

# Nrf2信号通路在缺血性脑卒中的作用及研究进展

蒋雪野\*, 赵秀丽

青海大学研究生院, 青海 西宁

收稿日期: 2023年6月6日; 录用日期: 2023年7月1日; 发布日期: 2023年7月10日

## 摘要

脑卒中患者中缺血性脑卒中占80%，具有高致残率及致死率，严重影响患者的生活质量，造成了严重的经济负担及社会负担。缺血性脑卒中是由于短时间内脑组织局部供血动脉血流减少或完全中断，导致缺血区域脑组织缺血、缺氧，造成不可逆的神经元损伤，损伤的程度取决于缺血的持续时间、严重程度和部位。研究显示，缺血性脑卒中的病理生理机制包括：局部脑血管低灌注、兴奋性神经毒性、氧化应激、血脑屏障破坏、微血管损伤、炎症反应、以及神经细胞和内皮细胞凋亡等一系列复杂的缺血级联反应。核因子E2相关因子2 (Nrf2)是内源性抗氧化防御的主要调节因子之一，在缺氧、氧化应激或炎症反应发生时，Nrf2与Keap1因子结合，调控大部分下游因子，发挥抗细胞凋亡、减轻炎症损伤、降低钙过载、抗氧化应激等多种作用，发挥维持线粒体稳态、保护脑组织损伤等作用。现就Nrf2信号通路在缺血性脑卒中的作用、研究进展及其激动剂在缺血性脑卒中的作用进行简要综述。

## 关键词

缺血性脑卒中, Keap1/Nrf2, 氧化应激, 炎症反应

# The Role and Research Progress of Nrf2 Signaling Pathway in Ischemic Stroke

Xueye Jiang\*, Xiuli Zhao

Graduate School of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Jun. 6<sup>th</sup>, 2023; accepted: Jul. 1<sup>st</sup>, 2023; published: Jul. 10<sup>th</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 蒋雪野, 赵秀丽. Nrf2 信号通路在缺血性脑卒中的作用及研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(7): 10879-10885. DOI: 10.12677/acm.2023.1371519

## Abstract

Ischemic stroke accounts for 80% in stroke patients, which has a high rate of disability and fatality. Ischemic stroke seriously affects the quality of life of patients, and caused serious economic and social burdens. Ischemic stroke was due to the reduction or complete interruption of the blood flow of the local blood supply arteries of the brain tissue in a short period of time, resulting in ischemia and hypoxia of the brain tissue in the ischemic area, which led to irreversible neuronal damage. The degree of damage depends on the duration of ischemia, severity and location. Studies had shown that the pathophysiological mechanisms of ischemic stroke include: regional cerebral vascular hypoperfusion, excitotoxicity, oxidative stress, blood-brain barrier dysfunction, microvascular injury, inflammatory response, and apoptosis of nerve cells and endothelial cells. Nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) was one of the main regulators of endogenous antioxidant defense. When hypoxia, oxidative stress or inflammatory response occurs, Nrf2 combines with Keap1 factor to regulate downstream factors and play an anti-oxidative role. Nrf2 signaling pathway played a role of anti-apoptosis, reducing inflammatory damage, reducing calcium overload, anti-oxidative stress and other functions, maintaining mitochondrial homeostasis and protecting brain tissue. This article reviews the role of Nrf2 signaling pathway in ischemic stroke, research progress and Nrf2 agonists in ischemic stroke.

## Keywords

Ischemic Stroke, Keap1/Nrf2, Oxidative Stress, Inflammation

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

脑卒中(Stroke)是由脑部血液循环障碍, 导致以局部神经功能缺失为特征的一组疾病, 分为缺血性脑卒中(cerebral infarction)和出血性脑卒中(hemorrhagic apoplexy)。缺血性脑卒中是脑卒中发生率最高的一种病理分型, 约占总数的 80% [1], 可由血栓、栓子、全身性低灌注或新冠肺炎病毒等原因引起。近年来, 随着人口老龄化的不断深入, 缺血性脑卒中的患病率由 1.89% 上升至 2.58% [2], 且随着新冠病毒的发生, 由新冠病毒引起的相关性缺血性脑卒中发生率为 1.8% [3], 79% 的患者在脑干内可发现大量的毒性 T 淋巴细胞及具有活性的小胶质细胞[4]。缺血性脑卒中会引起一系列复杂的缺血级联反应, 包括局部脑血管低灌注、兴奋性神经毒性、氧化应激、血脑屏障破坏、微血管损伤、炎症反应、以及神经细胞和内皮细胞凋亡[5] [6] [7] [8], 导致细胞生物能量的衰竭, 导致极高的致残率及致死率, 使患者丧失独立自主的生活能力, 严重影响患者生活质量, 在全球造成严重的经济负担和社会负担。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)与具有负向调节作用的 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白-1 (Kelchlike ECH-associated protein1, Keap1)结合, 参与细胞内氧化还原平衡的维持和炎症调节。有研究证实[9] [10] [11] [12], Keap1/Nrf2 信号通路可作为药物的靶点, 被广泛应用于过敏、炎症、呼吸系统疾病、神经系统疾病和许多其他疾病中, 因此探讨通过靶向缺血级联反应的重要细胞成分来开发新的治疗策略, 使其成为临床治疗缺血性脑卒中的一个方法。现就 Nrf2 信号通路在缺血性脑卒中的作用、研究进展及其激动剂在缺血性脑卒中的作用进行简要综述。

## 2. Nrf2-Keap1 信号通路的基本结构

Nrf2-Keap1 信号通路是体内最主要的内源性抗氧化防御的主要调节因子, 由 Nrf2 和 Keap1 组成。Keap1 是一种依赖肌动蛋白的富含硫醇的多肽类物质, 含有 624 个氨基酸, 其蛋白质序列分成 5 个区域, 分别为 N 端区域、BTB 区域、IVR 区域、Kelch 区域和 C 端区域[13], 其中 BTB 区域与 Nrf2 的结合力密切相关, 并且负责介导 Keap1 蛋白的二聚化作用。在细胞质中, Keap1 同型二聚化并与基于 cullin 的(Cul3) E3 连接酶结合, 形成 Keap1Cullin 3-RING-box 蛋白 1, 一个多模块的 E3 连接酶复合物, 与 Neh2 结构域相互作用, 形成 Keap1-Nrf2 复合物, 并通过泛素化和蛋白酶体降解启动 Nrf2 的降解[14]。

Nrf2 是调节一系列抗氧化剂的转录因子, 通过酶联反应协同作用去除活性氧的段基因[15]。Nrf2 属于 CNC (Cap 'n' collar)亮氨酸拉链转录激活因子家族, 是一个高度不稳定的蛋白质, 其活性部分受肌动蛋白相关的 Keap1 蛋白调节。它包含 7 个高度保守的 Nrf2-ECH 结构域(Neh1-7), Neh1 通过 CNC-bZIP 调节 DNA 结合, 核定位信号(NLS)负责 Nrf2 的核转位。Neh2 包含 DLG (低亲和力)和 ETGE (高亲和力)基序, 可与 Keap1 的 Kelch 域结合, 对 Nrf2 的转录活性起负调节作用[16]。Neh3 结构域的 C 端与转录共激活因子 CHD6 (Chroma-ATPase/helicase DNA-binding protein)相互作用, CHD6 是一种染色质 ATP 酶/解旋酶 DNA 结合蛋白, 负责染色质重塑后抗氧化反应元件(antioxidant responsive element, ARE)依赖基因的反式激活。Neh4 和 Neh5 代表转录激活域, 它们与共激活剂环磷酸腺苷反应性元件结合蛋白结合并促进 Nrf2 转录, 还可以与核辅因子 RAC3/AIB1/SRC-3 相互作用, 增强 Nrf2 靶向的 ARE 基因表达[17]。Neh6 是一个负调节结构域, 与含有  $\beta$ -转导蛋白重复序列的蛋白质结合, 导致 Nrf2 泛素化。Neh7 结构域通过促进 Nrf2 与视黄酸 X 受体  $\alpha$  (RXR $\alpha$ )的结合来抑制 Nrf2-抗氧化反应元件(ARE)信号通路[18]。

## 3. Nrf2-Keap1 信号通路与神经胶质细胞

大脑是人体中耗氧率最高的器官, 消耗机体总葡萄糖和氧气的 25% [19]。其中神经胶质细胞是中枢神经系统的主要支持细胞, 短时间内若局部脑组织血流中断、氧气供应停止、葡萄糖耗竭, 会导致神经胶质细胞出现凋亡、坏死、铁死亡等, 使脑组织出现不可逆的神经元损伤, 继而发生缺血性脑卒中。在缺血的核心区域, 快速死亡的细胞会形成一个电、代谢及功能不活跃的区域, 几分钟内就会发生兴奋性毒性和细胞死亡, 其神经元的损伤不可逆; 在缺血核心区域的周围, 即缺血半暗带, 具有新陈代谢的活性, 但电学和功能受损, 因侧支血流可以缓冲梗塞带来的全部影响, 这部分神经元的损伤是可逆的。在半影区, 血流低灌注的特性会使所需的氧气及葡糖供应显著减少, 特别是在尾状体、壳核、绝缘带、旁中央叶、前中央和额叶中下回易发生缺血性的脑组织损伤。在没有脑血流的情况下, 星形胶质细胞与小胶质细胞膨胀、快速增值和迁移, 并伴有神经胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和波形蛋白(Vim)的细胞滞留增加[20], 同时释放大量的自由基促进炎症通路的激活, 干扰谷氨酸转运并影响细胞内外微环境的稳态。此外, 星形胶质细胞中的游离复合物 I 是线粒体 ROS(mROS)产生的主要部位, 线粒体的代谢状态决定了超氧化物产生(O<sup>-</sup>)。Edward T 等人[21]在大鼠脑缺血模型中发现, 高浓度的 ROS 促使线粒体通透性转换孔(MPTP)和内膜阴离子通道(IMAC)的激活时间延长, 这种变化改变了线粒体内氧化还原稳态的变化, 导致 ROS 激增。ROS 的大量存在激活 Nrf2-Keap1 信号通路, 启动抗氧化蛋白基因超氧化物歧化酶(SOD), 将超氧化物分解为氧气和过氧化氢, 它还协同调节神经胶质细胞和神经元氧化还原状态的平衡。

## 4. Nrf2-Keap1 信号通路在脑内的调节

Nrf2 的调控主要通过转录和翻译后的 Nrf2 蛋白水平来维持, 以及与表观遗传调控和其他信号通路发生相互作用, 从而维持氧化还原反应的动态平衡, 最重要的是它的调节取决于生理和病理环境。

生理条件下, Nrf2 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (Keap1)结合形成复合物隔离在细胞质中, Keap1 又通

过接头蛋白 Cullin3(10)与功能性 E3 泛素连接酶复合物 Rbx1 连接。这种复合物的形成促进了泛素 - 蛋白酶系统对 Nrf2 的泛素化和降解。Keap1 是一种氧化还原感受器, 在氧化硫醇修饰后, 失去抑制 Nrf2 的能力。在氧化应激条件下(过多的活性氧、亲电分子和蛋白毒素应激), Keap1 上一个关键的调节性半胱氨酸硫醇与活性氧(reactive oxygen species, ROS)发生反应, 这种反应促进 Keap1 与 Nrf2 的分离, Nrf2 转位进入细胞核, 并在核内聚集与小 Maf 蛋白(肌肉腱膜纤维肉瘤癌基因同系物, sMaf)异二聚体结合, 激活含有 ARE 基因的调节区域[22], 并启动下游抗氧化蛋白基因的转录, 包括血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1), NAD (P)H: 醌氧化还原酶 1 (NADPH: quinone oxidoreductase1, NQO1), 谷氨酰半胱氨酸连接酶(Glutamate cysteine ligase, GCL), 过氧化物酶(peroxiredoxin, Prdx), 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 过氧化氢酶(catalase, CAT), 谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR), 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px) [23], 提高细胞抗氧化能力。

## 5. 脑缺血或缺血再灌注后 Nrf2 或 Nrf2 下游蛋白的内源性调节的实验研究

缺血性脑卒中和 Nrf2 通路所涉及的分子机制大部分主要来自实验研究, 包括大量的啮齿类动物(小鼠和大鼠)的体内研究, 如短暂或永久性脑缺血, 而永久性脑缺血又可分为永久性远端 MCA 闭塞(pdMCAo)模型或永久性近端 MCA 闭塞(pMCAo)模型。一些研究表明[24], 在免疫组织化学分析的支持下, pMCAo 后 24 小时 Nrf2 及其靶抗氧化基因 HO-1 和 SOD 的蛋白表达水平在小鼠或大鼠的缺血皮层中上调, 缺血后 Nrf2 下游抗氧化蛋白明显增加, 且持续至少 3 天, pdMCAo 后 HO-1、NQO1、SOD2 和 GPx 蛋白水平也增加 1.8 至 3.6 倍。

H. Meng 等人[25]采用改良的 Zea Longa 方法建立的大鼠永久性局灶性脑梗死模型中, 基于免疫组化结果, 发现模型组中的 Nrf2 和 HO-1 阳性细胞数明显高于假手术组, 且阳性细胞主要来源于缺血区域的神经元和星形胶质细胞, 表明在急性脑缺血后, Keap1/Nrf2 抗氧化系统在脑组织中被激活, 其中 Nrf2 在细胞质中与 Keap1 发生分离, 并转移到细胞核中上调 HO-1。

T.高木等人[26]采用依赖于 Keap1 的氧化应激检测器 - 荧光素酶(OKD-LUC)制作的瞬态 MCAo 模型和再灌注后 Nrf2 反应的小鼠模型研究实验, 在缺血和再灌注的早期未观察到 Nrf2 和 HO-1, 但在 24~48 h 都能检测到高水平的 Nrf2 和 HO-1, 且 Nrf2 在 24 h 的时候达到顶峰。除了梗塞区域, Nrf2 激活的区域主要位于梗塞周围区域, Nrf2 的表达也主要以神经元和星形胶质细胞为主, 认为星形胶质细胞参与可恢复丙酮酸保护神经元免受谷氨酸诱导的毒性作用[27]。此外, 他们还进行额外的 IHC 确认半影区中的 Nrf2 表达, 发现主要在皮质半影区中可观察到 Nrf2 的抗氧化应激表达, 其次是缺血核心区域和纹状体半影区域, 但是在对侧的皮质及纹状体中均未观察到 Nrf2 上调。这种保护作用是通过改变热休克蛋白 72 和线粒体超氧化物歧化酶的表达来实现的[28]。多项研究证实, Nrf2 的丢失会加重 MCAo 大鼠的脑梗塞和神经功能缺陷[29]。因此, Nrf2 信号通路在抑制缺血性脑卒中损伤中起着至关重要的作用。

## 6. Nrf2 激动剂在缺血性脑卒中的作用

萝卜硫素(Sulforaphane, SFN)是一种典型的 Nrf2 激活剂, 是一种天然存在的异硫氰酸酯, 存在于十字花科蔬菜中。异硫氰酸酯萝卜硫素可以增强大脑对氧化还原敏感的防御, 从而限制卒中后的病变体积和神经功能缺损。萝卜硫素除了与 keap1 半胱氨酸残基相互作用外, 还可以通过低激素水平的氧化预处理来上调抗氧化防御。并且, 低浓度的萝卜硫素对星形胶质细胞进行反复、短暂的刺激会使抗氧化应激的效果更显著。研究发现, 萝卜硫素预处理上调 Nrf2 与梗塞周围血管星形胶质细胞和梗塞中心脑血管内皮细胞中 HO1 表达增加有关[30]。大脑微血管系统在萝卜硫素给药后 HO-1 浓度增加, 发挥保护血脑屏障的作用, 进而改善卒中后神经功能损伤。这表明脑微血管系统的 Nrf2 的防御通路, 能够预防脑卒中患

者的血脑屏障破裂, 为缺血性脑卒中后改善神经功能损伤提供了新的治疗途径。

姜黄素(Curcumin)是一种酚类色素, 是从姜科植物的根茎提取的, 具有抗氧化和抗炎作用, 对神经损伤有较强的保护作用。姜黄素有两个亲电的 $\alpha,\beta$ -不饱和碳酰基团, 可以修饰 Keap1 的硫醇基团和释放 Nrf2, 从而激活 Nrf2/ARE 通路和诱导 II 期酶的表达。姜黄素的生物利用度很低, 但具有高度的亲脂性。低浓度的姜黄素对 Nrf2 的活化没有显著作用, 但 15 及 30  $\mu\text{mol}$  浓度的姜黄素在脑组织中蓄积到一定程度时可穿过血脑屏障[31], 激活 Nrf2 通路并上调 HO-1 与 NQO1 的表达, 从而发挥神经保护作用。在 Wu J. 等人[32]的实验研究中, 发现姜黄素治疗 MCAO 大鼠后, 磷酸化 Akt 和 NQO1 显著上调, 并伴随着 Nrf2 的核转位, 使 Nrf2 与 ARE 序列 DNA 的结合增加。证明姜黄素能显著减少 tMCAO 大鼠的梗塞面积, 减轻脑水肿, 改善神经功能损伤。

富马酸二甲酯(Dimethyl Fumarate, DMF), 是一种从植物复方菊中分离出来的亲电 Nrf2 激活剂, 与单酯型 MMF 相比, 高通透性的二酯型 DMF 在体外模型中具有更好的生物学效应。研究表明, DMF 及其代谢物 MMF 由于存在  $\alpha,\beta$ -不饱和的碳酰基部分, 能通过迈克尔加成反应与 Keap1 特异性半胱氨酸共价结合, 通过 Nrf2 途径表现出抗炎、抗氧化作用, 发挥中枢神经系统细胞的保护作用[33]。在 N. Ya 等人[34]的实验研究中, 连续 5 周 DMF (100 mg/kg/day)灌胃, 行行为测试和组织学、分子和生化分析, 发现经 DMF 治疗后可显著改善认知缺陷, 部分逆转由慢性脑血管灌注不足引起的海马神经元损伤和损失。

## 7. 展望

很多研究已经证实, Nrf2-Keap1 信号通路作为机体最重要的内源性抗氧化应激防御主要因子, 对急性或慢性的缺血性脑卒中均有强大的神经保护功能, 通过激活下游 HO-1、NQO1 及其他抗氧化因子来发挥抗氧化应激、抗炎症、抗凋亡等作用。目前挽救缺血性脑组织及促进功能恢复的有效治疗方法是通过静脉内重组组织纤溶酶原激活剂快速恢复半影区脑组织的血流供应, 但这种方式治疗窗狭窄(小于 4.5 h), 利用萝卜硫素、姜黄素、富马酸二甲酯等 Nrf2 激动剂来进行治疗, 为临床上治疗缺血性脑卒中提供一种新思路。

## 参考文献

- [1] Liu, D., Wang, H., Zhang, Y. and Zhang, Z. (2020) Protective Effects of Chlorogenic Acid on Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury Rats by Regulating Oxidative Stress-Related Nrf2 Pathway. *Drug Design, Development and Therapy*, **14**, 51-60. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S228751>
- [2] 王陇德, 彭斌, 张鸿祺, 等. 《中国脑卒中防治报告 2020》概要[J]. 中国脑血管病杂志, 2022, 19(2): 136-144.
- [3] 陈壮壮, 李国忠. COVID-19 相关脑梗死的临床特征及其机制的研究进展[J]. 卒中与神经疾病, 2021, 28(4): 447-450.
- [4] 张雍闯, 白艳杰, 王岩, 等. 新冠肺炎诱导缺血性脑卒中机制疗法的研究进展[J/OL]. 沈阳药科大学学报: 1-9. <https://doi.org/10.14066/j.cnki.cn21-1349/r.2022.0956>, 2023-05-23.
- [5] Orellana-Urzúa, S., Rojas, I., Líbano, L. and Rodrigo, R. (2020) Pathophysiology of Ischemic Stroke: Role of Oxidative Stress. *Current Pharmaceutical Design*, **26**, 4246-4260. <https://doi.org/10.2174/138161282666200708133912>
- [6] Wang, L., Zhang, X., Xiong, X., et al. (2022) Nrf2 Regulates Oxidative Stress and Its Role in Cerebral Ischemic Stroke. *Antioxidants*, **11**, Article 2377. <https://doi.org/10.3390/antiox11122377>
- [7] Zhao, Y., Zhang, X., Chen, X. and Wei, Y. (2022) Neuronal Injuries in Cerebral Infarction and Ischemic Stroke: From Mechanisms to Treatment (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, **49**, Article No. 15. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.5070>
- [8] Suzuki, H., Kanamaru, H., Kawakita, F., Asada, R., Fujimoto, M. and Shiba, M. (2021) Cerebrovascular Pathophysiology of Delayed Cerebral Ischemia after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Histology & Histopathology*, **36**, 143-158.
- [9] Liu, Q., Gao, Y. and Ci, X. (2019) Role of Nrf2 and Its Activators in Respiratory Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2019**, Article ID: 7090534. <https://doi.org/10.1155/2019/7090534>

- [10] Ivanciuc, T., Patrikeev, I., Qu, Y., *et al.* (2023) Micro-CT Features of Lung Consolidation, Collagen Deposition and Inflammation in Experimental RSV Infection Are Aggravated in the Absence of Nrf2. *Viruses*, **15**, Article 1191. <https://doi.org/10.3390/v15051191>
- [11] Dinkova-Kostova, A.T. and Copple, I.M. (2023) Advances and Challenges in Therapeutic Targeting of NRF2. *Trends in Pharmacological Sciences*, **44**, 137-149. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2022.12.003>
- [12] George, M., Tharakan, M., Culbertson, J., Reddy, A.P. and Reddy, P.H. (2022) Role of Nrf2 in Aging, Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases. *Ageing Research Reviews*, **82**, Article ID: 101756. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101756>
- [13] 童海达, 王佳茗, 宋英. Keap1-Nrf2-ARE 在机体氧化应激损伤中的防御作用[J]. 癌变·畸变·突变, 2013, 25(1): 71-75.
- [14] Kobayashi, A., Kang, M.I., Okawa, H., *et al.* (2004) Oxidative Stress Sensor Keap1 Functions as an Adaptor for Cul3-Based E3 Ligase to Regulate Proteasomal Degradation of Nrf2. *Molecular and Cellular Biology*, **24**, 7130-7139. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.16.7130-7139.2004>
- [15] Nguyen, T., Nioi, P. and Pickett, C.B. (2009) The Nrf2-Antioxidant Response Element Signaling Pathway and Its Activation by Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 13291-13295. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900010200>
- [16] Farina, M., Vieira, L.E., Buttari, B., Profumo, E. and Saso, L. (2021) The Nrf2 Pathway in Ischemic Stroke: A Review. *Molecules*, **26**, Article 5001. <https://doi.org/10.3390/molecules26165001>
- [17] Tu, W., Wang, H., Li, S., Liu, Q. and Sha, H. (2019) The Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE Signaling Pathway in Chronic Diseases. *Ageing and Disease*, **10**, 637-651. <https://doi.org/10.14336/AD.2018.0513>
- [18] Saha, S., Buttari, B., Panieri, E., Profumo, E. and Saso, L. (2020) An Overview of Nrf2 Signaling Pathway and Its Role in Inflammation. *Molecules*, **25**, Article 5474. <https://doi.org/10.3390/molecules25225474>
- [19] Vidale, S., Consoli, A., Arnaboldi, M. and Consoli, D. (2017) Postischemic Inflammation in Acute Stroke. *Journal of Clinical Neurology*, **13**, 1-9. <https://doi.org/10.3988/jcn.2017.13.1.1>
- [20] Nedergaard, M. and Dirnagl, U. (2005) Role of Glial Cells in Cerebral Ischemia. *GLIA*, **50**, 281-286. <https://doi.org/10.1002/glia.20205>
- [21] Chouchani, E.T., Pell, V.R., Gaude, E., *et al.* (2014) Ischaemic Accumulation of Succinate Controls Reperfusion Injury through Mitochondrial ROS. *Nature*, **515**, 431-435. <https://doi.org/10.1038/nature13909>
- [22] Hardingham, G.E. and Lipton, S.A. (2011) Regulation of Neuronal Oxidative and Nitrosative Stress by Endogenous Protective Pathways and Disease Processes. *Antioxidants & Redox Signaling*, **14**, 1421-1424. <https://doi.org/10.1089/ars.2010.3573>
- [23] Sajadimajid, S. and Khazaei, M. (2018) Oxidative Stress and Cancer: The Role of Nrf2. *Current Cancer Drug Targets*, **18**, 538-557. <https://doi.org/10.2174/1568009617666171002144228>
- [24] Liu, L., Locascio, L.M. and Doré, S. (2019) Critical Role of Nrf2 in Experimental Ischemic Stroke. *Frontiers in Pharmacology*, **10**, Article 153. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00153>
- [25] Meng, H., Guo, J., Wang, H., Yan, P., Niu, X. and Zhang, J. (2014) Erythropoietin Activates Keap1-Nrf2/ARE Pathway in Rat Brain after Ischemia. *International Journal of Neuroscience*, **124**, 362-368. <https://doi.org/10.3109/00207454.2013.848439>
- [26] Takagi, T., Kitashoji, A., Iwawaki, T., *et al.* (2014) Temporal Activation of Nrf2 in the Penumbra and Nrf2 Activator-Mediated Neuroprotection in Ischemia-Reperfusion Injury. *Free Radical Biology and Medicine*, **72**, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.009>
- [27] Miao, Y., Qiu, Y., Lin, Y., Miao, Z., Zhang, J. and Lu, X. (2011) Protection by Pyruvate against Glutamate Neurotoxicity Is Mediated by Astrocytes through a Glutathione-Dependent Mechanism. *Molecular Biology Reports*, **38**, 3235-3242. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-9998-0>
- [28] Barreto, G., White, R.E., Ouyang, Y., Xu, L. and Giffard, R.G. (2011) Astrocytes: Targets for Neuroprotection in Stroke. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, **11**, 164-173. <https://doi.org/10.2174/187152411796011303>
- [29] Liu, Q., Jin, Z., Xu, Z., *et al.* (2019) Antioxidant Effects of Ginkgolides and Bilobalide against Cerebral Ischemia Injury by Activating the Akt/Nrf2 Pathway *in Vitro* and *in Vivo*. *Cell Stress and Chaperones*, **24**, 441-452. <https://doi.org/10.1007/s12192-019-00977-1>
- [30] Alfieri, A., Srivastava, S., Siow, R., *et al.* (2013) Sulforaphane Preconditioning of the Nrf2/HO-1 Defense Pathway Protects the Cerebral Vasculature against Blood-Brain Barrier Disruption and Neurological Deficits in Stroke. *Free Radical Biology and Medicine*, **65**, 1012-1022. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.08.190>

- 
- [31] Sun, Y., Yang, T., Leak, R.K., Chen, J. and Zhang, F. (2017) Preventive and Protective Roles of Dietary Nrf2 Activators against Central Nervous System Diseases. *CNS & Neurological Disorders—Drug Targets*, **16**, 326-338. <https://doi.org/10.2174/18715273166666170102120211>
- [32] Wu, J., Li, Q., Wang, X., *et al.* (2013) Neuroprotection by Curcumin in Ischemic Brain Injury Involves the Akt/Nrf2 Pathway. *PLOS ONE*, **8**, e59843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059843>
- [33] Gopal, S., Mikulskis, A., Gold, R., Fox, R.J., Dawson, K.T. and Amaravadi, L. (2017) Evidence of Activation of the Nrf2 Pathway in Multiple Sclerosis Patients Treated with Delayed-Release Dimethyl Fumarate in the Phase 3 DEFINE and CONFIRM Studies. *Multiple Sclerosis Journal*, **23**, 1875-1883. <https://doi.org/10.1177/1352458517690617>
- [34] Yan, N., Xu, Z., Qu, C. and Zhang, J. (2021) Dimethyl Fumarate Improves Cognitive Deficits in Chronic Cerebral Hypoperfusion Rats by Alleviating Inflammation, Oxidative Stress, and Ferroptosis via NRF2/ARE/NF- $\kappa$ B Signal Pathway. *International Immunopharmacology*, **98**, Article ID: 107844. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107844>