ROLA CZYNNIKA Nrf2 I JEGO AKTYWATORÓW W PATOGENEZIE WYBRANYCH CHORÓB ZWIĄZANYCH Z DYSFUNKCJĄ UKŁADU NERWOWEGO

THE ROLE OF Nrf2 FACTOR AND ITS ACTIVATORS IN THE PATHOGENESIS OF SELECTED NERVOUS SYSTEM DISEASES

Patrycja PAŃCZYSZYN-TRZEWIK[1], Agata SUROWIEC[2], Jeremi WNOROWSKI[2], Ruslan ZAVATSKYI[1], Magdalena SOWA-KUĆMA[1]

[1]Zakład Fizjologii Człowieka, Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski
[2]Studenckie Koło Naukowe Fizjologii „Neuron" Kolegium Nauk Medycznych, Uniwersytet Rzeszowski

Streszczenie: Jądrowy czynnik transkrypcyjny pochodzenia erytroidalnego typu 2 – Nrf2 stanowi jeden z kluczowych elementów odpowiedzi komórki na stres oksydacyjny. Nrf2 reguluje ekspresję szeregu genów kodujących enzymy antyoksydacyjne (tj. S-transferaza glutationowa; oksygenaza hemowa 1 czy katalaza). Co więcej, doniesienia naukowe sugerują że modulacja wewnątrzkomórkowej ścieżki Keap1-Nrf2 jak i aktywatory Nrf2 mogą stanowić nowy cel terapii chorób w patogenezie których wskazuję się na istotność współwystępowania zaburzonej homeostazy oksydacyjnej z nadmierną aktywacją układu immunologicznego. Aktywatory Nrf2 (tj. sulforafan, TBE-31, fumaran dimetylu) wykazują działanie antyoksydacyjne, neuroprotekcyjne, przeciwdepresyjne oraz przeciwzapalne. Aktywacja czynnika Nrf2, stanowi więc obiecujący kierunek poszukiwania skuteczniejszych form leczenia licznych schorzeń w tym chorób neurodegeneracyjnych czy zaburzeń depresyjnych.

Słowa kluczowe: Nrf2, stres oksydacyjny, aktywatory Nrf2, układ nerwowy

Summary: The nuclear factor erythroid 2 related factor 2 (Nrf2) is a key regulator of antioxidant defenses, control genes encoding antioxidant enzyme (such as: glutathione-S-transferases, heme oxygenase-1 or catalase) in response to oxidative stress. Moreover scientific data, suggest that

modulation of intracellular Keap1-Nrf2 pathway as well as Nrf2 activators may be a novel pharmacological target for pathologies related with disturbance of oxidative stress and inflammatory. Nrf2 activators (e.g. sulforaphane,, TBE-31, dimethyl fumarate) have antioxidative, neuroprotective, antidepressant and anti-inflammatory activity. Nrf2 factor (especially its activation) seems to be a promising direction for defining more effective treatments of numerous diseases, including neurodegenerative diseases and depressive disorders.

Keywords: Nrf2, oxidative stress, Nrf2 activators, nervous system

WPROWADZENIE

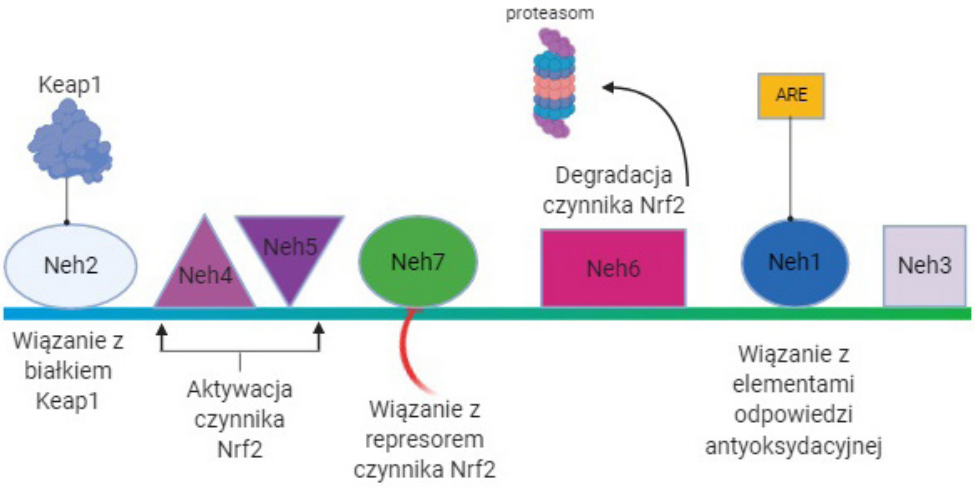
Zaburzenie równowagi pro- i antyoksydacyjnej określa się terminem stres oksydacyjny a jej konsekwencją jest nadmierna produkcja reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species,* ROS). Stres, zanieczyszczenia, czy nieprawidłowa dieta to tylko niektóre z czynników, które mogą przyczynić się do powstawania ROS. Stres oksydacyjny prowadzi do szeregu uszkodzeń komórki, w tym struktury białek, lipidów, czy DNA. Coraz więcej doniesień naukowych wskazuje, że reakcjom stresu oksydacyjnego nierozerwalnie towarzyszą procesy zapalne. Co istotne, leżą one u podstaw rozwoju wielu chorób człowieka, w tym również chorób związanych z układem nerwowym [16]. Pierwszą linią obrony organizmu przed nadmierną produkcją ROS jest jądrowy czynnik transkrypcyjny pochodzenia erytroidalnego typu 2 (ang. *nuclear factor erythroid 2-related factor 2,* Nrf2) [25]. Jako „molekularny strażnik" komórki chroni ją przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Stąd zaburzenia funkcji Nrf2 i możliwości modyfikacji jego aktywności wydają się być obiecującym kierunkiem w poszukiwaniu patomechanizmu i potencjalnej terapii wielu chorób, szczególnie tych, w przebiegu których obserwuje się zaburzenie równowagi oksydacyjno-zapalnej. Interesującym przykładem są schorzenia związane z dysfunkcją układu nerwowego, które stanowią główny przedmiot niniejszego artykułu.

CZYNNIK TRANSKRYPCYJNY Nrf2 – OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA

Struktura ludzkiego czynnika Nrf2 została określona w 1993 r., a rok później białko to po raz pierwszy wyizolowano z ludzkiej linii komórek przewlekłej białaczki szpikowej (linia K562) [23]. Czynnik Nrf2 kodowany jest przez gen NFE2L2 zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 2 (2q 31.2). Ulega on ekspresji w większości tkanek, lecz największe stężenie osiąga w nerkach, tkance mięśniowej, płucach, sercu, wątrobie oraz mózgu [30]. Nrf2 zaliczany jest do podrodziny białek Cap'n'collor (CNC), które w swojej strukturze zawierają cha-

rakterystyczny element molekularny (tzw. motyw zamka lecynowego, ang. *basic leucine zipper,* bZip) umożliwiający wiązanie z jądrowym DNA. W strukturze białka Nrf2 można wyróżnić siedem homologicznych, funkcjonalnych domen (Neh1-Neh7) [24]. Neh1 zawiera region CNC-bZip umożliwiający przyłączenie czynnika Nrf2 do jądrowego DNA oraz wiązanie z innymi czynnikami transkrypcyjnymi. W domenie 2 (Neh2) w regionie N-końcowym wyróżnia się dwa motywy DLG (sekwencja aminokwasowa leucyna 23 do arginina 43; niskie powinowactwo wiązania) oraz ETGE (sekwencja aminokwasowa glutamina 73 do izoleucyna 86; wysokie powinowactwo wiązania), które zapewniają stabilizację oddziaływania białka Keap1 z Nrf2 w cytoplazmatycznym kompleksie. Neh3 wykazuje zdolność wiązania z chromo-ATP-azą. Z kolei domeny Neh4 i Neh5 zaangażowane są w regulację funkcjonalnej aktywności transkrypcyjnej czynnika Nrf2. Domena Neh6 zawiera dwa motywy DSGIS (sekwencja aminokwasowa asparagina 329 do seryna 342) i DSAPGS (sekwencja aminokwasowa seryna 363 do kw. glutaminowy 379). Funkcja konserwatywnej domeny Neh6 związana jest z regulacją m.in. procesu protesomalnej degradacji czynnika Nrf2. Neh7 stanowi najnowszą zdefiniowaną i opisaną domenę struktury Nrf2. Domena wiąże się z receptorem kwasu retinowego alfa warunkując zahamowanie aktywności transkrypcyjnej Nrf2 jak i zależnych od niego genów [15] (Ryc. 1).

Główną funkcją białka Nrf2 w komórce jest aktywacja genów kodujących enzymy antyoksydacyjne (tzw. enzymy II fazy). W grupie tej wyróżnia się m.in. S-transferazę glutationową (ang. *glutathione-S-transferase,* GST), oksygenazę hemową 1 (ang. *heme oxygenase-1,* HO-1) czy katalazę [1]. Najogólniej mówiąc,



RYCINA 1. Struktura białka Nrf2. Opracowano na podstawie [24, 13]
FIGURE 1. Structure of Nrf2 protein. Based on [24, 13]

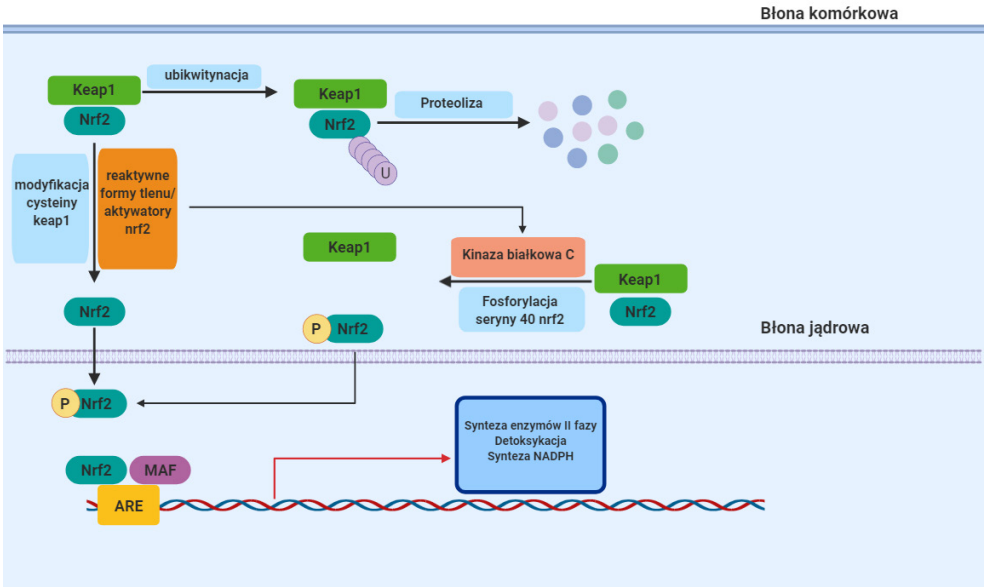
mechanizm ich działania polega na neutralizacji ROS powstających w przebiegu stresu oksydacyjnego w komórce, co pozwala zachować homeostazę oksydacyjną. Można zatem wysnuć stwierdzenie, że czynnik transkrypcyjny Nrf2 stanowi kluczowy element maszynerii molekularnej zaangażowanej w odpowiedź komórki na stres oksydacyjny. Coraz więcej doniesień naukowych wskazuje na rolę Nrf2 w regulacji ekspresji genów kodujących: neurotroficzny czynnik pochodzenia mózgowego (ang. *brain-derived neurotrophic factor,* BDNF) czy białko p62 (białko związane z procesem autofagii komórkowej) [36]. Ponadto, oprócz wskazanej głównej funkcji antyoksydacyjnej, Nrf2 zaangażowany jest w regulację procesów przeciwzapalnych komórki, głównie poprzez hamowanie czynnika transkrypcyjnego kappaB (ang. *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells,* NF-κB*).* Regulacja procesów przeciwzapalnych łączona jest również z aktywnością wewnątrzkomórkowego szlaku Nrf2-HO-1. Wykazano bowiem, że zarówno poziom mRNA jak i białka HO-1 w komórce podlega ścisłej regulacji Nrf2-zależnej [41]. Komórkowa aktywność HO-1 związana jest z enzymatyczną degradacją hemu do tlenku węgla i wolnych jonów żelaza oraz biliwerdyny do bilirubiny. Tlenek węgla wykazuje działanie hamujące na szlak zależny od czynnika NF-κB, prowadząc do obniżenia poziomu ekspresji cytokin prozapalnych [1]. Sugeruje się, że funkcje antyoksydacyjne i przeciwzapalne czynnika Nrf2 w ośrodkowym układzie nerwowym są wynikiem oddziaływania i wzajemnej regulacji z NF-κB. Dynamika zmian interakcji tych dwóch czynników transkrypcyjnych nie została w pełni poznana, stwarza jednak interesujący cel naukowy mogący wyjaśnić szereg regulacji komórkowych zaangażowanych w funkcje biologiczne Nrf2 [3].

MECHANIZMY REGULACJI WEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ ŚCIEŻKI Nrf2-ZALEŻNEJ

Regulacja aktywności Nrf2 jest procesem złożonym z kaskady kilku reakcji, w którą zaangażowanych jest wiele czynników komórkowych. Wskazana modulacja aktywności czynnika Nrf2 jest zależna od stanu fizjologicznego komórki.

W warunkach prawidłowych (niestresowych) czynnik Nrf2 jest związany z białkiem Keap1 (ang. *kelch-like ECH-associated protein 1*), stanowiącym formę białka represorowego, zlokalizowanego w cytoplazmie. W strukturze ludzkiego białka Keap1 wyróżnia się 5 domen: domenę N-końcową (ang. *N-terminal region*, NTR), domenę BTB (ang. *bric a brac domen*), domenę stanowiącą region powtórzeń glicyny (ang. *double glycine region,* DGR), region pośredni szczególnie bogaty w cysteinę (ang. *intervening region,* IVR) oraz domenę C-końcową (ang. *C-terminal region,* CTR*)*. DGR oraz CTR wiążą się do drugiej domeny białka

Nrf2 (Neh2) regulując tym samym interakcje Keap1-Nrf2 w kompleksie cytoplazmatycznym [24]. W warunkach prawidłowych utworzony kompleks uniemożliwia transport Nrf2 do jądra komórkowego, przez co czynnik ten pozostaje w formie nieaktywnej biologicznie. Wykazano również, że istotnym elementem regulacji poziomu Nrf2 w komórce jest proces ubikwitynacji polegający na dołączaniu specyficznych reszt ubikwityny predysponujących białko do rozkładu enzymatycznego w proteasomach (układ ubikwityna/proteasom 26S) [2]. W regulacji procesu degradacji proteosomalnej najistotniejszą rolę odgrywa aktywność ligazy ubikwityny E3 związanej z kuliną, która hamuje aktywność transkrypcyjną czynnika Nrf2 [1].



RYCINA 2. Mechanizmy regulacji wewnątrzkomórkowej ścieżki Nrf2-zależnej.
W warunkach prawidłowych cytoplazmatyczny kompleks Keap1-Nrf2 podlega degradacji proteolitycznej (układ ubikwityna/proteasom). Wzrost reaktywnych form tlenu lub aktywatory Nrf2 warunkują rozpad kompleksu Keap1-Nrf2 (zmiana konformacji białka Keap1, fosforylacja czynnika Nrf2). Uwolniony Nrf2 migruje do jądra komórkowego łączy się z elementem odpowiedzi antyoksydacyjnej ARE indukując transkrypcje enzymów antyoksydacyjnych (m.in. enzymów II fazy). Opracowano na podstawie [9]
FIGURE 2. Mechanisms of Nrf2-dependent intracellular signaling pathway.
Under normal (unstressed) conditions Nrf2 is subject to proteolytic degradation (ubiquitin / proteasome pathway mediated by Keap1 protein). During increase the reactive oxygen species or Nrf2 activators, Nrf2 is derepressed via modification of Keap1protein or phosphorylation of a serine residue (Ser40) in the Neh2 domain of Nrf2. Next Nrf2 translocates into nucleus and activates selected target genes through antioxidant response elements, exerting antioxidant effects. Based on [9]

Wzrost poziomu ROS, bądź ekspozycja na specyficzne aktywatory Nrf2 (np. sulforafan, TBE-31, fumaran dimetylu, kurkumina, resweratrol, kwercetyna) zapoczątkowują zmiany, w efekcie których kompleks Keap1-Nrf2 ulega rozpadowi. Badania naukowe wskazują, że mechanizm tej reakcji związany jest z utlenieniem reszt cysteinowych (szczególnie cysteiny w pozycji 151) obecnych na powierzchni białka Keap1, warunkujących zmiany organizacji przestrzennej białka Keap1 i ostatecznie oddysocjowanie Nrf2 z kompleksu. Następnie, czynnik ten na drodze transportu aktywnego przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie heterodimeryzuje z małymi białkami Maf (ang. *small Maf proteins,* sMaf). Umożliwia to rozpoznanie i oddziaływanie z elementem odpowiedzi antyoksydacyjnej (ang. *antioxidant response element,* ARE). Proces ten jest niezbędny do indukcji ekspresji genów i w następstwie syntezy enzymów antyoksydacyjnych [25] (Ryc. 2).

Zaprezentowany mechanizm aktywacji Nrf2 jest jak dotąd najlepiej opisanym, jednak jak się okazuje, w świetle najnowszych danych literaturowych, nie jedyny. Wskazuje się między innymi na istotną rolę modyfikacji potranslacyjnych czynnika Nrf2 (np. fosforylacja przez kinazę białkową C, szczególnie na serynie 40), czy mechanizmów epigenetycznych (np. metylacja promotorów genów; acetylacja/fosforylacja białek histonowych; regulacja przez małe niekodujące cząsteczki RNA – mikroRNA – miR153, miR27a; miR144) zaangażowanych w kontrolę ekspresji genów KEAP1 i NFE2L2 [18].

ZNACZENIE AKTYWNOŚCI KOMÓRKOWEJ CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO Nrf2 W PATOGENEZIE WYBRANYCH CHORÓB ZWIĄZANYCH Z UKŁADEM NERWOWYM

Aktualnie w bazie PubMed znajduje się ponad 14 tys. prac opisujących funkcje Nrf2 oraz jego potencjalne korelacje z różnymi chorobami, w tym nowotworami (ponad 5 tys. prac), chorobami sercowo-naczyniowymi (ponad 1,3 tys. prac), chorobami układu oddechowego (ponad 800 prac), chorobami neurodegeneracyjnymi (757 prac), udarem niedokrwiennym mózgu (227 prac), czy zaburzeniami depresyjnymi (133 prac).

Ze względu na fakt, iż rola czynnika Nrf2 w patogenezie i chemioterapii chorób nowotworowych jest najobszerniej dyskutowana, w niniejszej pracy autorzy skupili się przede wszystkim na wybranych schorzeniach związanych z dysfunkcją układu nerwowego.

CHOROBY NEURODEGENERACYJNE

Wraz z postępującym starzeniem się społeczeństwa, odnotowuje się stały trend wzrostu liczby osób cierpiących na choroby neurodegeneracyjne. Prognozy statystyczne wskazują, że już w 2030 r. liczba pacjentów ze zdiagnozowanymi

schorzeniami neurodegeneracyjnymi w samej tylko Polsce przekroczy 9 milionów [17]. Choroby te stanowią zależny od wieku, nieuleczalny zespół heterogennych zaburzeń, których cechą wspólną jest postępujący proces neurodegeneracji komórek mózgowych. Wśród najczęściej występujących wyróżnia się: chorobę Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, stwardnienie rozsiane, czy ataksję rdzeniowo – móżdżkową. Pomimo intensywnych badań, patogeneza zaburzeń neurodegeneracyjnych w dalszym ciągu jest niewystarczająco poznana, co znajduje odzwierciedlenie w braku skutecznych ich terapii [16].

W etiopatogenezie chorób neurodegeneracyjnych (szczególnie w chorobie Alzheimera i Parkinsona) u pacjentów obserwuje się zaburzenie potencjału redukcyjno-oksydacyjnego [14]. Co więcej w przebiegu choroby Alzheimera wskazuje się, że wzrost poziomu ROS jest skorelowany ze stopień toksyczności złogów amyloidu-beta [40]. Dysfunkcja głównych komórkowych układów antyoksydacyjnych w rozwoju powyższych chorób została powiązana z rolą zmian aktywności czynnika Nrf2 [12].

Choroba Alzheimera (ang. *Alzheimer's disease,* AD)

W badaniach mających na celu poszukiwanie mechanizmów chorób neurodegeneracyjnych lub możliwości ich terapii najczęściej wykorzystuje się zwierzęce modele. W przypadku AD, do najważniejszych zalicza się modele transgeniczne oparte na mutacji genu APP (gen białka prekursorowego β-amyloidu), MAPT (gen kodujący białko tau), apoE (gen kodujący apolipoproteinę E) oraz genów presenilin [42].

W zakresie badań przedklinicznych Mota i wsp., podjęli próbę oceny roli czynnika Nrf2 w transgenicznym zwierzęcym modelu AD tj. mysim modelu 3xTg-AD [31]. Model ten został opisany w 2003r., i oparty jest na mutacji genu APP, preseniliny 1 oraz białka tau. Należy zaznaczyć, że model ten prezentuje u zwierząt najpełniejszy obraz patologii występujący w przebiegu klinicznym choroby Alzheimera [42]. W przeprowadzonym badaniu naukowcy zaobserwowali wzrost poziomu formy fosforylowanej czynnika Nrf2 na serynie 40 (p-S40-Nrf2) w jednojądrzastych komórkach krwi obwodowej (ang. *peripheral blond mononuclear cell,* PBMC) pozyskanych od 3-miesięcznych myszy 3xTg-AD. Co więcej, ocena poziomu białka Nrf2 została również przeprowadzona we frakcji jądrowej wyizolowanej z próbek kory mózgowej 3-miesięcznych myszy 3xTg-AD (samce, samice). Wyniki analiz biochemicznych u samców wykazały wzrost poziomu białka Nrf2 w korze mózgowej który był odwrotnie skorelowany z poziomem mRNA oraz białka dysmutazy ponadtlenkowej 1. Poziom ligazy glutaminianowo-cysteinowej (ang. *glutamate-cysteine ligase catalytic,* GCL) nie uległ zmianie. Interesującym jest również brak zmian w poziomie czynnika Nrf2 w korze mózgowej samic. Wyniki przedstawionego badania sugerują, że w przebiegu AD dochodzi do zaburzenia antyoksydacyjnej regulacji Nrf2-zależnej, ponieważ pomimo obserwowanej migracji czynnika Nrf2 do jądra komórkowego, synteza enzymów antyoksydacyjnych nie jest w nim zapoczątkowywana. Co więcej, wskazuje się,

że regulacja wewnątrzkomórkowych reakcji zintegrowanych z czynnikiem Nrf2, może być zależna od płci jak i odmienna dla danych grup wiekowych [31]. Potwierdzeniem roli Nrf2 w patogenezie AD są również wyniki badań przeprowadzonych z wykorzystaniem myszy Nrf2-KO (z delecją genu kodującego czynnik Nrf2; ang. *Nrf2 knockout mice;* Nrf2 $^{(-)/(-)}$). U zwierząt Nrf2$^{(-)/(-)}$, wykazano obniżony poziom ekspresji genu GSTM1 (gen zaangażowany w regulację aktywności antyoksydacyjnej S-transferazy glutationowej zależny od NFE2L2) oraz genów KRAS i WDFY1 zaangażowanych w regulacje sygnalizacji komórkowej i procesów zapalanych. Co więcej Rojo i wsp., wykazali u tych zwierząt gromadzenie się białka amyloidu-beta oraz zwiększoną fosforylację białka tau. Są to typowe cechy patologiczne, które obserwuje się w AD.W hipokampie myszy Nrf2-KO (w odniesieniu do szczepu dzikiego) wykazano również podwyższony poziom markerów stresu oksydacyjnego i parametrów prozapalnych. Obserwowanym zmianom towarzyszyły nieprawidłowości w procesie uczenia się przestrzennego oraz procesach pamięciowych, co jest również charakterystycznym objawem choroby [35].

W badaniach *post mortem* (pośmiertne), z wykorzystaniem metody immunohistochemicznej podjęto próbę oceny lokalizacji komórkowej czynnika Nrf2 determinującej endogenną aktywację kaskad antyoksydacyjnych w hipokampie pacjentów z AD (dokładniej neurony pola CA1). Wyniki badań wykazały istotne statystycznie spadki poziomu czynnika Nrf2 w jądrze komórkowym neuronów hipokampa AD. Wyniki te zostały również potwierdzone w obserwacji preparatów z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego. Z kolei analiza molekularna przeprowadzona techniką Western Blot wykazała spadki poziomu białka Nrf2 we frakcji jądrowej kory mózgu pacjentów z AD, co jest zgodne ze zmiany w strukturze hipokampa chorych przedstawionymi powyżej [34].

Zaprezentowane wyniki badań, sugerują na silną korelację czynnika Nrf2 z etiopatogenezą choroby Alzheimera. Należy pamiętać, że w patogenezie AD istotna jest zarówno aktywacja jak i supresja czynnika Nrf2. Jest to bardzo złożona zależność wieloukładowa, która nie jest w pełni opisana w literaturze naukowej. Wskazuje się, że ścieżka regulacji czynnika Nrf2 w chorobach neurodegeneracyjnych (również w AD), jest zależna od badanej struktury mózgowej; typu komórek jak również stadium choroby [13]. Co więcej istotnym jest również fakt, że obecne wyniki badań wskazują rolę czynnika Nrf2 w indywidualnej regulacji procesów amyloidopatii i taupatii. Brak jest ujęcia roli tego czynnika we wzajemnych regulacjach tych procesów patologicznych, które w przebiegu klinicznym AD często współwystępują u pacjentów. Ważnym jest również, brak uniwersalnego wzoru zmian ekspresji Nrf2, w przeprowadzanych badaniach o charakterze przedklinicznym i *post-mortem*. To dodatkowo wskazuje, że ścieżka regulacji czynnika Nrf2 jest układem bardzo złożonym.

Choroba Parkinsona (ang. *Parkinson's disease*, PD)

Wyniki badań przedklinicznych przeprowadzonych z wykorzystaniem myszy Nrf2-KO wykazały, że niedobór czynnika Nrf2 wzmacniał efekt indukowany podaniem toksyny – MPTP (1-metylo-4-fenylo-1,2,3,6-tetrahydropirydyny) [10]. MPTP jest najlepiej poznaną substancją neurotoksyczną, która wykorzystywana jest do indukcji objawów choroby Parkinsona. U zwierząt jej podanie prowadzi do neurodegeneracji (m.in. uszkodzenia neuronów dopaminergicznych w obrębie szlaku nigrostriatalnego prążkowia) zbliżonych do obrazu klinicznego PD [10]. Z kolei Williamson i wsp., w ocenie roli wewnątrzkomórkowej ścieżki Keap1-Nrf2 w przebiegu PD wykorzystali mechanizm wyciszania genu w procesie interferencji RNA (siRNA skierowane „przeciwko" KEAP1; siKeap1). Naukowcy zaobserwowali że dostrukturalne podanie siKeap1 w okolicy prążkowia myszy, indukowało efekt protekcyjny względem neuronów dopaminergicznych po podaniu MPTP [43]. Ponadto w zwierzęcym modelu PD, opartym na dostrukturalnym podaniu 6-hydroksydopaminy (6-OHDA, neurotoksyna indukująca procesy neurodegeneracyjne ścieżki nigrostriatalnej) wykazano zaburzenie równowagi antyoksydacyjnej związanej z gromadzeniem się ROS oraz nasiloną odpowiedź zapalną skorelowaną z aktywacją mikrogleju [4]. Przedstawione wyniki wskazują na potencjalną rolę aktywacji czynnika Nrf2 w regulacji systemów antyoksydacyjnych i zapalnych, których dysfunkcje obserwuje się w przebiegu PD.

Analiza wybranych biomarkerów stresu oksydacyjnego regulowanych przez czynnik Nrf2 przeprowadzona we krwi obwodowej pacjentów z PD (mutacja w genie kodującym białko parkinę – PARK2) wykazała u chorych podwyższone poziomy malonodialdehydu (produkt peroksydacji lipidów) i aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [38].

W badaniach *post mortem* wykazano wzrost poziomu czynnika Nrf2 w istocie czarnej chorych. Zmiany lokalizacji czynnika Nrf2 (dokładniej jego translokacja z cytoplazmy i akumulacja w jądrze komórkowym) w neuronach istoty czarnej były pozytywnie skorelowane z aktywacją odpowiedzi antyoksydacyjnej zależnej od Nrf2 [34]. Co więcej Fao i wsp., w swojej pracy przeglądowej wskazują na fakt, że w przebiegu PD obserwowane zmiany aktywności czynnika Nrf2 są związane z wewnątrzkomórkową kaskadą reakcji PI3K/Akt/GSK-3β oraz regulacją czynnika NF-κB [15].

UDAR NIEDOKRWIENNY MÓZGU

Udary mózgu (krwotoczny lub niedokrwienny) stanowią trzecią, co do częstości przyczynę zgonów na świecie. Według statystyk udar niedokrwienny mózgu stanowi najczęstszą postać udarów (w populacji europejskiej około 80% wszystkich przypadków) [21]

W zakresie badań naukowych, podstawowym dyskutowanym zagadaniem jest rola regulacji i zmian dynamiki sygnalizacji zależnej od czynnika Nrf2 w prewencji jak i ukierunkowanej interwencji w stanach udaru niedokrwiennego.

Zwierzęce modele doświadczalne udaru niedokrwiennego polegają na ograniczeniu dostępu tlenu i glukozy do określonych rejonów tkanki nerwowej (struktur mózgu). Wśród wykorzystywanych w badaniach wyróżnia się modele odtwarzające warunki całkowitego (globalnego) lub częściowego (tzw. ogniskowego) oraz czasowego lub permanentnego (stałego) niedokrwienia [22].

W modelu częściowego trwałego niedokrwienia wywołanego zamknięciem tętnicy środkowej mózgu (ang. *permanent middle cerebral artery occlusion model,* pMCAO), wykazano wzrost poziomu białka Nrf2 oraz aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i oksygenazy hemowej-1 w strukturach mózgowych objętych niedokrwieniem [7]. Podobne wyniki opublikował Zhao i wsp. Zastosowany model pMCAO indukował u myszy wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i tendencję wzrostową poziomu malonodialdehydu. Obserwowane zmiany w aktywności wybranych parametrów stresu oksydacyjnego były pozytywnie skorelowane ze wzrostem poziomu białka Nrf2 i HO-1 w korze mózgowej objętej niedokrwieniem [48]. Co więcej, Zhao i wsp., wykazali że podanie paeonolu (20-hydroksy-40-metyloksyacetofenon, naturalny związek pozyskiwany z piwonii krzewiastej mający działanie antyoksydacyjne) warunkowało efekt neuroprotekcyjny, biochemicznie związany ze zwiększeniem aktywności (tzw. up-regulacja) ścieżki Nrf2-HO1-zależnej [48]. Interesującym są również wyniki badań Clausen i wsp., którzy wykazali, że podanie fumaranu (działającego przez szlak aktywacji czynnika Nrf2) w modelu pMCAO warunkowało: wzrost poziomu białka Nrf2, zwiększenie ekspresji Hsp72, wzrost poziomu cytokiny zapalnej IL-10 oraz obniżenie poziomu cytokiny IL-12p70 [11].

Wnioski jakie można wysunąć, z publikowanych wyników prac wskazują na potencjalną neuroprotekcję, warunkowaną aktywacją czynnika Nrf2. Innymi słowy, sugeruje się, że aktywacja czynnika Nrf2 (endogenna, egzogenna) może minimalizować skutki uszkodzeń warunkowanych niedotlenieniem. Oczywiście, wskazana funkcja czynnika Nrf2 wymaga jeszcze wielu dodatkowych badań.

ZABURZENIA DEPRESYJNE

Zaburzenia depresyjne stanowią istotny problem zdrowia psychicznego na świecie. Statystyki wskazują na coraz wyższą zachorowalność szczególnie w krajach wysoko rozwiniętych. Szacuje się że stanowią one 4,4% globalnego obciążenia wszystkimi chorobami. Rocznie na depresję cierpi ponad 350 milionów osób. Niestety coraz częściej diagnozuje się ją w grupie osób młodych w tym również u dzieci [49].

W badaniach przedklinicznych zaburzeń depresyjnych, stosuje się zwierzęce modele depresji umożlwiające indukowanie zachowań podobnych do depresji

(ang. *depression like-behavior*). Obecnie w literaturze naukowej, opublikowano nie wiele prac oceniających rolę czynnika Nrf2 w regulacji zachowań typu depresyjnego.

W zwierzęcym modelu wymuszonej bezradności (ang. *learned helplessness*), w grupie doświadczalnej zwierząt wykazano obniżenie poziomu białek Keap1 oraz Nrf2 w korze przedczołowej i zakręcie zębatym hipokampa szczurów – strukturach mózgowych szczególnie istotnych w patogenezie depresji [46]. Z kolei w modelu przewlekłego łagodnego stresu (ang. *chronic mild stress,* CMS) naukowcy obserwowali obniżony poziom białka Nrf2 w korze przedczołowej grupy stresowanej [28]. Badania te sugerują, że ścieżka Keap1-Nrf2 jest zaangażowana w mechanizmy odporności na działanie czynników stresowych, które odgrywają kluczową rolę w rozwoju zaburzeń depresyjnych. Bouvier i wsp., w szczurzym modelu porażki konfrontacji społecznej (ang. *social defeat*) oraz CMS wykazali zależność wykształcenia u zwierząt podatności (wrażliwości) na czynniki stresowe z utrzymującym się stresem oksydacyjnym. Co więcej zaburzona homeostaza oksydacyjna była skorelowana z niskim poziomem białka BDNF. Naukowcy również zaobserwowali, że niski poziom białka BDNF hamował translokację czynnika Nrf2 do jądra komórkowego konstytutywnie blokując aktywację enzymów antyoksydacyjnych i tym samym przywrócenie homeostazy oksydacyjnej [6].

Równie interesujące są wyniki, uzyskane z wykorzystaniem modeli transgenicznych. U myszy pozbawionych genu kodującego Nrf2, odnotowano zachowania (objawy) podobne do depresji u ludzi, tj. wydłużony czas bezruchu, czy anhedonia (brak odczuwania przyjemności). Obserwowanym zmianom behawioralnym towarzyszyły liczne zmiany biochemiczne, np. podwyższony poziom głównych cytokin zapalnych w surowicy krwi (m.in. interleukiny 6, interleukiny 10) oraz obniżony poziom białka BDNF i jego receptora TrkB (receptor z rodziny kinazy związanej z tropomiozyną; ang *tropomyosin receptor kinase B*, TrkB) w korze przedczołowej, polu CA3 i zakręcie zębatym hipokampa [19]. W innym badaniu u myszy Nrf2-KO wykazano również, zmieniony profil białek, takich jak czynnik wzrostu śródbłonka naczyniowego (ang. *vascular endothelial growth factor,* VEGF) i synaptofizyna, w porównaniu do szczepu dzikiego [27]

W badaniach *post mortem* w korze grzbietowo-bocznej przedczołowej (pole 9 Brodmanna) pacjentów z dużą depresją (ang. *major depressive disroder,* MDD*),* obserwowano spadki poziomu białka Nrf2 w porównaniu z grupą kontrolną [29].

Podsumowując, powyższe badania wskazują na istotną rolę Nrf2 w patomechanizmie wielu schorzeń układu nerwowego. Tym samym białko to wydaje się stanowić obiecujący punkt uchwytu dla nowoczesnych form terapii opisanych zaburzeń. Szczególnym zainteresowaniem naukowców cieszą się aktywatory czynnika Nrf2 (farmakologiczna aktywacja ścieżki Keap1-Nrf2) o wysokim potencjale terapeutycznym.

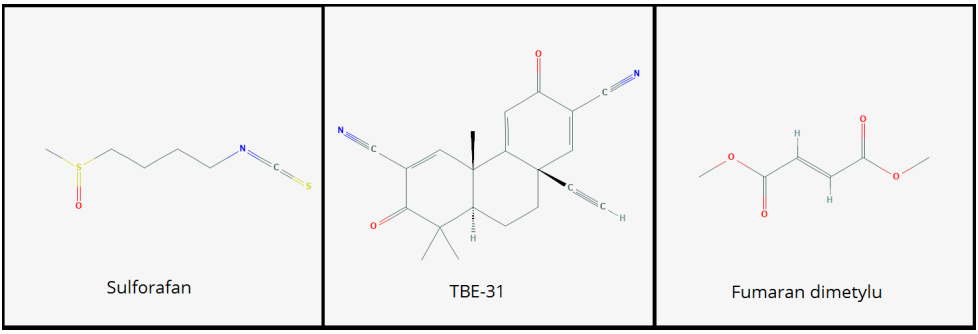
AKTYWATORY CZYNNIKA Nrf2 – JAKO POTENCJALNY CEL TERAPII WYBRANYCH CHORÓB ZWIĄZANYCH Z UKŁADEM NERWOWYM

SULFORAFAN

Sulforafan (*1-izotiocyjano-4-metylosulfinylobutan*, SFN) to siarkowy związek organiczny, którego prekursorem jest glukorafanina, występująca w warzywach krzyżowych, takich jak brokuły, czy kalafior [19]. Jest to związek o niskiej toksyczności oraz wysokiej biodostępności. Wykazuje on zdolność przenikania przez barierę krew-mózg, co jest cechą pożądaną dla wykorzystania go w potencjalnej terapii chorób związanych z zaburzeniem funkcji układu nerwowego [8]. W kontekście badań nad terapią chorób neurodegeneracyjnych, SFN oceniany jest przede wszystkim pod względem regulacji neuroplastyczności oraz procesu neurogenezy. Wyniki badań wskazują, że SFN łagodzi deficyty poznawcze w zwierzęcych modelach AD. Co więcej wykazuje on zdolność do ochrony komórek nerwowych (neuroprotekcja) przed mechanizmami cytotoksycznymi związanymi z agregacją białka amyloidu-beta [47]. Zastosowanie SFN w mysim modelu choroby Parkinsona warunkowało wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych, indukując tym samym efekt neuroprotekcyjny. Związek ten hamował również nadmierną aktywację mikrogleju w odpowiedzi na reakcję zapalną wykazując potencjalne właściwości przeciwzapalne [20]. Potencjał neuroprotekcyjny sulforafanu wykazano również w badaniach nad potencjalizacją terapii udaru niedokrwiennego mózgu. Zastosowanie SFN warunkowało ochronę komórek przed stanem niedokrwienia, co było związane z aktywacją ścieżki Nrf2-zależnej [37]. Równie interesujące wydają się badania wskazujące na potencjalne przeciwdepresyjne działanie sulforafanu. Jego aktywność antydepresyjną i przeciwlękową wykazano np. w modelu chronicznego łagodnego stresu [44]. Z kolei badania naszego zespołu, po raz pierwszy ukazały, że sulforafan odwraca zachowania depresyjno-podobne w modelu usunięcia opuszek węchowych, który jest modelem depresji agitowanej (najczęstszej przyczyny samobójstw u ludzi) u myszy [33].

TBE-31

TBE-31 to związek, który dzięki obecności chemicznej grupy izocyjanianowej (Ryc. 3) ma zdolność łączenia się z białkiem Keap1, prowadząc tym samym do uwolnienia czynnika Nrf2 z kompleksu cytoplazmatycznego [32]. Działanie TBE-31 oceniano zarówno w badaniach *in vitro* (regulacja procesu neurogenezy komórek PC12 – komórki pochodzące z guza chromochłonnego wywodzące się z linii neuroblastów) [45] jak i *in vivo* prowadzonych z wykorzystaniem modeli różnych chorób. W schorzeniach związanych z układem nerwowym interesującym są wyniki wskazujące na potencjalne działanie przeciwzapalne tego związku.



RYCINA 3. Wybrane aktywatory czynnika Nrf2. Warto zwrócić uwagę na nukleofilowe grupy chemiczne, od których zależy wysokie powinowactwo do reszt cysteinowych białka Keap1 (warunkujące zmianę konformacji białka Keap1 i uwolnienie Nrf2 z kompleksu cytoplazmatycznego). Grupa izotiocyjanianowa (N=C=S) dla sulforafanu, dla TBE-31 grupa cyjanianowa,(C≡N), dla fumaranu dimetylu grupa karbonylowa zawarta w wiązaniu estrowym (C=O). Opracowano na podstawie [50]
FIGURE 3. The chemical structure of Nrf2 activators.
Significance role of nucleophilic chemical groups, on which the high affinity for the cysteine residues of the Keap1 protein is dependent (modification of cysteine residues in Keap1 protein subsequently leading to Nrf2 release from the cytoplasmic complex). The isothiocyanate group (N = C = S) for sulforaphane, the cyanate group, (C≡N) for TBE-31; the carbonyl group contained in the ester bond (C = O) for dimethyl fumarate. Based on [50]

W modelu depresji indukowanym podaniem lipopolisacharydu, po zastosowaniu TBE-31 we krwi myszy obserwowano m.in. obniżenie poziomu czynnika martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor α,* TNF-α*),* stanowiącego najlepiej opisaną cytokinę prozapalną. Związek ten również wykazywał działanie przeciwdepresyjne (m.in. zmniejszył czas bezruchu myszy w teście zawieszenie za ogon oraz teście wymuszonego pływania) [45].

FUMARAN DIMETYLU (ang. *dimethyl fumarate*, DMF)

Fumaran dimetylu ma już zastosowanie kliniczne w leczeniu postaci rzutowo-remisyjnej (najczęstsza postać) stwardnienia rozsianego. Lek Tacfidera (nazwa handlowa) jest doustnym estrem kwasu fumarowego, zawierającym aktywny metabolit w postaci fumaranu dimetylu. Obecnie jest to jedyny zarejestrowany lek działający bezpośrednio na czynnik Nrf2 (regulacja szlaku Nrf2-zależnego) [26]. Badania kliniczne trzeciej fazy wykazały, że DMF warunkował zmniejszenie częstości nawrotów postaci rzutowo remisyjnej stwardnienia rozsianego w porównaniu do grupy osób otrzymujących placebo [5]. Lek Tecfidera według zaleceń producenta winien być przyjmowany w postaci doustnej w dawkach: 120 do 240 mg dwa razy dziennie. Prace naukowe nad rolą DMF wciąż są intensywnie realizowane. Dla przykładu Wang i wsp., w badaniach prowadzonych na

progenitorowych komórkach nerwowych, wykazali że DMF zmniejszył produkcję ROS indukowaną H_2O_2. Co więcej, ten aktywator czynnika Nrf2 hamował komórkowe procesy apoptotyczne oraz zwiększył poziom mRNA i białka Nrf2. Autorzy także zasugerowali zaangażowanie wewnątrzkomórkowego szlaku Nrf-2-ERK1/2 MAPK w regulacji neuroprotekcji indukowanej przez DMF [39]. Efekt neuroprotekcyjny fumaranu został również ukazany w zwierzęcym modelu udaru niedokrwiennego mózgu [11].

PODSUMOWANIE

Czynnik transkrypcyjny Nrf2 jako „molekularny strażnik" niewątpliwie spełnia istotną rolę w regulacji procesów antyoksydacyjnych i zapalnych komórki. Liczne wyniki badań naukowych, wskazują na szereg zmian w regulacji ścieżki Nrf2-zależnej w przebiegu chorób, w patogenezie których dochodzi do zaburzenia homeostazy oksydacyjno-zapalnej w tym schorzeń neurodegeneracyjnych, udaru niedokrwiennego mózgu czy też zaburzeń nastroju. Zaprezentowane w niniejszym artykule wyniki badań, wskazują na potencjalną istotność aktywacji (szczególnie egzogennej) ścieżki Nrf2 w terapii wybranych jednostek chorobowych związanych z dysfunkcją układu nerwowego. W tym aspekcie aktualnie prowadzonych jest wiele prac, które wskazują, że aktywatory Nrf2 (tj. sulforafan, TBE-31, fumaran dimetylu,) indukują wielokierunkowe działanie m.in. antyoksydacyjne, przeciwzapalne, przeciwdepresyjne, przeciwlękowe czy neuroprotekcyjne. Istotnym potwierdzeniem roli aktywacji ścieżki Nrf2 w potencjalizacji powszechnie stosowanych metod farmakoterapii jest zarejestrowanie leku Tecfidera w leczeniu postaci rzutowo-remisyjnej stwardnienia rozsianego. Równie ciekawym wydają się być badania, których celem jest określenie roli czynnika Nrf2 jak i jego aktywatorów w patogenezie oraz farmakoterapii zaburzeń depresyjnych. Wiedza na temat roli Nrf2 w przebiegu zaburzeń depresyjnych jest stosunkowo mała, nie mniej w bazach naukowych obserwuję się coraz więcej prac podejmujących tę tematykę. Na podstawie przedstawiony wyników wydaje się, że sulforafan jako związek bioaktywny charakteryzujący się niską toksyczności jest najlepiej opisanym aktywatorem Nrf2 mogącym mieć istotne znaczenie w potencjalizacji terapii zaburzeń depresyjnych. Należy również mieć na uwadze fakt, że regulacja aktywności komórkowej czynnika Nrf2 może przebiegać odmiennie dla danych schorzeń układu nerwowego. Co więcej, należy mieć świadomość konieczności kontroli egzogennej aktywacji czynnika Nrf2, gdyż przedłużająca się aktywacja może zaindukować efekt negatywny w postaci progresji choroby. W przedstawionej tematyce artykułu wciąż jest wiele pytań, na które naukowcy poszukują odpowiedzi. W zakresie biologii komórki najistotniejszym jest dokładne poznanie

i opisanie molekularnych kaskad reakcji zaangażowanych w modulacje aktywności transkrypcyjnej czynnika Nrf2, jak i regulacji jego aktywacji komórkowej w periodyce długoterminowej. Bez wątpienie czynnik Nrf2 jest interesującym ale i również obiecującym cele molekularnych mogącym wyznaczyć nowe kierunki farmakoterapii chorób o podłożu neurobiologicznym oraz neurologicznym.

PODZIĘKOWANIA

Praca została częściowo sfinansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki (UMO/2016/23/N/NZ4/01337; kierownik projektu: mgr inż. Patrycja Pańczyszyn-Trzewik) oraz działalności statutowej Kolegium Nauk Medycznych Uniwersytetu Rzeszowskiego.

LITERATURA

[1] AHMED SMU, LUO L, NAMANI A, WANG XJ, TANG X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2017; **1863**(2): 585-597.

[2] BAIRD L, LLÈRES D, SWIFT S, DINKOVA-KOSTOVA AT. Regulatory flexibility in the Nrf2-mediated stress response is conferred by conformational cycling of the Keap1-Nrf2 protein complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; **110**(38): 15259-15264.

[3] BAKUNINA N, PARIANTE CM, ZUNSZAIN PA. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression. *Immunology* 2015; **144**(3): 365-373.

[4] BLANDINI F, ARMENTERO MT, MARTIGNONI E. The 6-hydroxydopamine model: news from the past. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008; S124-129.

[5] BOMPREZZI R. Dimethyl fumarate in the treatment of relapsing–remitting multiple sclerosis: an overview. *Ther Adv Neurol Disord* 2015; **8**(1): 20-30.

[6] BOUVIER E, BROUILLARD F, MOLET J, CLAVERIE D, CABUNGCAL JH, CRESTO N, DOLIGEZ N, RIVAT C, DO KQ, BERNARD C, BENOLIEL JJ, BECKER C. Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression. *Mol Psychiatry*. 2017; **22**(12):1701-1713.

[7] CHANG CY, KUAN YH, LI JR, CHEN WY, OU YC, PAN HC, CHEN CJ. Docosahexaenoic acid reduces cellular inflammatory response following permanent focal cerebral ischemia in rats. *J Nutr Biochem* 2013; **24**(12): 2127-2137.

[8] CHEN D, HUANG C, JIN J, WU Y, CHEN Z. Effects of sulforaphane in the central nervous system. *Eur J Pharmacol* 2019; **853**: 153-168.

[9] CHEN J, ZHANG Z, CAI L. Diabetic cardiomyopathy and its prevention by nrf2: current status. *Diabetes Metab J* 2014; **38**(5): 337-345.

[10] CHEN PC, VARGAS MR, PANI AK, SMEYNE RJ, JOHNSON DA , KAN YW , JOHNSON JA. Nrf2-mediated neuroprotection in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: Critical role for the astrocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; **106**(8): 2933-2938.

[11] CLAUSEN BH, LUNDBERG L, YLI-KARJANMAA M, MARTIN NA, SVENSSON M, ALFSEN MZ, FLÆNG SB, LYNGSØ K, BOZA-SERRANO A, NIELSEN HH, HANSEN PB, FINSEN B, DEIERBORG T, ILLES Z, LAMBERTSEN KL Fumarate decreases edema volume and improves functional outcome after experimental stroke. *Exp Neurol*. 2017; **295**:144-154.

[12] CUADRADO A. NRF2 in neurodegenerative diseases. *Curr Opin Toxicol* 2016; **1**: 46-53.
[13] CYKOWIAK M, KRAJKA-KUŹNIAK V. Nrf2 jako terapeutyczny punkt uchwytu w profilaktyce i terapii chorób cywilizacyjnych. *Farmacja Współczesna* 2019; **12**: 42-49.
[14] DESHMUKH P, UNNI S, KRISHNAPPA G, PADMANABHAN B. The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases. *Biophys Rev* 2017; **9**(1): 41-56.
[15] FÃO L, MOTA SI, REGO AC. Shaping the Nrf2-ARE-related pathways in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Ageing Res Rev* 2019; **54**:100942.
[16] FISCHER R, MAIER O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. *Oxid Med Cell Longev* 2015; **31**: 70569.
[17] GAWEŁ M., POTULSKA-CHROMIK A. Choroby neurodegeneracyjne: choroba Alzheimera i Parkinsona. *Postępy Nauk Medycznych* 2015; **28**(7): 468-476.
[18] GUO Y, Yu S, ZHANG C., KONG ANT.: Epigenetic regulation of Keap1-Nrf2 signaling. *Free Radic Biol Med* 2015; **88**: 337-349.
[19] HASHIMOTO K. Essential role of Keap1-Nrf2 signaling in mood disorders: overview and future perspective. *Front Pharmacol* 2018; **9**: 1182.
[20] JAZWA A, ROJO AI, INNAMORATO NG., HESSE M, FERNÁNDEZ-RUIZ J, CUADRADO A. Pharmacological targeting of the transcription factor Nrf2 at the basal ganglia provides disease modifying therapy for experimental parkinsonism. *Antioxid Redox Signal* 2011; **14**(12): 2347-2360.
[21] KAŹMIERSKI R. Diagnostyka i leczenie chorych w ostrej fazie udaru niedokrwiennego mózgu. *Anaesthesiology & Rescue Medicine/Anestezjologia i Ratownictwo* 2014; **1**: 62-75.
[22] KOWIAŃSKI P, LIETZAU G, DZIEWIĄTKOWSKI J, MORYŚ J. Doświadczalne modele zwierzęce udaru niedokrwiennego mózgowia. *Udar Mózgu. Problemy Interdyscyplinarne* 2009; **11**(2): 70-79.
[23] KRYSZTOFIAK A, KRAJKA-KUŹNIAK V. Kiedy obrona staje się niebezpieczna-czynnik transkrypcyjny Nrf2 a nowotwory. *Postepy Hig Med Dosw* 2015; **69**: 140-152.
[24] LEUNG CH, ZHANG JT, YANG GJ., LIU H, HAN QB, MA DL. Emerging Screening Approaches in the Development of Nrf2-Keap1 Protein–Protein Interaction Inhibitors. *Int J Mol Sci* 2019; **20**(18): 4445.
[25] LI R, JIA Z, ZHU H. Regulation of Nrf2 Signaling. *React. Oxyg Species (Apex)* 2019; **8**(24): 312.
[26] LINKER RA, LEE DH, RYAN S, VAN DAM AM, CONRAD R, BISTA P, ELLRICHMANN G. Fumaric acid esters exert neuroprotective effects in neuroinflammation via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. *Brain* 2011; **134**(3): 678-692.
[27] MARTIN-DE-SAAVEDRA MD, BUDNI J, CUNHA MP, GÓMEZ-RANGEL V, LORRIO S, DEL BARRIO L. CUADRADO A. Nrf2 participates in depressive disorders through an anti-inflammatory mechanism. *Psychoneuroendocrinology* 2013; **38**(10): 2010-2022.
[28] MARTIN-HERNÁNDEZ D, BRIS ÁG, MACDOWELL KS, GARCIA-BUENO B, MADRIAL JL, LEZA JC, CASO JR. Modulation of the antioxidant nuclear factor (erythroid 2-derived)-like 2 pathway by antidepressants in rats. *Neuropharmacology* 2016; **103**: 79-91.
[29] MARTIN-HERNÁNDEZ D, CASO JR., MEANA J J, CALLADO LF, MADRIGAL JL, GARCIA-BUENO B, LEZA JC. Intracellular inflammatory and antioxidant pathways in postmortem frontal cortex of subjects with major depression: effect of antidepressants. *J Neuroinflammation* 2018; **15**(1): 251.
[30] 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 U S A* 1994; **91**(21): 9926-9930.
[31] MOTA SI, COSTA RO, FERREIRA IL, SANTANA I, CALDEIRA GL, PADOVANO C, OLIVEIRA CR. Oxidative stress involving changes in Nrf2 and ER stress in early stages of Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2015; **1852**(7): 1428-1441.

[32] ONYANGO EO, FU L, GRIBBLE GW. Synthesis of a dicyano abietane, a key intermediate for the anti-inflammatory agent TBE-31. *Org Lett* 2013; **16**(1): 322-324.
[33] PAŃCZYSZYN-TRZEWIK P, SOWA-KUĆMA M., STACHOWICZ K, MISZTAK P, NOWAK G. Antidepressant-like effect of (R, S)-sulforaphane (an activator of Nrf2) in the olfactory bulbectomy model in mice. *Eur Neuropsychopharmacol* 2019; **29**: 128-129.
[34] RAMSEY CP, GLASS CA, MONTGOMERY MB, LINDL KA, RITSON GP, CHIA LA, HAMILTON RL, CHU CT, JORDAN-SCIUTTO KL. Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; **66**: 75-85.
[35] ROJO AI, PAJARES M, RADA P, NUÑEZ A, NEVADO-HOLGADO AJ, KILIK R., CUADRADO A. NRF2 deficiency replicates transcriptomic changes in Alzheimer's patients and worsens APP and TAU pathology. *Redox Biol* 2017; **13**: 444-451.
[36] SANDBERG M, PATIL J, D'ANGELO B, WEBER SG, MALLARD C. NRF2-regulation in brain health and disease: implication of cerebral inflammation. *Neuropharmacology* 2014; **79**: 298-306.
[37] SUN Y, YANG T, MAO L, ZHANG F. Sulforaphane protects against brain diseases: Roles of cytoprotective enzymes. *Austin J Cerebrovasc Dis Stroke* 2017; **4**(1): 1054
[38] VINISH M, ANAND A, PRABHAKAR S. Altered oxidative stress levels in Indian Parkinson's disease patients with PARK2 mutations. *Acta Biochim Pol*. 2011; **58**(2): 165-169.
[39] WANG Q, CHUIKOV S, TAITANO S, WU Q, RASTOGI A, TUCK SJ, COREY JM, LUNDY SK, MAO-DRAAYER Y. Dimethyl Fumarate Protects Neural Stem/Progenitor Cells and Neurons from Oxidative Damage through Nrf2-ERK1/2 MAPK Pathway. *Int J Mol Sci*. 2015; **16**(6): 13885-13907.
[40] WANG Y, SANTA–CRUZ K, DECARLI C, JOHNSON JA. NAD(P)H: quinone oxidoreductase activity is increased in hippocampal pyramidal neurons of patients with Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2000; **21**(4): 525-531.
[41] WEI Y, LIU D, ZHENG Y, HAO C, LI H, OUYANG W. Neuroprotective Effects of Kinetin Against Glutamate-Induced Oxidative Cytotoxicity in HT22 Cells: Involvement of Nrf2 and Heme Oxygenase-1. *Neurotox Res*. 2018; **33**(4):725-737.
[42] WIĘDŁOCHA M, STAŃCZYKIEWICZ B, JAKUBIK M, RYMASZEWSKA J. Wybrane mysie modele oparte na mutacji genów APP, MAPT oraz presenilin wykorzystywane w badaniach nad patogenez ą choroby Alzheimera. *Postepy Hig Med Dosw* 2012; **66**: 415-430.
[43] WILLIAMSON TP, JOHNSON DA. JOHNSON JA. Activation of the Nrf2-ARE pathway by siRNA knockdown of Keap1 reduces oxidative stress and provides partial protection from MPTP-mediated neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2012; **33**(3): 272-279.
[44] WU S, GAO Q, ZHAO P, GAO Y, XI, Y, WANG X, MA Y. Sulforaphane produces antidepressant-and anxiolytic-like effects in adult mice. *Behav Brain Res* 2016; **301**: 55-62.
[45] YAO W, ZHANG JC, ISHIMA T, REN Q, YANG C, DONG C, HASHIMOTO K. Antidepressant effects of TBE-31 and MCE-1, the novel Nrf2 activators, in an inflammation model of depression. *Eur J Pharmacol* 2016; **793**: 21-27.
[46] ZHANG JC, YAO W, DONG C, HAN M., SHIRAYAMA Y, HASHIMOTO K. Keap1-Nrf2 signaling pathway confers resilience versus susceptibility to inescapable electric stress. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2018; **268**(8): 865-870.
[47] ZHANG R, MIAO QW, ZHU CX., ZHAO Y, LIU L, YANG J, AN L. Sulforaphane ameliorates neurobehavioral deficits and protects the brain from amyloid β deposits and peroxidation in mice with Alzheimer-like lesions. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 2015; **30**(2): 183-191.
[48] ZHAO Y, FU B, ZHANG X, ZHAO T, CHEN L, ZHANG J, WANG X. Paeonol pretreatment attenuates cerebral ischemic injury via upregulating expression of pAkt, Nrf2, HO-1 and ameliorating BBB permeability. *Brain Res Bull.* 2014; **109**: 61-67.
[49] https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression
[50] https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov

Redaktor prowadzący – Maciej Zabel

Otrzymano: 04.03.2020
Przyjęto: 15.04.2020
Magdalena Sowa-Kućma
Zakładu Fizjologii Człowieka, Instytut Nauk Medycznych
Uniwersytet Rzeszowski
e-mail: msowa@ur.edu.pl, magda.sowa.kucma@gmail.com