

Revisión

Cuamani Mitznahuatl^{1,2}
Gerardo, García Arenas Oscar
Nahúm^{1,3}

El papel emergente del factor nuclear eritroide 2 Nrf2 en la neuroprotección mediada por astrocitos

The emerging role of nuclear factor erythroid 2 Nrf2 in neuroprotection mediated by astrocytes

¹Centro Médico Nacional Manuel Ávila Camacho Hospital General Regional #36 del Instituto Mexicano del Seguro Social.

²Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Departamento de Fisiología.

³Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Departamento de Farmacología

Resumen

Los astrocitos son un tipo celular encargados de la protección neuronal y la homeostasis del sistema nervioso central cuyas funciones se han reconsiderado recientemente apoyando la idea de que los astrocitos no solo son células que proporcionan soporte a otros tipos celulares sino que desempeñan funciones como: almacenamiento y liberación de glucógeno, control del flujo sanguíneo, secreción o absorción de transmisores neuronales, neuroprotección ante especies reactivas de oxígeno, entre otras funciones. La neuroprotección que brindan los astrocitos ante el estrés oxidativo es mediada por diferentes vías moleculares, entre las que destaca la expresión de Nrf2 que propicia una liberación de agentes antioxidantes y desintoxicantes que protegen a las neuronas ante diversos agentes dañinos.

Palabras clave

Astrocitos, Neuroglia, Neuroprotección, Nrf2

Abstract

Astrocytes are a cell type responsible for neuronal protection and homeostasis of the central nervous system, whose functions have recently reconsidered, supporting the idea that astrocytes are not only cells that provide support for other cell types but play functions such as storage and release of glycogen, control of blood flow, secretion or absorption of neural transmitters, neuroprotection against reactive oxygen species, among other functions. Neuroprotection offered by astrocytes to oxidative stress is mediated by different molecular pathways, among which the expression of Nrf2 that fosters a release of antioxidants and detoxifying agents that protect neurons against various harmful agents.

Keywords

Astrocytes, Neuroglia, Neuroprotection, Nrf2

Correspondencia:

Gerardo Cuamani Mitznahuatl.
16 de Septiembre # 94 Cacalotepec, San Andrés Cholula, Puebla, México, 72845.
Fax: 2222841458,
correo electrónico: cuamanigm@hotmail.com

Introducción

En el sistema nervioso central (SNC) las células se clasifican en dos grandes grupos: las neuronas y la neuroglia. “El cerebro humano tiene unas 1011 neuronas”¹, y este tipo celular se encarga de transmitir y procesar la información en el SNC. Por otro lado, el término “célula glial” se refiere a tres categorías de células. Las primeras dos categorías son células de Schwann y oligodendrocitos, que son las células formadoras de mielina en el sistema nervioso periférico y central, respectivamente. Estas células rodean los axones neuronales con una vaina de mielina que les proporciona aislamiento, mayor velocidad y eficiente transmisión de los impulsos nerviosos. La tercera categoría de las células gliales comprende las células llamadas astrocitos. Aunque los astrocitos no proporcionan una vaina de mielina a los axones, proporcionan apoyo crítico para la función neuronal.² (*Figura 1*)

A los astrocitos se les han atribuido funciones de “pegamento”, es decir, cumplen la función de soporte y mantenimiento de las neuronas en el sistema nervioso central. Además, se sabe que son las células gliales más numerosas. Entre sus funciones tienen un papel importante en el equilibrio de iones extracelulares, mantenimiento del pH del sistema nervioso central, homeostasis, limpieza de productos de desecho de la sinapsis neural, captura de neurotransmisores y liberación de productos energéticos que serán utilizados en la actividad sináptica. Desde el punto de vista metabólico, los astrocitos son las únicas células de la neuroglia que contiene reservas de glucógeno disponibles para ser utilizadas por neuronas².

Desde 1966 se empezó a documentar que el rol de los astrocitos iba más allá de cumplir solo funciones de soporte², y en investigaciones recientes se sabe que el papel que desempeñan en el sistema nervioso central es mucho más amplio, participando



Figura 1.- Los astrocitos son las células gliales más abundantes en el sistema nervioso central. Modificada de Pearson Education. Inc 2013.

en la regulación del flujo sanguíneo cerebral, en la protección antioxidante de las neuronas, liberación de gliotransmisores (Adenosina, Glutamato, D-Serina) y dan origen a la conexión astrocito-neurona conocida como “sinapsis tripartita”². Recientemente se ha estudiado el papel de los astrocitos en la neurodegeneración y en enfermedades neurodegenerativas asociadas a estrés oxidativo como Alzheimer, Parkinson y Esquizofrenia, así como su rol en el dolor crónico^{2,3}. Estos hallazgos sugieren que los astrocitos detectan la activación neuronal y están activamente involucrados en la transmisión de señales, basando su actividad principalmente en estudios de la movilización de calcio^{2,4}.

Los astrocitos desempeñan un papel directo, activo y crítico en la mediación de la supervivencia neuronal, su desempeño es importante apoyando a otras células cerebrales en la defensa contra la toxicidad inducida por ROS (especies reactivas de oxígeno); de hecho, contienen los niveles más altos de diversos antioxidantes en el cerebro y proporcionan los precursores extracelulares para el sistema neural antioxidante glutatión (GSH)⁵.

Estrés oxidativo

El cuerpo humano mantiene un constante equilibrio entre la producción de pro-oxidantes que son generados como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidantes. La pérdida de este balance lleva a un estado que se conoce como estrés oxidativo. Este estado se caracteriza por un aumento en los niveles de radicales libres y especies reactivas que no alcanza a ser compensado por los sistemas antioxidantes, causando daño y muerte celular. Esto ocurre tanto en patologías degenerativas, como de tipo infeccioso, inmune e inflamatorio⁶.

Los radicales libres son átomos o moléculas que presentan un electrón desapareado, en esta situación se convierten en altamente reactivos frente a moléculas vecinas a las que provocan daños oxidativos irreparables⁵. Los radicales libres que

producen mayor toxicidad son: ion superóxido (O_2^-), hidroxilo (OH), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), óxido nítrico (NO) y el peroxinitrito (ONOO)^[7].

La alteración del balance entre pro-oxidantes y antioxidantes puede tener diversos grados de magnitud. En el estrés oxidativo leve, las defensas antioxidantes bastan para restablecer dicho balance, pero en el estrés oxidativo grave puede llegar a alteraciones en el metabolismo celular; como rompimiento de DNA, aumento de la concentración intracelular de calcio, daño a transportadores membranales de iones y peroxidación de lípidos. El daño por estrés oxidativo puede ser reversible o irreversible dependiendo de factores como la duración del estrés, la efectividad de las defensas antioxidantes, la edad del organismo, el estado nutricional y factores genéticos que codifican sistemas antioxidantes⁶.

Las especies reactivas de oxígeno se generan constantemente durante el metabolismo oxidativo celular, la generación de estrés oxidativo compromete las funciones celulares principales⁴. Bajo condiciones de estrés prolongadas, las especies reactivas de oxígeno se producen durante un largo tiempo, y por lo tanto pueden causar daño significativo a la estructura y funciones celulares como mutaciones somáticas y transformación neoplásica, la iniciación y progresión del cáncer se han relacionado con el estrés oxidativo por daños o mutaciones en el ADN induciendo la inestabilidad del genoma y la proliferación celular⁸.

Cuando dos neuronas y sus astrocitos vecinos están sometidos a un cierto grado de daño por la cadena respiratoria mitocondrial debido al exceso de ROS, las neuronas sufren rápidamente la muerte celular mientras que los astrocitos resisten. Las células están normalmente equipadas con captadores de antioxidantes y enzimas para prevenir el daño por niveles altos de ROS, pero las neuronas expresan una concentración muy baja, por tanto es imperativo que estas células junto con los astrocitos formen un complejo de neuroprotección y desintoxicación de ROS^{9,10}. (Figura 2)

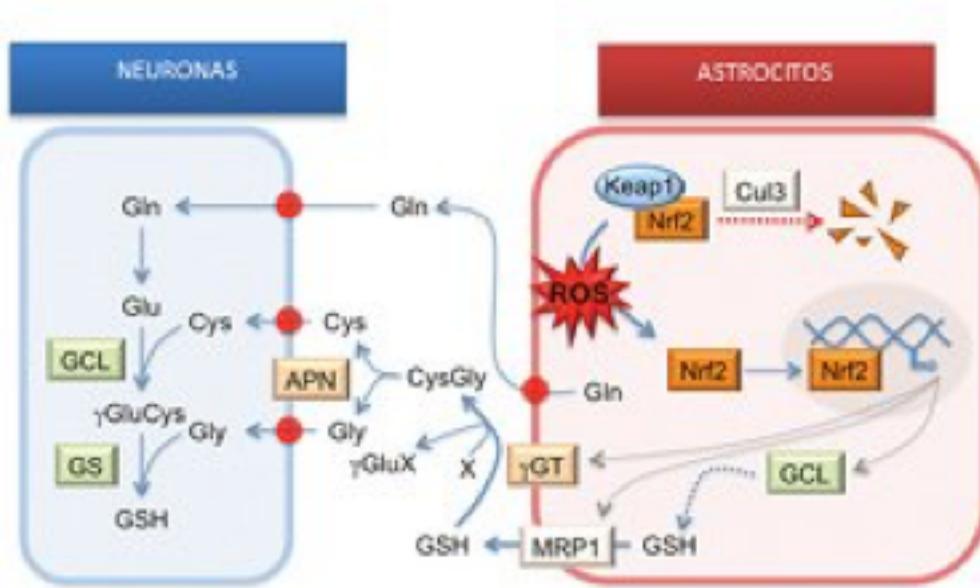


Figura 2.- Acoplamiento bioenergético y antioxidante entre neuronas y astrocitos. Modificado de: Seila Fernandez Fernandez, Antioxidant and bioenergetic coupling between neurons and astrocytes.

Enfermedades neurodegenerativas

El sistema nervioso central es particularmente sensible al estrés oxidativo, debido a un alto consumo de oxígeno y el enriquecimiento en ácidos grasos poliinsaturados, por lo que es muy vulnerable a la peroxidación lipídica. El estrés oxidativo y las lesiones que causa han sido implicados en la patogénesis de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo: Alzheimer, Parkinson y Huntington.¹¹

De acuerdo con numerosos estudios, existe una serie de condiciones comunes entre todas las enfermedades neurodegenerativas, entre ellas se encuentran agregación de proteínas, disfunción proteosómica, inflamación y estrés oxidativo. En general, el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial se han establecido firmemente como modelos implicados en neurodegeneración.¹¹

Aunque el estrés oxidativo ha sido implicado en la patogénesis de varias enfermedades neurodegenerativas, las terapias basadas en antioxidantes exógenos han sido decepcionantes. Altas cantidades de antioxidantes son necesarios para lograr efectos protectores en el sistema nervioso central, la mayoría de los antioxidantes exógenos no son eficientes para cruzar la barrera hematoencefálica debido a su naturaleza hidrofílica y, dado que la administración de antioxidantes es limitada debido a su toxicidad en dosis elevadas, resulta en una pequeña ventana terapéutica de estos agentes. Esto sugiere en un primer plano la necesidad de estrategias terapéuticas para contrarrestar los efectos perjudiciales de ROS.¹¹

Un candidato prometedor para limitar el daño mediado por ROS es la activación de las enzimas antioxidantes endógenas presentes en el SNC, tales como la catalasa, superóxido dismutasa, y peroxyredoxinas. La transcripción de estas proteínas citoprotectoras está bajo el control del factor de transcripción nuclear NF-E2 relacionado con el factor 2 (Nrf2), que desempeña un papel central en la regulación del estado redox celular.¹¹

Como se mencionó anteriormente, los astrocitos tienen un papel clave en la neurotransmisión, representan el único tipo de células cerebrales para el almacenamiento de glucógeno, sobre todo en zonas de alta actividad sináptica. En respuesta a la actividad neuronal, los astrocitos pueden apoyar a las neuronas mediante la liberación de precursores de energía, ha sido demostrado que la movilización de glucógeno en astrocitos puede sostener la actividad neuronal durante la hipoglucemia. Los astrocitos se activan anormalmente en patologías centrales del sistema nervioso, conocidos colectivamente como astrogliosis reactiva, lo que representa un mecanismo de defensa a través de una vía de señalización que no se entiende todavía completamente. Así, este tipo de célula glial es de importancia crítica para la función normal del cerebro debido a su capacidad para promover activamente la neuroprotección.⁹

El mecanismo molecular más estudiado con el que cuentan los astrocitos para una eficaz neuroprotección es el sistema antioxidante. Por ejemplo, Nrf2 puede reducir los niveles de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno controlando directamente su respectiva síntesis enzimática en el caso del óxido nítrico, debido a la supresión de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS,

también conocida como NOS2), o por su capacidad para inducir la expresión de enzimas, como la catalasa, que destruyen H₂O₂. Además, las células necesitan protección de moléculas tóxicas xenobióticas, y Nrf2 tiene un papel importante a través de su potente inducción de síntesis de glutatión, el eliminador de electrófilos celular primario, así como por su inducción de las enzimas de la glucuronidación que conjugan xenobióticos para excreción. En condiciones de reposo, estas células expresan una batería profusa de enzimas antioxidantes, incluyendo NQO1 [NAD (P) H quinona oxidoreductasa 1], tanto el catalizador y las subunidades reguladoras, ligasa de glutamato-cisteína (GCL), glutatión reductasa (GSR), glutatión Stransferasa (GST), así como GSH, y las vitaminas C y E. La abundancia de estos sistemas antioxidantes está orquestada transcripcionalmente por la actividad basal relativamente alta de factor nuclear eritroide 2 (Nrf2)^{9,10,11,12} (*Figura 3*).

La primera prueba del papel que tiene el Nrf2 en la protección contra el estrés oxidativo fue en el estudio de Venugopal y Jaiswall en el que demostraron que la sobreexpresión de Nrf1 y Nrf2 induce NQO1 en respuesta a antioxidantes y xenobioticos.¹³

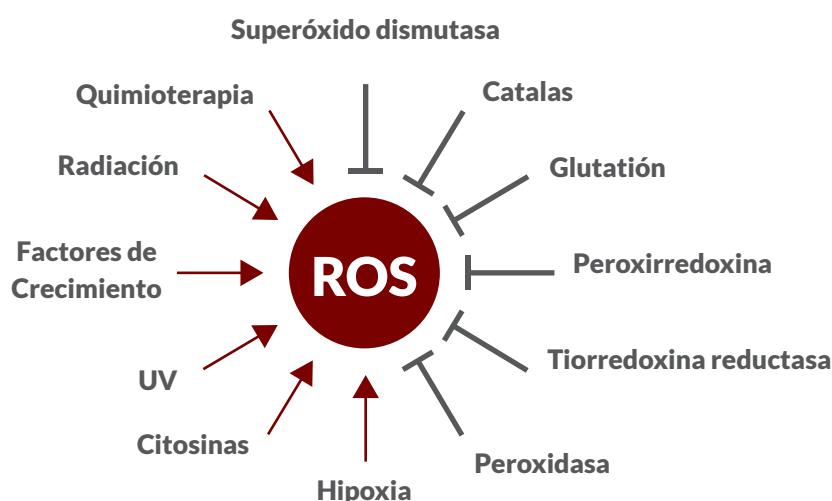


Figura 3.- Representación esquemática de varios activadores e inhibidores de la producción de especies reactivas de oxígeno. Modificado de: Simone Reuter Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?]

Estructura de Nrf2 y Keap1

Nrf2 pertenece a una familia de proteínas básicas con un característico “zipper” o cierre de leucinas (bZip) en la región C-terminal. La región básica corriente arriba de bZip es la responsable de la unión al ADN, mientras que la región acídica se requiere para la activación transcripcional.¹³

El factor de transcripción Nrf2 está relacionado con estudios de la familia de proteínas NF-E2.¹⁴ Asimismo, contiene 605 aminoácidos y se divide en 6 dominios denominados Neh 1-6. El dominio Neh1 contiene una región bZIP fusionada a una región CNC y es responsable tanto de su capacidad de dimerizar con pequeñas proteínas MAF (llamado así por el oncogén de fibrosarcoma musculoaponeurótico aviar) y su capacidad para unirse a ADN como un heterodímero. Este dominio también se encuentra en p45 NF-E2, y NRF1 NRF3. El dominio N-terminal de Neh2 es necesario para el control negativo sensible a redox del factor de CNC-bZIP. El dominio C-terminal de Neh3 interactúa con la proteína cromodomino helicasa 6 de unión al ADN (CHD6) y por lo tanto podría asociarse con proteínas de control transcripcional. Tanto Neh4 como Neh5 son dominios de transactivación que interactúan con la proteína de unión a CREB (CBP).

El dominio central Neh6 contribuye al control negativo redox-independiente de NRF2.¹⁵

El dominio Neh2 regula negativamente a Nrf2 a través de su capacidad para interactuar con la proteína 1 asociada a ECH parecida a Kelch (Keap1). Las proteínas Keap1 de mamíferos comprenden típicamente 624 aminoácidos, son metaloproteínas que contienen Tramtrack, Bric-a-brac (BTB) dominio de dimerización, una región intermedia (IVR), abundantes residuos de Cys, y un dominio que comprende seis repeticiones Kelch que representa un sitio de acoplamiento a proteínas. Lo más importante es, de hecho, que las proteínas humanas Keap1 contienen 27 cisteínas, de las cuales probablemente la mitad son altamente reactivas porque están situadas al lado de los aminoácidos básicos, por lo tanto, el pKa de su grupo tiol se reducirá sustancialmente, permitiendo la formación del anión tiolato en condiciones fisiológicas normales. El descubrimiento de Keap1 lleva a la predicción de que podría funcionar como un sensor redox intracelular, ya que contiene cisteínas reactivas que, o bien puede formar aductos con electrófilos, o se oxida fácilmente. De los 27 residuos de cisteínas que contiene Keap1 solo son funcionales la Cys23, Cys151, Cys273 y Cys288, pues se ha demostrado que las mutaciones que carecen Cys23, Cys273 y Cys288 son incapaces de regular negativamente NRF2¹⁵. (Figura 4).

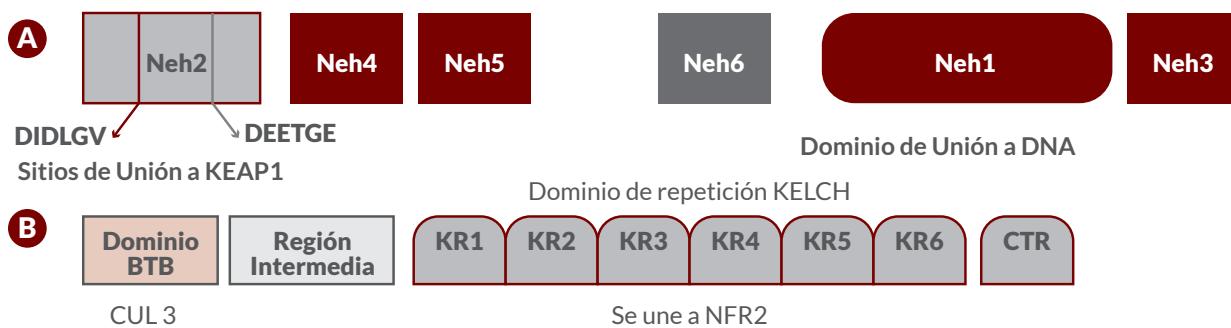


Figura 4.- Estructuras de NRF2 y KEAP1. (A) Se muestran los dominios de NRF2 Neh1-6. Los aminoácidos 27 a 32 en rojo y los aminoácidos 77 a 82 en verde del dominio Neh2. Se presentan los puntos DLG y ETGE, respectivamente. Estos puntos comprenden los sitios de unión KEAP1. Los dominios Neh1 y Neh 3 comprenden la región NRF2 de unión al ADN. El dominio Neh6 se muestra en verde.. (B) Se muestran las posiciones de los dominios KEAP1, junto con sus funciones. El dominio BTB es responsable de la dimerización de dos subunidades de KEAP1 y de la unión de Cul3 se muestra en rosa, el IVR en color violeta pálido y el dominio de repetición de Kelch y sitio de unión al Nrf2 en color azul. Abreviaturas: CTR, la región C-terminal; KR, Kelch-repetición.

Modificada de: Jhon D. Hayes, NRF2 and KEAP1 mutations permanent activation of an adaptive response in cancer

Regulación de la expresión de Nrf2

En ausencia de estrés oxidativo, Nrf2 queda secuestrado en el citosol, donde se une a Keap1; Nrf2-Keap1 se reprime más por la unión a Cul3 (Cullin-3), que a su vez se une a Rbx1 (ANILLO-box proteína 1) para formar un complejo Keap1-Cul3-Rbx1 E3 ligasa de ubiquitina que se dirige a Nrf2 para degradación proteosomal. Keap1 contiene al menos cuatro residuos de cisteína esenciales (en las posiciones 23, 151, 273 y 288), la oxidación de uno de ellos (Cys151) determina la liberación y adaptación de Nrf2 al estrés oxidativo.^{8,15}

Su actividad aumenta en respuesta a especies reactivas de oxígeno y productos químicos electrofílicos que tienen la capacidad de modificar los tioles intracelulares, incluyendo glutatión reducido (GSH). Tras la estimulación con agentes que producen estrés oxidativo Nrf2 aumenta rápidamente sus niveles en el núcleo de las células afectadas, lo que provoca la transactivación de genes citoprotectores. Cada uno de estos genes tienen al menos un elemento de respuesta antioxidante (ARE; 50-A/GTGAC/GNNNGCA / G-30)¹⁴. Nrf2 se transloca al núcleo, donde se forma un complejo con otras proteínas nucleares que se une al elemento de respuesta antioxidante para inducir la síntesis de antioxidantes y enzimas de fase II de desintoxicación. Entre estos se encuentran NQO1, enzimas relacionadas con el metabolismo del glutatión (subunidades catalíticas y reguladoras de GCL, GSR y GST), G6PD [G6P (glucosa-6-fosfato) deshidrogenasa], proteína de multirresistencia 1(MRP1) y Gamma glutamil transpeptidasa (γ GT), así como el transportador de aminoácidos excitatorios 3 (EAAT3) [9]. Los genes blanco de NRF2 incluyen aquellos que codifican proteínas antioxidantes, enzimas que participan en la regeneración de NADPH, enzimas metabolizadores de fármacos, proteínas de choque térmico, subunidades alfa y beta del proteasoma 26S, receptores de factores de crecimiento, entre otros.^{15,16}

La transcripción de Nrf2 impide la apoptosis en neuronas y astrocitos inducida por ROS después de varios tipos de insulto, tales como la presencia de H₂O₂, t-butilo, hidroperóxido de 6-hidroxidopamina, ácido 3-nitropropiónico, MPP + (1-metil-4-fenilpiridinio) y rotenona.⁹

La activación del factor de transcripción Nrf2 en astrocitos humanos mediante tratamiento con 1[2-Cyano-3,12-dioxool-eana-1,9(11)-dien-28-oyl] trifluoroethylamida (CDDOTFEA) indujo la expresión de la subunidad catalítica de la ligasa de glutamato-cisteína (GCL), lo que conduce a una mayor actividad GCL, la producción de glutatión y la fuerte neuroprotección contra H₂O₂. Esta neuroprotección mejorada se encontró que era dependiente de la actividad GCL astrocítica, a diferencia de la neuroprotección basal ofrecida por astrocitos no tratados. El tratamiento directo de neuronas derivadas de hESC (células madre embrionarias de humano) con CDDOTFEA no provocó la inducción de genes blanco para Nrf2, ni neuroprotección. Por lo tanto, se concluye que los astrocitos humanos pueden mediar neuroprotección a través de mecanismos dependientes o no de glutatión, y representan un blanco terapéutico para los trastornos humanos asociados con el estrés oxidativo neuronal.¹⁷

Además, la regulación de la expresión génica antioxidante medida por Nrf2 puede estar gobernada por PGC-1 α (co-activador 1 alfa del receptor gamma activado por el proliferador peroxisomal), un co-activador de la transcripción que es importante para la biogénesis mitocondrial y el metabolismo. Las neuronas de la sustancia negra y el hipocampo de ratones nulos de PGC-1 α son los más vulnerables frente a los modelos de 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP) y ácido kaínico de neurodegeneración, y es sabido que el aumento de los niveles de PGC-1 α protege a las células nerviosas ante estrés oxidativo. En la enfermedad de Huntington por mencionar un ejemplo, la expresión y actividad de PGC-1 α están deterioradas. Finalmente, PGC-1 α promueve el procesamiento no amiloidogénico de la proteína

precursora de amiloide; por lo tanto, previene la generación de péptidos de neurotóxicos β -amiloide. Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que el PGC-1 α es un protector potencial en las enfermedades neurodegenerativas.⁹

Conclusión

Parece totalmente plausible que las células posean todos los recursos genéticos necesarios para mantener el equilibrio oxidativo, sería poco probable que la condición que se describe como estrés oxidativo produzca nuevas moléculas oxidantes, contra las cuales nuestras células no hayan desarrollado ya las defensas antioxidantes específicas, parece más probable que el estrés oxidativo refleja un desequilibrio entre las cantidades de oxidantes que nuestras células están produciendo y las cantidades antioxidantes necesarias para restablecer el equilibrio. En lugar de intentar restablecer el equilibrio oxidativo mediante la administración de cantidades relativamente pequeñas de enzima antioxidante, tal vez nuestra atención debe dirigirse a la activación de Nrf2, que puede modular los niveles de expresión de cientos de productos de genes que pueden hacer frente al estrés oxidativo y los estados fisiopatológicos relacionados 28.

Agradecimientos

A la Dra. Karla Rubio Nava del Instituto Max Planck por su asesoría y acertados comentarios para este trabajo.

Declaración de conflictos de interés

Los autores declaran que en este estudio no existen conflictos de interés relevantes.

Fuentes de financiamiento

No existieron fuentes de financiamiento para la realización de este estudio científico.

Referencias

1. Tresguerres, J.A.F., Ariznavarreta, C., Cachofeiro, V., Cardinali, D., Escrich, E., Gil-Loyzaga, P., Lahera, V., Mora, F., Romano, M. y Tamargo, J., *Fisiología humana*. 4ta edición, México D.F.: McGrawHill; 2010. 76-94
2. Seth, P. y Koul, N., Astrocyte, the star avatar: redefined; *J. Biosci.* 2008; 33: 405-421.
3. Koehler, C.R., Roman, J.R. y Harder, R.D., Astrocytes and the regulation of cerebral blood flow; *Trends in Neurosciences* 2008; Vol. 32 No. 3.
4. Rusakov, D.A., Zheng, K. y Henneberger, C., Astrocytes as Regulators of Synaptic Function: A Quest for the Ca²⁺ Master Key; *The Neuroscientist* 2011; 17(5) 513-523.
5. Ricci, G., Volpi, L., Pasquali, L., Petrozzi, L. y Siciliano, G., Astrocyte-neuron interactions in neurological disorders; *J Biol Phys* 2009; 35: 317-336.
6. Dorado, C., Rugerio, C. y Rivas, S. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración; *Rev Fac Med UNAM* Vol. 46 No. 6
7. Peinado, M.A., Del Moral, M.L., Esteban, F.J., Lara, E., Siles, E., Jiménez, A., Cobo, R., Blanco, S., Rodrigo, J. y Pedrosa J.A., Envejecimiento y neurodegeneración: bases moleculares y celulares: *Rev Neurol* 2000; 31 (11): 1054-1065
8. Reuter, S., Gupta, C. S., Chaturvedi, M.M. y Aggarwal, B.B., Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?; *Free Radical Biology & Medicine* 2010; 49: 1603-1616.
9. Fernandez, F.S., Almeida, A. y Bolaños, P.J. Antioxidant and bioenergetic coupling between neurons and astrocytes; *Biochemical Journal* 2012; 433, 3-12.
10. Calkins, J.M., Johnson, A.D., Townsend, A.J., Vargas, R.M., Dowell, A.J., Williamson, T.P., et al., The Nrf2/ARE as Potential Therapeutic Target in Neurodegenerative Disease; *Antioxidants & redox signaling* 2009 volume 11, number 3.
11. De Vries, E.H., Witte, M., Hondius, D., Rozemuller, M.J., Drukarch, B., Hoozemans, J., et al., Nrf2-induced antioxidant protection: A promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease?; *Free Radical Biology & Medicine* 2008; 45: 1375-1383.
12. Sporn, B.M., Liby, T.K., NRF2 and cancer: the good, the bad and the importance of context; *Nature reviews* 2012; volume 12, 564-571.
13. Königsberg, F.M., Nrf2: La historia de un nuevo factor de transcripción que responde a estrés oxidativo 2007; *REB* 26 (1): 18-25
14. Universidad Complutense de Madrid., Estudios de los mecanismos de acción molecular de polifenoles de la dieta en cultivos celulares y animales de experimentación 2010.
15. Hayes, D.J., McMahon, M., NRF2 and KEAP1 mutations: permanent activation of an adaptive response in cáncer; *Trends in biochemical Sciences* 2009; Vol. 34 No.4, 176-188.
16. Sun, Z., Wu, T., Zhao, F., Lau, A., Birch, M.C. y Zhang, D.D., KPNA6 (Importin β 7) Mediated Nuclear Import of Keap1 Represses the Nrf2-Dependent Antioxidant Response. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY* 2011; Vo. 31, No. 9 p. 1800-1811.
17. Gupta, K., Patani, R., Baxter, P., Serio, A., Story, D., Tsujita, T., Hayes, J.D., Pedersen, R.A., Hardingham, G.E. y Chandran, S., Human embryonic stem cell derived astrocytes mediate non-cell-autonomous neuroprotection through endogenous and drug-induced mechanisms; *Cell Death and Differentiation* 2012; 19, 779-787.
18. Jiang, H., Tian, X., Guo, Y., Duan, W., Bu, H. y Li, C., Activation of Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2 Cytoprotective Signaling by Curcumin Protect Primary Spinal Cord Astrocytes against Oxidative Toxicity; *Biol. Pharm. Bull.* 2012; 34 (8) 1194-1197.
19. Negi, G., Kumar, A., Joshi, P.R. y Sharma, S.S., Oxidative stress and Nrf2 in the pathophysiology of diabetic neuropathy: Old perspective with a new angle. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2011; 408: 1-5.
20. Johnson, A.J., Johnson, A.D., Kraft, D.A., Calkins, J.M., Jakel, J.R., Vargas, R.M. y Chen, C.P., The Nrf2-ARE Pathway: An indicator and Modulator of Oxidative Stress in Neurodegeneration. *Ann N Y Acad. Sci* 2008; 1147, 61-69.
21. Rappold, M.P. y Tieu, K., Astrocytes and Therapeutics for Parkinson's Disease; *Neurotherapeutics* 2010; 7(4), 413-423.
22. Genc, K., Genc S., Oxidative stress and dysregulated Nrf2 activation in the pathogenesis of schizophrenia. *Bioscience Hypotheses* 2008; 2, 16-18.

23. Kim, J., Nam Cha, Y. y Surh, Y.J., A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders: Mutations Research 2010; 690, 12-23.
24. Nrf2 – Antioxidant Protein Also Promotes Clogging Of Arteries, 2011 http://www.science20.com/news_articles/nrf2_antioxidant_protein_also_promotes_clogging_arteries-75189. [08-03-2016]
25. Genc, S., Egrilmez, Y.M., Genc, E.D., Endothelial nitric oxide-mediated Nrf2 activation as a novel mechanism for vascular and neuroprotection by erythropoietin in experimental subarachnoid hemorrhage. *j.mehy*.2007; 03.030.
26. Bell, F.K., Mubarak, A.B., Fowler, H.J., Baxter, S.P., Gupta, K., Tsujita, T., Chowdhry, S., Patani, R., Chandran, S., Horsburgh, K., Hayes, D.J. y Hardingham, E.G., Mild oxidative stress activates Nrf2 in astrocytes, which contributes to neuroprotective ischemic preconditioning; PNAS, 2011; vol. 108 no.1 E-1-E2.
27. Zhao, F., Wu, T., Lau, A., Jiang, T., Huang, Z., Wang, J.X., Chen, W., Wong, K.P. y Zhang D.D., Nrf2 promotes neuronal cell differentiation. *Free Radical Biology & Medicine* 2009; 47, 867-879.
28. Hybertson, M.B., Gao, B., Bose, K.S. y McCord, M.J., Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation; *Molecular Aspects of Medicine* 2011; 32 234-246-