que el aumento de calcio promueve la formación de un complejo D-ANT de ciclofilina, que induce la apertura de los poros, lo que lleva a la apoptosis.<sup>64</sup>

**ROS vs. necrosis.** Se ha propuesto que la muerte celular necrótica involucra ROS cuyas acumulaciones están mediadas por RIP, TRAF2 y FADD en la muerte celular necrótica inducida por TNF.<sup>65,66</sup> Se ha informado que tanto las mitocondrias como la ROS derivada de la NADPH oxidasa están involucradas en la muerte celular necrótica. Fiers W., et al. especulan que las mitocondrias son la principal fuente de ROS para mediar la necrosis,<sup>67</sup> mientras que recientemente Kim et al. demuestran que Nox1, una importante subunidad de NADPH oxidasa, es responsable de la generación de superóxido inducida por TNF $\alpha$  en fibroblastos de ratón y que se activa a través de un complejo de señalización dependiente de RIP1 que contiene TRADD, Nox1, NOXO1 y GTPasa Rac1 pequeña formada en el tratamiento con TNF $\alpha$ .<sup>65</sup>

**ROS vs. muerte celular autofágica.** La autofagia, un proceso por el cual las células eucariotas degradan y reciclan macromoléculas y orgánulos, tiene un papel importante en la respuesta celular al estrés oxidativo. La autofagia es desencadenada y regulada por ROS, como lo revelan varios estudios recientes.<sup>68,69</sup> Los resultados de la autofagia varían desde la supervivencia, promoviendo la eliminación de

patógenos, orgánulos dañados y proteínas, hasta la muerte celular programada. Por lo tanto, ROS puede actuar como moléculas de señalización en la muerte celular autofágica, a pesar de que también pueden actuar como moléculas de señalización en la autofagia propensa a la supervivencia.<sup>69</sup> El uso de la muerte celular autofágica mediada por ROS para matar células cancerosas se ha iniciado recientemente.<sup>28,70,71</sup> La eficacia y la selectividad están indicadas para algunos tipos de células cancerosas, incluidas las derivadas de gliomas malignos que son resistentes a diversas terapias proapoptóticas, como la radioterapia y la quimioterapia convencional.<sup>65,72</sup> La selenita muestra citotoxicidad preferencial a varias células de glioma humano sobre astrocitos normales a través de la muerte celular autofágica y la sobreexpresión de SOD bloquea significativamente la muerte celular autofágica inducida por selenita.<sup>65</sup> La pequeña eliminación mediada por ARN interferente de ATG (gen relacionado con la autofagia) 6 o ATG7 atenúa la muerte celular autofágica inducida por selenita.<sup>72</sup>

**ROS vs. quimiosensibilidad.** El aumento de la capacidad redox de GSH en las células cancerosas se ha relacionado con la quimiorresistencia hace mucho tiempo.<sup>73</sup> Se ha encontrado que cuanto más reductora es la célula, más resistencia al agente quimioterapéutico adiramicina es la célula.<sup>73</sup> Además, la introducción de NOX1 en las células de cáncer de próstata podría disminuir significativamente la expresión de HIF-1 $\alpha$  y la glicoproteína P transportadora de resistencia a múltiples fármacos (MDR).<sup>74</sup> Del mismo modo, la adición de emodina, agente productor de ROS, podría inhibir la actividad transcripcional de HIF-1 $\alpha$  y regular negativamente la expresión de MDR6 todo lo cual resultaría en una mayor retención de la doxorubicina.<sup>74</sup> Estos datos indican una relación negativa entre ROS y quimiorresistencia de los tumores.

Varias terapias prooxidantes contra el cáncer

La explotación del potencial de destrucción de células cancerosas de ROS podría realizarse por dos medios, a saber, (1) inducir la generación de ROS directamente en las células tumorales y (2) inhibir el sistema de enzimas antioxidantes (defensa) de las células tumorales.

Las concentraciones finales efectivas de ROS en las células cancerosas son fundamentales para la terapia prooxidante del cáncer. Estas concentraciones dependen no solo del aumento de la cantidad por estimuladores, sino también del nivel inherente de ROS y la capacidad del antioxidante en las células cancerosas. En pacientes con leucemia linfocitaria crónica (LLC), se encuentra que el contenido de superóxido basal en las células leucémicas está positivamente relacionado con su sensibilidad al 2-EM, que depende mucho de las ROS para matar las células tumorales.<sup>75</sup> También encontramos que el nivel inherente de ROS determina la sensibilidad de varias células leucémicas al trióxido de arsénico (ATO).<sup>76,77</sup> Por lo tanto, con el desarrollo de una medición precisa de las ROS de las células leucémicas en sangre periférica, se puede predecir la sensibilidad de los pacientes con leucemia a la terapia oxidante. Para los pacientes que adoptan un nivel bajo de ROS en las células cancerosas, es posible que se requieran dosis más altas de agentes. Sin embargo, algunos tumores avanzados que han desarrollado un sistema antioxidante mejorado para adaptarse al aumento del estrés oxidativo podrían abarcar un bajo nivel de ROS y alta quimiorresistencia. Para estos tumores, los agentes dirigidos al sistema antioxidante celular podrían ejercer impactos más eficientes.

**Para inducir la generación de ROS directamente en las células tumorales.** Desde la década de 1950, se han empleado muchas estrategias basadas en esta idea, a saber, la administración de ROS o enzimas generadoras de ROS a líneas celulares tumorales o murinas portadoras de tumores.<sup>49</sup> Como el peróxido de hidrógeno es clínicamente dañino para la salud humana, se han hecho grandes esfuerzos para encontrar agentes o tratamientos que puedan convertirse en ROS o estimular la generación endógena de ROS en las células tumorales. Y estos productores de ROS se usan solos como un medicamento contra el cáncer o en combinación con la quimioterapia convencional o la radioterapia (ver Tabla 1).

#### Agente productor de ROS utilizado como fármaco o enfoque único contra el cáncer.

El primer agente productor de ROS utilizado como medicamento contra el cáncer puede ser la procarbazona.<sup>11</sup> Se oxida fácilmente en un ambiente óxico a su derivado azoico, generando ROS. El primer ensayo clínico de procarbazona se informó en 1963. Fue aprobado a fines de la década de 1960 como un fármaco citotóxico y se ha utilizado desde entonces para el tratamiento del linfoma de Hodgkin, el linfoma no Hodgkin y, a medida que cruza rápidamente la barrera hematoencefálica, los tumores cerebrales primarios.<sup>11</sup> Durante los últimos años, muchos medicamentos convencionales o nuevos contra el cáncer han sido reevaluados por su asociación con ROS. Por ejemplo, la doxorubicina es una antraciclina redoxcíclica que genera ROS. Los productos biológicos también pueden inducir la apoptosis a través de la generación de ROS. Rituximab, un anticuerpo monoclonal anti-CD20 aprobado para el tratamiento del linfoma no Hodgkin, induce una producción rápida e intensa de ROS en las células del linfoma humano.<sup>11</sup> Los agentes de arsénico pueden tratar eficazmente la leucemia promielocítica aguda (LPA) y algunas otras leucemias, que dependen de ROS. Imexon induce la apoptosis con la mejora del estrés oxidativo celular. La actividad antitumoral como agente único (tumores sólidos) y la seguridad de imexon en leucemia y otros tipos de tumores se han confirmado en estudios preclínicos y de fase I/II posteriores.<sup>78</sup> Mientras tanto, algunos agentes

experimentales están en desarrollo para ser útiles en la destrucción de células cancerosas de una manera dependiente de ROS.

La mitocondrial es una fuente importante para generar superóxido. Se ha informado que muchos agentes antitumorales perturban la cadena de transporte de electrones (ETC), lo que lleva a un aumento de la fuga electrónica de la cadena y, en consecuencia, a una producción elevada de ROS. Además, los componentes del CTE, como el complejo I, II, se han reportado como el objetivo directo de algunos agentes que elevan las ROS.<sup>79</sup>

Además, la NADPH oxidasa es otra fuente importante de inducción de ROS.<sup>1 ATO, con</sup> eficacia en el tratamiento de pacientes con LPA, también ejerce su efecto inductor de apoptosis a través de la producción de ROS. El grupo autor de Wu et al. ha señalado que la NADPH oxidasa es la principal fuente de producción de ROS inducida por ATO.<sup>79</sup>

Una modalidad de terapia fotodinámica (TFD) contra el cáncer recientemente desarrollada ha sido aprobada para varias indicaciones de cáncer. Su efecto terapéutico se basa en la formación de ROS tras la activación del fotosensibilizador por la luz. Se supone que el oxígeno singlete es la ROS más importante para el resultado terapéutico y tanto un aumento en la actividad de la xantina oxidasa (XOD) como la fotooxidación de algunos constituyentes celulares contribuyen a la generación de ROS durante la TFD.<sup>80-82</sup> Además, algunos enfoques alternativos contra el cáncer, como la inmunoterapia, la terapia hormonal y la hipertermia, causan la generación de ROS y destruyen las células cancerosas con dependencia de ROS.<sup>77</sup>

Agente productor de ROS utilizado en combinación con medicamentos o enfoques contra el cáncer. Algunos grupos, incluido el nuestro, han demostrado que los agentes productores de ROS podrían facilitar los efectos terapéuticos de los tratamientos tradicionales contra el cáncer.<sup>6,77</sup> En nuestra serie de estudios sobre una emodina natural de antraquinona, mostramos que la emodina, a través del aumento de ROS, puede sinergizar la citotoxicidad de múltiples fármacos quimioterapéuticos dependientes de ROS, incluidos ATO, cisplatino, doxorubicina y taxol en una variedad de células cancerosas y en modelos tumorales trasplantados en ratones desnudos. Los mecanismos subyacentes implican una regulación dual de ROS en la señalización pro y antiapoptosis, en la que se promueve la liberación del citocromo c y la activación de las caspasas, mientras que se suprimen RhoA, AP-1, NF $\kappa$ B y HIF-1 $\alpha$ .<sup>6,71,83</sup> El efecto sinérgico anticancerígeno puede ejercerse induciendo la detención del crecimiento y la apoptosis, o restaurando anoikis. Como proponemos que el uso de un compuesto natural para producir ROS a dosis no citotóxicas puede sinergizar los fármacos quimioterapéuticos convencionales dependientes de ROS, el punto de vista ha sido comentado como un "nuevo concepto de ROS + ROS" por el *revisor de Cancer Research*. Sorprendentemente, este enfoque combinativo ejerce poco impacto en las células no tumorales in vitro y no causa efectos tóxicos sistémicos discernibles in vivo en ratones.

**Para inhibir los sistemas de enzimas antioxidantes (defensa) de las células tumorales.** Además de mejorar la producción de ROS directamente, interferir con los sistemas antioxidantes celulares también resultaría en un exceso de ROS que desencadenaría la muerte en las células cancerosas. Los antioxidantes celulares pueden ser enzimáticos o no enzimáticos (GSH, tioles, algunas vitaminas y metales, o fitoquímicos como isoflavonas, polifenoles y

flavonoides).<sup>14</sup> Entre estos, SOD, el sistema de tiorredoxina (Trx), el sistema de glutatión, han surgido como objetivos importantes para el desarrollo de medicamentos contra el cáncer.

El sistema GSH está compuesto por NADPH, glutatión reductasa (GR) y GSH soportado por glutaredoxina. El contenido de GSH está regulado por enzimas relacionadas con GSH incluyendo glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y glutatión transferasa (GST). Como los altos niveles de GSH y GST se han implicado en tumores resistentes a los medicamentos, el agotamiento del GSH celular puede restaurar la sensibilidad al efecto citotóxico oxidativo de los compuestos de platino, alquiladores, compuestos de arsénico, etc. Por lo tanto, se han inventado diferentes agentes farmacológicos con el objetivo de agotar el nivel intracelular de GSH para anular la resistencia al cáncer.<sup>84</sup>  $\beta$ -feniletíl isotiocianato (PEITC), un compuesto natural no sólo puede agotar el grupo celular de GSH, sino también inhibir la enzima GPX como mecanismos duales para desactivar el sistema antioxidante GSH, lo que lleva a la acumulación severa de ROS en las células malignas.<sup>85</sup> La buthionina sulfoximina (BSO) inhibe la enzima limitante de la velocidad en la síntesis de GSH y ha sido ampliamente probada en la sensibilización de varias células cancerosas a una serie de fármacos, incluidos compuestos de platino o arsénico y alquiladores.<sup>11</sup> Se ha demostrado bien que un nivel más bajo de GSH en las células APL determina su sensibilidad a la apoptosis inducida por ATO y BSO podría sinergizar con ATO en la inducción de la apoptosis.<sup>86,87</sup> Otros estudios preclínicos mostraron que el agotamiento de GSH con BSO da lugar a una mayor citotoxicidad del cisplatino y los agentes alquilantes in vivo.<sup>11,78</sup> De manera similar, también se ha verificado recientemente que un nuevo complejo de cobre, el glicinato de cobre N-(2-hidroxiacetofenona) (CuNG) induce la generación de ROS por agotamiento de GSH para superar la resistencia a la doxorubicina en células de carcinoma de ascitis de Ehrlich.<sup>84</sup>

El sistema Trx, compuesto por Trx, NADPH y tiorredoxina reductasa (TrxR), se sugiere cada vez más que representa un objetivo atractivo para el desarrollo de nuevas terapias contra el cáncer<sup>88</sup> por las siguientes razones. (1) Se ha informado de sobreexpresión de TrxR y Trx en varias neoplasias malignas y puede estar asociada con un crecimiento tumoral agresivo, una supervivencia deficiente y resistencia a la quimioterapia.<sup>17,89</sup> (2) Trx es normalmente responsable de mantener el estado reducido de ANT para evitar la apertura del poro PT.<sup>4</sup> (3) El knockdown de TrxR1 revierte la morfología y las propiedades de crecimiento independientes del anclaje de las células de carcinoma de pulmón de ratón (LLC1). Además, la progresión tumoral y la metástasis se reducen drásticamente cuando estas células TrxR1 se inyectan en ratones.<sup>90</sup> Se han evaluado varios inhibidores del sistema Trx/TrxR en modelos experimentales de cáncer. Por ejemplo, motexafin gadolinium, un inhibidor eficaz de la tiorredoxina podría matar específica y preferentemente las células tumorales y, por lo tanto, actualmente se encuentra en ensayos clínicos de fase III.<sup>4,89</sup>

La producción activa de superóxido y la baja actividad de SOD en las células cancerosas pueden hacer que las células malignas sean altamente dependientes de SOD para la supervivencia y sensibles a la inhibición de SOD. Dirigirse a SOD puede ser un enfoque promotor para la destrucción selectiva de células cancerosas. Se ha demostrado que el metoxiestradiol (2-ME), un nuevo agente anticancerígeno actualmente en ensayos clínicos, inhibe la SOD e induce la apoptosis en las células de leucemia a través de un

mecanismo mediado por ROS.<sup>6</sup> La inhibición de Cu,Zn-SOD por agentes que quelan Cu, como Disulfiram y ATN224, también se han mostrado in vitro e in vivo actividad clínica.<sup>91,92</sup>

## Preocupaciones por el empleo de terapias de manipulación de ROS

Las ROS son ubicuas en todas las células de mamíferos, independientemente del tumor o las células normales. Simplemente, las ROS son requeridas tanto por las células cancerosas como por las células normales, y del mismo modo, las ROS son tóxicas tanto para las células cancerosas como para las células normales. En consecuencia, la forma de matar de manera efectiva y selectiva las células tumorales se ha convertido en una de las principales preocupaciones para un mayor empleo de enfoques de manipulación de ROS en entornos clínicos.

**Selectividad: ¿concepto de umbral?** Un "concepto de umbral para la terapia del cáncer" propuesto anteriormente describe que, junto con el aumento de ROS, las respuestas celulares son de proliferación adaptativa al equilibrio y luego a la apoptosis después de que ROS supera cierto nivel.<sup>93</sup> Los autores tratan de discriminar las células normales de las células malignas por sus capacidades diferenciales en el mantenimiento de la homeostasis redox. En las células normales, la eliminación de radicales libres mediante el uso de antioxidantes es un medio eficaz para proteger estas células de la transformación maligna inducida por ROS y de los efectos secundarios de las terapias anticancerígenas no quirúrgicas. Para el tumor establecido, los antioxidantes, o bajos niveles de ROS que inducen la producción de antioxidantes, parecen beneficiar el crecimiento de la célula tumoral y mejorar la resistencia de estas células a las terapias antineoplásicas.<sup>93</sup> Este punto de vista ha indicado la idoneidad diferencial de las células tumorales o no tumorales para las estrategias de promoción o agotamiento de ROS. Por ejemplo, mejorar la producción de ROS y / o disminuir la capacidad antioxidante del tumor puede ser deseable para esas células tumorales.

Basándonos en nuestros hallazgos de que los niveles basales o inherentes de ROS celulares afectan, o incluso determinan, la sensibilidad de las células al tratamiento de promoción de ROS y la destrucción celular resultante y la estrategia de "ROS + ROS" tiene poco impacto en las células normales, aquí sugerimos una "teoría del umbral" alternativa. Cuando tanto las células tumorales como las normales están expuestas a la misma intensidad de agentes productores o estimulantes de ROS exógenos, el nivel de ROS intracelular en las células tumorales sería más fácil que en las células normales alcanzar un umbral para desencadenar la muerte, debido al mayor nivel basal de ROS en las células tumorales que se atribuye a una mayor generación de ROS o a un sistema antioxidante deteriorado (Fig. 1). Esto explica la relativa selectividad de los enfoques prooxidantes que han sido observados por muchos grupos, incluido el nuestro.<sup>6,29,77,83,85,94</sup> Sin embargo, esta teoría se basa en la prima de que las células cancerosas producen exclusivamente más ROS que las células normales. Una de las dificultades para probar esta hipótesis surge de la falta de una "célula normal" comparable para usar como control.<sup>95</sup> Varios grupos han comparado el nivel de ROS entre unos pocos tipos de células transformadas en oncogén y sus contrapartes normales y mostraron un aumento obvio del nivel de

ROS después de la transformación.<sup>85,96</sup> Se necesitan estudios basados en más células cancerosas pareadas y sus contrapartes normales para confirmar esta noción. Debe prestarse especial atención a si el caso también es cierto en condiciones *in vivo*.

**Efectividad: ¿aumentar o disminuir ROS?** Tanto los enfoques de elevación y agotamiento de ROS demuestran ser efectivos en la literatura y los medicamentos.

Figura 1. Concepto de umbral de ROS para explicar la diferente susceptibilidad de las células tumorales y no tumorales al enfoque productor de ROS. Cierta nivel de ROS es requerido por la supervivencia celular, pero el ROS abrumador desencadena la muerte celular. Las células normales tienen menos generación de ROS y sistemas antioxidantes profundos. Cuando las ROS aumentan aún más mediante enfoques terapéuticos, las ROS en las células tumorales alcanzan el umbral de muerte antes y, por lo tanto, las células tumorales son más fáciles de matar. Esta diferencia deja una ventana para la terapia que promueve ROS.

En base a ambos fundamentos también resultan eficaces con estudios *in vivo* en animales e incluso en ensayos preclínicos. Es intrigante saber cuál es la base respectiva. Los investigadores han notado ampliamente que existe una circunstancia específica de la célula con respecto a la efectividad de las estrategias de manipulación de ROS. Esto significa que algunas células cancerosas tienden a detener el crecimiento o la muerte al exponerse a más ROS, mientras que otras lo hacen eliminando ROS. Suponemos que la diferencia radica en la magnitud de los niveles de ROS que determina el papel de ROS para pro o anticancerígeno. Un concepto emergente indica que las ROS moderadamente aumentadas son oncogénicas, mientras que las ROS altamente aumentadas sirven como supresores tumorales.<sup>5</sup> Como se ilustra en nuestra "teoría del umbral", las células que tienen ROS más altas son más susceptibles a la muerte inducida por ROS más elevadas. Por lo tanto, sugerimos que, en general, las células cancerosas con ROS moderadamente aumentadas son adecuadas para el enfoque de agotamiento de ROS, mientras que aquellas con ROS altamente aumentadas son adecuadas para elevar ROS.

La magnitud de ROS puede ser controlada por el estado redox inherente, así como la capacidad de producción de ROS del tratamiento en las células. Se ha dicho que los niveles de expresión génica para las enzimas de defensa antioxidantes y otras proteínas relacionadas con el equilibrio redox celular constituyen una "puntuación de firma redox", que puede marcar el estado de estrés oxidativo de las células.<sup>15</sup>

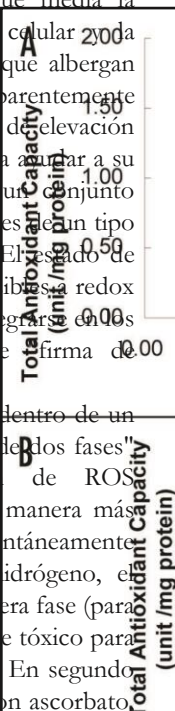
Además, la idoneidad de la elección puede evaluarse por la capacidad de respuesta celular al estrés oxidativo producido por los enfoques terapéuticos o los fármacos. Necesita ver si los eventos de señalización celular que desempeñan un papel pro-cáncer se potencian o anulan bajo una intensidad dada de estímulos. Los principales factores de transcripción, como NF $\kappa$ B, AP-1 y HIF están sujetos a activación en las células cancerosas, generalmente sirviendo como una fuerza de pro-supervivencia y anti-apoptosis. Son estimulados por diversos enfoques terapéuticos y medicamentos en muchos casos. Como todos son sensibles a los redox, se activan en respuesta al estrés oxidativo leve, pero se inactivan por el estrés oxidativo severo.<sup>83,97-99</sup> Para un tipo dado de células cancerosas cultivadas, es necesario examinar primero el papel de uno o todos estos factores de transcripción en términos de pro o anticancerígeno, antes de tratar las células con agentes productores de ROS a una concentración equivalente a una concentración alcanzable *in vivo*. Si, por ejemplo, NF $\kappa$ B, desempeña un papel anti-apoptosis y su

activación se suprime, en lugar de mejorarse, mediante el tratamiento con los agentes productores de ROS, este tipo de células cancerosas puede ser adecuado para la terapia de elevación de ROS. Por el contrario, si el tratamiento con agentes productores de ROS hace que NF $\kappa$ B esté más activado, lo que indica que ROS permanece en un nivel modesto que es demasiado bajo para alcanzar el umbral de muerte, estas células pueden ser adecuadas para la terapia de eliminación de ROS.

La capacidad de respuesta celular al estrés oxidativo también se refleja en otras proteínas, entre ellas p53 es importante. p53 es también un factor de transcripción redoxsensible que media la reparación del ADN, la detención del crecimiento celular y la apoptosis en respuesta al estrés oxidativo.<sup>5,100</sup> células que albergan daño oxidativo en el ADN pero no activan p53 son aparentemente adecuadas para inducir la apoptosis mediante la terapia de elevación de ROS. La disminución de ROS en estas células podría aumentar a su supervivencia. En conjunto, es necesario desarrollar un conjunto combinacional de parámetros para marcar los indicadores de un tipo de célula para las terapias de manipulación de ROS. El estado de activación de una serie de factores de transcripción sensibles a redox y la mencionada "puntuación de firma redox" deben integrarse en los parámetros que pueden denominarse colectivamente "firma de señalización redox".

Como el nivel de ROS parece heterogéneo incluso dentro de un tipo dado de células cancerosas, la llamada "estrategia de dos fases" utiliza los enfoques opuestos de manipulación de ROS secuencialmente para matar las células cancerosas de manera más efectiva. Dado que el ascorbato puede reaccionar espontáneamente con oxígeno molecular para generar peróxido de hidrógeno, el ascorbato intravenoso en dosis altas utilizado en la primera fase (para aumentar la generación de ROS) debe ser selectivamente tóxico para las células tumorales que tienen baja actividad catalasa. En segundo lugar, durante los intervalos entre sesiones de terapia con ascorbato, se esperaría que la administración de agentes que pueden inhibir con seguridad la NADPH oxidasa (para inhibir la generación de ROS) disminuya la proliferación y propagación de las células tumorales supervivientes.<sup>101</sup> De acuerdo con esta estrategia, muchos estimuladores oxidantes e inhibidores oxidantes podrían funcionar cooperativamente en el tratamiento del cáncer. Sin embargo, se requieren más investigaciones preclínicas para verificar la viabilidad de la estrategia de dos fases.

**Tumor oxidado y reducción de los tejidos normales: ¿interferencia discriminativa de ROS?** En nuestros estudios previos hemos encontrado que la sensibilidad a la quimioterapia de los tumores trasplantados en los ratones desnudos está opuestamente asociada linealmente con su capacidad antioxidante total; los tumores con menor capacidad antioxidante (= más oxidativa) crecen más lentamente que aquellos con mayor capacidad antioxidante (= más reductora). Los tumores con los tratamientos ROS + ROS que son de menor peso son generalmente más débiles en su potencial antioxidante total<sup>6,102</sup> (Fig. 2A). Sin embargo, no se observan tales cambios en la capacidad antioxidante total del suero periférico y los eritrocitos en los individuos correspondientes (Fig. 2B y datos no mostrados). Esto indica que la emisión productora de ROS más los medicamentos quimioterapéuticos de rutina, aunque aumentan las ROS en los tumores dramáticamente, obviamente no alteran el equilibrio redox sistémico. Este hallazgo también nos hace suponer



que, para la terapia de elevación de ROS, se puede anticipar una eficacia óptima y una menor toxicidad sistémica en el individuo que tiene un tumor altamente oxidativo y simultáneamente tejidos normales bien reductores.

A algunos investigadores les preocupa que la terapia de elevación de ROS en pacientes pueda poner a las células normales en riesgo de daño oxidativo o carcinogénesis.<sup>15</sup> Como el tratamiento del cáncer es un evento relativamente transitorio, creemos que la terapia de elevación de ROS no aumentará este riesgo más que las terapias convencionales. Sin embargo, algunos órganos como el corazón, el riñón y el hígado pueden ser vulnerables a la toxicidad oxidativa. Por lo tanto, una manipulación discriminativa de ROS puede ser más beneficiosa en la que las ROS aumentan localmente en el tumor pero disminuyen en sangre periférica o se mantienen para el equilibrio redox sistémico.

Kong, et al. han llevado a cabo experimentos delicados en los que la estrategia de promoción de ROS en el tratamiento de tumores cerebrales se aplica a través de una técnica local de administración de fármacos, mientras que los antioxidantes se administran diferencialmente en la metodología para detectar ROS, algunos agentes han sido contradictoriamente considerados como oxidantes o antioxidantes. Por ejemplo, la emodina ha sido considerada como agente antioxidante antes e incluso <sup>ahora</sup>,<sup>105</sup> sin importar que se haya demostrado que produce una gran cantidad de ROS para destruir las células tumorales.<sup>6,29,77,102,106</sup> La situación similar ocurre en el ácido ascórbico<sup>78</sup> probablemente debido, al menos en parte, a la metodología. Hasta donde sabemos, debería ser inmediato para la medición de ROS celulares después de que se agregan agentes específicos, porque la célula alcanzaría rápidamente un nuevo equilibrio redox después de la adaptación durante el cual la producción de antioxidantes puede estar sobreactivada. Una medición retrasada puede incluso llevar a una conclusión opuesta sobre el papel redox del agente. Además, la evaluación del estado redox de los fluidos corporales puede ser útil en la predicción de la eficacia y los efectos secundarios. Sin embargo, aunque es fácil detectar el nivel de peróxido de hidrógeno en fluidos corporales como la orina humana, los datos actualmente disponibles son insuficientes para apoyar el uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> urinario como biomarcador de estrés oxidativo. Halliwell y su colega han revisado críticamente los métodos utilizados actualmente para la detección de ROS. También advierten que es necesario pensar cuidadosamente sobre cómo funciona el método, qué es probable que lo confunda y cuán cuantitativo puede ser (cómo, qué y cuánto).<sup>15</sup>

## Conclusiones

Apuntar a ROS para matar células cancerosas actualmente no es solo una idea, sino que también comienza a ir a las camas de los pacientes. Tanto las estrategias de elevación como las de agotamiento de oxidantes han demostrado ser efectivas en un cuerpo creciente de estudios in vitro e in vivo. La selectividad entre células tumorales y no tumorales puede depender de la diferencia de su estado redox. Sin embargo, un conjunto combinacional de parámetros que incluyen el estado redox, la expresión de enzimas antioxidantes, la señalización celular y los perfiles de activación del factor de transcripción, a saber, "firma de señalización redox" en un tipo dado de células cancerosas, está esperando ser desarrollado. Y luego se puede usar como indicativo para elegir una terapia de elevación o agotamiento de ROS específica para cierto tipo de células cancerosas. La investigación adicional también necesita explicar con respecto al mecanismo

sistémicamente. Esta combinación de enfoques discriminativos de manipulación de ROS ha demostrado un beneficio terapéutico significativo en ratas portadoras de tumores cerebrales.<sup>103,104</sup> Desafortunadamente, no hay muchos tejidos similares al cerebro que puedan formar un ambiente relativamente aislado de la circulación sanguínea.

## Precaución en la detección de ROS: ¿oxidativo o reductor?

Para establecer el papel de las ROS en el desarrollo del cáncer, así como en el tratamiento, es esencial poder medirlas con precisión. Debido a la

Figura 2. El tratamiento conjunto con arsénico más emodina conduce a la reducción de los tumores de xenoinjerto y afecta la capacidad antioxidante de los tumores, pero no causa ninguna alteración redox sistémica. (A) Capacidad antioxidante total y peso tumoral. (B) Capacidad antioxidante total del suero en ratones portadores de tumores. Los resultados muestran que la capacidad antioxidante total de los tumores de xenoinjerto está estrechamente asociada con el peso del tumor. Los tumores expuestos al cotratamiento con arsénico más emodina poseen tamaños más pequeños y una capacidad antioxidante más débil (Emo20: emodina 20 mg/kg/día; Como: trióxido de arsénico 5 mg/kg/día). De Yang J. y et al. *Free Radic Biol Med* 2004; 37:2027–2041(A) y datos no publicados (B).

molecular por qué cada estrategia ejerce diferentes efectos sobre el cáncer y las células normales. En el entorno clínico, la elección individualizada de una terapia óptima de manipulación de ROS puede requerir mediciones más precisas y convenientes para ROS, así como una "firma de señalización redox" integradora para la predicción de la eficacia y la toxicidad sistémica.

## Agradecimientos

Este trabajo cuenta con el apoyo de subvenciones de la Fundación Nacional de Ciencias Naturales de China (30570965) y el Ministerio de Ciencia y Tecnología de China (2006CB910104).

## Referencias

1. Ushio-Fukai M, Nakamura Y. Especies reactivas de oxígeno y angiogénesis: NADPH oxidasa como objetivo para la terapia del cáncer. *Cancer Lett* 2008; 266:37–52.
2. Clerkin JS, Naughton R, Quiney C, Cotter TG. Mecanismos de supervivencia celular modulada por ROS durante la carcinogénesis. *Cancer Lett* 2008; 266:30–6.
3. D'Autreaux B, Toledano MB. ROS como moléculas de señalización: Mecanismos que generan especificidad en la homeostasis de ROS. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:13–24.
4. Fruehauf JP, Meyskens FL Jr. Especies reactivas de oxígeno: ¿Un soplo de vida o muerte? *Clin Cancer Res* 2007; 13:789–94.
5. Ramsey MR, Sharpless NE. ROS como supresor tumoral? *Nat Cell Biol* 2006; 8:1213–5.
6. Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS estrés en células cancerosas e implicaciones terapéuticas. *Drug Resist Updat* 2004; 7:97–110.
7. Wu XJ, Hua X. Apuntando a ROS: Muerte selectiva de células cancerosas por un compuesto prooxidante derivado de vegetales crucíferos. *Cancer Biol Ther* 2007; 6:646–7.
8. Giles GI. La regulación redox de las vías de señalización dependientes del tiol en el cáncer. *Curr Pharm des* 2006; 12:4427–43.
9. Ozben T. Estrés oxidativo y apoptosis: Impacto en la terapia del cáncer. *J Pharm Sci* 2007; 96:2181–96.
10. Toler SM, Noe D, Sharma A. Mejora selectiva del estrés oxidativo celular por cloroquina: Implicaciones para el tratamiento del glioblastoma multiforme. *Neurosurg Focus* 2006; 21:10.
11. Renschler MF. El papel emergente de las especies reactivas de oxígeno en la terapia del cáncer. *Eur J Cancer* 2004; 40:1934–40.
12. Hyoudou K, Nishikawa M, Kobayashi Y, Ikemura M, Yamashita F, Hashida M. Los derivados de SOD previenen el crecimiento tumoral metastásico agravado por la extirpación del tumor. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25:531–6.
13. Hyoudou K, Nishikawa M, Kobayashi Y, Uemeyama Y, Yamashita F, Hashida M. La catalasa pegilada previene el crecimiento tumoral metastásico agravado por la extirpación del tumor. *Libre Radic Biol Med* 2006; 41:1449–58.
14. Seifried HE, McDonald SS, Anderson DE, Greenwald P, Milner JA. El enigma antioxidante en el cáncer. *Cancer Res* 2003; 63:4295–8.
15. Halliwell B. Estrés oxidativo y cáncer: ¿Hemos avanzado? *Bioquímica J* 2007; 401:111.
16. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinario 8-OHdG: Un marcador de estrés oxidativo para el ADN y un factor de riesgo para el cáncer, aterosclerosis y diabéticos. *Clin Chim Acta* 2004; 339:1–9.
17. Hong MY, Turner ND, Carroll RJ, Chapkin RS, Lupton JR. La respuesta diferencial al daño del ADN puede explicar la diferente susceptibilidad al cáncer entre el intestino delgado y grueso. *Exp Biol Med* (Maywood) 2005; 230:464–71.

18. Chiarugi P. PTPs versus PTKs: El lado redox de la moneda. *Free Radic Res* 2005; 39:35364.
19. Meng TC, Fukada T, Tonks NK. Oxidación reversible e inactivación de proteínas tirosina fosfatasa in vivo. *Mol Cell* 2002; 9:387-99.
20. Kiritsis A, Pils D, Krainer M. Degradación del receptor del factor de crecimiento epidérmico: una visión alternativa de las vías oncogénicas. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39:2173-82.
21. Ravid T, Heidinger JM, Gee P, Khan EM, Goldkorn T. Se requiere ubiquitinilación mediada por c-CBL para la salida del receptor del factor de crecimiento epidérmico de los endosomas tempranos. *J Biol Chem* 2004; 279:37153-62.
22. Chan DW, Liu VW, Tsao GS, et al. La pérdida de MKP3 mediada por el estrés oxidativo mejora la tumorigenicidad y la quimiorresistencia de las células de cáncer de ovario. *Carcinogenesis* 2008; 29: 1742-50.
23. Laurent A, Nicco C, Chereau C, et al. Controlar el crecimiento tumoral mediante la modulación de la producción endógena de especies reactivas de oxígeno. *Cancer Res* 2005; 65:948-56.
24. Arbiser JL, Petros J, Klafter R, et al. El oxígeno reactivo generado por Nox1 activa el interruptor angiogénico. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:715-20.
25. Komatsu D, Kato M, Nakayama J, Miyagawa S, Kamata T. NADPH oxidasa 1 desempeña un papel mediador crítico en la expresión oncogénica del factor de crecimiento endotelial vascular inducido por Ras. *Oncogén* 2008; 27:4724-32.
26. Kizaki M, Xian M, Sagawa M, Ikeda Y. Inducción de la apoptosis a través de la modulación de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el tratamiento de la leucemia mieloide. *Curr Pharm Biotechnol* 2006; 7:323-9.
27. Sanjuan-Pla A, Cervera AM, Apostolova N, et al. Un antioxidante dirigido revela la importancia de las especies reactivas de oxígeno mitocondrial en la señalización hipóxica de HIF-1 $\alpha$ . *FEBS Lett* 2005; 579:2669-74.
28. Lim SD, Sun C, Lambeth JD, et al. Aumento de Nox1 y peróxido de hidrógeno en el cáncer de próstata. *Próstata* 2005; 62:200-7.
29. Jing X, Ueki N, Cheng J, Imanishi H, Hada T. Inducción de la apoptosis en líneas celulares de carcinoma hepatocelular por emodina. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93:874-82.
30. Ferraro D, Corso S, Fasano E, et al. Señalización pro-metastásica por c-Met a través de RAC-1 y especies reactivas de oxígeno (ROS). *Oncogén* 2006; 25:3689-98.
31. Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, et al. Las mutaciones de ADN mitocondrial generadoras de ROS pueden regular la metástasis de las células tumorales. *Ciencia* 2008; 320:661-4.
32. Mantovani G, Madeddu C, Gramignano G, et al. Interleucina-2 subcutánea en combinación con acetato de medroxiprogesterona y antioxidantes en pacientes con cáncer avanzado que responden a quimioterapia previa: estudio de fase II que evalúa parámetros clínicos, de calidad de vida y de laboratorio. *J Exp Ther Oncol* 2003; 3:205-19.
33. Hellstrand K. Histamina en la inmunoterapia contra el cáncer: antecedentes preclínicos. *Semin Oncol* 2002; 29:35-40.
34. Kong Q, Lillehei KO. Inhibidores antioxidantes para la terapia del cáncer. *Med Hypotheses* 1998; 51:405-9.
35. Siddiqui IA, Adhami VM, Saleem M, Mukhtar H. Efectos beneficiosos del té y sus polifenoles contra el cáncer de próstata. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50:130-43.
36. Bianchini F, Vainio H. Vino y resveratrol: ¿Mecanismos de prevención del cáncer? *Eur J Cancer Prev* 2003; 12:417-25.
37. Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. Una revisión de la interacción entre los antioxidantes dietéticos y las especies reactivas de oxígeno. *J Nutr Biochem* 2007; 18:567-79.
38. Conklin KA. Antioxidantes dietéticos durante la quimioterapia contra el cáncer: Impacto en la efectividad quimioterapéutica y el desarrollo de efectos secundarios. *Nutr Cancer* 2000; 37:1-18.
39. D'Andrea GM. Se debe evitar el uso de antioxidantes durante la quimioterapia y la radioterapia. *CA Cancer J Clin* 2005; 55:319-21.
40. Liu J, Du J, Zhang Y, et al. Supresión del fenotipo maligno en el cáncer de páncreas por sobreexpresión de fosfolípidos hidropéroxido glutatión peroxidasa. *Hum Gene Ther* 2006; 17:105-16.
41. Nelson SK, Bose SK, Grunwald GK, Myhill P, McCord JM. La inducción de superóxido dismutasa humano y catalasa in vivo: un enfoque fundamentalmente nuevo para la terapia antioxidante. *Libre Radic Biol Med* 2006; 40:341-7.
42. Venkataraman S, Jiang X, Weydert C, et al. La sobreexpresión de superóxido dismutasa de manganeso inhibe el crecimiento de células de cáncer de próstata independientes de andrógenos. *Oncogén* 2005; 24:77-89.
43. Nishikawa M, Hyoudou K, Kobayashi Y, Umeyama Y, Takakura Y, Hashida M. Inhibición del crecimiento tumoral metastásico mediante la administración dirigida de enzimas antioxidantes. *J Control Release* 2005; 109:101-7.
44. Yamagishi S, Abe R, Inagaki Y, et al. El minodronato, un bifosfonato que contiene nitrógeno recientemente desarrollado, suprime el crecimiento del melanoma y mejora la supervivencia en ratones desnudos al bloquear la señalización del factor de crecimiento endotelial vascular. *Am J Pathol* 2004; 165:1865-74.
45. Kubo T, Shimose S, Matsuo T, et al. Efectos inhibitorios de un nuevo bifosfonato, minodronato, sobre la proliferación e invasión de una variedad de células tumorales óseas malignas. *J Orthop Res* 2006; 24:1138-44.
46. Sato K, Yuasa T, Nogawa M, et al. Un bifosfonato de tercera generación, el ácido minodróico (YM529), previno con éxito el crecimiento del cáncer de vejiga in vitro e in vivo. *Br J Cáncer* 2006; 95:1354-61.
47. Agarwala SS, Sabbagh MH. Diclorhidrato de histamina: inhibe los oxidantes y sinergiza la activación inmune mediada por IL-2 en el microambiente tumoral. *Experto Opin Biol Ther* 2001; 1:869-79.
48. Soule BP, Hyodo F, Matsumoto K, et al. La química y biología de los compuestos de nitrógeno. *Libre Radic Biol Med* 2007; 42:1632-50.
49. Neumann CA, Fang Q. ¿Las peroxirredoxinas son supresores tumorales? *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7:375-80.
50. Reinehr R, Becker S, Eberle A, Grether-Beck S, Haussinger D. Implicación de las isoformas de la oxidasa NADPH y las quinasa de la familia Src en la apoptosis hepatocitaria dependiente de CD95. *J Biol Chem* 2005; 280:27179-94.
51. Medan D, Wang L, Toledo D, et al. Regulación de la muerte celular apoptótica y necrótica inducida por Fas (CD95) por especies reactivas de oxígeno en macrófagos. *J Cell Physiol* 2005; 203:78-84.
52. Uchikura K, Wada T, Hoshino S, et al. Los lipopolisacáridos indujeron aumentos en la expresión del ligando Fas por las células de Kupffer a través de mecanismos dependientes de especies reactivas de oxígeno. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287:G20-6.
53. Denning TL, Takaishi H, Crowe SE, Boldogh I, Jevnikar A, Ernst PB. El estrés oxidativo induce la expresión de Fas y el ligando Fas y la apoptosis en células epiteliales intestinales murinas. *Libre Radic Biol Med* 2002; 33:1641-50.
54. Wang X, Zhang J, Xu T. Ciclofosfamida como un potente inhibidor de la tioredoxina reductasa tumoral in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 218:88-95.
55. Benhar M, Engelberg D, Levitzki A. ROS, quinasa activada por estrés y señalización de estrés en el cáncer. *EMBO Rep* 2002; 3:420-5.
56. Martindale JL, Holbrook NJ. Respuesta celular al estrés oxidativo: señalización para el suicidio y la supervivencia. *J Cell Physiol* 2002; 192:1-15.
57. Liu Y, Min W. La tioredoxina promueve la ubiquitinación y degradación de ASK1 para inhibir la apoptosis mediada por ASK1 de una manera independiente de la actividad redox. *Circ Res* 2002; 90:1259-66.
58. Canción JJ, Lee YJ. Papel diferencial de la glutaredoxina y la tioredoxina en la activación metabólica inducida por el estrés oxidativo de la quinasa reguladora de señales de apoptosis 1. *Bioquímica J* 2003; 373: 845-53.
59. Ryoo K, Huh SH, Lee YH, Yoon KW, Cho SG, Choi EJ. Regulación negativa de la señalización inducida por MEKK1 por la glutatión S-transferasa Mu. *J Biol Chem* 2004; 279:43589-94.
60. Lee K, Esselman WJ. La inhibición de PTPs por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> regula la activación de distintas vías MAPK. *Libre Radic Biol Med* 2002; 33:1121-32.
61. Le Bras M, Clement MV, Pervaiz S, Brenner C. Especies reactivas de oxígeno y la vía de señalización mitocondrial de la muerte celular. *Histol Histopathol* 2005; 20:205-19.
62. Madesh M, Hajnoczky G. La permeabilización dependiente de VDAC de la membrana mitocondrial externa por superóxido induce una liberación rápida y masiva del citocromo c. *J Cell Biol* 2001; 155:1003-15.
63. Costantini P, Belzacq AS, Vieira HL, et al. La oxidación de un residuo de tiol crítico del translocador de nucleótidos de adenina refuerza la apertura del poro de transición de permeabilidad independiente de Bcl-2 y la apoptosis. *Oncogene* 2000; 19:307-14.
64. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Apertura del poro de transición de la permeabilidad mitocondrial durante la reperusión miocárdica: un objetivo para la cardioprotección. *Cardiovasc Res* 2004; 61:372-85.
65. Kim YS, Morgan MJ, Choksi S, Liu ZG. Activación inducida por TNF de la NOX1 NADPH oxidasa y su papel en la inducción de la muerte celular necrótica. *Mol Cell* 2007; 26:675-87.
66. Jacob C, Cottrell GS, Gehring D, Schmidlin F, Grady EF, Bunnett NW. c-Cbl media la ubiquitinación, degradación y regulación a la baja del receptor 2 activado por proteasa humana. *J Biol Chem* 2005; 280:16076-87.
67. Fiers W, Beyaert R, Declercq W, Vandenabeele P. Más de una forma de morir: Apoptosis, necrosis y daño reactivo por oxígeno. *Oncogén* 1999; 18:7719-30.
68. Scherz-Shouval R, Shvets E, Fass E, Shorer H, Gil L, Elazar Z. Las especies reactivas de oxígeno son esenciales para la autofagia y regulan específicamente la actividad de Atg4. *EMBO J* 2007; 26:1749-60.
69. Scherz-Shouval R, Elazar Z. ROS, mitocondrias y la regulación de la autofagia. *Tendencias Cell Biol* 2007; 17:422-7.
70. Ghavami S, Asodeh A, Klonisch T, et al. La brevinina-2R(1) mata semiselectivamente las células cancerosas mediante un mecanismo distinto, que implica la vía de muerte lisosomal-mitocondrial. *J Cell Mol Med* 2008; 12:1005-22.
71. Cai J, Niu X, Chen Y, et al. La generación inducida por emodina de especies reactivas de oxígeno inhibe la activación de RhoA para sensibilizar las células del carcinoma gástrico a anoikis. *Neoplasia* 2008; 10:41-51.
72. Scherz-Shouval R, Shvets E, Elazar Z. Oxidación como una modificación post-traducciona que regula la autofagia. *Autofagia* 2007; 3:371-3.
73. Kramer RA, Zakher J, Kim G. Papel del ciclo redox de glutatión en la resistencia adquirida y de novo a múltiples fármacos. *Ciencia* 1988; 241:694-7.
74. Wartenberg M, Hoffmann E, Schwindt H, et al. Regulación reactiva ligada a especies de oxígeno del transportador de resistencia a múltiples fármacos P-glicoproteína en esferoides tumorales de próstata que sobreexpresan Nox-1. *FEBS Lett* 2005; 579:4541-9.
75. Zhou Y, Hileman EO, Plunkett W, Keating MJ, Huang P. Estrés de radicales libres en células de leucemia linfocítica crónica y su papel en la sensibilidad celular a agentes anticancerígenos generadores de ROS. *Sangre* 2003; 101:4098-104.

76. Yi J, Gao F, Shi G, et al. El nivel celular inherente de las especies reactivas de oxígeno: Uno de los mecanismos que determinan la susceptibilidad apoptótica de las células leucémicas al trióxido de arsénico. *Apoptosis* 2002; 7:209-15.
77. Yi J, Yang J, He R, et al. La emodina mejora la apoptosis inducida por trióxido de arsénico a través de la generación de especies reactivas de oxígeno y la inhibición de la señalización de supervivencia. *Cancer Res* 2004; 64:108-16.
78. Engel RH, Evens AM. Estrés oxidativo y apoptosis: Un nuevo paradigma de tratamiento en el cáncer. *Front Biosci* 2006; 11:300-12.
79. Chou WC, Jie C, Kenedy AA, Jones RJ, Trush MA, Dang CV. Papel de la NADPH oxidasa en la formación de especies reactivas de oxígeno inducidas por arsénico y citotoxicidad en células de leucemia mieloide. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:4578-83.
80. Buytaert E, Dewaele M, Agostinis P. Efectores moleculares de múltiples vías de muerte celular iniciadas por terapia fotodinámica. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1776:86-107.
81. Solban N, Rizvi I, Hasan T. Terapia fotodinámica dirigida. *Lasers Surg Med*. Jun 2006; 38:522-31.
82. Hsieh YJ, Wu CC, Chang CJ, Yu JS. La localización subcelular de Photofrin determina el fenotipo de muerte de las células de carcinoma epidermoide humano A431 desencadenadas por la terapia fotodinámica: Cuando las membranas plasmáticas son los principales objetivos. *J Cell Physiol* 2003; 194:363-75.
83. Jing Y, Yang J, Wang Y, et al. La alteración del equilibrio redox subcelular y la consiguiente modificación oxidativa del factor nuclear kappaB son críticas para la citotoxicidad anticancerígena por emodina, un agente reactivo productor de especies de oxígeno. *Libre Radic Biol Med* 2006; 40:2183-97.
84. Mookerjee A, Basu JM, Majumder S, et al. Un nuevo complejo de cobre induce la generación de ROS en células de carcinoma de ascitis de Ehrlich resistentes a la doxorubicina y aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes en órganos vitales in vivo. *BMC Cáncer* 2006; 6:267.
85. Trachootham D, Zhou Y, Zhang H, et al. Destrucción selectiva de células transformadas oncogénicamente a través de un mecanismo mediado por ROS por beta-feniletil isotiocianato. *Célula cancerosa* 2006; 10:241-52.
86. Davison K, Cote S, Mader S, Miller WH. El agotamiento del glutatión supera la resistencia al trióxido de arsénico en líneas celulares resistentes al arsénico. *Leucemia* 2003; 17:931-40.
87. Dai J, Weinberg RS, Waxman S, Jing Y. Las células malignas pueden ser sensibilizadas para sufrir inhibición del crecimiento y apoptosis por trióxido de arsénico a través de la modulación del sistema redox de glutatión. *Sangre* 1999; 93:268-77.
88. Arner ES, Holmgren A. El sistema de tiorredoxina en el cáncer. *Semin Cancer Biol* 2006; 16:420-6.
89. Biaglow JE, Miller RA. El sistema tiorredoxina reductasa/tiorredoxina: nuevos objetivos redox para la terapia del cáncer. *Cancer Biol Ther* 2005; 4:6-13.
90. Yoo MH, Xu XM, Carlson BA, Gladyshev VN, Hatfield DL. La deficiencia de tiorredoxina reductasa 1 revierte el fenotipo tumoral y la tumorigenicidad de las células del carcinoma de pulmón. *J Biol Chem* 2006; 281:13005-8.
91. Cen D, Brayton D, Shahandeh B, Meyskens FL Jr, Farmer PJ. El disulfiram facilita la captación intracelular de Cu e induce la apoptosis en las células de melanoma humano. *J Med Chem* 2004; 47:6914-20.
92. Donate F, Juarez JC, Burnett ME, et al. Identificación de biomarcadores para la actividad antiangiogénica y antitumoral del inhibidor de la superóxido dismutasa 1 (SOD1) tetratiomolibdato (ATN-224). *Br J Cáncer* 2008; 98:776-83.
93. Kong Q, Beel JA, Lillehei KO. Un concepto de umbral para la terapia del cáncer. *Med Hypotheses* 2000; 55:29-35.
94. Jing YW, Yi J, Chen YY, et al. El dicoumarol altera el estado redox celular e inhibe el factor nuclear kappaB para mejorar la apoptosis inducida por trióxido de arsénico. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2004; 36:235-42.
95. Schumacker PT. Especies reactivas de oxígeno en células cancerosas: viven por la espada, mueren por la espada. *Célula cancerosa* 2006; 10:175-6.
96. Shinohara M, Shang WH, Kubodera M, et al. La señalización redox de Nox1 media la interrupción oncogénica inducida por Ras de las fibras de estrés y las adherencias focales mediante la regulación negativa de Rho. *J Biol Chem* 2007; 282:17640-8.
97. Michiels C, Minet E, Mottet D, Raes M. Regulación de la expresión génica por oxígeno: NFkappaB y HIF-1, dos extremos. *Libre Radic Biol Med* 2002; 33:1231-42.
98. Wang Y, Huang X, Cang H, et al. Las especies endógenas reactivas de oxígeno promueven la activación de NFkappaB al dirigirse a la activación de la quinasa inductora de NFkappaB en células de carcinoma escamoso oral. *Free Radic Res* 2007; 41:963-71.
99. Huang XZ, Wang J, Huang C, et al. La emodina aumenta la citotoxicidad de los fármacos quimioterapéuticos en las células de cáncer de próstata: Los mecanismos implican la supresión mediada por ROS de la resistencia a múltiples fármacos y el factor 1 inducible por hipoxia (#). *Cancer Biol Ther* 2007; 7:468-75.
100. Levine AJ, Hu W, Feng Z. La vía p53: ¿Qué preguntas quedan por explorar? La muerte celular difiere 2006; 13:1027-36.
101. McCarty MF, Barroso-Aranda J, Contreras F. Una estrategia de dos fases para el tratamiento de cánceres oxidantes dependientes. *Med Hypotheses* 2007; 69:489-96.
102. Yang J, Li H, Chen YY, et al. Las antraquinonas sensibilizan a las células tumorales a la citotoxicidad del arsénico in vitro e in vivo a través de la regulación dual de la apoptosis mediada por especies reactivas de oxígeno. *Libre Radic Biol Med* 2004; 37:2027-41.
103. Kong Q, Kleinschmidt-Demasters BK, Lillehei KO. El cisplatino implantado intralesionalmente cura el tumor cerebral primario en ratas. *J Surg Oncol* 1997; 64:268-73.
104. Kong Q, Kleinschmidt-Demasters BK, Lillehei KO. Cisplatino implantado intralesionalmente más carmustina sistémica para el tratamiento del tumor cerebral en ratas. *J Surg Oncol* 1998; 69:76-82.
105. Jung HA, Chung HY, Yokozawa T, Kim YC, Hyun SK, Choi JS. Alaternina y emodina con actividades inhibidoras y/o eliminadoras de radicales hidroxilo y actividad hepatoprotectora sobre la citotoxicidad inducida por tacrina en células HepG2. *Arch Pharm Res* 2004; 27:947-53.
106. Chen YC, Shen SC, Lee WR, et al. La emodina induce la apoptosis en células HL-60 promieloleucémicas humanas acompañadas de la activación de la cascada de la caspasa 3, pero independientemente de la producción reactiva de especies de oxígeno. *Biochem Pharmacol* 2002; 64:1713-24.