جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشكی

 دانشگاه علوم پزشكی كرمانشاه

 معاونت تحقیقات و فناوری

طرح پیشنهادي تحقيق

عنوان طرح: : بررسی ارتباط Nrf2/Keap1 با دیابت نفروپاتیک

مجری/ مجریان: حسین محمدی،ارمین شریفی ، علی حسن ، پیام،

عاطفه کاکاوند

گروه بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی کرمانشاه

تاریخ: اسفند 98

**چکیده :**

نفروپاتی دیابتی یکی از عوارض دیابت قندی کنترل نشده است است که شایعترین عارضه کلیه است که در نهایت میتواند منجر به نارسایی کلیه شود. یکی از مهمترین ریسک فاکتورهای دیابت نفروپاتیک استرس اکسیداتیو که میتواند در اثر هایپرگلاسمی ایجاد شود. افزایش ROS میتواند منجر به اختلال در متابولیسم کربوهیدرات ها و پیشرفت DN شود.سیستم Nrf2/Keap1 یکی از مهمترین مسیرهای دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو و حفظ تعادل ردوکس سلولی در سطح فیزیولوژیکی است. Nrf2 یک فاکتور رونویسی است که در سطح پایین ROS از طریق Keap1 غیر فعال نگه داشته میشود اما در حالت پاتوفیزیولوژیک و افزایش ROS این مسیر فعال شده و باعث بیان ژن انزیم های آنتی اکسیدان از جمله هم اکسیژناز، کاتالاز و ... میشود که از این طریق میتواند باعث از بین رفتن استرس اکسیداتیو میشود. پس با شناخت تنظیم کننده های Nrf2 میتوان از آن به عنوان یک هدف برای پیشگیری از عوارض دیابتی بهره برد.در این مطالعه مروری ما به برخی از مکانیسم های تنظیم کننده و تنظیم کننده ها اشاره میکنیم.

**مقدمه :**

دیابت قندی (DM) نوعی اختلال متابولیک با علل متعدد است که با هایپرگلایسمی مزمن همراه با اختلال در متابولیسم پروتئین ، چربی و کربوهیدرات ناشی از نقص در ترشح انسولین ، عمل انسولین یا هر دو مشخص می شود. در سطح جهان 382 میلیون نفر در سال 2013 به دیابت مبتلا شده اند و پیش بینی می شود این میزان تا سال 2035 به 592 میلیون نفر برسد(1).بطور مثال برای هند با 65.1 میلیون نفر مبتلا به دیابت در سال 2013 تخمین زده می شود در جایگاه دوم قرار دارد و پیش بینی می شود تا سال 2035 به 109 میلیون نفر برسد(2). اثرات دیابت قندی شامل آسیب طولانی مدت ، اختلال در عملکرد و نارسایی ارگانهای مختلف حیاتی ، به ویژه چشم ، کلیه ، اعصاب ، قلب و عروق خونی است(3). در بین انواع مختلف عوارض دیابت ، نفروپاتی دیابتی (DK) شایعترین عارضه کلیه و اصلی ترین علت بیماری کلیوی مرحله نهایی (ESRD) است.(4)

**دیابت نفروپاتی :**

 نفروپاتی دیابتی یا بیماری کلیوی دیابتی (DKD) به عنوان یک بیماری مزمن ، با تغییرات پاتولوژیک پی در پی از جمله هایپرتروفی کلیوی و ضخیم شدن غشای زیرزمین در مراحل اولیه و تجمع ماتریکس خارج سلول (ECM) ، گلومرولوسکلروز و فیبروز بینابینی در اواخر مشخص می شود ، که در نهایت منجر به از بین رفتن عملکرد کلیه میشود(5, 6). به موازات آن ، این بیماری اغلب با سایر فرآیندهای آترواسکلروتیک نیز همراه است. اگرچه پاتوژنز نفروپاتی دیابتی پیچیده است و هنوز ناشناخته است ، اما هایپرگلایسمی عامل اصلی شروع نفروپاتی دیابتی است(7). نفروپاتی دیابتی به احتمال زیاد در بیمارانی رخ می دهد که دیابت انها کنترل شده نیست(8).در اوایل دیابت به ویژه در بزرگسالان جوان، افراد تحت تأثیر هر دو بیماری قرار می گیرند. مطالعات اپیدمیولوژیک گذشته نشان داد که 25 – 40 درصد از افراد مبتلا به دیابت نوع 1 (T1D) و 5- 40٪ از مبتلایان به دیابت نوع 2 (T2D) در نهایت دچار DN می شوند(9). قبلاً گزارش شده است که بروز بیماری کلیوی مرحله نهایی در 4-17٪ ، 20-30 سال پس از شروع T1D است(10, 11). بنابراین ، غربالگری برای DN باید در اوایل دوره دیابت شروع شود(12). ریسک فاکتورهای متعددی با پیشرفت DN همراه بوده است ، از جمله فشار خون بالا ناشی از آسیب گلومرولی ، پروتئینوری ، هایپرلیپیدمی و استعداد ژنتیکی و همچنین استرس اکسیداتیو .(13, 14)

**استرس اکسیداتیو و دیابت نفروپاتی :**

هایپرگلیسمی ، از طریق برخی مسیرهای پیچیده شامل AGE (Advanced Glycation End-products) ، فعال سازی PKC (پروتئین کیناز C) ، افزایش ROS (گونه های اکسیژن فعال) و افزایش DAG (Diacylglycerol) باعث آسیب به عروق گلومرولی می شود. استرس اکسیداتیو ناشی از هایپرگلیسمی در پاتوژنز دیابت و عوارض آن دخیل است. سطح پایین ROS در بدن برای بقا و تکثیر بسیار مهم است. سطح بالای ROS منجر به آپوپتوز سلولی می شود. سطح بسیار بالای ROS منجر به آسیب ماکرومولکولهای سلولی ، از جمله DNA ، لیپیدها و پروتئین می شود. اگر این آسیب ها ترمیم نشوند ، باعث جهش و در نتیجه آسیب بافتی یا حتی مرگ سلولی نکروتیک می شود.(15-17) همچنین استرس اکسیداتیو در بدن با اختلال در تنظیم قند خون ارتباط دارد. تعداد زیادی از بررسیهای عالی نشان داده اند که استرس اکسیداتیو پیشرفت DN را تسریع می کنند(18-20).شواهد از نقش اصلی ROS در شروع و پیشرفت نفروپاتی دیابتی ثابت کرد که NADPH Oxidase (Nox) ممکن است مسئول این تولید بیش از حد ROS باشد(21).در هایپرگلیسمی ، برخی از ROS ها تولید می شوند و با بدتر شدن قند خون ، تولید آنها نیز افزایش می یابد. دخالت این تولید ROS در هنگام استرس اکسیداتیو (شرایطی که ROS بیشتری نسبت به آنتی اکسیدان ها در آن برقرار است) عاملی است که قند خون را با عوارض عروقی DN مرتبط می کند و این را می توان در دو دیدگاه توصیف کرد (21, 22).مکانیسم اول درگیری مدولاسیون متابولیک مولکولهای بافت هدف است و دوم تغییرات در همودینامیک کلیوی است. شواهد بالینی و تجربی قوی نشان داد که تعدیل متابولیک مولکولهای بافت هدف و تغییرات همودینامیک کلیه اثرات سوء هم افزایی بر روی بافتهای هدف دارد(21).

**استرس اکسیداتیو و مسیر Nrf2/Keap1/ARE :**

همچنین استرس اکسیداتیو بر بسیاری از کارکردهای سلولی از جمله مسیرهای سیگنالینگ تأثیر می گذارد. این به نوبه خود ، ممکن است باعث القای اتوفاژی یا آپوپتوز شود. مسیر سیگنالینگ NRF2 / KEAP1 مسیر اصلی مسئول دفاع سلول در برابر استرس اکسیداتیو و حفظ تعادل ردوکس سلولی در سطح فیزیولوژیکی است.سیستم Keap1-Nrf2-ARE نقش مهمی در نگهداری از هموستاز گلوکز و سرکوب شروع و یا پیشرفت دیابت دارد(23).

**Nrf2 (NF-E2-related factor 2) :**

 Nrf2 یک فاکتور رونویسی با وزن KDa 66 است که دارای هفت دامنه بسیار محافظت شده و یک موتیف لوسین زیپر اتصالی به DNA است(24).



 .همچنین Nrf2 مجموعه ای از ژن های آنزیم های آنتی اکسیدان و سم زدایی را القا می کند و نقش مهمی در محافظت از بدن در برابر تنش های مختلف محیطی ، مانند الکتروفیل ها ، گونه های اکسیژن فعال (ROS) و گونه های نیتروژن فعال (RNS) ایفا می کند(25). Nrf2 به طور گسترده در همه سطوح اندام انسان در سطح پایین بیان می شود. همانطور که Nrf2 یک مکانیسم دفاعی سلولی مهم را تنظیم می کند ، تنظیم دقیق ان برای حفظ هموستاز سلولی بسیار مهم است. فعال سازی این مسیر در جلوگیری از بیماری های انسانی مانند سرطان ، بیماری های عصبی ، بیماری های قلبی عروقی ، ایسکمی ، دیابت ، فیبروز ریوی و بیماری های التهابی از اهمیت ویژه ای برخوردار است. در مقابل ، سطح بالای تشکیل دهنده Nrf2 در بسیاری از تومورها یا رده های سلولی سرطان رخ می دهد. بیان بیش از حد Nrf2 در سلولهای سرطانی آنها را از اثرات سمیت سلولی درمان های ضد سرطان محافظت می کند ، و در نتیجه مقاومت شیمیایی یا رادیوآزمایی ایجاد می کند. بنابراین ، درک مقررات Nrf2 و شناسایی فعال کننده یا مهار کننده های Nrf2 جهت پیشگیری از بیماری یا به عنوان عوامل حساس کننده در طول درمان سرطان ، به ترتیب ، تأثیر بسزایی در سلامت انسان خواهد داشت(26).در نتیجه اهمیت Nrf2 اکنون به عنوان یک هدف درمانی افزایش یافته است23 Keap1 عنصر نظارتی اصلی در سیگنالینگ Nrf2 را تشکیل می دهد. در یک بررسی عالی با ارائه مسیر Nrf2 / Keap1 از منظر زیست شناسی ، از آن به عنوان یک "مبدل" حساس به اکسیداتیو و همچنین سیگنال های متقابل آنزیمی و پروتئین استفاده شد(27). شناسایی Keap1 به سرعت محققان این زمینه را به سمت تمرکز بر مکانیسم های مولکولی تنظیم Nrf2 سوق داد. تغییر وضعیت مجموعه KeaP1 بر عملکرد کل مسیر Nrf2 / Keap1 تأثیر می گذارد(27).

**Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) :**

Keap1 یک لیگاز E3 یوبیکیتین مبتنی بر Cullin3 است که عملکرد آداپتور بستر را بازی می کند [5]. پنج دامنه در مولکول Keap1 کشف شده است. آنها NTR ، BTB ، IVR ، DGR و CTR هستند(28).



دامنه IVR غنی از سیستئین به اکسیداسیون حساس است(29). Keap1یک پروتئین غنی از سیستئین است که شامل 25 باقیمانده سیستئین در موش یا 27 باقی مانده در انسان است سه باقیمانده سیستئین مهم (Cys151 ، Cys273 ، و Cys288) هستند که مشخص شده است برای حفظ تمامیت ساختاری Keap1 بسیار مهم هستند(30-32). دامنه DGR جایی است که Keap1 به حوزه Neh2 Nrf2 متصل می شود(33).

دو مکانیسم مهم فعال سازی Nrf2 بین سالهای 2002 و 2004 مشخص شد. بقایای سیستئین در Keap1 به عنوان حسگر استرس اکسیداتیو و حسگر فعال سازی Nrf2 عمل می کند.(34)

**تاثیر استرس اکسیداتیو و فعال سازی مسیر Nrf2/Keap1/ARE :**

در شرایط استراحت ، Keap1 با Nrf2 در تعامل است تا یک مجموعه را تشکیل دهد(35, 36). در این شرایط ، Keap1 به عنوان مهار کننده Nrf2 عمل می کند. علاوه بر این ، این مهار کننده Nrf2 همچنین می تواند با Cul3-E3-ligase در تعامل باشد، که واسطه تخریب Nrf2 در سیستم یوبیوکیتین پروتئازوم است. پس از آن ، عملکرد رونویسی Nrf2 سرکوب می شود(37).



 هنگامی که سلول ها در معرض استرس اکسیداتیو یا الکتروفیلی قرار دارند ، فعال سازی Nrf2 شامل اکسیداسیون باقیمانده های سیستئین کلیدی در Keap1 می باشد یعنی پس مانده های سیستئین Keap1 اصلاح می شوند (تغییرات کنفورماسیونی)(31, 34). سپس Keap1 توانایی خود را برای تعدیل Nrf2 از دست می دهد و این اجازه تفکیک مجتمع Keap1 / Nrf2 و جابجایی Nrf2 به هسته را می دهد(38, 39). در هسته ، Nrf2 با کمک پروتئین sMaf به ARE متصل می شود(40).



سپس ، Nrf2 باعث رونویسی از آنزیم های و آنتی اکسیدان و سم زدایی از جمله heme oxygenase-1 و superoxide dismutase 1 گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) , همی اکسیژناز-1 (HO-1)

کاتالاز (CAT)، NADPH-Quinone Oxidoreductase-1 (NQO-1) و گلوتامات سیستئین لیگاز (GCL) میشود(41-43). شواهدی وجود دارد که نشان می دهد Nrf2 مستقیماً ژنهای مرتبط با متابولیسم سلولی را تنظیم می کند.بنابراین ، عملکرد آنتی اکسیدانی سیستم Keap1-Nrf2 به نظر می رسد نقش مهمی در حفظ متابولیسم گلوکز از طریق ترشح انسولین و استفاده گلوکز در بافتهای حساس به انسولین بازی می کند(44, 45).



**نقش مسیر Nrf2/Keap1/ARE در دیابت نفروپاتی :**

مطالعات گذشته این موضوع را اثبات کرده اند که فعال شدن سیستم Keap1-Nrf2 به سرکوب دیابت کمک می کند. در ازمایشی استرس اکسیداتیو ناشی از هایپرگلیسمی و آسیب دیدگی کلیوی در موش های که Nrf2 انها ناک اوت شدند و تحت درمان با استرپتوزوتوسین بودند از موش هایی که در گروه کنترل از نوع وحشی قرار داشتند شدیدتر بودند، که این نشان دهنده ی اثر مفید Nrf2 در DN است(46, 47).این نتایج نشان می دهد که هایپرگلیسمی باعث افزایش استرس اکسیداتیو و سرعت بخشیدن به آسیب کلیوی در موش Nrf2 KO می شود و Nrf2 به عنوان یک عامل دفاعی در برابر برخی از عوارض دیابتی عمل می کند(46).

 یک یافته مهم دیگر این است که القای Nrf2 از سلولهای B پانکراس در برابر انواع مختلفی از آسیب ها ، از جمله مواردی که مربوط به اکسیدان ها ، مواد شیمیایی سمی و التهاب است، محافظت می کند. همچنین فعال شدن سیگنالینگ Nrf2 با افزایش فسفوریلاسیون AMPK ، مصرف اکسیژن و جذب گلوکز و سرکوب گلوکونوژنز و افزایش وزن بدن ، شروع و یا پیشرفت مقاومت به انسولین را سرکوب می کند. این عملکردهای Nrf2 در کنار هم منجر به محافظت بدن در برابر دیابت می شود. فعال سازی Nrf2 همچنین به عنوان یک هدف امیدوار کننده برای پیشگیری از عوارض دیابتی ظاهر شده است(48).

جدا از نقش مثبت آن در سلولهای طبیعی ، مسیر NRF2 / KEAP1 تاثیر منفی هم دارد .بطور مثال باعث مقاومت در برابر دارو و بقای سلولهای سرطانی خاص میشود. جهش های سوماتیک در ژن های کد کننده پروتئین NRF2 و KEAP1 که منجر به فعال شدن دائمی این مسیر تنش زا می شود ، در بسیاری از انواع سرطان یافت می شود(35).

**تنظیم مسیر Nrf2/Keap1/ARE :**

مسیر سیگنالینگ Nrf2 / ARE توسط مکانیسم های پیچیده تنظیم می شود. مدل های تنظیم شامل تنظیم در سطح رونویسی ، سطح ترجمه و سطح پس از ترجمه است. Kwak و همکاران دریافت که Nrf2 می تواند خود را از طریق یک عنصر خاص از پروموتور خود بطور خودکار تنظیم کند(49). امروزه ، تصور می شود microRNA در تنظیم استرس اکسیداتیو شرکت می کنند. پیشنهاد شده است که ژن Nrf2 را می توان مستقیماً باmiR-28، miR-34a و miR-144 تنظیم کرد(50-53). علاوه بر این ، ژن Nrf2 می تواند به طور غیرمستقیم با مهار تنظیم ژن Keap1 توسط miR-200a تنظیم شود(54). علاوه بر این ، پیشنهاد می شود که متیلاسیون DNA و اصلاح هیستون می توانند مسیر Nrf2 / ARE را تنظیم کنند(55-58). همچنین همانطور که در بالا گفتیم، Nrf2 در سیستم یوبیوکیتین پروتئازوم تخریب می شود. این فرآیند پروتئین Nrf2 را در سطح پایین نگه می دارد و با جلوگیری از رونویسی از ژن های ناخواسته ، هموستاز ردوکس سلولی را حفظ می کند. علاوه بر سیستم ubiquitin پروتئازوم، پروتئین های دیگر می توانند Nrf2 را با تعامل با مجموعه Nrf2-Keap1 تنظیم کنند. به عنوان مثال ، مهار مسیر اتوفاژی منجر به تجمع بیش از حد p62 می شود. با تعامل مستقیم با Keap1 ، P62 باعث تخریب Nrf2 با واسطه Keap1 می شود(59). علاوه بر تنظیم رونویسی و ترجمه ، مسیر Nrf2 نیز می تواند پس از ترجمه تنظیم شود. به عنوان مثال ، پروتئین کیناز C فسفوریلاسیون Nrf2 را در باقی مانده سرین 40 کاتالیز می کند ، که برای تقویت جداسازی Nrf2 از Keap1 ضروری است(60).

از طرف دیگر از انجا که تخریب Nrf2 در سیستم پروتئازوم رخ می دهد، بنابراین ، سرکوب تخریب Nrf2 از طریق مهار فعالیت پروتئازوم به نظر می رسد یک استراتژی مناسب برای DN باشد. مطالعات از طرف دیگر و گروههای ما نشان داد كه دوز كم MG132 ، یك مهاركننده پروتئازوم ، اثرات پیشگیری و درمانی بر رشد و پیشرفت DN در جوندگان دارد(61, 62).

همچنین فعال سازی هسته ای Nrf2 ممکن است توسط استیله شدن ایجاد شود. در هسته ، Nrf2 تحت استیل قرار می گیرد و باعث اتصال دامنه bZip با توالی ARE می شود و در نتیجه رونویسی ژن را افزایش می دهد. در مقابل ، د استیلاسیون باعث آزادسازی Nrf2 از توالی ARE می شود و باعث خاتمه رونویسی و صادرات آن به سیتوپلاسم می شود(40, 63).

**فعال کننده های مسیر Nrf2/Keap1/ARE :**

به تازگی ، تعداد زیادی از فعال کننده های Nrf2 برای کشف پتانسیل درمانی Nrf2 در مدلهای تجربی DN استفاده شده است. در این مطالعات ، فعال کننده های Nrf2 مثل Sulforaphane،

 Resveratrol and rosuvastatin، Polydatin (resveratrol analogue)از طریق مکانیسم های مختلف بر روی یک سری اهداف عمل می کنند(40, 64, 65).

1. Guariguata L. Contribute data to the 6th edition of the IDF Diabetes Atlas. Diabetes research and clinical practice. 2013;100(2):280.

2. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. Diabetes research and clinical practice. 2014;103(2):137-49.

3. Association AD. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care. 2014;37(Supplement 1):S81-S90.

4. Ismail N, Becker B, Strzelczyk P, Ritz E. Renal disease and hypertension in non–insulin-dependent diabetes mellitus. Kidney international. 1999;55(1):1-28.

5. Cooper ME. Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. The Lancet. 1998;352(9123):213-9.

6. Zheng F, Guan Y. Thiazolidinediones: a novel class of drugs for the prevention of diabetic nephropathy? Kidney international. 2007;72(11):1301-3.

7. Debnam ES, Unwin RJ. Hyperglycemia and intestinal and renal glucose transport: implications for diabetic renal injury. Kidney international. 1996;50(4):1101-9.

8. De Boer IH, Sibley SD, Kestenbaum B, Sampson JN, Young B, Cleary PA, et al. Central obesity, incident microalbuminuria, and change in creatinine clearance in the epidemiology of diabetes interventions and complications study. Journal of the American Society of Nephrology. 2007;18(1):235-43.

9. Davies MJ, D’Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, et al. Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetologia. 2018;61(12):2461-98.

10. Sun JK, Keenan HA, Cavallerano JD, Asztalos BF, Schaefer EJ, Sell DR, et al. Protection from retinopathy and other complications in patients with type 1 diabetes of extreme duration: the joslin 50-year medalist study. Diabetes care. 2011;34(4):968-74.

11. Gross JL, De Azevedo MJ, Silveiro SP, Canani LH, Caramori ML, Zelmanovitz T. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. Diabetes care. 2005;28(1):164-76.

12. Skupien J, Warram JH, Smiles AM, Niewczas MA, Gohda T, Pezzolesi MG, et al. The early decline in renal function in patients with type 1 diabetes and proteinuria predicts the risk of end-stage renal disease. Kidney international. 2012;82(5):589-97.

13. Papadopoulou‐Marketou N, Chrousos GP, Kanaka‐Gantenbein C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. Diabetes/metabolism research and reviews. 2017;33(2):e2841.

14. Gøtzsche O, Gundersen H, Østerby R. Irreversibility of glomerular basement membrane accumulation despite reversibility of renal hypertrophy with islet transplantation in early experimental diabetes. Diabetes. 1981;30(6):481-5.

15. Yüksel K, Ayşegül Ç, Nihat SÖYLEMEZ HD, Hamit Hakan A. Correlations between oxidative DNA damage, oxidative stress and coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease. International journal of medical sciences. 2012;9(8):621.

16. Pillon NJ, Croze ML, Vella RE, Soulère L, Lagarde M, Soulage CO. The lipid peroxidation by-product 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) induces insulin resistance in skeletal muscle through both carbonyl and oxidative stress. Endocrinology. 2012;153(5):2099-111.

17. Piomboni P, Stendardi A, Gambera L, Tatone C, Coppola L, De Leo V, et al. Protein modification as oxidative stress marker in normal and pathological human seminal plasma. Redox Report. 2012;17(5):227-32.

18. Kumar Arora M, Kumar Singh U. Oxidative stress: meeting multiple targets in pathogenesis of diabetic nephropathy. Current drug targets. 2014;15(5):531-8.

19. Kashihara N, Haruna Y, K Kondeti V, S Kanwar Y. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Current medicinal chemistry. 2010;17(34):4256-69.

20. Vasavada N, Agarwal R. Role of oxidative stress in diabetic nephropathy. Advances in chronic kidney disease. 2005;12(2):146-54.

21. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. Diabetes. 2008;57(6):1446-54.

22. Ceriello A, Morocutti A, Mercuri F, Quagliaro L, Moro M, Damante G, et al. Defective intracellular antioxidant enzyme production in type 1 diabetic patients with nephropathy. Diabetes. 2000;49(12):2170-7.

23. Stępkowski TM, Kruszewski MK. Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis. Free Radical Biology and Medicine. 2011;50(9):1186-95.

24. Itoh K, Mimura J, Yamamoto M. Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. Antioxidants & redox signaling. 2010;13(11):1665-78.

25. Ishii T, Itoh K, Takahashi S, Sato H, Yanagawa T, Katoh Y, et al. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages. Journal of Biological Chemistry. 2000;275(21):16023-9.

26. Zhang DD. The Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway: The regulation and dual function of Nrf2 in cancer. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2010.

27. Zhang Q, Pi J, Woods CG, Andersen ME. A systems biology perspective on Nrf2-mediated antioxidant response. Toxicology and applied pharmacology. 2010;244(1):84-97.

28. Itoh K, Tong KI, Yamamoto M. Molecular mechanism activating Nrf2–Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. Free Radical Biology and Medicine. 2004;36(10):1208-13.

29. Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Cole RN, Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002;99(18):11908-13.

30. Hur W, Gray NS. Small molecule modulators of antioxidant response pathway. Current opinion in chemical biology. 2011;15(1):162-73.

31. Saito R, Suzuki T, Hiramoto K, Asami S, Naganuma E, Suda H, et al. Characterizations of three major cysteine sensors of Keap1 in stress response. Molecular and cellular biology. 2016;36(2):271-84.

32. Takaya K, Suzuki T, Motohashi H, Onodera K, Satomi S, Kensler TW, et al. Validation of the multiple sensor mechanism of the Keap1-Nrf2 system. Free Radical Biology and Medicine. 2012;53(4):817-27.

33. Uruno A, Motohashi H. The Keap1–Nrf2 system as an in vivo sensor for electrophiles. Nitric Oxide. 2011;25(2):153-60.

34. Wakabayashi N, Dinkova-Kostova AT, Holtzclaw WD, Kang M-I, Kobayashi A, Yamamoto M, et al. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response: fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004;101(7):2040-5.

35. Hayes JD, McMahon M. NRF2 and KEAP1 mutations: permanent activation of an adaptive response in cancer. Trends in biochemical sciences. 2009;34(4):176-88.

36. Katoh Y, Iida K, Kang M-I, Kobayashi A, Mizukami M, Tong KI, et al. Evolutionary conserved N-terminal domain of Nrf2 is essential for the Keap1-mediated degradation of the protein by proteasome. Archives of biochemistry and biophysics. 2005;433(2):342-50.

37. Stewart D, Killeen E, Naquin R, Alam S, Alam J. Degradation of transcription factor Nrf2 via the ubiquitin-proteasome pathway and stabilization by cadmium. Journal of Biological Chemistry. 2003;278(4):2396-402.

38. Baird L, Dinkova-Kostova AT. The cytoprotective role of the Keap1–Nrf2 pathway. Archives of toxicology. 2011;85(4):241-72.

39. Turpaev K. Keap1-Nrf2 signaling pathway: mechanisms of regulation and role in protection of cells against toxicity caused by xenobiotics and electrophiles. Biochemistry (Moscow). 2013;78(2):111-26.

40. Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. Biochemical and biophysical research communications. 1997;236(2):313-22.

41. Min KJ, Kim JH, Jou I, Joe EH. Adenosine induces hemeoxygenase‐1 expression in microglia through the activation of phosphatidylinositol 3‐kinase and nuclear factor E2‐related factor 2. Glia. 2008;56(9):1028-37.

42. Kalayarasan S, Prabhu PN, Sriram N, Manikandan R, Arumugam M, Sudhandiran G. Diallyl sulfide enhances antioxidants and inhibits inflammation through the activation of Nrf2 against gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. European journal of pharmacology. 2009;606(1-3):162-71.

43. Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND. Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. Kidney international. 2013;83(6):1029-41.

44. Mitsuishi Y, Taguchi K, Kawatani Y, Shibata T, Nukiwa T, Aburatani H, et al. Nrf2 redirects glucose and glutamine into anabolic pathways in metabolic reprogramming. Cancer cell. 2012;22(1):66-79.

45. Hirotsu Y, Katsuoka F, Funayama R, Nagashima T, Nishida Y, Nakayama K, et al. Nrf2–MafG heterodimers contribute globally to antioxidant and metabolic networks. Nucleic acids research. 2012;40(20):10228-39.

46. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi Si, et al. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2‐deficient mice. Genes to Cells. 2008;13(11):1159-70.

47. Choi B-h, Kang K-S, Kwak M-K. Effect of redox modulating NRF2 activators on chronic kidney disease. Molecules. 2014;19(8):12727-59.

48. Uruno A, Yagishita Y, Yamamoto M. The Keap1–Nrf2 system and diabetes mellitus. Archives of biochemistry and biophysics. 2015;566:76-84.

49. Kwak M-K, Itoh K, Yamamoto M, Kensler TW. Enhanced expression of the transcription factor Nrf2 by cancer chemopreventive agents: role of antioxidant response element-like sequences in the nrf2 promoter. Molecular and cellular biology. 2002;22(9):2883-92.

50. Cheng X, Ku C-H, Siow RC. Regulation of the Nrf2 antioxidant pathway by microRNAs: new players in micromanaging redox homeostasis. Free Radical Biology and Medicine. 2013;64:4-11.

51. Yang M, Yao Y, Eades G, Zhang Y, Zhou Q. MiR-28 regulates Nrf2 expression through a Keap1-independent mechanism. Breast cancer research and treatment. 2011;129(3):983-91.

52. Li N, Muthusamy S, Liang R, Sarojini H, Wang E. Increased expression of miR-34a and miR-93 in rat liver during aging, and their impact on the expression of Mgst1 and Sirt1. Mechanisms of ageing and development. 2011;132(3):75-85.

53. Stachurska A, Ciesla M, Kozakowska M, Wolffram S, Boesch‐Saadatmandi C, Rimbach G, et al. Cross‐talk between micro RNA s, nuclear factor E 2‐related factor 2, and heme oxygenase‐1 in ochratoxin A‐induced toxic effects in renal proximal tubular epithelial cells. Molecular nutrition & food research. 2013;57(3):504-15.

54. Eades G, Yang M, Yao Y, Zhang Y, Zhou Q. miR-200a regulates Nrf2 activation by targeting Keap1 mRNA in breast cancer cells. Journal of Biological Chemistry. 2011;286(47):40725-33.

55. Khor TO, Huang Y, Wu T-Y, Shu L, Lee J, Kong A-NT. Pharmacodynamics of curcumin as DNA hypomethylation agent in restoring the expression of Nrf2 via promoter CpGs demethylation. Biochemical pharmacology. 2011;82(9):1073-8.

56. Zhang C, Su Z-Y, Khor TO, Shu L, Kong A-NT. Sulforaphane enhances Nrf2 expression in prostate cancer TRAMP C1 cells through epigenetic regulation. Biochemical pharmacology. 2013;85(9):1398-404.

57. Correa F, Mallard C, Nilsson M, Sandberg M. Activated microglia decrease histone acetylation and Nrf2-inducible anti-oxidant defence in astrocytes: restoring effects of inhibitors of HDACs, p38 MAPK and GSK3β. Neurobiology of disease. 2011;44(1):142-51.

58. Li Z, Xu L, Tang N, Xu Y, Ye X, Shen S, et al. The polycomb group protein EZH2 inhibits lung cancer cell growth by repressing the transcription factor Nrf2. FEBS letters. 2014;588(17):3000-7.

59. Lau A, Wang X-J, Zhao F, Villeneuve NF, Wu T, Jiang T, et al. A noncanonical mechanism of Nrf2 activation by autophagy deficiency: direct interaction between Keap1 and p62. Molecular and cellular biology. 2010;30(13):3275-85.

60. Miyazawa M, Tsuji Y. Evidence for a novel antioxidant function and isoform-specific regulation of the human p66Shc gene. Molecular biology of the cell. 2014;25(13):2116-27.

61. Cui W, Li B, Bai Y, Miao X, Chen Q, Sun W, et al. Potential role for Nrf2 activation in the therapeutic effect of MG132 on diabetic nephropathy in OVE26 diabetic mice. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 2013;304(1):E87-E99.

62. Luo Z-F, Qi W, Feng B, Mu J, Zeng W, Guo Y-H, et al. Prevention of diabetic nephropathy in rats through enhanced renal antioxidative capacity by inhibition of the proteasome. Life sciences. 2011;88(11-12):512-20.

63. Kawai Y, Garduño L, Theodore M, Yang J, Arinze IJ. Acetylation-deacetylation of the transcription factor Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2) regulates its transcriptional activity and nucleocytoplasmic localization. Journal of Biological Chemistry. 2011;286(9):7629-40.

64. Hussein MM, Mahfouz MK. Effect of resveratrol and rosuvastatin on experimental diabetic nephropathy in rats. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2016;82:685-92.

65. Huang K, Chen C, Hao J, Huang J, Wang S, Liu P, et al. Polydatin promotes Nrf2-ARE anti-oxidative pathway through activating Sirt1 to resist AGEs-induced upregulation of fibronetin and transforming growth factor-β1 in rat glomerular messangial cells. Molecular and cellular endocrinology. 2015;399:178-89.