

O PAPEL DO FATOR NUCLEAR ERITROIDE 2 RELACIONADO AO FATOR 2 (NRF2) NO DIABETES MELLITUS

THE ROLE OF FACTOR 2 ERYTHROID NUCLEAR FACTOR 2 (NRF2) IN DIABETES MELLITUS

Gabriela Fernandes Hahn¹, Jarbas Rodrigues de Oliveira²,
Patricia Martins Bock^{3,4}

RESUMO

O diabetes *mellitus* (DM) é uma doença metabólica complexa. Sua etiologia é atribuída a uma combinação entre fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida. Contudo, sabe-se que o estresse oxidativo desempenha papel crucial na patogênese do DM, acarretando em disfunção das células β pancreáticas e resistência à insulina. Neste contexto, o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) é considerado o regulador mestre da resposta antioxidante do organismo, sendo um mecanismo de importância crítica para a manutenção da homeostase e sobrevivência celular. Todavia, a função do Nrf2 não se limita somente à resposta antioxidante. Ao interagir com outras vias metabólicas, o Nrf2 possui importante papel na regulação do metabolismo, atuando no metabolismo dos lipídios, manutenção da glicemia, resposta inflamatória, entre outros. Entretanto, a exata relação do Nrf2 com outras vias metabólicas ainda não é totalmente conhecida. Contudo, sabe-se que o comprometimento da função do Nrf2 é evidente na fisiopatologia do DM bem como no desenvolvimento de suas complicações clínicas. A ativação do Nrf2 protege contra os danos mediados pelo DM, podendo ser adequada uma intervenção exógena para aumentar a sua atividade.

Palavras-chave: *Complicações do diabetes; estresse oxidativo; antioxidantes; inflamação; obesidade*

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a complex metabolic disease. Its etiology is attributed to a combination of genetic, environmental, and lifestyle factors. However, it is known that oxidative stress plays a crucial role in the pathogenesis of DM, leading to pancreatic β -cell dysfunction and insulin resistance. In this context, the nuclear factor- erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) is considered the main regulator of the body's antioxidant response, being a mechanism of critical importance in the maintenance of homeostasis and cell survival. However, the role of Nrf2 is not limited to the antioxidant response alone. When interacting with other metabolic pathways, Nrf2 plays an important role in regulating metabolism, acting on lipid metabolism, in the maintenance of glycemia, and in inflammatory response, among others. However, the exact relationship of Nrf2 with other metabolic pathways is not yet fully understood. Nevertheless, impairment of Nrf2 function is known to be evident in the pathophysiology of DM as well as in the development of its clinical complications. Activation of the Nrf2 protects against damage mediated by DM, and an exogenous intervention may be adequate to increase its activity.

Keywords: *Diabetes complications; oxidative stress; antioxidants; inflammation; obesity*

O *diabetes mellitus* (DM) é uma doença metabólica crônica e progressiva que apresenta severas complicações. A sua principal característica clínica é a hiperglicemia crônica resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. De tal modo, a exposição crônica à hiperglicemia conduz a danos, disfunção e falência de diversos órgãos, afetando especialmente o coração, rins, olhos, nervos, ilhotas pancreáticas e vasos sanguíneos¹. Esta doença

Clin Biomed Res. 2017;37(3):203-213

1 Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

2 Departamento de Ciências Fisiológicas, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS). Porto Alegre, RS, Brasil.

3 Faculdades Integradas de Taquara (FACCAT). Taquara, RS, Brasil.

4 Laboratório de Fisiopatologia do Exercício, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, RS, Brasil.

Autor correspondente:

Patricia Martins Bock
patriciabock74@gmail.com
Faculdades Integradas de Taquara (FACCAT)
Av. Oscar Martins
Rangel, 4500 (ERS 115).
95600-000, Taquara, RS, Brasil.

afeta 1 em cada 10 adultos americanos, e 90% a 95% dos casos de diabetes são de DM do tipo 2 (DM2)².

O desenvolvimento do DM2 é um processo complexo que envolve fatores genéticos e ambientais, associados com vias que conectam o metabolismo com o sistema imune. Contudo, atualmente é amplamente aceito que o estresse oxidativo e a inflamação crônica desempenham um papel importante na fisiopatologia do DM2, contribuindo para a disfunção e morte das células β pancreáticas e também para o desenvolvimento das complicações clínicas da doença^{3,4}.

Neste sentido, o fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2) desempenha um importante papel na fisiopatologia de vários distúrbios mediados pelo estresse oxidativo e inflamação, incluindo o DM2⁵. Assim, o papel que o Nrf2 desempenha na fisiopatologia do DM tem sido alvo de intensa investigação. Neste panorama, esta revisão tem por objetivo sintetizar os conhecimentos sobre o papel do Nrf2 no desenvolvimento do DM e de suas complicações clínicas.

PROTEÇÃO E SOBREVIVÊNCIA CELULAR: A VIA NRF2/KEAP1

As células eucarióticas são constantemente expostas a agentes estressores ambientais e endógenos, tais como espécies reativas de oxigênio (ERO) e espécies reativas de nitrogênio (ERN), entre outros. Embora a elevação transitória destes estímulos seja importante para a regulação de diversos processos fisiológicos celulares, incluindo a secreção de insulina pelas células β , se estes estímulos estressores forem persistentes e/ou excederem a capacidade de defesa do organismo, instala-se o processo de estresse oxidativo. A cronicidade deste processo é prejudicial para as células, pois provoca danos em proteínas, lipídios e no ácido desoxirribonucleico (DNA), além de estar relacionada com o desenvolvimento de diversas doenças⁶. Dessa forma, para regular o delicado equilíbrio entre os efeitos benéficos e nocivos das espécies reativas, o organismo é equipado com mecanismos de regulação da homeostase redox, dentre eles a via Nrf2⁷.

O Nrf2, descoberto em meados da década de 90, é um membro da família *cap-n-colar* (CNC), pertencendo ainda a uma subfamília de fatores de transcrição de zíper de leucina básica (bZIP)⁸. Em condições basais, o Nrf2 se localiza no citoplasma celular associado a duas proteínas Keap1 (do inglês - *Kelch-like ECH-associated Protein 1*) também conhecido como inibidor natural do Nrf2 (iNrf2). O homodímero de Keap1 serve de intermediário para a ligação do complexo Cul3-Rbx1 (do inglês - *E3-ubiquitin ligase complex/Ring*

box protein 1) que marca por ubiquitinação o Nrf2 para degradação via proteassoma 26S. Assim, a quantidade de Nrf2 se mantém sempre baixa em condições fisiológicas⁹. No entanto, quando a célula é exposta a estímulos estressores, tais como aumento de ERO e ERN, alguns resíduos reativos de cisteína em Keap1 são oxidados, resultando em alteração conformacional de Keap1 e consequente liberação do Nrf2. As moléculas de Nrf2 livres translocam-se para o núcleo e associam-se com as proteínas sMaf (do inglês - *small musculoaponeurotic fibrosarcoma*). Esse heterodímero se liga ao elemento de resposta antioxidante (ARE) ou ao elemento de resposta eletrofilica (EpRE), localizados na região promotora dos genes alvos. Assim, o complexo Nrf2/sMaf, ao se ligar em ARE ou EpRE, iniciará o processo de transcrição¹⁰. As vias de sinalização Nrf2/Keap1 estão representadas na Figura 1. A ativação do Nrf2 também ocorre por meio da ação de proteínas quinases, tais como a proteína quinase C (PKC), proteína quinase regulada por sinal extracelular (ERK), c-Jun N-terminal quinase (JNK) e fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K), que agem fosforilando o Nrf2 em resíduos de serina ou treonina, facilitando a sua dissociação do complexo com Keap1 e posterior translocação nuclear⁷. Por outro lado, a glicogênio sintase quinase-3 β (GSK3 β) regula negativamente a sinalização do Nrf2 por meio da fosforilação dos seus resíduos de tirosina ou serina¹¹. Além disso, existe um *loop* autoregulatório que controla a abundância celular de Nrf2 e do seu inibidor natural, a proteína Keap1. Em outras palavras, o Nrf2 regula a transcrição de Keap1 e Keap1 regula a degradação do Nrf2. Deste modo, o Nrf2 controla sua própria degradação regulando os níveis de Keap1¹².

O Nrf2 é considerado o regulador chave da resposta antioxidante do organismo, sendo responsável por induzir a expressão de genes que codificam proteínas e enzimas antioxidantes, além de enzimas da fase II de detoxificação do metabolismo. Desta forma, o Nrf2 desempenha um mecanismo de importância crítica para a proteção e sobrevivência celular. Dentre os seus genes alvo estão a heme oxigenase 1 (HO-1), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), NAD(P)H quinona oxidoreductase 1 (NQO1), glutathione S transferase (GST), glutathione redutase (GR), glutathione peroxidase (GPx), tioredoxina (Trx) e glutamato cisteína ligase (GCL)⁷. Por outro lado, a função do Nrf2 não se limita somente à resposta antioxidante e de detoxificação. Ele é responsável pela modulação da expressão de mais de 200 genes, que possuem importante papel em diversos outros processos celulares, incluindo resposta inflamatória,

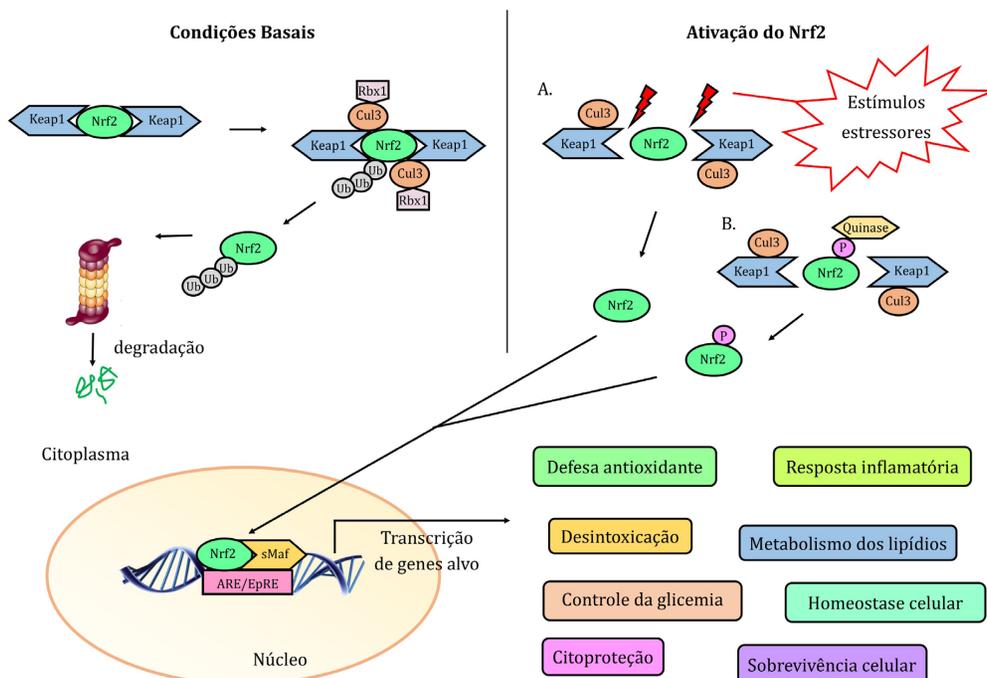


Figura 1: Modelo esquemático da via de sinalização Nrf2/Keap1. Em condições basais: o Nrf2 permanece no citoplasma associado com duas moléculas de Keap1. A associação com Keap1 permite que se forme um complexo com Cul3-Rbx1, que marca o Nrf2 para degradação via proteossoma. Em resposta a estímulos estressores: A) cisteínas reativas em Keap1 são oxidadas; B) proteínas quinases fosforilam diretamente o Nrf2. Ambas as formas de ativação suspendem o efeito inibitório de Keap1 e permitem que o Nrf2 fique livre para migrar para o núcleo e se ligar com sMaf e ARE/EpRE, promovendo a transcrição de genes envolvidos na defesa antioxidante, desintoxicação de drogas e xenobióticos, regulação do metabolismo, citoproteção e sobrevivência celular.

regulação metabólica, proliferação celular, senescência e função mitocondrial^{13,14}.

A identificação de que o Nrf2 está relacionado com tantas outras funções, sendo expresso de forma ubíqua no organismo, sugere que ele funcione como um sensor celular que comanda uma reprogramação metabólica para combater os estímulos estressores, desta forma aumentando a capacidade de sobrevivência celular e restauração da homeostase¹⁵. Além disso, é sabido que o Nrf2 confere proteção de forma célula específica, modulando a expressão de genes de acordo com a necessidade de cada célula¹⁶. Desde a sua descoberta, o Nrf2 tem sido amplamente estudado em diversos contextos fisiológicos e patológicos, e exerce um importante papel na proteção contra várias doenças¹⁷, incluindo DM¹⁸. Contudo, apesar dos efeitos benéficos da ativação do Nrf2, tanto a sua ativação quanto a inativação são de extrema importância para a manutenção da homeostase (Figura 2)¹⁰.

RELAÇÃO ENTRE NRF2 E INFLAMAÇÃO

A inflamação é um mecanismo de proteção do organismo e cronicamente é um processo patológico que participa da etiologia de diversas doenças, inclusive do DM¹⁹. Uma das mais importantes vias metabólicas ativadas durante o processo inflamatório é a do fator de transcrição nuclear kappa B (NFκB), essencial para diversas sinalizações da resposta inflamatória, função imune, apoptose e crescimento celular. Os seus genes alvo incluem os da ciclo-oxigenase 2 (COX-2), da óxido nítrico sintase induzível (iNOS), diversas citocinas inflamatórias e quimiotáticas, como fator de necrose tumoral alfa (TNF-α), interleucinas 1, 2, 6 e 12, além de receptores de citocinas e moléculas de adesão celular. Durante a inflamação crônica, diversas células imunológicas são continuamente ativadas por mediadores inflamatórios, e quando não ocorre resolução da inflamação, as próprias células recrutadas pelos mediadores inflamatórios secretam mais mediadores inflamatórios, gerando um ciclo vicioso que ativa o NFκB de forma crônica²⁰.

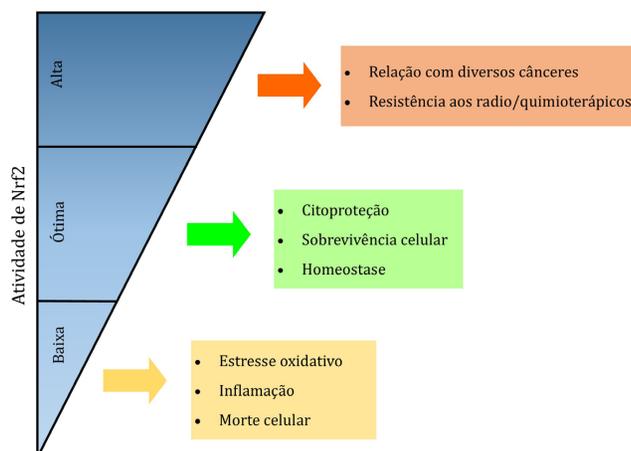


Figura 2: Relação entre a atividade do Nrf2 e suas consequências para o organismo. Baixa atividade do Nrf2 está associada ao estresse oxidativo e inflamação crônica, desencadeando morte celular e aumentando a predisposição a várias doenças crônicas. A atividade ótima de Nrf2, ou seja, a correta ativação e desativação da via, está relacionada com a citoproteção, sobrevivência celular e manutenção da homeostase. Alta atividade de Nrf2 é proeminente em diversos tipos de cânceres, induzindo a resistência aos agentes radio/quimioterápicos.

O ciclo vicioso gerado pela não resolução da inflamação pode ser interrompido pela ativação do Nrf2²¹. De maneira geral, o Nrf2 regula negativamente a transcrição de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, moléculas de adesão celular, metaloproteínas e outros mediadores inflamatórios, como COX-2 e iNOS, que afetam direta ou indiretamente a ativação do NFκB e de outras rotas que controlam a inflamação²². Na verdade, as vias de sinalização do Nrf2 e do NFκB interagem de forma complementar e especializada para a manutenção da homeostase celular. Contudo, devido à continuidade dos estímulos da inflamação crônica, a ativação do NFκB se sobressai, ocasionando morte celular, destruição tecidual e fibrose²³. Tal processo pode ser observado em ilhotas pancreáticas de camundongos com inflamação crônica sistêmica desencadeada pela administração de lipopolissacarídeo, situação na qual ocorre ativação de vias inflamatórias dependentes de NFκB, aumento do dano oxidativo e de vias pró-apoptóticas e redução da translocação nuclear de Nrf2²⁴. Adicionalmente, em pacientes com doença crônica renal, quando comparados com indivíduos controles, são observados simultaneamente aumento de inflamação, aumento da expressão de NFκB e redução da expressão de Nrf2²⁵.

De maneira complementar, observa-se que camundongos com deleção genética de Nrf2 apresentam maior indução de genes pró-inflamatórios regulados por NFκB quando comparados com os animais sem deleção genética (selvagens ou controles). Neste estudo também foi demonstrado que o Nrf2 suprime a resposta inflamatória dos macrófagos bloqueando a

transcrição de citocinas pró-inflamatórias²⁶. Além disso, a subunidade p65 do NFκB, quando ativa, compete no núcleo com o Nrf2 por parceiros que permitam ligação ao DNA, além de promover o recrutamento da histona desacetilase 3 que promove a hipoacetilação nas sequências ARE, inibindo a atividade gênica do Nrf2²⁷. Também foi verificado que a região N-terminal da subunidade p65 do NFκB interage com Keap1, dessa forma inibindo a atividade do Nrf2²⁸. Soma-se a isso o fato de que o complexo formado por Keap1/Cul3 marca por ubiquitinação a IκB kinase β (IKKβ), que é essencial para a progressão da ativação do NFκB, degradando-a via proteossoma e impedido assim a ativação do NFκB²⁹. Esses resultados sugerem que, em resposta aos estímulos inflamatórios, a ativação do Nrf2 inibe a superprodução de mediadores inflamatórios, bem como limita a ativação de NFκB.

NRF2 E OBESIDADE

A associação entre inflamação, obesidade, resistência à insulina (RI) e DM2 é bem definida. A inflamação crônica sistêmica e de baixo grau presente na obesidade acarreta em estresse do retículo endoplasmático (ER), estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, hipóxia e infiltrado de células imunológicas³⁰. O papel do Nrf2 na obesidade é baseado na interação do Nrf2 com outras vias de sinalização, porém os resultados encontrados são divergentes.

Em alguns trabalhos observa-se que o Nrf2 protege contra a obesidade, como observado por Tanaka e colaboradores³¹, que avaliaram camundongos com deleção de Nrf2 e camundongos selvagens.

Os animais não mostraram diferença de ganho de peso quando submetidos à dieta hiperlipídica, contudo os animais com deleção de Nrf2 apresentaram aumento de ácidos graxos no fígado e aumento da expressão de genes relacionados com a síntese de lipídios e colesterol. Estes resultados revelam que os genes envolvidos no metabolismo dos lipídios foram inibidos por Nrf2³¹. Além disso, o aumento de Nrf2 protegeu camundongos da indução da obesidade e RI por dieta hiperlipídica³². Em outro trabalho, a epigalocatequina-galato, uma substância oriunda do chá verde, mostrou reduzir o ganho de peso, bem como a insulina e glicose plasmáticas por meio da ativação do Nrf2 em modelo experimental de obesidade³³. Igualmente, a administração de curcumina aumentou a sinalização do Nrf2 no músculo esquelético, atenuou a intolerância à glicose e diminuiu os níveis de malondialdeído (MDA) e ERO. Entretanto, os efeitos não foram observados no tecido adiposo branco e no fígado³⁴. Acrescenta-se também, que animais com ativação excessiva do Nrf2 por meio da deleção genética de Keap1 mostraram supressão do aparecimento da obesidade e DM induzidos por dieta hiperlipídica, além de menor glicose e insulina plasmáticas e redução de esteatose hepática³⁵.

De maneira controversa, outros estudos sugerem que a deleção do Nrf2 protege contra a obesidade. Em um estudo, a manutenção da dieta hiperlipídica por 6 meses mostrou que os animais com esta deleção tendem a ganhar menos peso, a ser mais sensíveis à insulina e mais tolerantes à glicose, além de apresentarem menor glicose e triglicerídeos plasmáticos. Neste estudo, foi constatado um aumento do Fator 21 de Crescimento de Fibroblastos (FGF21) no plasma, fígado e tecido adiposo branco dos animais com a deleção. O FGF21 é um hormônio que protege contra a obesidade, aumentando a utilização de gordura e o gasto energético. Além disso, após a exposição crônica ao estresse metabólico causado pela dieta, foi encontrado nos animais selvagens um aumento dos níveis do Nrf2 no fígado e no tecido adiposo, o que pode ter reprimido a expressão do FGF21³⁶. Entretanto, foi encontrado que a deleção genética de Keap1, e consequentemente a superativação do Nrf2, regulou positivamente a expressão de FGF21 em animais diabéticos³⁷, o que contraria o que foi encontrado no estudo anterior. Por sua vez, os efeitos da deleção específica do Nrf2 no tecido adiposo branco reduziram a glicemia e promoveram aumento da expressão de genes relacionados ao metabolismo de glicose e de lipídios. Estes resultados indicam que o Nrf2 é um mediador importante no metabolismo da glicose e dos lipídios neste tecido³⁸.

Contudo, os resultados contraditórios encontrados nos estudos, de que tanto a perda ou ganho da função do Nrf2 podem proteger contra a obesidade, precisam ser investigados de maneira mais aprofundada. Tais diferenças nos resultados sobre o papel do Nrf2 na obesidade podem ser causadas devido a diferenças na composição da dieta hiperlipídica, bem como ao tempo de duração da mesma, ao gênero e ao fundo genético dos animais utilizados. A partir desta dicotomia de resultados podemos observar que o aumento transitório da atividade do Nrf2 por meio de seus ativadores melhora a homeostase da glicose e a sensibilidade à insulina. O que nem sempre ocorre nos estudos com animais com deleção genética de Nrf2 ou Keap1. A principal causa dessa diferença parece ser a exaustão da função do Nrf2 quando ele é superativado/desativado. Assim, a regulação permanente para cima ou para baixo do Nrf2 pode levar à disfunção da via e a desfechos desfavoráveis³⁹.

O NRF2 NA SECREÇÃO E SINALIZAÇÃO DA INSULINA

A insulina é o hormônio chave para a manutenção da homeostase da glicose. Contudo, sua expressão é restrita às células β pancreáticas, as quais, por sua vez, devido ao seu metabolismo intenso e sua baixa defesa antioxidante, são mais suscetíveis ao dano oxidativo durante o desenvolvimento do DM⁴⁰. Também é sabido que, apesar de existirem etiologias diferentes, a disfunção das células β , com a consequente diminuição da secreção de insulina e posterior morte celular, são fatores determinantes para o desenvolvimento e progressão tanto do DM1 quanto do DM2, acarretando em infiltração de células imunes, secreção de mediadores inflamatórios, apoptose e estresse oxidativo⁴¹. Assim sendo, estratégias de prevenção e tratamento com compostos antioxidantes que possam aumentar a capacidade de defesa das células β contra o dano oxidativo, evitando a instalação e/ou progressão do DM são muito estudadas. Deveras, é sugerido que a terapia com compostos antioxidantes promove a secreção de insulina, bem como aumenta a capacidade de defesa antioxidante das células β ^{42,43}.

Neste panorama, o Nrf2 induz genes relacionados com a defesa antioxidante, reduz a apoptose e aumenta a proliferação das células β . Em contraste, a deleção genética total do Nrf2 ou a deleção específica do Nrf2 nas células β agrava fortemente o dano celular⁴⁴. Soma-se a isto o fato de que os animais com deleção de Nrf2 e DM1 induzida por estreptozotocina (STZ) possuem concentrações basais de insulina mais baixas e hiperglicemia prolongada em resposta

ao desafio de glicose intraperitoneal⁴⁵. Em adição aos importantes efeitos antioxidantes do Nrf2 nas células β , em modelo animal de DM1 induzido por STZ a ativação do Nrf2 por meio do tratamento com sulforafano suprime a secreção de citocinas inflamatórias e inibe o NF κ B⁴⁶. Adicionalmente, em linhagem de células β o tratamento com sulforafano protegeu contra o prejuízo na secreção de insulina causado por colesterol⁴⁷, e o tratamento com o análogo de resveratrol pterostilbeno, que promove ativação de Nrf2, impediu a redução da secreção de insulina causada por citocinas pró-inflamatórias⁴⁸. Esses dados em conjunto sugerem que o Nrf2 é de fundamental importância para a manutenção da homeostase redox das células β e controle da glicemia, além de um alvo promissor para a prevenção da disfunção destas células durante o desenvolvimento do DM.

Acrescenta-se também que a glicose apresenta um papel dúbio no pâncreas. Ela promove a secreção de insulina pelas células β ; todavia, quando em altas concentrações, como ocorre no DM, ela promove o aumento de ERO e mediadores inflamatórios, o que causa dano celular⁴⁹. Por sua vez, a hiperglicemia faz com que aumente a necessidade de biossíntese de insulina pelas células β , o que pode levar ao ER. Tal fato contribui para disfunção das células β durante o estado de resistência à insulina⁴¹. Por outro lado, o Nrf2 regula a expressão de subunidades do proteossoma, e desta forma participa da resposta ao ER por meio do aumento da expressão de genes que darão origem a subunidades do proteossoma, visando à degradação das proteínas mal dobradas geradas durante o ER⁵⁰. Esses fatos evidenciam que o Nrf2 protege as células β por múltiplas maneiras. Contudo, o Nrf2 possui efeitos paradoxais. Por um lado, a indução da defesa antioxidante protege as células β do dano oxidativo e da possível morte celular, minimizando assim o prejuízo relacionado à secreção de insulina. Por outro lado, a indução de enzimas antioxidantes pela ativação excessiva do Nrf2 bloqueia a sinalização das espécies reativas, desencadeada pela glicose, resultando assim em diminuição da secreção da insulina pelas células β ⁵¹.

Em relação à sinalização da insulina, a superexpressão de Nrf2 aumenta a captação de glicose mediada por insulina e também recupera a sensibilidade à insulina em cardiomiócitos em cultura tratados com peróxido de hidrogênio⁵². Já no fígado de camundongos tratados com dieta hiperlipídica, a deleção de Nrf2 induz RI⁵³, e o tratamento com os compostos bioativos fletetina e gingerol promove a ativação de Nrf2 e reduz a RI⁵⁴. No tecido adiposo de camundongos com obesidade induzida geneticamente (ob/ob), a deficiência de Nrf2 reduz a massa de tecido adiposo branco, porém agrava a RI neste tecido,

bem como a hiperglicemia e a hipertrigliceridemia⁵⁵. Por outro lado, um excesso de ativação de Nrf2 por ablação de Keap-1 nos mesmos animais também agrava a RI⁵⁶, mas em animais com diabetes induzida geneticamente (db/db), a indução de Nrf2 retarda o início da doença e aumenta a sensibilidade à insulina⁵⁷. Paralelamente, há evidências de que a atividade do Nrf2 pode ser afetada pela sinalização da insulina. A GSK3 β regula negativamente a atividade do Nrf2, porém a atividade da GSK3 β é inibida por meio da fosforilação mediada pela proteína serina-treonina quinase (Akt), que é ativa quando a insulina se liga ao seu receptor e promove a fosforilação dos substratos do receptor de insulina (IRS) 1 e 2, desta forma aumentando indiretamente a atividade do Nrf2¹¹. Assim sendo, esta interação que parece existir entre Nrf2 e a sinalização da insulina merece ser melhor investigada⁵⁸.

Neste sentido, é necessário o equilíbrio entre a ativação e a degradação do Nrf2 para que o organismo saudável possa se beneficiar da ativação temporária do Nrf2. Contudo, com o DM já instalado no organismo, a ativação do Nrf2 de forma mais prolongada pode ser conveniente para combater o intenso estresse oxidativo gerado pela hiperglicemia crônica e assim retardar a progressão das complicações do DM.

NRF2 E AS COMPLICAÇÕES CRÔNICAS DO DIABETES MELLITUS

Controlar a glicemia é fundamental para prevenir ou retardar as complicações do DM. O estresse oxidativo crônico resultante da hiperglicemia e a subsequente ativação de uma variedade de vias de sinalização são considerados elementos chave no desenvolvimento das complicações do DM, incluindo nefropatia, retinopatia, neuropatia e lesões macro e microvasculares³. Assim sendo, considerando que o aumento do estresse oxidativo no estágio tardio do DM pode ser uma consequência da deficiência de defesa antioxidante, e considerando também que pacientes diabéticos possuem menor atividade de Nrf2⁵⁹, este fator pode estar relacionado com as complicações crônicas da doença.

O papel do Nrf2 na nefropatia diabética foi investigado por Yoh e colaboradores em 2008. Neste estudo foi constatado que a depleção do Nrf2 aumenta a lesão renal e o estresse oxidativo e nitrosativo nos rins dos animais diabéticos⁶⁰, e a administração do indutor de Nrf2 sulforafano causou a supressão da nefropatia diabética mediada por STZ⁶¹. Além disso, a administração de resveratrol em modelo animal de DM induzido por STZ culminou em diminuição do *clearance* da creatinina, espécies reativas, citocinas inflamatórias e subunidade p65 do NF κ B renal.

Os autores constataram ainda que a proteção dos rins conferida pelo resveratrol ocorreu por meio da ativação do Nrf2 e inibição de NFκB. Estes achados indicam que o Nrf2 protege os rins contra a toxicidade da hiperglicemia e da exposição crônica ao estresse oxidativo e inflamação, ou seja, possui propriedades renoprotetoras⁶². Os dados indicam um papel protetor do Nrf2 na nefropatia diabética, sugerindo que a ativação dietética ou terapêutica do Nrf2 poderia ser utilizada como uma estratégia para prevenir ou retardar a progressão da mesma⁶³.

O Nrf2 também desempenha uma função importante na prevenção da retinopatia diabética. Em modelo animal de DM induzido por STZ, a disfunção da barreira sangue-retina e a função neuronal foram pioradas nos animais com deleção de Nrf2. Também foi observada redução da glutatona e aumento de TNFα na retina destes animais⁶⁴. Do mesmo modo, a indução do Nrf2 por meio de antocianinas aumentou o ácido ribonucleico (RNA) mensageiro do Nrf2, preveniu o aumento da glicemia, diminuiu marcadores inflamatórios, bem como aumentou a capacidade antioxidante da retina⁶⁵.

Também pode ser atribuído ao Nrf2 um papel protetor no sistema cardiovascular. A alimentação com dieta rica em gordura aumentou significativamente a expressão de genes citoprotetores em animais selvagens, comparados com animais com deleção de Nrf2, além de ter sido observada uma disfunção endotelial mais grave, com maior produção de ERO vasculares nos animais com a deleção⁶⁶. Além disso, em modelo animal de DM1 induzido por STZ, o tratamento com sulforafano preveniu a cardiomiopatia diabética por meio do aumento da expressão do Nrf2 no tecido cardíaco, acarretando em aumento da expressão de genes antioxidantes e diminuição de marcadores inflamatórios no grupo dos animais tratados⁶⁷. Do mesmo modo, a L-arginina, um aminoácido essencial, atenuou a cardiomiopatia por meio do aumento da expressão do Nrf2 e de seus genes regulados, além de diminuir o NFκB no tecido cardíaco ventricular⁶⁸. Esses resultados sugerem que a ativação do Nrf2 confere proteção endotelial e cardíaca sob condições hiperglicêmicas.

Neste panorama, os resultados aqui apresentados sugerem que a ativação do Nrf2 protege os tecidos contra os danos mediados pelo DM. O Nrf2 é ativado após estimulação aguda com alta concentração de glicose, entretanto, após longos tempos de incubação em concentrações oscilantes de glicose, o Nrf2 não é mais ativado, sendo necessária uma intervenção exógena para aumentar a sua atividade⁶⁹. Em suma, esses resultados indicam que o Nrf2 possui importante papel na resposta adaptativa do organismo em defesa contra os danos gerados pela hiperglicemia.

Porém, esta resposta acaba se oprimindo devido à cronicidade do estímulo da hiperglicemia, acarretando na progressão do DM e de suas complicações.

POTENCIAL TERAPÊUTICO

Dado o exposto, não é surpreendente que nos últimos anos diversas substâncias foram alvos de pesquisas que objetivaram a modulação da via de sinalização do Nrf2 como alternativa para prevenção, tratamento ou retardo das complicações clínicas do DM, e ativadores do Nrf2 emergiram como importantes agentes. Neste sentido, diversas moléculas foram identificadas, incluindo componentes nutricionais bioativos encontrados em alimentos, tais como resveratrol, curcumina, sulforafano e epigallocatequina-galato, além de compostos sintéticos^{70,71}. Além disso, recomenda-se fortemente a adoção de um estilo de vida saudável, com prática frequente de exercícios físicos, pois é sabido que muitos dos benefícios da atividade física são efetivados por meio da sinalização do Nrf2⁷².

De maneira geral, a maioria dos compostos ativa o Nrf2 por meio da modificação de resíduos reativos de cisteína em Keap1, libertando o Nrf2 e permitindo a transcrição de diversos genes citoprotetores⁷³. No entanto, tendo em vista que Keap1 possui diversos resíduos reativos de cisteínas, nos últimos anos foi proposto o “código de cisteína” que sugere que classes diferentes de ativadores de Nrf2 agem em resíduos específicos de cisteína em Keap1. Tal fato é muito interessante e merece ser mais bem estudado, pois esta especificidade minimizaria os efeitos dos ativadores em outros alvos que não o de interesse¹⁵. Além disso, a potência dos ativadores depende de sua habilidade de reação com o Keap1, e tanto ativadores naturais como sintéticos podem apresentar valor terapêutico no tratamento de complicações como a neuropatia diabética⁷⁴.

Outro possível mecanismo de potencialização da via Nrf2 é a inibição do proteassoma. Alguns estudos têm mostrado que o MG132, um potente, específico e reversível inibidor do proteassoma, aumenta os níveis do Nrf2 por diminuir sua degradação, dessa forma conferindo proteção aos rins⁷⁵, coração⁷⁶ e aorta⁷⁷ contra os danos causados pelo DM. Contudo, deve ser observado que, apesar da inibição parcial da atividade do proteassoma em baixas doses ser terapêuticamente benéfica contra as complicações diabéticas, em doses elevadas o MG132 pode exacerbar o estresse oxidativo e, assim, induzir a morte celular por apoptose⁷⁵.

Assim sendo, o Nrf2 tem se tornado um alvo terapêutico promissor, pois a ativação do Nrf2 resulta em ativação de uma ampla gama de genes responsáveis pela proteção celular. Neste sentido, em 2013 a

primeira droga ativadora do Nrf2, o Dimetilfumurato, foi aprovada pela Agência de controle de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (FDA) e está em uso clínico no tratamento da esclerose múltipla. Tal fato enche de expectativa os pesquisadores, pois pode ser aberta uma ampla gama de possibilidades de tratamento para outras doenças como o DM⁷⁸.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Destacamos aqui que, embora avanços importantes na compreensão da função e regulação da via de sinalização do Nrf2 tenham ocorrido, o seu papel na DM ainda não é totalmente conhecido. Neste sentido, estudos mais profundos dos mecanismos posteriores à ativação e a função do Nrf2 não apenas poderão ajudar na utilização de medicamentos tradicionais no tratamento da DM, mas também conduzirão à descoberta de novas possibilidades terapêuticas.

A via Nrf2/Keap1 é um alvo atrativo para a prevenção e tratamento de diversas doenças. Contudo, são necessários mais estudos para identificar os mecanismos moleculares subjacentes à ativação

do Nrf2, bem como identificar os seus alvos no metabolismo antes do avanço dos estudos com seres humanos. Pesquisas futuras precisam incluir os possíveis fatores de confusão, como dosagem terapêutica, idade e etnia dos pacientes, efeito placebo e a duração do tratamento, a fim de estabelecer com mais firmeza o papel terapêutico da modulação da via Nrf2/Keap1 e evitar os efeitos deletérios da sua sub/superativação.

Salienta-se ainda a necessidade de estudos visando à ativação do Nrf2 de forma célula/tecido específica, com o aumento da atividade do Nrf2 nos tecidos com maior relação com o DM e obesidade, como pâncreas, músculo esquelético, tecido adiposo branco e fígado. Estudos em animais com deleção específica do Nrf2 nestes tecidos poderiam melhor esclarecer o exato papel do Nrf2 no desenvolvimento da obesidade e DM, pois não haveria a interferência da deleção do Nrf2 em outros tecidos.

Conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl 1):S11-24. <http://dx.doi.org/10.2337/dc17-S005>.
- Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics – 2016 update – a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133(4):447-54. <http://dx.doi.org/10.1161/CIR.0000000000000366>.
- Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010;107(9):1058-70. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.223545>.
- Newsholme P, Cruzat VF, Keane KN, Carlessi R, de Bittencourt PI JR. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochem J*. 2016;473(24):4527-50. <http://dx.doi.org/10.1042/BCJ20160503C>.
- Mimura J, Itoh K. Role of Nrf2 in the pathogenesis of atherosclerosis. *Free Radic Biol Med*. 2015;88:221-32.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>.
- Kaspar JW, Niture SK, Jaiswal AK. Nrf2:INrf2 (Keap1) signaling in oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2009;47(9):1304-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.07.035>.
- Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91(21):9926-30. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.21.9926>.
- Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, et al. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev*. 1999;13(1):76-86. <http://dx.doi.org/10.1101/gad.13.1.76>.
- Niture SK, Khatri R, Jaiswal AK. Regulation of Nrf2—an update. *Free Radic Biol Med*. 2014;66:36-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.008>.
- Salazar M, Rojo AI, Velasco D, Sagarra RM, Cuadrado A. Glycogen synthase kinase-3beta inhibits the xenobiotic and antioxidant cell response by direct phosphorylation and nuclear exclusion of the transcription factor Nrf2. *J Biol Chem*. 2006;281(21):14841-51. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M513737200>.
- Lee OH, Jain AK, Papusha V, Jaiswal AK. An auto-regulatory loop between stress sensors INrf2 and Nrf2 controls their cellular abundance. *J Biol Chem*. 2007;282(50):36412-20. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M706517200>.
- Hayes JD, Dinkova-Kostova AT. The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism. *Trends Biochem Sci*. 2014;39(4):199-218. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2014.02.002>.
- Huang Y, Li W, Su ZY, Kong AN. The complexity of the Nrf2 pathway: beyond the antioxidant response. *J Nutr Biochem*. 2015;26(12):1401-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2015.08.001>.
- Sihvola V, Levonen AL. Keap1 as the redox sensor of the antioxidant response. *Arch Biochem Biophys*. 2017;617:94-100. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2016.10.010>.

16. Lee JM, Li J, Johnson DA, Stein TD, Kraft AD, Calkins MJ, et al. Nrf2, a multi-organ protector? *FASEB J*. 2005;19(9):1061-6. <http://dx.doi.org/10.1096/fj.04-2591hyp>.
17. Al-Sawaf O, Clarner T, Fragoulis A, Kan YW, Pufe T, Streetz K, et al. Nrf2 in health and disease: current and future clinical implications. *Clin Sci (Lond)*. 2015;129(12):989-99. <http://dx.doi.org/10.1042/CS20150436>.
18. Uruno A, Yagishita Y, Yamamoto M. The Keap1-Nrf2 system and diabetes mellitus. *Arch Biochem Biophys*. 2015;566:76-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2014.12.012>.
19. Donath MY, Shoelson SE. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):98-107. <http://dx.doi.org/10.1038/nri2925>.
20. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med*. 1997;336(15):1066-71. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199704103361506>.
21. Kim J, Cha YN, Surh YJ. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat Res*. 2010;690(1-2):12-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.09.007>.
22. Wardyn JD, Ponsford AH, Sanderson CM. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-kB response pathways. *Biochem Soc Trans*. 2015;43(4):621-6. <http://dx.doi.org/10.1042/BST20150014>.
23. Ahmed SM, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta*. 2017;1863:585-97.
24. Choudhury S, Ghosh S, Gupta P, Mukherjee S, Chattopadhyay S. Inflammation-induced ROS generation causes pancreatic cell death through modulation of Nrf2/NF-kB and SAPK/JNK pathway. *Free Radic Res*. 2015;49(11):1371-83. <http://dx.doi.org/10.3109/10715762.2015.1075016>.
25. Pedruzzi LM, Cardozo LF, Daleprane JB, Stockler-Pinto MB, Monteiro EB, Leite M JR, et al. Systemic inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients are associated with down-regulation of Nrf2. *J Nephrol*. 2015;28(4):495-501. <http://dx.doi.org/10.1007/s40620-014-0162-0>.
26. Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, et al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun*. 2016;7:11624. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms11624>.
27. Liu GH, Qu J, Shen X. NF-kappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1783:713-27.
28. Yu M, Li H, Liu Q, Liu F, Tang L, Li C, et al. Nuclear factor p65 interacts with Keap1 to repress the Nrf2-ARE pathway. *Cell Signal*. 2011;23(5):883-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.01.014>.
29. Lee DF, Kuo HP, Liu M, Chou CK, Xia W, Du Y, et al. KEAP1 E3 ligase-mediated downregulation of NF-kappaB signaling by targeting IKKbeta. *Mol Cell*. 2009;36(1):131-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2009.07.025>.
30. Romeo GR, Lee J, Shoelson SE. Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation-mechanisms and therapeutic targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(8):1771-6. <http://dx.doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.241869>.
31. Tanaka Y, Aleksunes LM, Yeager RL, Gyamfi MA, Esterly N, Guo GL, et al. NF-E2-related factor 2 inhibits lipid accumulation and oxidative stress in mice fed a high-fat diet. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008;325(2):655-64. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.107.135822>.
32. Yu Z, Shao W, Chiang Y, Foltz W, Zhang Z, Ling W, et al. Oltipraz upregulates the nuclear respiratory factor 2 alpha subunit (NRF2) antioxidant system and prevents insulin resistance and obesity induced by a high-fat diet in C57BL/6J mice. *Diabetologia*. 2011;54(4):922-34. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-010-2001-8>.
33. Sampath C, Rashid MR, Sang S, Ahmedna M. Green tea epigallocatechin 3-gallate alleviates hyperglycemia and reduces advanced glycation end products via nrf2 pathway in mice with high fat diet-induced obesity. *Biomed Pharmacother*. 2017;87:73-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.082>.
34. He HJ, Wang GY, Gao Y, Ling WH, Yu ZW, Jin TR. Curcumin attenuates Nrf2 signaling defect, oxidative stress in muscle and glucose intolerance in high fat diet-fed mice. *World J Diabetes*. 2012;3(5):94-104. <http://dx.doi.org/10.4239/wjcd.v3.i5.94>.
35. Slocum SL, Skoko JJ, Wakabayashi N, Aja S, Yamamoto M, Kensler TW, et al. Keap1/Nrf2 pathway activation leads to a repressed hepatic gluconeogenic and lipogenic program in mice on a high-fat diet. *Arch Biochem Biophys*. 2016;591:57-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2015.11.040>.
36. Chartoumpakis DV, Ziros PG, Psyrogiannis AI, Papavassiliou AG, Kyriazopoulou VE, Sykiotis GP, et al. Nrf2 represses FGF21 during long-term high-fat diet-induced obesity in mice. *Diabetes*. 2011;60(10):2465-73. <http://dx.doi.org/10.2337/db11-0112>.
37. Furusawa Y, Uruno A, Yagishita Y, Higashi C, Yamamoto M. Nrf2 induces fibroblast growth factor 21 in diabetic mice. *Genes Cells*. 2014;19(12):864-78. <http://dx.doi.org/10.1111/gtc.12186>.
38. Zhang L, Dasuri K, Fernandez-Kim SO, Bruce-Keller AJ, Keller JN. Adipose-specific ablation of Nrf2 transiently delayed high-fat diet-induced obesity by altering glucose, lipid and energy metabolism of male mice. *Am J Transl Res*. 2016;8:5309-19.
39. Seo HA, Lee IK. The role of Nrf2: adipocyte differentiation, obesity, and insulin resistance. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:184598.
40. Lenzen S. Oxidative stress: the vulnerable beta-cell. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 3):343-7. <http://dx.doi.org/10.1042/BST0360343>.
41. Cnop M, Welsh N, Jonas JC, Jörns A, Lenzen S, Eizirik DL. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. *Diabetes*. 2005;54(Suppl 2):S97-107. http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl_2.S97.
42. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840:2709-29.
43. Vetere A, Choudhary A, Burns SM, Wagner BK. Targeting the pancreatic beta-cell to treat diabetes. *Nat Rev Drug Discov*. 2014;13(4):278-89. <http://dx.doi.org/10.1038/nrd4231>.

44. Yagishita Y, Fukutomi T, Sugawara A, Kawamura H, Takahashi T, Pi J, et al. Nrf2 protects pancreatic β -cells from oxidative and nitrosative stress in diabetic model mice. *Diabetes*. 2014;63(2):605-18. <http://dx.doi.org/10.2337/db13-0909>.
45. Aleksunes LM, Reisman SA, Yeager RL, Goedken MJ, Klaassen CD. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 deletion impairs glucose tolerance and exacerbates hyperglycemia in type 1 diabetic mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;333(1):140-51. <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.109.162271>.
46. Song MY, Kim EK, Moon WS, Park JW, Kim HJ, So HS, et al. Sulforaphane protects against cytokine- and streptozotocin-induced beta-cell damage by suppressing the NF-kappaB pathway. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2009;235(1):57-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2008.11.007>.
47. Carrasco-Pozo C, Tan KN, Gotteland M, Borges K. Sulforaphane protects against high cholesterol-induced mitochondrial bioenergetics impairments, inflammation, and oxidative stress and preserves pancreatic β -cells function. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:3839756.
48. Sireesh D, Ganesh MR, Dhamodharan U, Sakthivadivel M, Sivasubramanian S, Gunasekaran P, et al. Role of pterostilbene in attenuating immune mediated devastation of pancreatic beta cells via Nrf2 signaling cascade. *J Nutr Biochem*. 2017;44:11-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.02.015>.
49. Fridlyand LE, Philipson LH. Does the glucose-dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic beta-cells? *Diabetes*. 2004;53(8):1942-8. <http://dx.doi.org/10.2337/diabetes.53.8.1942>.
50. Lee S, Hur EG, Ryo IG, Jung KA, Kwak J, Kwak MK. Involvement of the Nrf2-proteasome pathway in the endoplasmic reticulum stress response in pancreatic β -cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2012;264(3):431-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2012.08.021>.
51. Fu J, Hou Y, Xue P, Wang H, Xu Y, Qu W, et al. Nrf2 in Type 2 diabetes and diabetic complications: Yin and Yang. *Curr Opin Toxicol*. 2016;1:9-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cotox.2016.08.001>.
52. Tan Y, Ichikawa T, Li J, Si Q, Yang H, Chen X, et al. Diabetic downregulation of Nrf2 activity via ERK contributes to oxidative stress-induced insulin resistance in cardiac cells in vitro and in vivo. *Diabetes*. 2011;60(2):625-33. <http://dx.doi.org/10.2337/db10-1164>.
53. Liu Z, Dou W, Ni Z, Wen Q, Zhang R, Qin M, et al. Deletion of Nrf2 leads to hepatic insulin resistance via the activation of NF-kB in mice fed a high-fat diet. *Mol Med Rep*. 2016;14(2):1323-31. <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2016.5393>.
54. Sampath C, Rashid MR, Sang S, Ahmedna M. Specific bioactive compounds in ginger and apple alleviate hyperglycemia in mice with high fat diet-induced obesity via Nrf2 mediated pathway. *Food Chem*. 2017;226:79-88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.056>.
55. Xue P, Hou Y, Chen Y, Yang B, Fu J, Zheng H, et al. Adipose deficiency of Nrf2 in ob/ob mice results in severe metabolic syndrome. *Diabetes*. 2013;62(3):845-54. <http://dx.doi.org/10.2337/db12-0584>.
56. Xu J, Kulkarni SR, Donepudi AC, More VR, Slitt AL. Enhanced Nrf2 activity worsens insulin resistance, impairs lipid accumulation in adipose tissue, and increases hepatic steatosis in leptin-deficient mice. *Diabetes*. 2012;61(12):3208-18. <http://dx.doi.org/10.2337/db11-1716>.
57. Uruno A, Furusawa Y, Yagishita Y, Fukutomi T, Muramatsu H, Negishi T, et al. The Keap1-Nrf2 system prevents onset of diabetes mellitus. *Mol Cell Biol*. 2013;33(15):2996-3010. <http://dx.doi.org/10.1128/MCB.00225-13>.
58. Yu ZW, Li D, Ling WH, Jin TR. Role of nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 in metabolic homeostasis and insulin action: A novel opportunity for diabetes treatment? *World J Diabetes*. 2012;3(1):19-28. <http://dx.doi.org/10.4239/wjcd.v3.i1.19>.
59. Jiménez-Osorio AS, Picazo A, González-Reyes S, Barrera-Oviedo D, Rodríguez-Arellano ME, Pedraza-Chaverri J. Nrf2 and redox status in prediabetic and diabetic patients. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):20290-305. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms151120290>.
60. Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi S, et al. Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes Cells*. 2008;13:1159-70.
61. Zheng H, Whitman SA, Wu W, Wondrak GT, Wong PK, Fang D, et al. Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2011;60(11):3055-66. <http://dx.doi.org/10.2337/db11-0807>.
62. Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1812:719-31.
63. Abdo S, Zhang SL, Chan JS. Reactive Oxygen Species and Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 Activation in Diabetic Nephropathy: A Hidden Target. *J Diabetes Metab*. 2015;6(6):1000547. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6156.1000547>.
64. Xu Z, Wei Y, Gong J, Cho H, Park JK, Sung ER, et al. NRF2 plays a protective role in diabetic retinopathy in mice. *Diabetologia*. 2014;57(1):204-13. <http://dx.doi.org/10.1007/s00125-013-3093-8>.
65. Song Y, Huang L, Yu J. Effects of blueberry anthocyanins on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes through Nrf2/HO-1 signaling. *J Neuroimmunol*. 2016;301:1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2016.11.001>.
66. Ungvari Z, Bailey-Downs L, Gautam T, Jimenez R, Losonczy G, Zhang C, et al. Adaptive induction of NF-E2-related factor-2-driven antioxidant genes in endothelial cells in response to hyperglycemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300(4):H1133-40. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00402.2010>.
67. Bai Y, Cui W, Xin Y, Miao X, Barati MT, Zhang C, et al. Prevention by sulforaphane of diabetic cardiomyopathy is associated with up-regulation of Nrf2 expression and transcription activation. *J Mol Cell Cardiol*. 2013;57:82-95. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.01.008>.
68. Ramprasath T, Kumar PH, Puhari SS, Murugan PS, Vasudevan V, Selvam GS. L-Arginine ameliorates cardiac left ventricular oxidative stress by upregulating eNOS and Nrf2 target genes in alloxan-induced hyperglycemic rats. *Biochem Biophys*

- Res Commun.* 2012;428(3):389-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.10.064>.
69. Liu TS, Pei YH, Peng YP, Chen J, Jiang SS, Gong JB. Oscillating high glucose enhances oxidative stress and apoptosis in human coronary artery endothelial cells. *J Endocrinol Invest.* 2014;37(7):645-51. <http://dx.doi.org/10.1007/s40618-014-0086-5>.
70. Kumar H, Kim IS, More SV, Kim BW, Choi DK. Natural product-derived pharmacological modulators of Nrf2/ARE pathway for chronic diseases. *Nat Prod Rep.* 2014;31(1):109-39. <http://dx.doi.org/10.1039/C3NP70065H>.
71. Cardozo LF, Pedruzzi LM, Stenvinkel P, Stockler-Pinto MB, Daleprane JB, Leite M JR, et al. Nutritional strategies to modulate inflammation and oxidative stress pathways via activation of the master antioxidant switch Nrf2. *Biochimie.* 2013;95(8):1525-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2013.04.012>.
72. Done AJ, Traustadóttir T. Nrf2 mediates redox adaptations to exercise. *Redox Biol.* 2016;10:191-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2016.10.003>.
73. Suzuki T, Motohashi H, Yamamoto M. Toward clinical application of the Keap1-Nrf2 pathway. *Trends Pharmacol Sci.* 2013;34(6):340-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tips.2013.04.005>.
74. Kumar A, Mittal R. Nrf2: a potential therapeutic target for diabetic neuropathy. *Inflammopharmacology.* 2017;25(4):393-402. <http://dx.doi.org/10.1007/s10787-017-0339-y>.
75. 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. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304(1):E87-99. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpendo.00430.2012>.
76. Wang Y, Sun W, Du B, Miao X, Bai Y, Xin Y, et al. Therapeutic effect of MG-132 on diabetic cardiomyopathy is associated with its suppression of proteasomal activities: roles of Nrf2 and NF-κB. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013;304(4):H567-78. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpheart.00650.2012>.
77. Miao X, Cui W, Sun W, Xin Y, Wang B, Tan Y, et al. Therapeutic effect of MG132 on the aortic oxidative damage and inflammatory response in OVE26 type 1 diabetic mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:879516.
78. Zhou S, Jin J, Bai T, Sachleben LR JR, Cai L, Zheng Y. Potential drugs which activate nuclear factor E2-related factor 2 signaling to prevent diabetic cardiovascular complications: A focus on fumaric acid esters. *Life Sci.* 2015;134:56-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2015.05.015>.

Recebido: Jun 01, 2017

Aceito: Jul 24, 2017