

# Implicațiile terapeutice ale stresului oxidativ în leziunile scuamoase neoplazice cervicale

Maria Comănescu<sup>1,2,3</sup>,  
Gina Manda<sup>2</sup>,  
Anca Potecă<sup>1,3</sup>,  
Elvira Brătilă<sup>1,3</sup>,  
Mihai Mitran<sup>1,3</sup>

1. UMF „Carol Davila”  
București

2. INCD „Victor Babeș”  
București

3. Spitalul Clinic  
de Obstetrică-Ginecologie  
„Prof. Dr. Panait Sîrbu”,  
București

## Abstract

*Cervical cancer is one of the most common causes of cancer-associated mortality in women worldwide. Although neoplastic epithelial transformation and the association with HPV infection have been widely studied, there is less research on the effect of other factors, such as oxidative stress (ROS). To study the antioxidant status of the different steps in cervical cancer development, we analyzed 32 cervical samples. The histological spectrum of alterations varied from low grade intraepithelial lesions to invasive carcinoma. Formalin-fixed, paraffin-embedded 4-cm tissue sections were stained with various immunohistochemical antigens targeting both neoplastic epithelial cells and stromal component. The stromal response was heterogeneous and showed different patterns which were correlated with the epithelial alterations. Carcinogenesis integrates various landmarks into a pathological network of events and cellular responses under the influence of many types of stress – oxidative and inflammatory, which support tumorigenesis and tumor progression, but are also effective antitumoral therapeutic tools. Recent data showed that the chemo- and radiotherapy efficacy requires a tumor-activated oxidative status, suggesting that the pharmacological inhibition of the endogenous antioxidant system may represent an adjunctive therapeutic approach in solid tumors to control resistance to conventional anti-tumoral therapy.*

**Keywords:** cervical cancer, oxidative stress, ROS

## Rezumat

*Cancerul de col uterin este una dintre cele mai frecvente cauze ale mortalității asociate cancerului la femei din întreaga lume. Deși transformarea epitelială neoplazică și asocierea cu infecția cu HPV au fost studiate pe scară largă, există mai puține cercetări privind efectul altor factori, cum ar fi stresul oxidativ (ROS). Pentru a studia statutul antioxidant al diferitelor etape de dezvoltare a cancerului de col uterin, am analizat 32 de cazuri de neoplazii intraepiteliale cervicale. Spectrul histologic al modificărilor a variat de la leziuni intraepiteliale de grad scăzut până la carcinom invaziv. Fragmentele tisulare au fost fixate în formol și incluse în parafină, realizându-se ulterior secțiuni histologice marcate cu diferiți markeri imunohistochimici ce vizează atât celulele epiteliale neoplazice, cât și componenta stromală. Răspunsul stromal a fost heterogen și a arătat diferite modele, care au fost corelate cu modificările epiteliale. Carcinogeneza integrează diferite etape într-o rețea patologică de evenimente și răspunsuri celulare, sub influența multor tipuri de stres – oxidativ și inflamator, care susțin tumorigeneza și progresia tumorii, dar sunt, de asemenea, instrumente terapeutice antitumorale eficiente. Datele recente au arătat că eficacitatea chimio- și radioterapiei necesită un statut oxidativ activat de tumori, sugerând că inhibarea farmacologică a sistemului endogen antioxidant poate reprezenta o abordare terapeutică adjuvantă în tumorile solide pentru a controla rezistența la terapia convențională antitumorală.*

**Cuvinte-cheie:** cancer de col uterin, stres oxidativ, ROS

Submission date:  
18.03.2018  
Acceptance date:  
1.04.2018

## Therapeutic implications of oxidative stress in squamous cervical neoplasia

Suggested citation for this article: Comănescu M, Manda G, Potecă A, Brătilă E, Mitran M.

Therapeutic implications of oxidative stress in squamous cervical neoplasia. *Ginecologia.ro*. 2018;20(2):54-59.

Cancerul reprezintă una dintre principalele cauze de deces la nivel mondial<sup>(1)</sup>, cu impact economic și social considerabil, în ciuda cercetării extensive pentru descifrarea mecanismelor sale moleculare, precum și pentru dezvoltarea de strategii terapeutice orientate – conceptul de medicină personalizată. Cancerul de col uterin este o afecțiune ce se dezvoltă progresiv, cu diferite stadii de modificări celulare, de la epiteliu normal la carcinom invaziv. Stresul oxidativ poate activa o serie de factori de transcripție, cum ar fi NF-κB, AP-1, p53, HIF-1α, PPAR-γ, β-catenina/Wnt și Nrf2, ce poate duce la activarea a peste 500 de gene

diferite, inclusiv cele pentru factori de creștere, citokine inflamatorii, chemokine, molecule reglatoare ale ciclului celular și antiinflamatorii<sup>(2)</sup>.

Stresul oxidativ intrinsec și de la nivelul micro-mediului are un rol critic în dezvoltarea și răspândirea cancerului. Speciile reactive de oxigen (ROS) pot acționa nu doar ca susținători ai celulelor tumorale, ci pot căpăta comportament antitumoral, care ar putea fi extrem de eficace în tratamentul cancerului. Celulele canceroase prezintă modificări prooxidative<sup>(3)</sup> generate de: 1) activarea cronică a diferitelor surse metabolice ale ROS, legate de oxidazele NADPH (NOXs

1-5 și DUOX1/2)<sup>(4)</sup>, modificări ale ADN-ului mitocondrial, ale fosforilării oxidative și ale metabolismului energetic, însoțite de creșterea glicolizei aerobe<sup>(5)</sup>; 2) un răspuns antioxidant disfuncțional care nu este în măsură să contracareze producția susținută de ROS în timpul genezei tumorale<sup>(6)</sup>. Aceste modificări oxidative intracelulare sunt completate de expunerea constantă a celulelor canceroase la ROS exogene derivate din ciclurile anoxie-reoxigenare<sup>(7)</sup> și din activitatea oxidativă a monocitelor și neutrofilelor ce infiltrază tumorile<sup>(8)</sup>.

Cancerul nu reprezintă un proces de „totul sau nimic”, ci integrează diverse repere într-o rețea patologică de evenimente și răspunsuri celulare sub influența mai multor tipuri de stres – oxidativ și inflamator. ROS susțin tumorigeneza și progresia tumorală, dar sunt, de asemenea, instrumente terapeutice eficiente antitumorale.

Prin creșterea ROS la nivel tumoral se poate contracara acțiunea ROS metabolice de promovare a creșterii celulelor canceroase.

Literatura de specialitate descrie influența stresului oxidativ în procesele fiziologice de la nivelul sistemului reproductiv feminin, inclusiv menopauza<sup>(9)</sup>, dar în prezent datele din literatură sunt limitate în ceea ce privește statusul redox al tumorilor genitale feminine, de aceea considerăm că o mai bună înțelegere a acestui

fenomen poate duce la îmbunătățirea protocoalelor clinice curente, atât în screening, cât și în terapie.

Heterogenitatea tumorală derivă, de asemenea, din distribuția spațială neuniformă a stresului la nivelul micromediului, cum ar fi hipoxia, acidoza, stresul oxidativ și pierderea nutrienților<sup>(10)</sup>. Deoarece terapiile pe bază de stres oxidativ sunt dependente în special de furnizarea locală de oxigen molecular, celulele canceroase localizate în regiuni hipoxice ar putea să nu răspundă la astfel de terapii.

Studiul de față a vizat identificarea markerilor moleculari ce caracterizează stresul oxidativ, dar și statusul antioxidant al tumorilor genitale. Prin termenul marker am înțeles orice entitate biologică sau fiziologică utilizată pentru identificarea unui subtip de neoplazie, ghidarea terapiei sau monitorizarea pentru a evita recidiva.

Lotul de studiu a fost caracterizat inițial histologic, utilizând sistemele de clasificare internaționale și, ulterior, s-a efectuat profilul fenotipic prin utilizarea următorilor markeri de stres oxidativ exprimați la nivelul țesutului tumoral sau peritumoral, relativ la peroxidarea lipidică (malon dialdehidă; MDA), oxidarea ADN (8-oxoguanine; 8-OHdG) și nitrozilarea proteinelor (nitrotirozina; 3-NT).

Lotul studiat a inclus 32 de cazuri pozitive pentru leziuni epiteliale cervicale, cu variații ale vârstei de prezentare, iar spectrul leziunilor a variat de la leziuni

**Tabelul 1**  Repartiția pe grupe de vârstă a pacientelor din lot

Grupe de vârstă (ani)	Număr de cazuri (n= 32)
21-30	6
31-40	11
41-50	9
51-60	6
≥61	0

**Tabelul 2**  Repartiția pe tipuri histologice a leziunilor cervicale

Leziune	Număr de cazuri (n= 32)
LSIL	8
HSIL	15
CIN2	4
CIN3	11
SCC microinvaziv (pT1)	2
SCC invaziv	7

intraepiteliale de grad scăzut până la carcinom scuamos cervical invaziv.

Examinarea histopatologică a secțiunilor tisulare rămâne metoda cea mai utilizată în diagnosticul leziunilor preneoplazice și neoplazice ale colului uterin. Confirmarea histopatologică a diagnosticului de invazie este necesară pentru instituirea unor metode terapeutice adecvate. Pe lângă descrierea morfologică și încadrarea într-o clasă de leziuni, examinarea microscopică poate oferi și în leziunile de col uterin, cum deja este cazul în alte leziuni, informații valoroase, având încă un potențial incomplet exploatat.

În cursul metabolismului celular normal se consumă oxigen și se produc specii reactive de oxigen (ROS). Dacă nu sunt disipate în mod eficient, ROS se pot acumula și distrug proteinele reziduale, lipidele și ADN-ul. Enzimele implicate în reglarea redoxului și reparația ADN-ului disipă ROS și repară daunele rezultate pentru a păstra un mediu celular funcțional<sup>(11)</sup>, deoarece acumularea de ROS crescute și/sau deteriorarea necorespunzătoare a ADN-ului pot duce la inițierea și progresia cancerului. Am încercat identificarea unui număr de proteine de stres oxidativ și reparare ADN-ului care influențează capacitatea de reacție estrogenică a celulelor neoplazice scuamoase și expresia lor diferită în țesutul normal, leziunile displazice de diferite grade (CIN) și carcinomul invaziv. Cancerul prezintă o modificare prooxidativă în starea de reducere oxidativă. Nicotinamida-adenin-dinucleotid-fosfat-oxidaza (NADPH oxidaza) este una dintre cele mai importante surse endogene de ROS din organism. Acest sistem enzimatic se integrează cu diferite proteine distribuite între citoplasmă și membrană. Stresul oxidativ și nitrozativ perpetuează procesul inflamator prin diferite mecanisme. ROS și NRS au efecte chemotactice care favorizează recrutarea neutrofilelor<sup>(12)</sup>.

NO este un gaz ușor solubil și se poate răspândi desul de ușor în mediul biologic. El poate, de asemenea, să reacționeze cu superoxidul radical pentru a produce ONOO<sup>-</sup>, care, la rândul său, poate nitra tirozina, formând 3-nitrotirozina (3NT). ONOO<sup>-</sup> determină oxidarea lipoproteinelor și nitrarea reziduurilor proteice de tirozină. Peroxinitritul este dificil de investigat și indirect evidențiat prin proteinele nitate<sup>(13)</sup>.

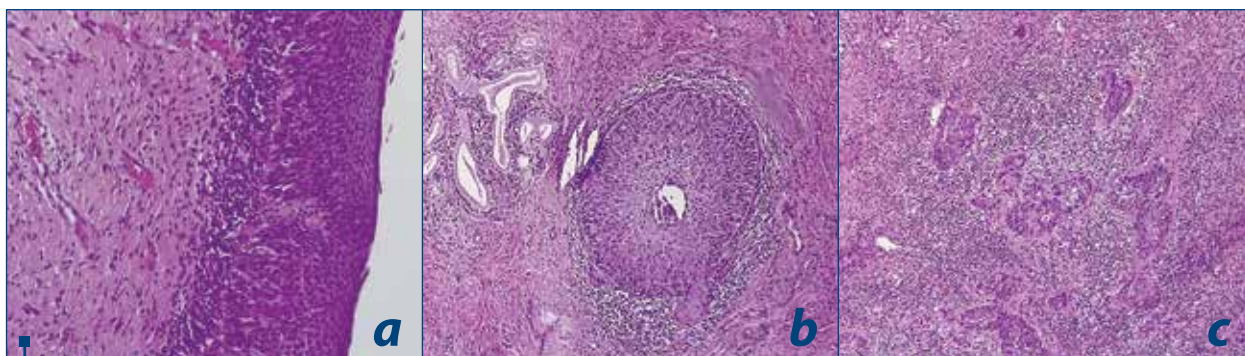
Rezultatele obținute indică o relație semnificativă între stresul oxidativ și leziunea neoplazică. Creșterea procentuală a expresiei markerilor a fost direct proporțională cu gradul leziunii epiteliale. Expresia markerilor IHC este mai intensă în celulele epiteliale versus stromale. Existența unui gradient de expresie stromală este importantă.

Deteriorarea proteinelor (nitratarea proteinelor) a fost determinată și analizată în secțiunile histologice cu leziuni neoplazice ale colului uterin, utilizând un anticorp monoclonal împotriva 3-NT pentru a cuantifica 3-NT (imunohistochimie).

MDA (malondialdehida) este o aldehydă cu greutate moleculară joasă, apărută ca urmare a combinației dintre radicali liberi și acizi grași polinesaturați (PUFA) din procesul de degradare al fosfolipidelor membranare. Alterarea structurii și funcției membranare ar putea induce progresia leziunilor neoplazice. MDA este utilizat în evaluarea procesului de peroxidare lipidică.

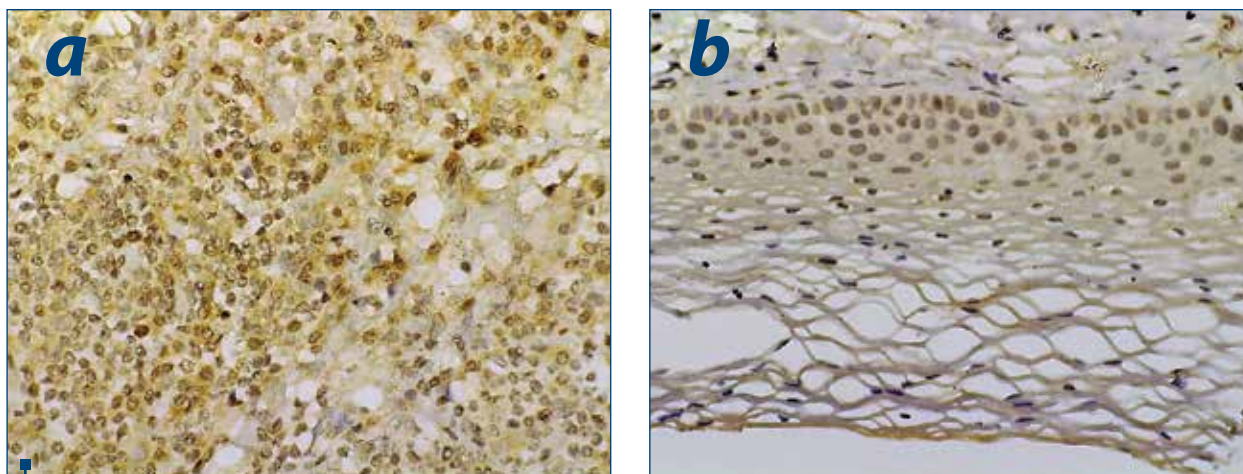
Malondialdehida (MDA) este un produs endogen, rezultat ca urmare a peroxidării lipidelor și a biosintezei prostaglandinelor și participă la o varietate de reacții chimice și biologice, inclusiv legarea covalentă la proteine, ARN și AND. MDA este utilizat pe scară largă pentru evaluarea procesului de peroxidare a lipidelor. ROS generate cauzează peroxidarea acizilor grași polinesaturați (PUFA) ai membranei, fenomenul purtând denumirea de peroxidare lipidică<sup>(15)</sup>. Acest lucru întrerupe integritatea membranei, care poate fi unul dintre motivele posibile ale progresiei leziunilor neoplazice maligne. Nivelurile crescute ale MDA indică peroxidarea lipidică crescută, care este o consecință a generării de radicali liberi crescuți. Aceasta provoacă alterarea profundă a funcției membranei celulare și, de asemenea, organizarea structurală a ADN-ului, care conduce la mutații<sup>(15)</sup>. Pentru măsurarea deteriorării ADN-ului oxidant la secțiunile histologice, am folosit anticorpul monoclonal împotriva MDA-ADN. Această metodă ar trebui să fie utilă pentru detectarea sensibilă a deteriorării ADN-ului într-un număr mic de celule și secțiuni de țesuturi.

MDA este cea mai abundentă aldehydă individuală ce rezultă din peroxidarea lipidelor. Deteriorarea oxidantă, așa cum este demonstrată de nivelul MDA, este

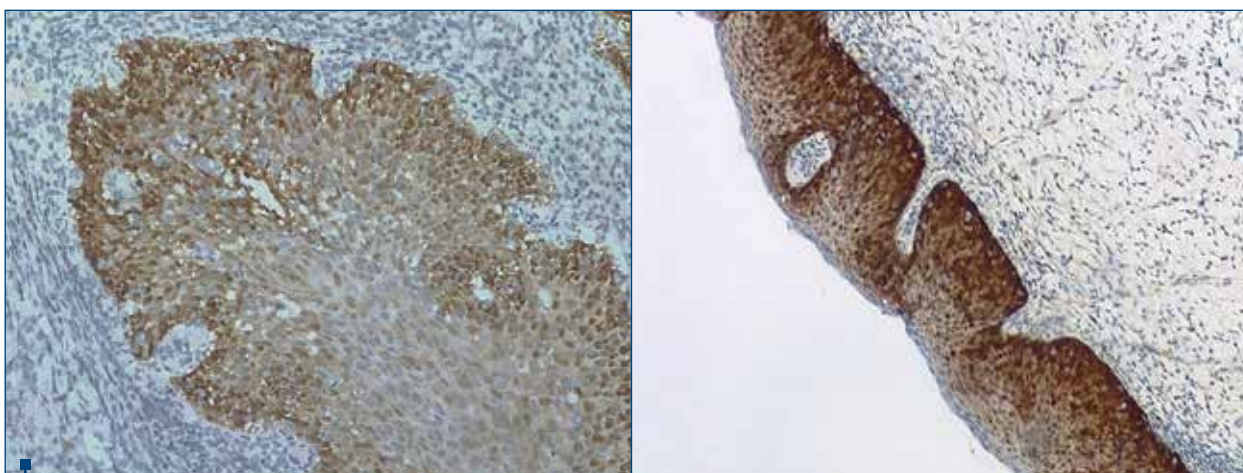


**Figura 1.** Leziune cervicală intraepitelială de grad înalt. Carcinom scuamos microinvaziv (a), carcinom scuamos invaziv (b), colorație HE (c)

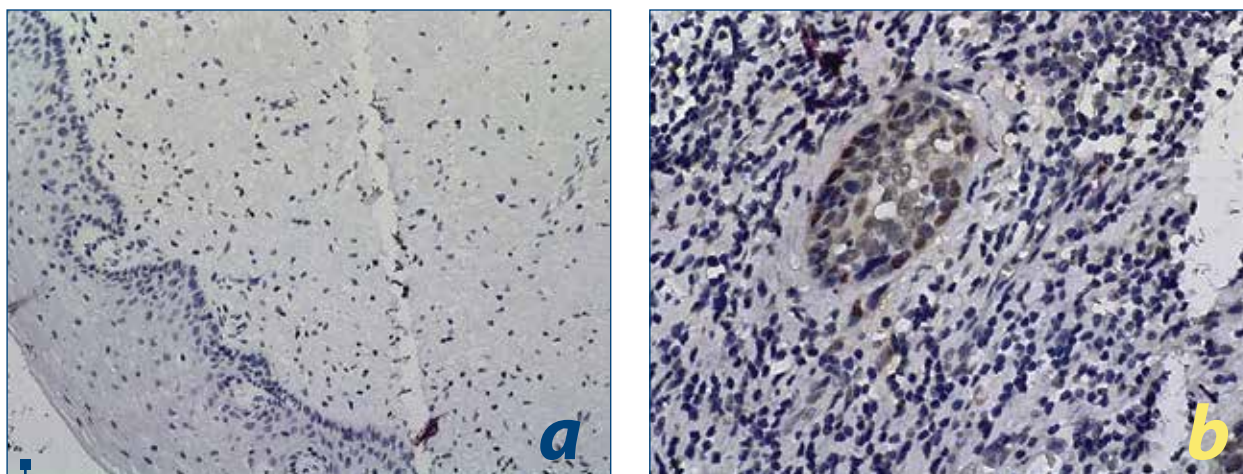




**Figura 2.a.** Expresia 3-NT în stroma peritumorală. **b.** Fragment de col uterin cu celule epiteliale bazale dispuse perpendicular pe membrana bazală, fără atipii în suprafață. Colorație IHC 3-NT

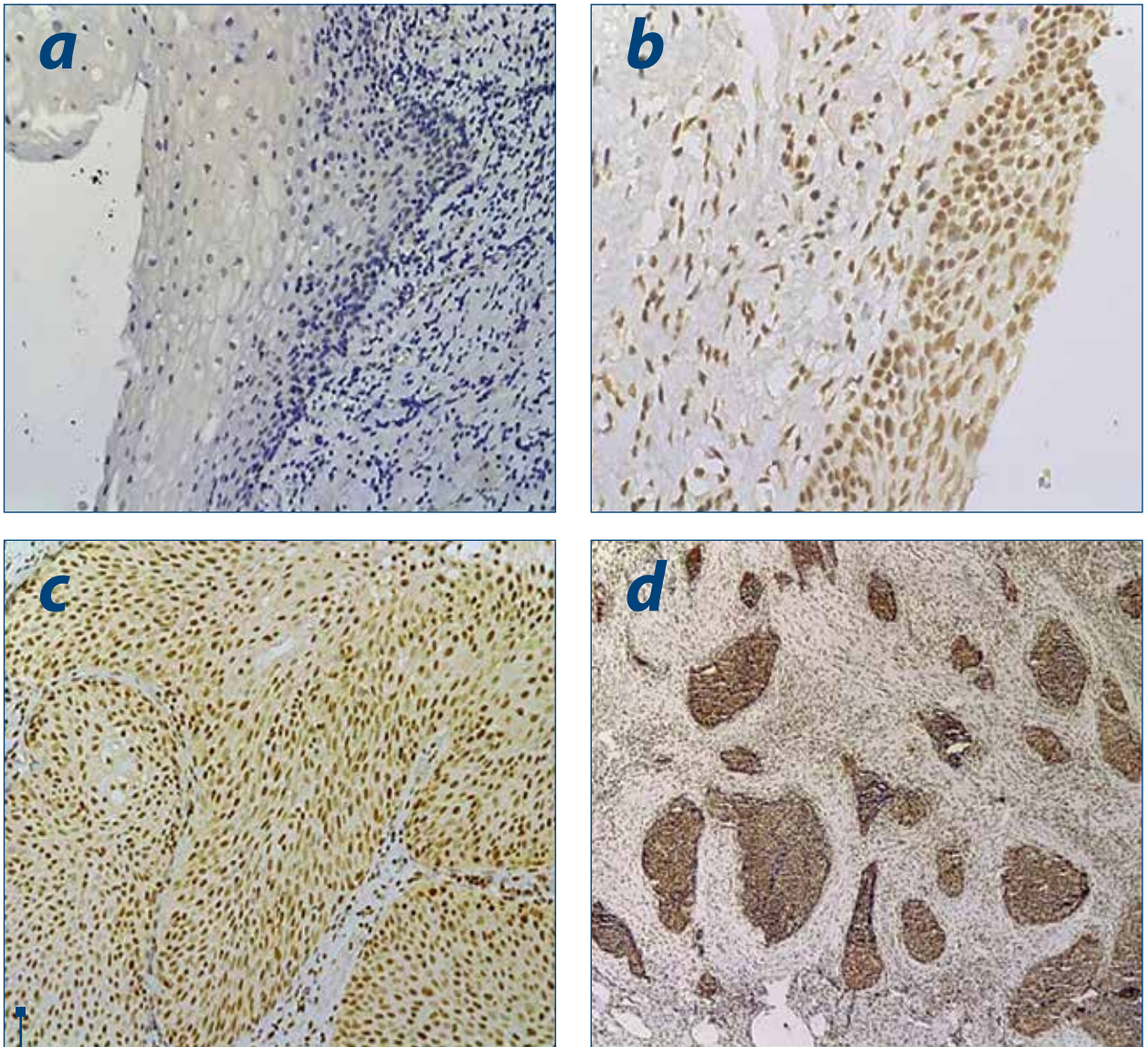


**Figura 3.** Leziune cervicală scuamoasă intraepitelială de grad înalt, cu celule cu atipii și mitoze dispuse în toată grosimea epitelului, cu pozitivitate în celulele neoplazice. Colorație IHC, 3-NT



**Figura 4 a.** Epiteliu scuamos normal adiacent unei arii cu modificări neoplazice, fără a se identifica imunomarcaj în celulele normale. **b.** Carcinom scuamos cervical – leziune infiltrativă; celulele dispuse în stroma desmoplazică prezintă imunomarcaj. Colorație IHC – MDA





**Figurile 5 a, b.** Epiteliu normal exocervical, fără prezența modificărilor histologice semnificative. Absența imunomarcajului la 8-OhDG; **c, d.** Imunomarcaj nuclear 8-OhDG la nivelul celulelor neoplazice într-o leziune de grad scăzut. Imunomarcaj nuclear 8-OhDG la nivelul celulelor neoplazice într-o leziune de grad crescut. Se observă distribuția diferită atât la nivelul celulelor neoplazice, cât și al stromei normale adiacente. Imunomarcaj nuclear intens pozitiv la nivelul celulelor tumorale într-o leziune infiltrativă de tip carcinom scuamos

semnificativ crescută la pacientele cu leziuni neoplazice cervicale, atât intraepiteliale, cât și infiltrative. O corelație de interes este legătura între infecția cu papilomavirusul uman (HPV) și modificările de stres oxidativ. Infecția genitală cu risc crescut de HPV (HR-HPV), deși este recunoscută ca principalul factor etiopatogenetic al cancerului de col uterin, nu este în sine suficientă pentru a induce dezvoltarea tumorii. ADN-ul viral integrat poate genera o stare de infecție latentă în care nu apare nici replicare virală și nici transformarea celulară. Stresul oxidativ în timpul infecției virale poate fi un rezultat al răspunsului imun la proteinele virale sau o consecință a expresiei genei virale. Stresul oxidativ provoacă leziuni

ADN oxidative, care pot facilita integrarea ADN-ului HPV<sup>(16)</sup>.

Pe lângă radicalii liberi care au indus peroxidarea lipidelor și denaturarea proteică, și lezarea ADN-ului a fost implicată în multe boli, incluzând cancerul. Apărarea antioxidantă celulară joacă un rol important în boala neoplazică pentru a contracara daunele oxidative. Un dezechilibru între sistemele pro- și antioxidante generează stresul oxidativ, iar cea mai reactivă specie de oxigen este radicalul hidroxil OH<sup>-</sup>, care atacă bazele nucleice ale catenelor ADN, cum ar fi guanina, ducând la 8-hidroxi-2-deoxiguanozină (8-OhDG)<sup>(17)</sup>. Producția de markeri de stres oxidativ și radicali liberi poate fi

corelată cu existența unei cantități mari de fier. În patologia ginecologică putem întâlni aceste modificări în cazul existenței unei hemoragii, cum ar fi menstruația retrogradă sau leziunile de tip endometrioid<sup>(18)</sup>. Am constatat faptul că leziunea ADN-ului este mai mare la nivelul celulelor tumorale comparativ cu cele neoplazice. De asemenea, cu cât gradul leziunii este mai mare, cu atât se identifică un procent mai mare de celule pozitive. Am observat o creștere semnificativă progresivă a nivelurilor de 8-OHdG și a procentului celulelor pozitive medii de la leziunile cervicale intraepiteliale de grad scăzut și până la cele de grad înalt. Valoarea cea mai mare de pozitivitate celulară a fost identificată la nivelul secțiunilor cu carcinom scuamos invaziv.

Mai multe strategii terapeutice, cum ar fi radioterapia și terapia fotodinamică, au fost proiectate special pentru a crește nivelul de ROS în celulele tumorale și a determina moartea lor prin stres oxidativ brusc și intens. Prin generarea unei supraîncărcări ROS induse terapeutic, în celulele canceroase, pragul oxidativ ce separă supraviețuirea de moarte ar putea fi depășit. Din cauza activității oxidative intrinseci crescute a celulelor canceroase și a programării lor defectuoase, sunt necesare mai puține ROS suplimentare, comparativ cu celulele normale, pentru declanșarea morții celulare. Nivelurile de ROS care sunt citotoxice pentru celulele canceroase induc efecte mai puțin drastice în celulele normale, care au un status oxidativ inferior și sunt mai eficiente în repararea leziunilor ROS induse în anumite limite. Cu toate acestea, direcționarea țintită a terapiei pe bază de stres oxidativ către țesutul bolnav reprezintă o prioritate, cu scopul de a proteja țesuturile normale împotriva acțiunii nocive a ROS „terapeutice”. Celulele tumorale prezintă diferite susceptibilități intrinseci la stresul oxidativ. Un dezavantaj major al terapiei bazate pe stres oxidativ îl reprezintă rezistența remarcabilă a celulelor stem tumorale (CSCS). Aceste celule au capacitatea de a

se autoreînnoi, de a se diferenția în mai multe linii și să inițieze tumori, fiind astfel responsabile de creșterea necontrolată a tumorilor, întreținerea bolii reziduale minime și de reparația tumorii după tratament<sup>(19)</sup>. Rezistența CSCS se bazează pe mecanismele de reparare, controlul ciclului celular, supraexpresia enzimelor antioxidante și eliminarea eficientă a radicalilor liberi<sup>(20)</sup>.

Diferite rețele moleculare reglementează CSCS și răspunsurile lor adaptative la hipoxie și stres oxidativ în tumoră. De exemplu, PI3K/PTEN/AKT/mTOR controlează nivelul ROS în CSCS prin reglarea localizării nucleare a FOXO și astfel a supraexpresiei enzimelor antioxidante<sup>(21)</sup>. Dereglarea căilor de semnalizare redox conferă celulelor tumorale un avantaj de supraviețuire<sup>(22)</sup>. Activarea activității factorului de transcripție Nrf2, care controlează sistemul antioxidant endogen, și scăderea subsecventă a stresului oxidativ în tumorile incipiente ar putea încetini evoluția procesului tumoral. În același timp, date recente arată că eficacitatea chimio- și radioterapiei necesită un status oxidativ activat la nivel tumoral, ceea ce sugerează că inhibarea farmacologică a sistemului antioxidant endogen prin inhibarea activității Nrf2 poate reprezenta o abordare terapeutică adjuvantă în tumorile solide pentru a controla rezistența la terapia antitumorală convențională<sup>(23)</sup>.

În concluzie, caracterizarea moleculară a statusului redox în tumorile genitale poate aduce noi informații privind identificarea de noi ținte terapeutice și pentru estimarea răspunsului la terapiile antitumorale convenționale (chimio- și radioterapie). ■

**Acknowledgment:** Această lucrare a fost realizată prin programul-nucleu derulat cu sprijinul ANCSI, proiect nr. 16.22.04.04.

**Conflict of interests:** The authors declare no conflict of interests.

## Bibliografie

1. <http://www-dep.iarc.fr/WHOdb/WHOdb.htm>
2. Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radic Biol Med*. 2010;49(11):1603-16.
3. Manda G, Nechifor MT, Neagu TM. Reactive oxygen species, cancer and anti-cancer therapies. *Curr Chem Biol*. 2009;3:342-66.
4. Roy K, Wu Y, Meitzler JL, Juhasz A, Liu H, Jiang H, Lu J, Antony S, Doroshov JH. NADPH oxidases and cancer. *Clin Sci*. 2015;128:863-75.
5. Zheng J. Energy metabolism of cancer: glycolysis versus oxidative phosphorylation (Review). *Oncol Lett*. 2012;4:1151-7.
6. Frohlich DA, McCabe MT, Arnold RS, Day ML. The role of Nrf2 in increased reactive oxygen species and DNA damage in prostate tumorigenesis. *Oncogene*. 2008;27:4335-62.
7. Du H, Yang W, Chen L, Shen B, Peng C, Li H, Ann DK, Yen Y, Qiu W. Emerging role of autophagy during ischemia-hypoxia and reperfusion in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol*. 2012;40:2049-57.
8. Lu T, Gabrilovich DI. Molecular pathways: tumor-infiltrating myeloid cells and reactive oxygen species in regulation of tumor microenvironment. *Clin Cancer Res*. 2012;15:4877-82.
9. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. *Reprod Biol Endocrin*. 2005;3:28.
10. Mitsuishi Y, Motohashi H, Yamamoto M. The Keap1-Nrf2 system in cancers: stress response and anabolic metabolism. *Front Oncol*. 2012;2:200.
11. Nita M, Grzybowski A. The role of the reactive oxygen species and oxidative stress in the pathomechanism of the age-related ocular diseases and other pathologies of the anterior and posterior eye segments in adults. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:3164734.
12. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res*. 2010;44(5):479-96.
13. Storz P. Reactive oxygen species in tumor progression. *Front Biosci*. 2005;10:1881-96.
14. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*. 2014;360438.
15. Wagner G, Lubin, Ye Chin. Oxidative damage to red cells in cellular antioxidant defence mechanism. *CRC Press. Bacon Raton*. 1998; 333-5.
16. De Marco F. Oxidative Stress and HPV Carcinogenesis. *Viruses*. 2013;5(2):708-31.
17. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*. 2009;27(2):120-39.
18. Yamaguchi K, Mandai M, Toyokuni S, Hamanishi J, Higuchi T, Takakura K, Fujii S. Contents of endometriotic cysts, especially the high concentration of free iron, are a possible cause of carcinogenesis in the cysts through the iron-induced persistent oxidative stress. *Clin Cancer Res*. 2008;14(1):32-40.
19. Stoyanova R, Huang K, Sandler K, Cho H, Carlin S, Zanzonico PB, Koutcher JA, Ackerstaff E. Mapping tumor hypoxia in vivo using pattern recognition of dynamic contrast-enhanced MRI data. *Transl Oncol*. 2012;5(6):437-47.
20. Sahlberg SH, Spiegelberg D, Glimelius B, Stenerlöw B, Nestor M. Evaluation of cancer stem cell markers CD133, CD44, CD24: association with AKT isoforms and radiation resistance in colon cancer cells. *PloS ONE*. 2014;9(4):e94621.
21. Ding S, Li C, Cheng N, Cui X, Xu X, Zhou G. Redox regulation in cancer stem cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015;(3):750-98.
22. Manda G, Isvoranu G, Comănescu MV, Manea A, Debeleac Butuner B, Korkmaz KK. The redox biology network in cancer pathophysiology and therapeutics. *Redox Biol*. 2015;5:347-57.
23. Zhou S, Ye W, Shao Q, Zhang M, Liang J. Nrf2 is a potential therapeutic target in radioresistance in human cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;88(3):706-15.