

# ERO Y SEÑALIZACIÓN

*Luis Enrique Gómez Quiroz  
Deidry Beatriz Cuevas Bahena*

## ■ INTRODUCCIÓN

La definición de los segundos mensajeros es que se generan en el momento en que se activa un receptor, son de corta vida, y actúan específicamente sobre las moléculas efectoras. Para poder clasificar a las especies reactivas de oxígeno (ERO) como segundos mensajeros, habrá que verificar si cumplen con la definición antes expuesta. Las ERO pueden generarse en el momento de la activación del receptor y son también de muy corta vida, sin embargo, es aún difícil demostrar su especificidad. Como se ha venido explicando, el  $\bullet\text{OH}$  reacciona prácticamente con cualquier molécula con la que se encuentra, por lo que no se puede hablar sobre especificidad en la reacción de este radical libre, por otro lado, las moléculas como el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) o el radical superóxido ( $\text{O}_2\bullet$ ) no son tan reactivas como el  $\bullet\text{OH}$ , y pueden ser producidas de manera endógena por la activación de receptores, y controladas enzimáticamente, por lo que cada vez más se les reconoce como segundos mensajeros.

De lo anterior se infiere que las ERO, incluso en situaciones de estrés oxidativo, así como las especies reactivas de nitrógeno (ERN), no son del todo negativas para la célula si su producción es generada bajo condiciones controladas de concentración y tiempo.

## ■ LA NADPH OXIDASA Y LA TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES

En los últimos años se ha reunido evidencia de que varios factores de crecimiento y citocinas generan la producción de ERO como intermediarias en la señalización. El factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento neuronal (NGF), el factor transformador de crecimiento beta (TGF- $\beta$ ), entre otros, están relacionados estrechamente con la generación de ERO para fines de transducción de señales. Se ha sugerido que estos receptores emplean a la enzima NADPH oxidasa (Nox) para la producción de las ERO. La Nox cataliza la reducción del oxígeno a  $O_2^{\bullet}$ , reacción mediada por el NADPH. La enzima es un complejo multiproteínico que contiene proteínas citosólicas como la p67<sup>PHOX</sup>, la p47<sup>PHOX</sup>, la p40<sup>PHOX</sup> y la GTPasa Rac, que se translocan a la membrana para unirse a la subunidad gp91. La regulación de la actividad de la enzima está estrechamente vinculada a la actividad de Rac, se ha reportado que varios factores de crecimiento inducen la expresión de Rac, aunque también pueden existir una interacción directa entre la oxidasa y los receptores a estos factores de crecimiento (véase el capítulo NADPH oxidasa).

Además de jugar un papel central en las células fagocíticas durante el control de las infecciones microbianas, la Nox no fagocítica tiene cada vez un papel más claro en la transducción de señales, las cuales son fundamentales en células como los hepatocitos, los espermatozoides, los fibroblastos, los cardiomiocitos, las células endoteliales, entre otras. Algunos estudios recientes han mostrado que el empleo de inhibidores de la Nox, como el DPI o el AEBSF, bloquean la producción de las ERO y la transducción de señales. El empleo de estos compuestos, por ejemplo, anuló completamente la apoptosis inducida por el TGF- $\beta$  en hepatocitos fetales de rata, lo que sugiere que la actividad de la Nox es fundamental en la transducción de la señal.

## ■ PROTEÍNAS SENSORAS DE LAS ERO

El conocimiento de que las ERO regulan una gran cantidad de actividades celulares no es reciente, sin embargo aún no se conoce completamente como se lleva a cabo el mecanismo de regulación. En los últimos años se ha investigado el papel de los grupos tioles (-SH) de los residuos de cisteína en el control de la señal. La oxidación de estos grupos reactivos en varias proteínas de las rutas de señalización ha pasado a ser el foco de atención en este mecanismo. Estos grupos pueden ser oxidados fácilmente, lo que hace presumir que los sensores de las ERO deben ser proteínas con tioles altamente reactivos. Se han propuesto a varias proteínas como sensoras de estrés oxidativo, como son las proteínas cinasas C, específica-

mente la isoforma  $\alpha$  (PKC- $\alpha$ ), que son activadas rápidamente en presencia de  $H_2O_2$  en un proceso independiente de fosfolípidos, que involucra la fosforilación de una tirosina en el sitio activo. Algunas otras proteínas que se han sugerido fuertemente como sensores de ERO son, por citar sólo algunas, MEKK1, JNK, Akt, IKK, SAPK, p53, ASK1, entre otras.

De manera general, la activación de las rutas de señalización por las ERO requiere de la activación directa de las proteínas sensoras por los radicales libres. Una vez activadas, ellas son las que transducen la señal a otras proteínas en la cascada de señalización o activan directamente a los factores de transcripción que regularán la transcripción de los genes blanco (figura 33-1).

Se han identificado al menos tres mecanismos mediante los cuales los fenómenos oxidativos pueden regular la función de una proteína.

El primero de ellos se presenta por medio de la oxidación de una cisteína en el dominio de unión al DNA de un factor de transcripción. Esta modificación en la proteína genera pérdida en la afinidad de unión a su elemento de respuesta, lo que origina una deficiencia en la transcripción de los genes blanco (figura 33-2A).

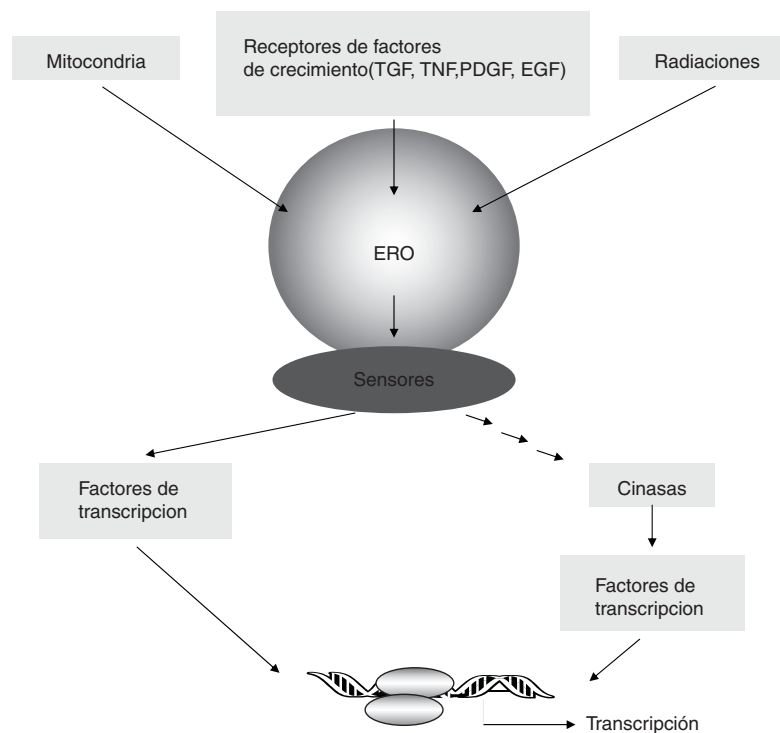
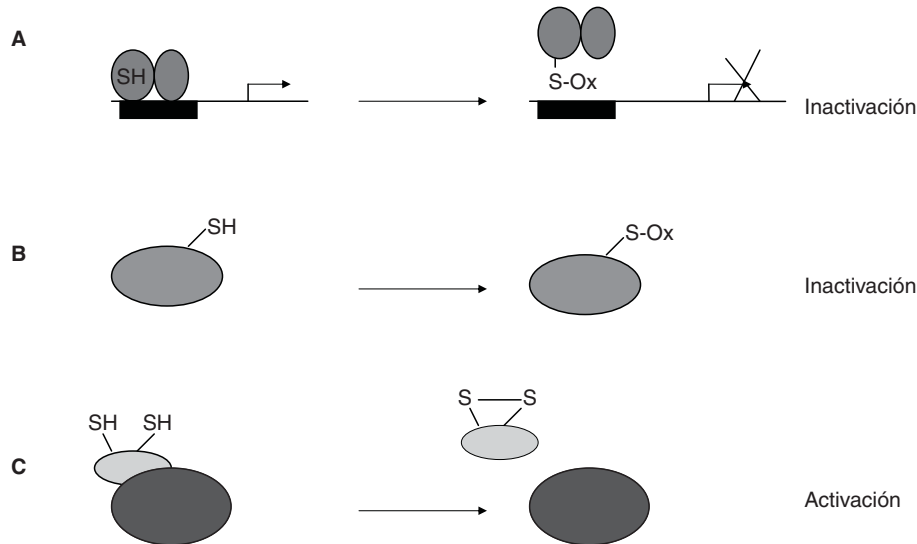


Figura 33-1. Cascada de señalización que activa a los factores de transcripción.



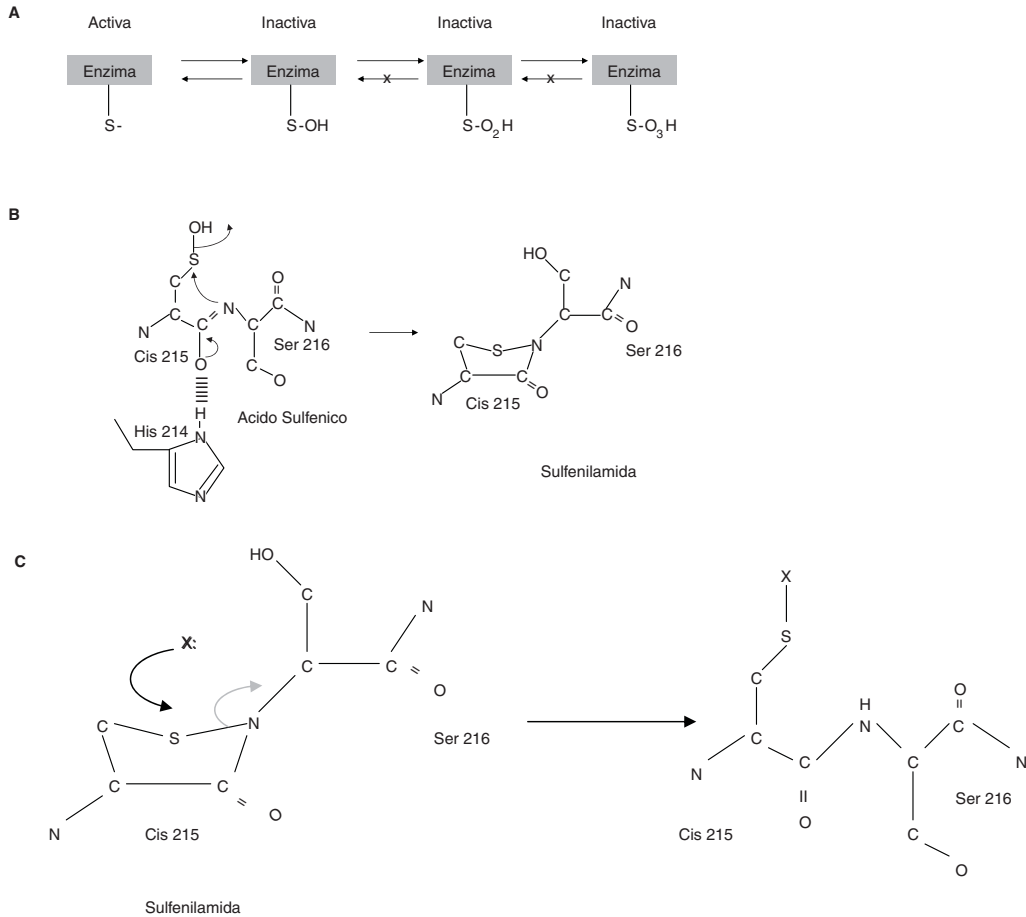
**Figura 33-2.** Mecanismos de regulación dados por los fenómenos oxidativos. **A)** Oxidación de una cisteína en el dominio de unión al DNA de un factor de transcripción. **B)** Oxidación de cisteínas en el centro catalítico del factor de transcripción. **C)** Inactivación de los inhibidores que retienen al factor de transcripción.

Otro mecanismo es mediante la oxidación de cisteínas en el centro catalítico, que deriva en pérdida de la funcionalidad de la proteína. Este es el caso de algunas cinasas y fosfatasas, que se explicará en detalle más adelante (figura 33-2B).

Estos mecanismo regulan negativamente la función de las proteínas, pero también existe un mecanismo de regulación positiva que involucra la oxidación de cisteínas y la formación de puentes disulfuro en proteínas inhibitoras asociadas a factores de transcripción o enzimas. Al inactivar a los inhibidores se permite la liberación de la enzima y su activación (figura 33-2C).

### ■ FOSFATASAS COMO EJEMPLO DE REGULACIÓN REDOX EN LAS CASCADAS DE SEÑALIZACIÓN

Las reacciones de fosforilación y desfosforilación son, tal vez, el principal mecanismo de transducción de señales dentro de la célula. La fosforilación de residuos de tirosina en las proteínas se lleva a cabo por las tirosina cinasas, mientras que la reacción inversa (la desfosforilación), la llevan a cabo las tirosina fosfatasas. El conocimiento de que las fosfatasas son reguladas por reacciones de oxidación va tomando cada vez más relevancia en diversos estudios de señalización celular.



© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

**Figura 33-3.** Modificaciones oxidativas de cisteínas en centros catalíticos. **A)** Oxidación del anión tiolato. Ácido sulfénico (-S-OH); ácido sulfínico (-S-O<sub>2</sub>H) y ácido sulfónico (-S-O<sub>3</sub>H). **B)** Oxidación de la cisteína catalítica de la fosfatasa PTP1B. En su estado de menor oxidación o de ácido sulfénico, el sulfuro reacciona con un nitrógeno de una serina vecina formando sulfanilamida o sulfenamida. **C)** La sulfanilamida se transforma directamente o vía ácido sulfénico a su forma activa de anión tiolato.

Bajo condiciones fisiológicas, las cisteínas en el centro catalítico de las fosfatasas tienen un pK<sub>a</sub> bajo y se encuentran en un estado de anión tiolato (-S-), lo cual las hace altamente susceptibles de ser oxidadas. La oxidación de estas cisteínas bloquea la actividad de la enzima, lo que origina la pérdida de la capacidad de remover fosfatos, ya que la catálisis está mediada por la transferencia del fosfato del sustrato a la cisteína catalítica, seguida de una hidrólisis del fosfato.

Experimentalmente se ha observado que las concentraciones fisiológicas de  $H_2O_2$  pueden generar la oxidación del anión tiolato produciendo un residuo de ácido sulfénico (-S-OH). Esta modificación puede ser reversible por agentes reductores como el glutatión (GSH) sin embargo, bajo estrés oxidativo, el ácido sulfénico puede ser oxidado aún más para generar los ácidos sulfínico (-S-O<sub>2</sub>H) y sulfónico (-S-O<sub>3</sub>H), estas modificaciones son irreversibles, por lo que la enzima queda completamente inhibida (figura 33-3A).

Existe otra reacción de oxidación en la cisteína catalítica; se ha observado en la fosfatasa PTP1B, que en su estado de menor oxidación o de ácido sulfénico, el sulfuro reacciona con un nitrógeno de una serina vecina formando una estructura cíclica de 5 miembros conocida como sulfanilamida o sulfenamida (figura 33-2B). La formación de esta especie es muy rápida y se ha observado que en dicho estado ya no puede sufrir más oxidaciones. Lo interesante de este intermediario es que, a diferencia de los ácidos sulfínico y sulfónico, puede ser transformado directa o indirectamente, vía ácido sulfénico, a su forma activa anión tiolato (figura 33-3A y 33-3C). Esta reacción se puede llevar a cabo por nucleófilos como el GSH, el cual puede conjugarse en un intermediario S-glutationilato, el cual puede ser reducido a tiolato por otros agentes reductores. Este mecanismo puede representar una forma de estabilización de las fosfatasas ante condiciones de estrés oxidativo.

## ■ FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN QUE RESPONDEN A LAS ERO

A mediados del decenio de 1980-89, se observó que el  $H_2O_2$  promueve rápidamente la síntesis de aproximadamente 30 proteínas, de las cuales casi la mitad se expresaban en menos de 10 min. Más tarde se descubrió en bacterias, que la mayoría de ellas eran reguladas por una proteína conocida ahora como OxyR, la cual es un factor de transcripción perteneciente a la familia de las LysR. OxyR puede existir en dos versiones: reducida y oxidada, y es esta última la encargada de activar la transcripción.

En los mamíferos aún no se ha encontrado un homólogo de OxyR, y la identificación de proteínas sensoras ha sido una tarea difícil y controversial. Aunque se sabe con mucha certidumbre que varios factores de transcripción en los mamíferos responden de manera similar a OxyR, entre los que podemos destacar a los factores AP1, NF- $\kappa$ B y Nrf2.

### AP1

La proteína Activadora 1 (AP1) es un término que se aplica en realidad a toda una familia de factores de transcripción que poseen dominios básicos de cierre de

leucina (bZIP). La familia se compone principalmente de c-Fos, FosB, Fra1, Fra2, c-Jun, JunB, JunD, entre otras. La AP1 se une a una secuencia consenso o elemento de respuesta en el DNA llamada TRE (Elemento de respuesta al 12-O-tetradecanoil forbol-13-acetato, TPA). Para tener un factor de transcripción activo se requiere que se dimericen dos miembros de la familia, pueden existir varias combinaciones entre las proteínas, sin embargo el dímero más común es el formado por c-Fos y c-Jun.

Tomando como ejemplo al heterodímero Fos/Jun, la activación de AP1 se realiza por un proceso dependiente de la fosforilación de la subunidad c-Jun por la cinasa JNK, la cual es activada en citoplasma y translocada al núcleo donde fosforila a c-Jun, que una vez fosforilado se une a c-Fos y el dímero, a su vez, se une a la secuencia regulatoria de los genes blanco.

La lista de los genes que se encuentran regulados por AP1 es amplia, y destacan los que codifican para la colágena, la ciclina D, y las citocinas TGF $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$ , entre muchos otros más. Lo que hace que AP1 sea un factor de transcripción de suma importancia para el buen funcionamiento de un organismo, ya que regula básicamente procesos de proliferación, reparación, fase aguda hepática e inflamación.

Si bien AP1 puede ser activado por proteínas de la cascada de señalización de las MAPK, de la cual varios de sus miembros se han propuesto como sensores de ERO, existe evidencia de que puede ser activado directamente por modificación en el estado de oxidación de ciertas cisteínas. Por ejemplo, la sustitución de la cisteína 154 en Fos o de la cisteína 272 en Jun por una serina, genera la pérdida de la regulación redox de AP1 y de su unión al DNA, lo que representa una regulación negativa de la actividad de AP1 por las ERO dentro del núcleo.

## NF- $\kappa$ B

El factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) es por mucho el factor de transcripción regulado por radicales libres más estudiado. NF- $\kappa$ B fue identificado en 1986 como un factor de transcripción que se une a un elemento de respuesta en el promotor del gen de la cadena ligera de la inmunoglobulina  $\kappa$  de las células B. Originalmente se pensó que era específico de este tipo celular, pero ahora se sabe que está presente en prácticamente todos los tipos celulares y es capaz de regular fenómenos tanto proliferativos como de apoptosis.

El NF- $\kappa$ B bajo condiciones basales se encuentra en el citoplasma, formado por dímeros que resultan de la combinación de proteínas de la familia Rel. En los mamíferos se han identificado 5 miembros de esta familia: p65 (o Rel A), c-Rel, RelB, p52 (y su precursor p100), p50 (y su precursor p105). El dominio Rel, común en todos ellos, se compone de tres regiones funcionales: dominio de dime-

rización, dominio de localización nuclear y dominio de unión al DNA; dentro de este último, y en el caso de p50, se encuentra la cisteína 62 la cual es crítica para la regulación de unión al DNA mediada por ERO. Si bien todos los miembros de la familia Rel pueden formar homodímeros entre sí (excepto RelB), la forma más abundante es el heterodímero p65/p50, el cual se une con mayor afinidad a secuencia general GGGRNNYYCC, donde R es una purina, Y es una pirimidina y N cualquier otro nucleótido. Se sabe, por estudios en animales mutados, que no todos los NF- $\kappa$ B ejercen la misma función, de hecho sólo p65 es esencial para la sobrevivencia.

El factor NF- $\kappa$ B se mantiene en el citoplasma, de manera inactiva, formando un complejo inhibitorio con la proteína I $\kappa$ B. Las I $\kappa$ B son proteínas ricas en repeticiones de ankirina que se unen al dímero del NF- $\kappa$ B y enmascaran su secuencia de localización nuclear. Se han identificado varios miembros de esta familia que incluyen a la I $\kappa$ B- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\epsilon$ , - $\delta$ , y Bcl-3. La interacción entre el NF- $\kappa$ B y la proteína I $\kappa$ B se rompe cuando se recibe un estímulo que permite la fosforilación del I $\kappa$ B, normalmente esta señal proviene de la cinasa específica del NF- $\kappa$ B (IKK); la fosforilación del I $\kappa$ B permite su ubiquitinación en residuos de serina y treonina y su posterior degradación por el proteosoma 26S. Una vez liberado de I $\kappa$ B, el factor NF- $\kappa$ B se transloca al núcleo donde se une a su secuencia regulatoria y esti-

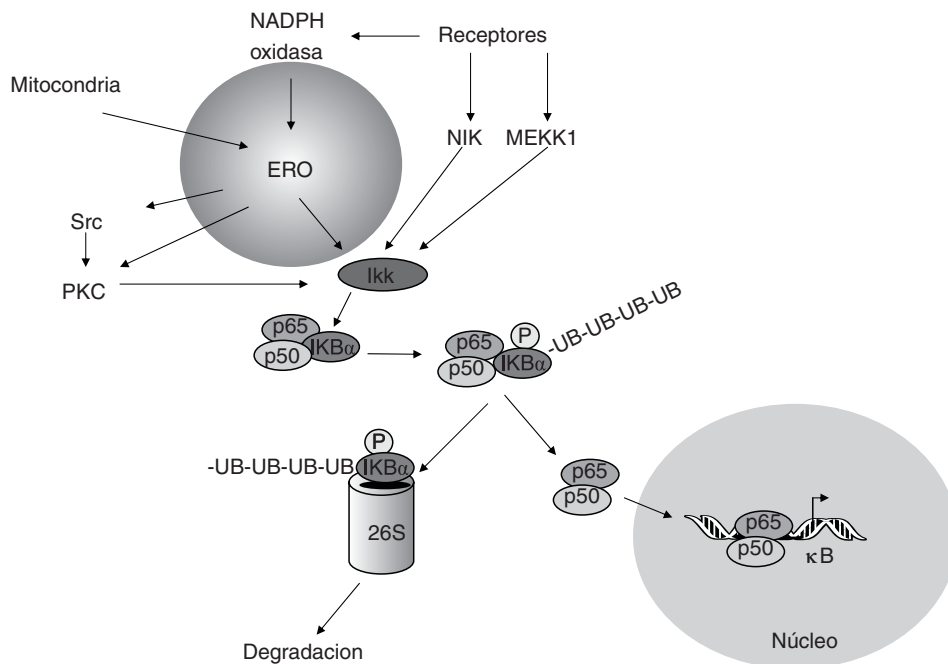


Figura 33-4. Esquema general de la activación del NF- $\kappa$ B.



mula la expresión de los genes blanco que dirige, incluyendo la síntesis de  $\text{I}\kappa\text{B-}\alpha$  y  $\beta$ , los cuales ayudan a terminar la respuesta por la formación de un nuevo complejo inactivo  $\text{I}\kappa\text{B/NF-}\kappa\text{B}$  que lo exporta al citoplasma. Se han identificado una gran cantidad de genes que son regulados por este factor de transcripción, entre los cuales se encuentran citocinas y factores de crecimiento (IL-2, IL-8, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), receptores inmunológicos (Fas, MHC clase I), moléculas de adhesión (E-selectina, I-CAM), óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), proteínas antiapoptóticas (Bcl-xL, Bcl-2, c-IAP, entre otras), entre muchas otras más.

Varios receptores de citocinas y factores de crecimiento inducen la activación del NF- $\kappa\text{B}$ , no sólo por su ruta canónica mediada por la IKK sino también por medio de las MAPK cinasas, particularmente por la JNK y p38. JNK activa coordinadamente a la IKK e induce la fosforilación de los residuos de serina del  $\text{I}\kappa\text{B-}\alpha$  en respuesta a la estimulación con el TNF- $\alpha$ , MEKK1 activa a la IKK- $\alpha$  y  $\beta$  dentro del complejo IKK. NIK también puede activar directamente a la IKK- $\alpha$ . Por otro lado, se ha visto que la JNK interactúa con la subunidad c-Rel e induce la activación del factor nuclear, sin embargo, no fosforila directamente a las subunidades. La figura 33-4 muestra un esquema general de la activación del NF- $\kappa\text{B}$ .

La sobre expresión de Rac induce la activación del NF- $\kappa\text{B}$ , y el empleo de anti-oxidantes disminuye esta activación, lo que deja claro que la producción de ERO por la NADPH oxidasa impacta directamente en la activación de este factor de transcripción.

Además de la activación del NF- $\kappa\text{B}$  por la fosforilación de las serinas 32 y 36 del  $\text{I}\kappa\text{B}$ , también puede ser activado por la fosforilación de la tirosina 42. Un aspecto que llama mucho la atención es que el tratamiento con pervanadato, un inhibidor de tirosina fosfatasas, activa al NF- $\kappa\text{B}$  sin la degradación proteolítica del  $\text{I}\kappa\text{B}$ . Varios receptores tienen asociadas tirosin-cinasas (PTK) como mediadores en la transducción de señales, entre ellas se encuentran Lck y Src, las cuales son activadas por las ERO, estas PTK activan a su vez al NF- $\kappa\text{B}$  por medio de la fosforilación de la tirosina 42. Se sabe que se requiere de Src para la activación del factor inducida por la luz ultra violeta o por el TNF- $\alpha$ , también se ha mostrado en estudios con pervanadato o de hipoxia/reoxigenación que la fosforilación de la tirosina 42 disminuye notablemente en presencia de inhibidores de Src. Mas aún, la presencia de anti-oxidantes como catalasa o glutatión peroxidasa (GPx), pero no de las SOD, disminuye notablemente la fosforilación de la tirosina inducida por Src, lo que sugiere que es un proceso mediado por  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Como se ha mencionado, la fosforilación de la tirosina 42 no conduce a la degradación del  $\text{I}\kappa\text{B}$ , se ha mostrado que la subunidad p85 de la fosfatidil inositol cinasa (PI3K) interactúa con el  $\text{I}\kappa\text{B}$  fosforilado en la tirosina, y que tal vez pudiera ésta facilitar la activación y translocación al núcleo del NF- $\kappa\text{B}$ .

Al igual que en el caso de la AP1, la presencia de las ERO en el citoplasma regula la activación del NF- $\kappa\text{B}$ , sin embargo en el núcleo las ERO tiene un efec-

to negativo. Bajo condiciones oxidantes la cisteína 62 de p50 es oxidada lo que hace que disminuya su afinidad por su secuencia en el DNA, el óxido nítrico (NO•) también puede tener este efecto por la nitrosilación de ese mismo residuo, de hecho, como se ha mencionado, la activación del NF-κB induce la expresión de la iNOS, la cual aumenta notablemente la producción del NO•, lo que sugiere que el NO• puede jugar el papel de regulador negativo en la activación del NF-κB.

### Nrf2

El factor 2 relacionado con NF-E2 (Nrf2) es otro de los factores de transcripción que se activan por ERO que, si bien se descubrió hace tiempo, ha tomado mucha relevancia en los últimos años. La importancia de Nrf2 reside en su capacidad para controlar la expresión de varias proteínas de defensa anti-oxidante y de detoxificación. Diversos artículos se han publicado en el sentido de que Nrf2 es un factor clave en citoprotección en procesos como carcinogénesis, respuesta inflamatoria, neuroprotección, entre otros.

En condiciones normales, Nrf2 se encuentra en citosol unido a Keap1, proteína que le impide su translocación al núcleo. Cuando Keap1 es degradada por el proteosoma 26S, Nrf2 se transloca al núcleo donde se une a la proteína Maf, la

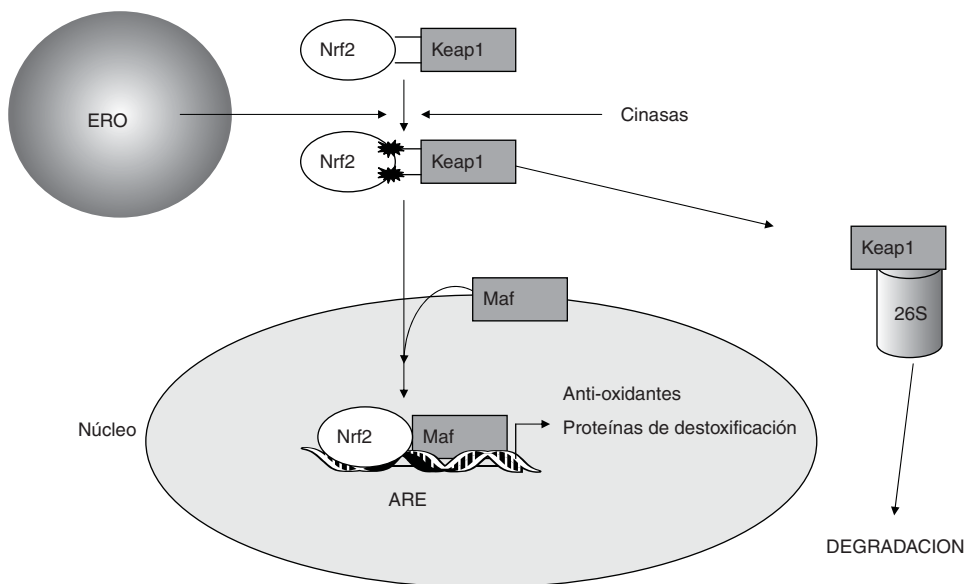


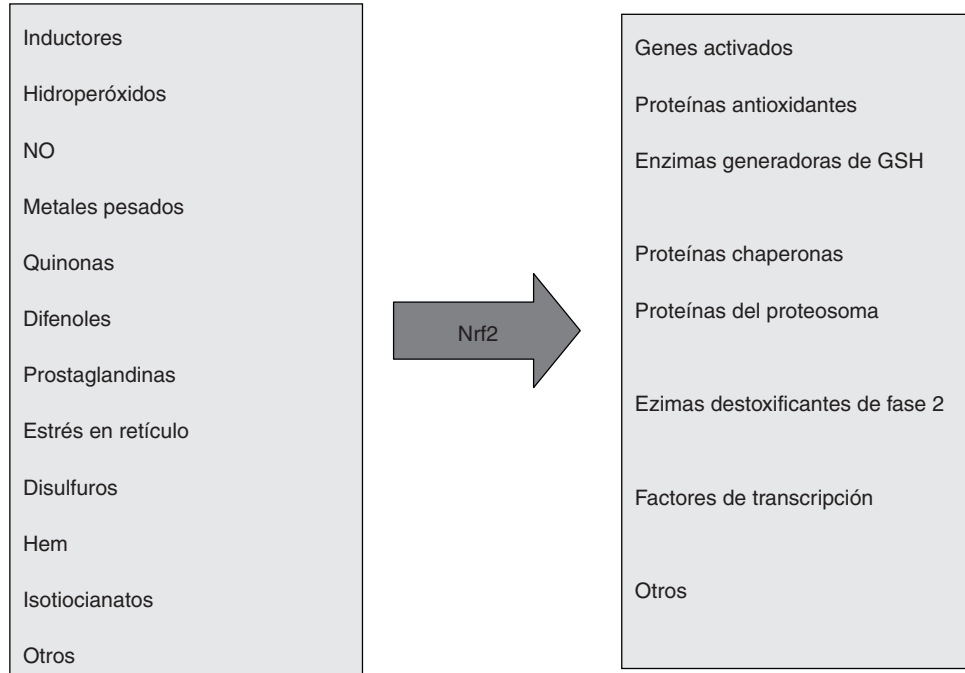
Figura 33-5. Actividad del factor de transcripción Nrf2.

cual es una proteína que también se regula por las ERO, una vez formado el dímero Nrf2/Maf, se une al elemento de respuesta antioxidante (ARE) de los genes que controla (figura 33-5). Keap1 llama particularmente la atención, ya que es una proteína que contiene 27 residuos de cisteína, y varios de ellos son altamente reactivos, lo que la coloca como candidata a proteína sensora de ERO, además que responde rápidamente a los cambios en el estado redox celular.

Nrf2 ha sido implicado en la regulación de la NAD(P) quinona reductasa, en genes que regulan destoxicación de fase 2 como UDP-gluconoril-transferasa, Aflotoxina B1 aldehído reductasa y la epóxido hidrolasa microsomal. Dentro de las enzimas antioxidantes que se encuentran bajo el control de Nrf2 están la catalasa, la GPx, la SOD, tioredoxina, hem oxigenasa 1, ferritina, entre otras. (Figura 33-6).

Como se ha discutido ya en el capítulo referente al GSH, la enzima  $\gamma$ -glutamilmcisteína sintetasa es la enzima que regula el paso limitante o de control en la síntesis del tripéptido GSH, esta enzima está también regulada por el Nrf2, lo que involucra directamente al factor de transcripción en la regulación y la disponibilidad del GSH. De hecho, el factor Nrf2 regula tanto la producción basal, como la inducida, de GSH. En algunos tipos celulares, el intercambio entre cis-

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.



**Figura 33-6.** Moléculas inductoras de Nrf2 y enzimas que se encuentran bajo su control transcripcional.

teína y glutamato es fundamental para mantener los niveles adecuados de GSH, este transporte de intercambio es mediado por el sistema  $X_c^-$  el cual está formado por dos proteínas, una de ellas, la xCT está controlada también por el Nrf2.

En general, por tecnología de microarreglos se han identificado alrededor de 200 genes que son regulados por el Nrf2, muchos de los cuales, como se ha mencionado, codifican para proteínas antioxidantes y de citoprotección.

Se ha observado que la eliminación del Nrf2 incrementa la sensibilidad de las neuronas al estrés oxidativo, reduciendo la expresión basal e inducida de genes de citoprotección. También se observó que los ratones deficientes en este factor presentaron niveles altos de formación de aductos en el DNA después de la exposición de agentes carcinogénicos, como la aflotoxina B1, materia particulada de diesel, entre otros. Mas aún, se observó que las cualidades quimiopreventivas del oltipraz y sulfuraphane son abolidas en los ratones deficientes de Nrf2, lo que sugiere que estos fármacos actúan regulando la actividad de Nrf2.

## ■ CONCLUSIONES

La visión que se tenía de que las ERO representaban un factor negativo para la célula ha ido cambiando con el tiempo. La regulación de la expresión génica por radicales libres tiene suma importancia tanto en los procesos fisiológicos, como en los patológicos para el organismo.

El uso de nuevas tecnologías como el estudio de la expresión de genes por microarreglos ha favorecido que el avance en la identificación de genes que se activan por ERO sea más rápido. Por otro lado, el analisis comparativo de las secuencias promotoras de genes que responden bajo condiciones similares han permitido desenmascarar secuencias regulatorias comunes o que se sobreponen a la expresión de genes que responden a ERO.

La regulación de la expresión de genes por las ERO es un tema muy amplio, cada día se descubren nuevas interacciones entre las rutas dirigidas por radicales libres, de modo que lo que presento aquí, es sólo una pequeña parte de un vasto mundo de la regulación de señales dentro de la célula.

## ■ REFERENCIAS

- Cross JV, Templeton DJ:** Thiol oxidation of cell signaling proteins: controlling an apoptotic equilibrium. *J Cell Biochem* 2004; 93:104-111.
- Dalton TP, Shertzer HG, Puga A:** Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; 39: 67-101.

- Forman HJ, Fukuto JM, Torres M:** Redox signaling: thiol chemistry defines which reactive oxygen and nitrogen species can act as second messengers. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287:C246-C256.
- Herrera B, Murillo MM, Alvarez-Barrientos A et al.:** Source of early reactive oxygen species in the apoptosis induced by transforming growth factor- $\beta$  in fetal rat hepatocytes. *Free Rad Biol Med* 2004; 36:16-26.
- Hertog J, Groen A, Van der Wijk T:** Redox regulation of protein-tyrosine phosphatases. *Arch Biochem Biophys* 2005; 434:11-15.
- Kabe Y, Ando K, Hirao S et al.:** Redox regulation of NF- $\kappa$ B activation: Distinct redox regulation between the cytoplasm and the nucleus. *Antioxid redox Signal* 2005; 7: 395-403.
- Karin M, Ben-Neriah, Y:** Phosphorylation meets ubiquitination: the control of the NF- $\kappa$ B activity. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 621-663.
- Kobayashi M, Yamamoto M:** Molecular mechanism activating the Nrf2-Keap1 pathway of antioxidant gene regulation. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7: 385-394.
- Lee HB, Yu MR, Yang Y et al.:** Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14:S241-S245.
- Lee JM, Li J, Johnson DA et al.:** Nrf2, a multi-organ protector? *FASEB J* 2005; 19: 1061-1066.
- Sen R, Baltimore D:** Inducibility of the immunoglobulin enhancer-binding protein NF- $\kappa$ B by a posttranslational mechanism. *Cell* 1986; 47:921-928.

