

АПОПТОЗ НЕЙРОНОВ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

УДК 616.833.1—001.1—009.11

Поступила 30.03.2010 г.



А.О. Трофимов, к.м.н., научный сотрудник отдела нейрохирургии и патологии позвоночника;
Л.Я. Кравец, д.м.н., профессор, руководитель отделения нейрохирургии и патологии позвоночника

Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии Росмедтехнологий, Н. Новгород

Проведен анализ современных сведений о развитии апоптотических процессов в клетках головного мозга после черепно-мозговой травмы (от экспериментальных моделей до клинических наблюдений). Отмечено, что апоптоз играет ключевую роль в развитии отсроченной гибели нейронов мозга после его повреждения. Установлены пути развития апоптоза, определены его инициаторы, ключевые модуляторы, показаны возможные варианты предупреждения апоптоза нейронов после травмы головного мозга.

Ключевые слова: апоптоз, черепно-мозговая травма.

English

Apoptosis of neurons at a craniocerebral trauma

A.O. Trofimov, c.m.s., scientific worker of the vertebral column neurosurgery and pathology department;
L.Ya. Kravets, M.D., professor, head of the vertebral column neurosurgery and pathology department

Nizhny Novgorod SRI of traumatology and orthopedics of the Rusmedtechnologies, N. Novgorod

An analysis of a modern information of the apoptotic process in the brain cell development after a craniocerebral trauma (from experimental models to clinical observations) is made, It is marked, that an apoptosis is of great importance in development of the brain neuron delayed death after lesion. The ways of apoptosis development are established, its initiators, key modulators are defined, the possible variants of the neuron apoptosis after brain trauma prophylaxis are demonstrated.

Key words: apoptosis, craniocerebral trauma.

В настоящее время выделяют два пути гибели нейронов после черепно-мозговой травмы (ЧМТ). Непосредственно после механической травмы они погибают вследствие некроза на фоне повреждения мембраны, необратимых изменений метаболизма и/или развития феномена эксайтотоксичности [1]. Второй путь — смерть с морфологическими признаками апоптоза. Этот механизм проявляется после так называемого временного окна (time window), что позволяет использовать методики направленной терапии [2].

Под апоптозом сегодня понимают энергозависимый

процесс упорядоченной гибели отдельных клеток, происходящий в нормальных и патологически измененных тканях эукариотических организмов под действием внутри- и внеклеточных стимулов. Он включает в себя фрагментацию ДНК, сгущение хроматина, сморщивание клетки и образование телец апоптоза, которые поглощаются фагоцитами без формирования системного воспалительного ответа. Апоптоз сопровождается экспрессией определенных генов и синтезом специфических энзимов [3]. Основное биологическое значение апоптоза сводится к поддержанию оптимального числа

Для контактов: Трофимов Алексей Олегович, тел. раб. 8(831)279-20-65, тел. моб. +7 910-390-09-55; e-mail: xtro7@mail.ru.

клеток в тканях и органах путем удаления «избыточных» и/или функционально аномальных клеток.

Апоптоз впервые был описан John F.R. Kerr в 1965 г. при изучении ишемического повреждения печени у крыс как новый тип гибели клеток, морфологически отличный от некроза [4]. Гибнущие гепатоциты в зоне ишемической «полутени» сморщивались и формировали небольшие округлые тельца, содержащие ядра хроматина, которые захватывались соседними фагоцитами. В дальнейшем подобный феномен был выявлен и в неповрежденных участках печени крыс. Этот особый тип клеточной смерти временно был назван «сморщивающим некрозом» (shrinkage necrosis) [5]. Позже он был выявлен в опухолевых тканях [6], а затем и в нормальных клетках [7]. Термин «апоптоз» был предложен для замены этого названия, а позднее стал использоваться для обозначения феномена «программируемой клеточной смерти» [8]. Несмотря на то, что гистологическое описание апоптоза при экспериментальном повреждении мозга появилось уже тремя годами позже после работы Kerr [9], детальная характеристика апоптоза нейронов после ЧМТ в эксперименте была дана лишь в середине 90-х гг. XX в. [10, 11], а в клинике — в 1999 г. [12].

Патофизиология апоптоза. Апоптоз нейронов может протекать двумя способами: с активацией семейства каспаз и без участия каспаз, но с экспрессией апоптотических факторов митохондрий клеток [13].

Каспаззависимый апоптоз. Семейство каспаз содержит 14 идентифицированных протеаз, которые синтезируются из предшественников. Активация происходит после объединения последних в тетрамерные структуры. Протеолитическое расщепление каспазами приводит к изменениям, характерным для апоптоза [13, 14]. Каспаззависимый апоптоз, в свою очередь, может протекать двумя путями — внутренним и внешним.

Внешний путь запускается с участием рецепторов клеточной стенки [15]. Взаимодействие на поверхности клетки фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor — TNF) или рецептора Fas с внеклеточным Fas-лигандом ведет к запуску процессов тримеризации рецепторов с формированием комплексов внутриклеточных сигнальных молекул и образованием так называемого домена смерти. Этот сигнальный комплекс индуцирует активацию каспазы-3, -8 и/или -10, с последующим необратимым повреждением клетки.

Внутренний путь инициируется стрессовым повреждением органелл клетки, что сопровождается освобождением цитохрома С, который, взаимодействуя с ферментом Araf-1 (apoptotic protease activating factor-1), АТФ и прокаспазой-9, формирует комплекс, называемый апоптосомой [16].

После выхода из митохондрий цитохром С может перемещаться в эндоплазматический ретикулум и блокировать рецепторы к инозитол-1,4,5-трифосфату, повреждая работу кальциевых каналов [17]. Нарушение гомеостаза Ca^{2+} и присутствие цитохрома С ведут к активации расположенной в ретикулуме каспазы-12. Подобный механизм активации каспазы-12 выявлен в

экспериментальных моделях нейродегенеративных заболеваний и черепно-мозговых повреждений [18].

Существуют и другие семейства ферментов, участвующих в апоптотической смерти нейронов после травмы головного мозга. Такими являются кальпейны (calpains) — Ca^{2+} -зависимые протеазы, воздействующие на различные структуры клетки. Активация кальпейн происходит после травмы мозга и запускается расщеплением каспазы-3 [19].

Каспазnezависимый апоптоз. Лизосомальные ферменты, катепсины, возможно, также участвуют в апоптозе нейронов после травмы головного мозга [20]. Апоптоз индуцирующий фактор (AIF) является митохондриальным флавопротеином, который освобождается из митохондрии после ее мембранной деполяризации [21]. AIF-опосредованный апоптоз наблюдается в нейронах в условиях оксидативного стресса как при экспериментальной ЧМТ [22], так и при ишемическом повреждении мозга [23].

Другими митохондриальными белками, причастными к развитию апоптоза, являются эндонуклеаза G [24], Htr2A/Omi [25] и Smac/Diablo [26], однако их роль в апоптозе нейронов после травмы головного мозга остается до конца не изученной. Кроме того, показано, что активация поли-АДФ-рибозил-полимеразы (poly(ADP-ribose)polymerase — PARP) не только приводит к смерти клетки в результате некроза, но и запускает в ней процессы каспазnezависимого апоптоза. Использование ингибиторов PARP после тяжелого повреждения мозга, возможно, уменьшит размеры первичного некроза, а при раннем применении — предупредит развитие апоптоза клеток перифокальной зоны [25].

Регуляция апоптоза. Развитие как каспаззависимого, так и каспазnezависимого апоптоза регулируется белками, выделенными из культуры В-клеточной лимфомы-2 (B-cell lymphoma-2 — Bcl-2). В это семейство входят как белки, усиливающие апоптоз клеток, так и белки, его тормозящие [27]. Активация первых приводит к формированию комплекса между белками, содержащими BH-3-домен (известный как Bax). Этот комплекс непосредственно участвует в процессе освобождения из митохондрий цитохрома С [28]. В свою очередь активация Bax может быть вызвана белком p53 (the tumor suppressor p53), концентрация которого возрастает в зонах повреждения головного мозга у крыс [29].

Белки, тормозящие апоптоз, содержат белки Bcl-xL и Mcl-1L, предотвращающие выброс митохондриальных белков, цитохром С [17], эндонуклеазы G и AIF, подавляющие экспрессию BH-3-домена [3].

Апоптоз может регулироваться путем экспрессии внутриклеточных ферментов класса киназ. Установлено, что значительное изменение концентрации внутриклеточного энзима митогенактивированной протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase — MAPK) наблюдается после экспериментальной ЧМТ [30]. Отмечено, что после экспериментального повреждения мозга происходит увеличение и уровня внутриклеточных энзимов, способствующих «выживанию» клеток.

К подобным относят индуцированную фактором роста протеинкиназу В (growth factor-induced protein kinase В — РКВ), которая может непосредственно тормозить развитие апоптоза за счет изменения фосфорилирования белков и инактивирования проапоптотического белка Bad, а также каспаз-8 и -9.

Клинические свидетельства апоптоза нейронов после ЧМТ. Хотя описания апоптоза после травмы головного мозга у людей относятся к 40-м годам XX в., биохимические доказательства запуска каскада апоптоза нейронов при этом состоянии привели лишь в 1999 г. R. Clark с соавт. При исследовании образцов мозговой ткани, полученных при проведении декомпрессивной краниотомии, авторы обнаружили признаки фрагментации ДНК и расщепления каспазы-1 и -3, подтверждая тем самым запуск каспаззависимого пути апоптоза нейронов.

Активация каспазы-3 также подтверждена в исследованиях, демонстрирующих изменение концентрации одного из ее субстратов (PARP) в мозговой ткани у пострадавших с ЧМТ [31].

В 2003 г. X. Zhang с соавт. сообщили об активации каспазы-8 преимущественно в нейронах головного мозга после его травмы. Кроме того, относительное содержание нативной каспазы-8 и ее расщепленной фракции коррелировало с относительным содержанием рецептора Fas, свидетельствуя о формировании комплексов внутриклеточных сигнальных молекул и образовании «домена смерти» с активацией внешнего пути запуска апоптоза нейрона [13].

Имеются сообщения об увеличении концентрации Fas-лиганда и Fas-рецептора в цереброспинальной жидкости пациентов с травматическим повреждением головного мозга. Установлено, что уровень Fas-рецептора коррелирует с уровнем внутричерепного давления [32].

Williams S. в 2001 г. обнаружил признаки апоптоза нейронов в виде фрагментации ДНК у пациента, находившегося в вегетативном статусе и скончавшегося спустя 12 мес после ЧМТ. Таким образом, «терапевтическое окно» для воздействия на процессы апоптоза нейронов, возможно, не ограничивается лишь острым периодом травматических повреждений головного мозга [25].

Показано, что апоптозу подвергаются нейроны перифокальной зоны повреждений серого вещества и олигодендроциты белого вещества [33].

Апоптоз нейронов при травме мозга и его ишемическом повреждении. В настоящее время считается, что апоптотические процессы в нейронах головного мозга вследствие его травматического и ишемического повреждения имеют большое сходство. Объяснением этого факта служит наличие при ЧМТ нарушений церебральной макро- и микроциркуляции, ведущих к ишемическим повреждениям головного мозга в остром периоде травмы [34]. В то же время показано, что при ЧМТ чаще развивается гипоперфузия в отличие от ишемии, где исходом является реперфузия пораженного бассейна. Важным различием является описанное A. Rink [35] преобладание

процессов каспазезависимого апоптоза нейронов после экспериментальной ЧМТ по сравнению с ишемией. Кроме того, L. Li [24] было высказано предположение, что некоторые фенотипы клеточной смерти, описанные ранее как разновидности некроза, могли бы оказаться AIF-связанным каспазезависимым вариантом апоптоза.

Значение апоптоза нейронов во вторичном повреждении головного мозга после ЧМТ. Несмотря на существенный прогресс в исследованиях, посвященных механизмам апоптоза нейронов после ЧМТ, остается множество вопросов, например: каково соотношение нейронов, погибших вследствие апоптоза и некроза; сохраняется ли эта пропорция постоянной и является ли клинически значимой? В немногочисленных работах, отвечающих на подобные вопросы, показано, что применение ингибитора каспазы-3 N-бензилоксикарбонил-Асп-Глю-Вал-Асп-фторметилкетона (N-benzyloxycarbonyl-Asp-Glu-Val-Asp-fluoromethylketone — DEVD) при экспериментальной ЧМТ позволило на 30% уменьшить объем повреждения головного мозга спустя 3 нед после травмы [36].

В обзоре X. Zhang с соавт. высказывается мнение, что на долю некроза как механизма нейрональной смерти приходится лишь треть погибших нейронов; оставшиеся две трети по различным признакам могут быть отнесены к разным видам апоптоза [13].

Отсроченная гибель нейронов после травматического повреждения мозга находится в прямой взаимосвязи с апоптозом астроцитов и олигодендроцитов, что подтверждено и в экспериментальных, и в клинических работах [34].

R. Clark [37] сравнил образцы мозговой ткани на пике травматического отека и после нетравматического субарахноидального кровоизлияния и показал значительное сходство выраженности фрагментации ДНК и формирования апоптосом. Автором отмечено, что компоненты крови являются мощными стимуляторами апоптоза нейронов и глии. Это подтверждается и в других работах [38]. Кроме того, показано, что использование ингибиторов каспаз в эксперименте способно значительно уменьшить выраженность вазоспазма после субарахноидального кровоизлияния [39].

Однако имеются работы, которые ставят под сомнение факт сколько-нибудь значимого эффекта апоптоза после травматического повреждения головного мозга [40]. Это связывается с невозможностью выделить факторы его развития на фоне ярко выраженных процессов ишемии и пр. [41]. В то же время другие авторы считают, что подобные работы носят скорее философский характер, так как существует множество доказательств возможности воздействия на процессы апоптоза нейронов после мозговых катастроф [33]. И хотя подобные вещества находятся на стадии экспериментальных исследований, это направление фармакологии в настоящее время динамично развивается [42].

Возможные пути предупреждения развития апоптоза. Многоступенчатость каскада апоптоза обуславливает множество потенциальных путей воздействия на его развитие. Ими могут быть:

1) ингибирование ключевых инициаторов апоптоза растворимыми блокаторами рецепторов к белкам TNF-семейства, препаратами, снижающими уровень эксайтотоксических аминокислот, или антиоксидантами;

2) блокирование ключевых компонентов апоптотического каскада (например, белками, подобными Bcl-2, ингибиторами каспаз, ингибиторами PARP и/или ингибиторами эндонуклеазы);

3) неспецифическое блокирование каскада апоптоза (например, гипотермией) [43, 44].

По мнению X. Zhang (2005), наиболее перспективным является применение ингибиторов каспаз (блокирование каспаззависимого пути развития апоптоза) и ингибиторов PARP (ингибирование каспазнезависимого пути).

Ингибиторы каспаз включают в себя группу олигопептидов (обычно до четырех аминокислот), а также группу непептидных веществ [45]. Применение пептида тримарана в эксперименте показало возможность улучшения функционального результата после травматического повреждения головного мозга у крыс [46]. Выявлено, что ингибиторы каспаз, состоящие из трех или четырех пептидных остатков, не способны проникать через неповрежденные структуры гематоэнцефалического барьера [43]. В то же время показано, что однопептидный ингибитор каспаз Вос-аспартил-фторметилкетон (Woc-aspartyl fluoromethylketone) способен проникать через структуры гематоэнцефалического барьера, предупреждая ишемическое повреждение мозга [47].

Однако в работах С. Lemaire [48] и М. Los [3] высказывается мнение, что использование ингибиторов каспаз и последующего блокирования процессов каспаззависимого апоптоза, возможно, ведет к смещению фенотипа клеточной смерти в сторону каспазнезависимого пути апоптоза или развития некроза.

По мнению R. Clark с соавт. [26], ингибирование активации каспаз может способствовать выживанию функционально неполноценных клеток, приводя «к выживанию без функциональной выгоды». С выводами этих авторов перекликаются результаты других работ [20, 49], в которых утверждается, что использование при экспериментальной ЧМТ препаратов DEVD уменьшало объем повреждения мозговой ткани, но не улучшало функциональные результаты.

Ингибиторы PARP. Избыточная активность PARP может существенно нарушить энергетический обмен клетки и привести ее к гибели. Хотя подобные повреждения приводят, прежде всего, к некротическим процессам, недавними исследованиями показано, что активация PARP может вызвать запуск каскада каспазнезависимого апоптоза за счет экспрессии AIF.

Одной из наиболее перспективных стратегий могло бы стать блокирование и каспаззависимого, и каспазнезависимого пути развития апоптоза препаратами, стабилизирующими мембраны митохондрий после ЧМТ: непосредственно или через регулирование системы Bcl-2 белков [50].

R. Leker, M. Ahronowiz [51] сообщают, что применение ингибитора p53 пифитрина (pifithrin) улучшает гис-

тологический и функциональный результаты у крыс после мозговой ишемии.

Таким образом, хотя участие апоптоза в развитии отсроченной гибели нейронов головного мозга после травматического повреждения считается доказанным, вопрос о биологической роли подобных процессов остается неоднозначным. Не выяснено до конца, является ли апоптоз только «вредным», адекватен ли процесс устранения нефункционирующих (а фактически находящихся в состоянии парабиоза) клеток в условиях повышенного внутричерепного давления, нарушений церебральной микро- и макроциркуляции, прорыва гематоэнцефалического барьера после черепно-мозговой травмы. Вместе с тем уничтожение поврежденных клеток в отсроченном периоде носит, безусловно, саногенный характер, важный для структурного и функционального восстановления после травмы головного мозга. Все это говорит о том, что продолжение исследования по данной проблеме является обоснованным и актуальным.

Литература

1. *Lenzlinger P. et al.* The duality of the inflammatory response to traumatic brain injury. *Mol Neurobiol* 2001; 24: 169—181.
2. *Lockshin R.* Programmed cell death. Activation of lysis by a mechanism involving the synthesis of protein. *J Insect Physiol* 1969; 15: 1505—1516.
3. *Los M., Mozoluk M., Ferrari D.* Activation and caspase-mediated inhibition of PARP: a molecular switch between fibroblast necrosis and apoptosis in death receptor signaling. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 978—988.
4. *Kerr J.* A histochemical study of hypertrophy and ischaemic injury of rat liver with special reference to changes in lysosomes. *J Pathol Bacteriol* 1965; 90: 419—435.
5. *Kerr J.* Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol* 1971; 105: 13—20.
6. *Kerr J., Searle J.* The digestion of cellular fragments within phagolysosomes in carcinoma cells. *J Pathol* 1972; 108: 55—58.
7. *Kerr J., Wyllie A., Currie A.* Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239—257.
8. *Duvall E., Wyllie A., Morris R.* Macrophage recognition of cells undergoing programmed cell death (apoptosis). *Immunol* 1985; 56: 351—358.
9. *Wyllie A., Kerr J., Currie A.* Cell death in the normal neonatal rat adrenal cortex. *J Pathol* 1973; 111: 255—261.
10. *Colicos M., Dash P.* Apoptotic morphology of dentate gyrus granule cells following experimental cortical impact injury in rats: possible role in spatial memory deficits. *Brain Res* 1996; 739: 120—131.
11. *Deshpande J., Bergstedt K., Linden T.* Ultrastructural changes in the hippocampal CA1 region following transient cerebral ischemia: evidence against programmed cell death. *Exp Brain Res* 1992; 88: 91—105.
12. *Ng I., Yeo T., Tang W.* Apoptosis occurs after cerebral contusions in humans. *Neurosurgery* 2000; 46: 949—956.
13. *Zhang X., Graham S., Kochanek P.* Caspase-8 expression

- and proteolysis in human brain after severe head injury. *FASEB J* 2003; 17: 1367—1369.
14. Zhang X., Chen J., Graham S. *et al.* Intranuclear localization of apoptosis-inducing factor (AIF) and large scale DNA fragmentation after traumatic brain injury in rats and in neuronal cultures exposed to peroxyntrite. *J Neurochem* 2002; 82: 181—191.
 15. Cheema Z., Wade S. Fas/Apo [apoptosis]-1 and associated proteins in the differentiating cerebral cortex: induction of caspase-dependent cell death and activation of NF- κ B. *J Neurosci* 1999; 19: 1754—1770.
 16. Zou H., Henzel W. Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell* 1997; 90: 405—413.
 17. Boehning D., Patterson R., Sedaghat L. Cytochrome C binds to inositol(1,4,5)triphosphate receptors amplifying calcium-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol* 2003; 5: 1051—1061.
 18. Nau R., Haase S., Bunkowski S. Neuronal apoptosis in the dentate gyrus in humans with subarachnoid hemorrhage and cerebral hypoxia. *Brain Pathol* 2002; 12: 329—336.
 19. Cao G., Clark R., Pei W. Translocation of apoptosis-inducing factor in vulnerable neurons after transient cerebral ischemia and in neuronal cultures after oxygen-glucose deprivation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 1137—1150.
 20. Graham S., Chen J., Clark R. Bcl-2 family gene products in cerebral ischemia and traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 2000; 17: 831—841.
 21. Seyfried D., Han Y., Zheng Z. Cathepsin B and middle cerebral artery occlusion in the rat. *J Neurosurg* 1997; 87: 716—723.
 22. Newcomb J., Zhao X., Pike B. Temporal profile of apoptotic-like changes in neurons and astrocytes following controlled cortical impact injury in the rat. *Exp Neurol* 1999; 158: 76—88.
 23. Cheng Y., Deshmukh M., DaCosta A. *et al.* Caspase inhibitor affords neuroprotection with delayed administration in a rat model of neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *J Clin Invest* 1998; 101: 1992—1999.
 24. Li L., Luo X., Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature* 2001; 412: 95—99.
 25. Zhang X., Satchell M., Clark R. Apoptosis. In: *Brain Injury*. Edited by Clark. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2001; p. 199—230.
 26. Chai J., Du C., Wu J. Structural and biochemical basis of apoptotic activation by Smac/DIABLO. *Nature* 2000; 406: 855—862.
 27. Clark R., Kochanek P., Adelson P. *et al.* Increases in bcl-2 protein in cerebrospinal fluid and evidence for programmed cell death in infants and children after severe traumatic brain injury. *J Pediatr* 2000; 137: 197—204.
 28. Antonsson B., Conti F., Ciavatta A. *et al.* Inhibition of Bax channel-forming activity by Bcl-2. *Science* 1997; 277: 370—372.
 29. Bilsland J., Harper S. Caspases and neuroprotection. *Curr Opin Invest Drugs* 2002; 3: 1745—1752.
 30. Lemaire C., Andreau K., Souvannavong V. Inhibition of caspase activity induces a switch from apoptosis to necrosis. *FEBS Lett* 1998; 425: 266—270.
 31. Ang B., Yap E., Lim J. Poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase expression in human traumatic brain injury. *J Neurosurg* 2003; 99: 125—130.
 32. Ertel W., Keel M., Stocker R. Detectable concentrations of Fas ligand in cerebrospinal fluid after severe head injury. *J Neuroimmunol* 1997; 80: 93—96.
 33. Jenkins L., Dixon C., Peters G. Cell signaling: serine/threonine protein kinases and traumatic brain injury. In: *Brain injury*. Edited by Clark. Boston: Kluwer Academic Publishers; 2001; p. 163—180.
 34. Narayan R. *et al.* Clinical trials in head injury. *J Neurotrauma* 2002; 19: 503—557.
 35. Rink A., Fung K.-M., Trojanowski J. Evidence of apoptotic cell death after experimental traumatic brain injury in the rat. *Am J Pathol* 1995; 147: 1575—1583.
 36. Lee D., Long S. Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality. *J Biol Chem* 2000; 275: 16007—16014.
 37. Clark R., Chen M., Kochanek P. *et al.* Detection of single- and double-strand DNA breaks after traumatic brain injury in rats: comparison of in situ labeling techniques using DNA polymerase I, the Klenow fragment of DNA polymerase I, and terminal deoxynucleotidyl transferase. *J Neurotrauma* 2001; 18: 675—689.
 38. Liou A. *et al.* To die or not to die for neurons in ischemia, traumatic brain injury and epilepsy: a review on the stress-activated signaling pathways and apoptotic pathways. *Prog Neurobiol* 2003; 69: 103—142.
 39. Zhou C., Yamaguchi M., Kusaka G. Caspase inhibitors prevent endothelial apoptosis and cerebral vasospasm in dog model of experimental subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 2004; 24: 419—431.
 40. Portera-Cailliau C., Price D., Martin L. Non-NMDA and NMDA receptor-mediated excitotoxic neuronal deaths in adult brain are morphologically distinct: further evidence for an apoptosis-necrosis continuum. *J Comp Neurol* 1997; 378: 88—104.
 41. Felderhoff-Mueser U., Sifringer M. Pathways leading to apoptotic neurodegeneration following trauma to the developing rat brain. *Neurobiol Dis* 2002; 11: 231—245.
 42. Xu R., Nakamura T. Specific inhibition of apoptosis after cold-induced brain injury by moderate postinjury hypothermia. *Neurosurgery* 1998; 43: 107—114.
 43. Adelson P., Whalen M., Kochanek P. Blood brain barrier permeability and acute inflammation in two models of traumatic brain injury in the immature rat a preliminary report. *Acta Neurochir Suppl* 1998; 71: 104—106.
 44. Borisenko G., Matsura T., Liu S. Macrophage recognition of externalized phosphatidylserine and phagocytosis of apoptotic jurkat cells existence of a threshold. *Arch Biochem Biophys* 2003; 413: 41—52.
 45. Clark R., Kochanek P., Watkins S. *et al.* Caspase-3: mediated neuronal death after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem* 2000; 74: 740—753.
 46. Edwards A., Yue X. Specific inhibition of apoptosis after cerebral hypoxia/ischaemia by moderate post-insult hypothermia. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 217: 1193—1199.

47. *Eldadah B., Yakovlev A., Faden A.* A new approach for the electrophoretic detection of apoptosis. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 4092—4093.
48. *Lemaire C., Andreau K., Souvannavong V.* Inhibition of caspase activity induces a switch from apoptosis to necrosis. *FEBS Lett* 1998; 425: 266—270.
49. *Hetz C., Russelakis-Carneiro M., Maundrell K.* Caspase-12 and endoplasmic reticulum stress mediate neurotoxicity of Pathological prion protein. *J EMBO* 2003; 22: 5435—5445.
50. *Larner S., Hayes R., McKinsey D.* Increased expression and processing of caspase-12 after traumatic brain injury in rats. *J Neurochem* 2004; 88: 78—90.
51. *Leker R., Ahronowiz M.* The role of p53 induced apoptosis in cerebral ischemia: effects of the p53 inhibitor pifithrin alpha. *Exp Neurol* 2004; 187: 486—487.