

神经疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.2014.02.007

全脑缺血损伤大鼠大脑海马 CA1 区神经细胞的死亡机制研究

季红超¹, 包翠芬², 刘玉玲², 邵佑之², 刘霞¹

(辽宁医学院 1. 组织胚胎学教研室; 2. 科学实验中心, 锦州 121001)

【摘要】目的:探讨全脑缺血损伤时大鼠大脑海马 CA1 区神经细胞的死亡机制。**方法:**采用双侧颈总动脉夹闭的方法制作大鼠全脑缺血模型, 成功制造模型后分别于缺血 0、5、10、15、20、25、30 min 进行取材。采用 TTC 染色和脑组织含水量进行模型鉴定; 采用光学、电子显微镜技术观察全脑缺血大鼠的大脑海马 CA1 区的形态学变化; 分别采用免疫组化和免疫印迹方法检测大鼠大脑海马 CA1 区的多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1 (poly adenosine diphosphate ribose polymerase-1, PARP-1) 和半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 蛋白的表达情况。**结果:**PARP-1 阳性表达定位于海马 CA1 区神经细胞核, Caspase-3 阳性表达定位于细胞质。PARP-1 的免疫印迹在缺血 0 min 组大鼠海马 CA1 区呈微弱表达 ($0.023\ 3 \pm 0.035\ 1$), 而 5 min 时 PARP-1 的表达增强 ($0.710\ 0 \pm 0.112\ 7$), 至 15 min 时呈高表达 ($1.063\ 3 \pm 0.090\ 7$), 持续至 30 min ($1.490\ 0 \pm 0.183\ 3$), 且与 0 min 组比较差异有统计学意义 ($P=0.000$)。而缺血 0 min 时大鼠海马 CA1 区 Caspase-3 则呈阴性表达, 于缺血 5 min 时可见阳性表达 ($0.080\ 0 \pm 0.020\ 0$), 持续至 30 min ($0.270\ 0 \pm 0.052\ 9$), 且与 0 min 组比较差异有统计学意义 ($P=0.006$)。**结论:**细胞凋亡参与了全脑缺血性损伤大鼠海马 CA1 区神经细胞死亡, 其原因是由 PARP-1 的过度激活所导致。

【关键词】全脑缺血; 海马; 凋亡; 多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1; 半胱氨酸蛋白酶-3

【中图分类号】R743.9

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-01-09

Cell death mechanism in hippocampal CA1 region of rat with global cerebral ischemic injury

Ji Hongchao¹, Bao Cuifen², Liu Yuling², Shao Youzhi², Liu Xia¹

(1. Teaching and Research Section of Histology and Embryology; 2. Scientific Laboratory Central, Liaoning Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the cell death mechanism in hippocampal CA1 region of rats with global cerebral ischemic injury. **Methods:** Global cerebral ischemia model was established using bilateral carotid artery occlusion method and samples were acquired at 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min respectively after model establishment. Model identification was made by TTC staining and brain water content detection. Morphological changes in hippocampal CA1 region of rats with global cerebral ischemic injury were observed by optical and electron microscopy. Immunohistochemistry and immunoblotting were used to detect the protein expression of poly adenosine diphosphate ribose polymerase-1 (PARP-1) and Caspase-3 in hippocampal CA1 region of rats. **Results:** Positive expression of PARP-1 was located in nerve nucleus in hippocampal CA1 region and positive expression of Caspase-3 was located in the cytoplasm. PARP-1 expressed mildly in hippocampal CA1 region at 0 min ($0.023\ 3 \pm 0.035\ 1$), obviously enhanced at 5 min ($1.063\ 3 \pm 0.090\ 7$) and continued until 30 min ($1.490\ 0 \pm 0.183\ 3$), which was different from that of 0 min ($P=0.000$). Caspase-3 expressed negatively at 0 min of ischemia and expressed positively at 5 min of ischemia ($0.080\ 0 \pm 0.020\ 0$) and lasts for 30 min. there were statistical differences in expression of Caspase-3 at 5 min and 0 min ($P=0.006$). **Conclusions:** Oncosis involves in the cell death of global cerebral ischemic injury and the reason is excessive activation of PARP-1 after ischemic brain injury.

【Key words】global cerebral ischemia; hippocampus; oncosis; apoptosis; poly adenosine diphosphate ribose polymerase-1; Caspase-3

缺血型脑损伤占脑血管疾病的 50%~60%, 具有较高的复发率、致残率及致死率, 严重危害人类

健康。研究表明, 导致缺血性脑损伤的高致残率和致死率的根本原因是神经细胞死亡所致。自 2005 年国际细胞死亡命名委员会根据形态学分类将细胞死亡方式重新划分后, 对于脑缺血损伤中细胞死亡方式的研究再次成为该领域的研究热点^[1]。部分研究者认为在脑缺血中细胞的死亡方式以凋亡为

作者介绍: 季红超, Email: 3633633@qq.com,

研究方向: 脑缺血疾病基础研究。

通信作者: 刘霞, Email: 835634376@qq.com。

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目 (编号: 201102139)。

主,也有研究认为以凋亡为主^[2-3]。出现上述不同结论的原因主要在于,以往的研究中研究者通常都是在某一个固定的时间点上对脑缺血细胞死亡方式进行讨论,进而出现了不同的结论,但是在全脑缺血损伤的过程中,细胞的死亡方式应该是一个动态的过程,因此仅仅从某一个固定的时间点对细胞死亡方式进行研究是远远不够的,本实验就是从连续的时间点对全脑缺血损伤中细胞的死亡方式进行研究。通过研究脑缺血损伤中凋亡和胀亡的经典调控因子多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1(poly adenosine diphosphate ribose polymerase-1,PARP-1)和半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)的动态变化,以确定缺血性脑损伤中胀亡和凋亡情况的变化过程^[4]。

1 材料和方法

1.1 实验动物的选择

健康成年 Sprage-Dawl 大鼠,雌雄各半,体质量 200~250 g,购于辽宁医学院实验动物中心[合格证号:SYXK(辽)2003-0011]。

1.2 主要仪器及试剂

兔抗大鼠 Caspase-3 抗体(abcam 公司),羊抗大鼠 PARP-1 抗体(Santa Cruz 公司);石蜡切片机、超薄切片机(德国 Leica 公司);电泳仪、转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);透射电镜(日本电子公司)。

1.3 全脑缺血模型的建立

98 只 SD 大鼠分别采用 4 血管阻断(4-vessel occlusion, 4-VO)的方法制作大鼠全脑缺血的模型。腹腔内注射 10%水合氯醛(3 ml/kg)麻醉后,分离双侧翼孔并电凝堵塞椎动脉。2 d 后,再次麻醉,分离双侧颈总动脉,使用无损伤动脉夹夹闭颈总动脉造成全脑缺血,分别在缺血时间 0、5、10、15、20、25、30 min 时间点($n=14$)进行取材。

1.4 模型的鉴定

1.4.1 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色步骤 取缺血 0、5、10、15、20、25、30 min 各 3 只,快速断头取出大脑,-20℃冰箱中冷冻 10~30 min,用间距 2 mm 的排刀自额极向枕极对大脑行冠状切片,将脑片放于新鲜配置的 1%TTC 染液中,37℃避光孵育 30 min。生理盐水冲洗,10%福尔马林固定。缺血区脑组织为白色,正常脑组织染成红色。利用 CIAS-1000 型图像分析系统测量并计算大脑组织梗死区体积占大脑体积的百分比^[2]。

1.4.2 脑组织含水量检测步骤 取缺血 0、5、10、15、20、25、30 min 大鼠各 3 只,快速断头取出大脑组织,采用干湿重法,称重后于恒温干燥箱(60℃),干燥至恒重(约 6 h),再称量。脑组织含水量(%)=(湿重-干重)/湿重 $\times 100$ ^[3]。

1.5 光镜标本的制备方法

取各时间点大鼠各 4 只,采用 2.5%多聚甲醛灌流于前囟尾侧 4.6~2.6 mm 间冠状切取脑组织块,于灌流液中浸润固定 24 h。行常规石蜡包埋,5 μ m 厚度切片,用于 HE 染色和免疫组化染色。

1.6 HE 染色

取以上各组大鼠脑组织切片进行 HE 染色,步骤如下:石蜡切片常规脱蜡至水,苏木精染液 3~5 min,流水冲洗 1~2 min,盐酸酒精分化 30~45 s,流水冲洗 10~20 min 至返蓝,伊红染液复染 30~45 s,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。光镜下观察大脑海马 CA1 区锥体细胞病理学变化,采用 CIAS 细胞图像分析系统计数每 400 倍视野下正常神经元数量。

1.7 PARP-1 和 Caspase-3 的免疫组织化学检测

切片常规脱蜡至水,3%过氧化氢溶液处理 30 min 以去除内源性过氧化物酶,高压修复抗原,滴加适当稀释的一抗(PARP-1,1:100 稀释),4℃过夜,滴加辣根酶标记羊 IgG 37℃孵育 30 min,DAB 显色。以上各步骤之间用 0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次,苏木精复染,中性树胶封片,光镜下观察海马 CA1 区锥体细胞。阴性对照用 PBS 替代一抗。蛋白阳性表达呈棕黄色。Caspase-3 染色步骤同上。

1.8 PARP-1 和 Caspase-3 免疫印迹测定分析

取各时间点大鼠各 4 只,麻醉后取新鲜大脑海马 CA1 区组织加入 RIPA 裂解液,0℃下剪碎和超声波粉碎 20 s 后静置 30 min,4℃下 12 000 r/min 离心 20 min,留取上清液,BCA 法测定蛋白含量,并按每 20 μ l 含 50 μ g 蛋白制成样品,-20℃冰箱保存。取已制备样品适量加入电泳槽,100 V 电压下电泳,转膜,常温下半干转印,TBST 冲洗后,5%小牛血清白蛋白室温封闭 1~2 h。分别加入一抗(Caspase-3,PARP-1 抗体,稀释度为 1:1 000)4℃孵育过夜,TBST 缓冲液洗脱 3 次,每次 5 min;分别加入二抗(辣根过氧化物酶标记的 IgG 抗体,稀释度为 1:200,北京中山金桥公司)室温孵育 1 h,TBST 缓冲液洗脱 3 次,每次 5 min;ECL 发光显色;采用 β -actin 作为内参。扫描电泳条带,用凝胶分析软件分析各蛋白目的条带吸光度。根据目的条带与内参照条带吸光度的比值表示待测蛋白含量。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件对实验数据经内参校正后进行单因素方差分析。所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多个均数间的两两比较根据方差齐性检验结果分别采用 LSD- t 或 Tamhane's 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 模型鉴定结果

2.1.1 脑缺血区域检测结果 缺血 0 min 假手术组染色呈红色,未见脑缺血表现。缺血 5 min 可见少量染色呈苍白色缺血区域。随着缺血时间的延长,缺血区域逐渐增大。以缺血 30 min 最为显著(表 1,图 1)。

2.1.2 脑组织含水量测定结果 缺血 0 min 假手术组染色呈红色,未见脑缺血表现。缺血 5 min 可见少量染色呈苍白色缺血区域。随着缺血时间的延长,缺血区域逐渐增大。以缺血 30 min 最为显著(表 1)。

2.2 光镜下观察结果

光学显微镜观察发现,缺血 0 min 大脑海马 CA1 区锥体细胞组织结构致密,细胞数量多,胞质丰富,细胞核清楚,核

仁明显;间质无水肿。随着缺血时间的延长,缺血区域大脑海马 CA1 区结构疏松,层次紊乱,细胞肿胀,体积增大,胞质空泡化,核内染色质分散、聚集在核膜及核仁周围,细胞膜完整性破坏甚至崩解(表 1,图 2)。

2.3 PARP-1 和 Caspase-3 免疫组化染色结果

大脑海马 CA1 区锥体细胞 Caspase-3 阳性表达定位于细胞质和细胞核,PARP-1 阳性表达定位于细胞核。Caspase-

表 1 各时间点大鼠脑缺血体积百分比、脑组织含水量比较及海马 CA1 区神经元计数 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of percentage of infarct volume, water content and neuron counts in hippocampal CA1 area in every group ($\bar{x} \pm s$)

时间点	缺血体积占大脑体积百分比			脑组织含水量百分比			海马 CA1 区神经元计数		
	(%, n=3)			(%, n=3)			(个/高倍视野, n=5)		
	百分比	P 值 (0 min/30 min)	F 值/ P 值	百分比	P 值 (0 min/30 min)	F 值/ P 值	神经元计数	P 值 (0 min/30 min)	F 值/ P 值
缺血 0 min	0.00 ± 0.00 ^d	-/0.000	60.525/ 0.000	74.95 ± 4.59 ^c	-/0.023	1.229/ 0.023	71.33 ± 6.22 ^d	-/0.001	3.747/ 0.006
缺血 5 min	13.88 ± 1.58 ^{bd}	0.028/0.000		78.24 ± 5.99	0.479/0.091		68.17 ± 7.71 ^c	0.475/0.007	
缺血 10 min	29.40 ± 5.33 ^{bd}	0.000/0.000		80.41 ± 6.23	0.248/0.202		63.50 ± 6.41	0.083/0.083	
缺血 15 min	30.14 ± 4.59 ^{bd}	0.000/0.000		80.89 ± 6.79	0.211/0.239		60.90 ± 9.30 ^a	0.022/0.247	
缺血 20 min	50.02 ± 1.06 ^{bd}	0.000/0.000		81.16 ± 6.02	0.192/0.261		57.83 ± 4.83 ^b	0.004/0.625	
缺血 25 min	69.56 ± 10.64 ^{bd}	0.000/0.004		82.43 ± 4.29	0.121/0.388		56.50 ± 6.95 ^b	0.002/0.850	
缺血 30 min	88.91 ± 7.16 ^b	0.000/-		86.46 ± 4.34 ^b	0.023/-		55.67 ± 10.35 ^b	0.001/-	

注:与缺血 0 min 时间点比较,a,P<0.05,b,P<0.01;与缺血 30 min 时间点比较,c,P<0.05,d,P<0.01

表 2 各组大鼠大脑 PARP-1 和 Caspase-3 阳性细胞率比较 ($\bar{x} \pm s$, n=5)

Tab.2 Comparison of positive rate of PARP-1 and Caspase-3 protein expression in hippocampal CA1 area in every group ($\bar{x} \pm s$, n=5)

时间点	PARP-1 阳性细胞百分比 (%)			Caspase-3 阳性细胞百分比 (%)		
	百分比	P 值 (0 min/30 min)	F 值/P 值	百分比	P 值 (0 min/30 min)	F 值/P 值
缺血 0 min	0.00 ± 0.00 ^d	-/0.000	14.699/0.000	0.00 ± 0.00 ^d	-/0.001	3.839/0.006
缺血 5 min	4.28 ± 3.67 ^d	0.244/0.000		4.94 ± 3.77 ^a	0.029/0.208	
缺血 10 min	7.52 ± 3.03 ^{ad}	0.046/0.000		6.70 ± 2.13 ^b	0.004/0.641	
缺血 15 min	18.07 ± 6.43 ^b	0.000/0.098		8.81 ± 3.09 ^b	0.000/0.685	
缺血 20 min	19.85 ± 6.78 ^b	0.000/0.235		7.15 ± 4.45 ^b	0.000/0.794	
缺血 25 min	23.06 ± 8.46 ^b	0.000/0.749		7.93 ± 3.06 ^b	0.000/0.921	
缺血 30 min	24.22 ± 0.67 ^b	0.000/-		7.71 ± 4.84 ^b	0.001/-	

注:与缺血 0 min 时间点比较,a,P<0.05,b,P<0.01;与缺血 30 min 时间点比较,c,P<0.05,d,P<0.01

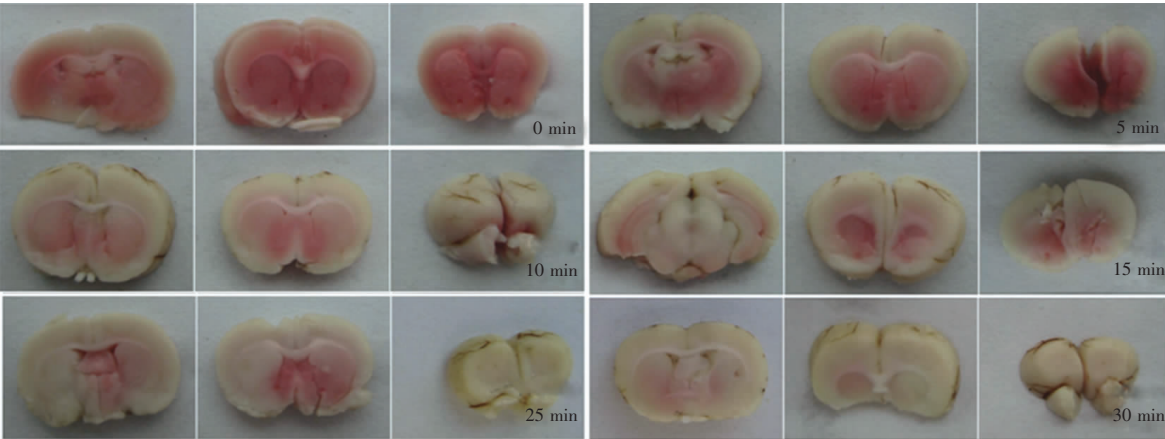


图 1 各组大鼠脑梗死体积比较 (TTC 染色)

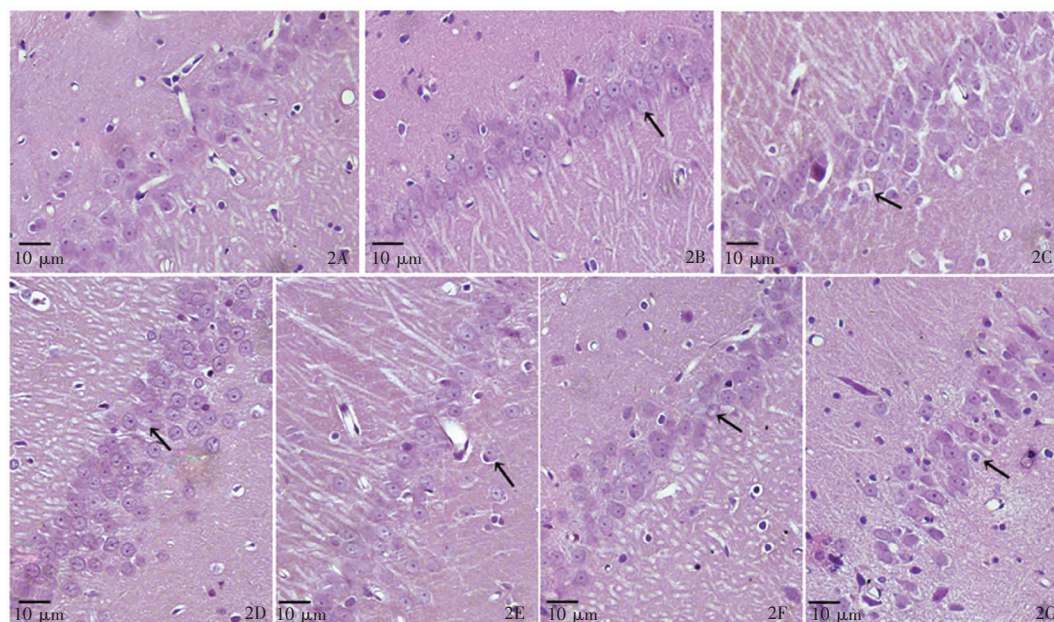
Fig.1 Comparison of cerebral infarction volume in every group (TTC staining)

3 蛋白于缺血 0 min 未见表达,呈阴性反应(图 3A),于缺血 5 min 出现,并一直呈现低表达。PARP-1 于缺血 0 min 未见表达,于缺血 5 min 后出现,随时间延长阳性细胞数量逐渐增多,至缺血 15 min 达到最多,持续至缺血 30 min(图 3、4)。

2.4 免疫印迹的结果

PARP-1 的免疫印迹在缺血 0 min 大脑海马 CA1 区呈微弱表达($0.023\ 3 \pm 0.035\ 1$),而 5 min 时 PARP-1 的表达增强($0.710\ 0 \pm 0.112\ 7$),10 min 为($0.766\ 7 \pm 0.176\ 1$),至 15 min

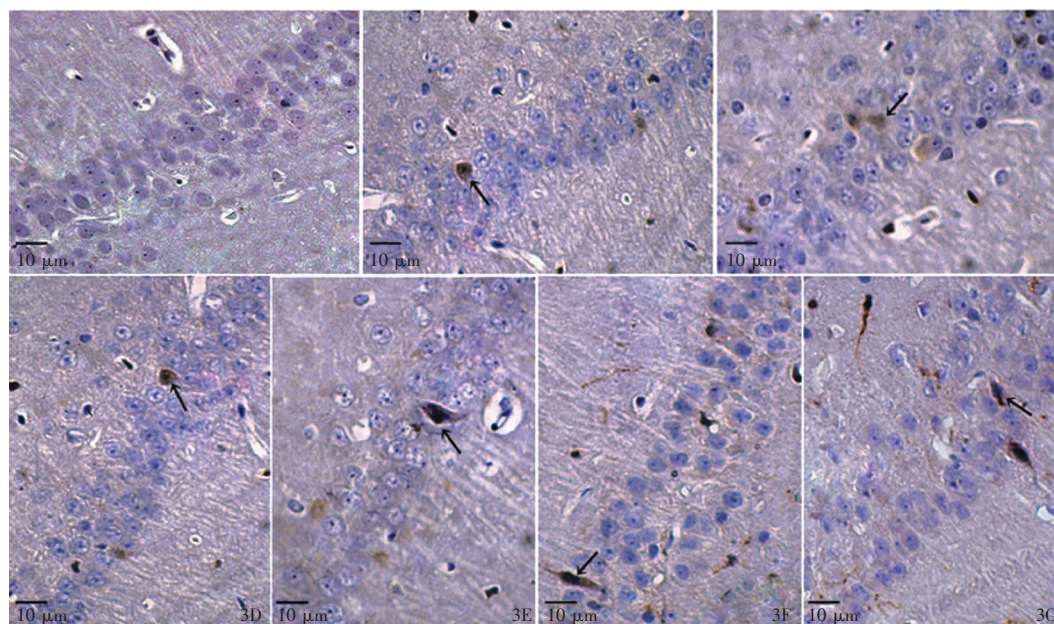
至 25 min 时呈高表达分别为 $1.063\ 3 \pm 0.090\ 7$ 、 $1.366\ 7 \pm 0.259\ 2$ 、 $1.383\ 3 \pm 0.176\ 7$,持续至 30 min($1.490\ 0 \pm 0.183\ 3$),且与 0 min 组比较差异有统计学意义($P=0.000$)。而缺血 0 min 时大脑海马 CA1 区 Caspase-3 则呈阴性表达,于缺血 5 min 时可见阳性表达($0.080\ 0 \pm 0.020\ 0$),10、15、20、25 min 表达量分别为 $0.096\ 7 \pm 0.015\ 3$ 、 $0.130\ 0 \pm 0.026\ 5$ 、 $0.240\ 0 \pm 0.010\ 0$ 、 $0.150\ 0 \pm 0.036\ 1$,持续至 30 min($0.270\ 0 \pm 0.052\ 9$),且与 0 min 比较差异有统计学意义($P=0.006$)。见图 5。



箭头示受损的神经细胞

图 2 各组大鼠大脑海马 CA1 区的病理学变化 (HE 染色)

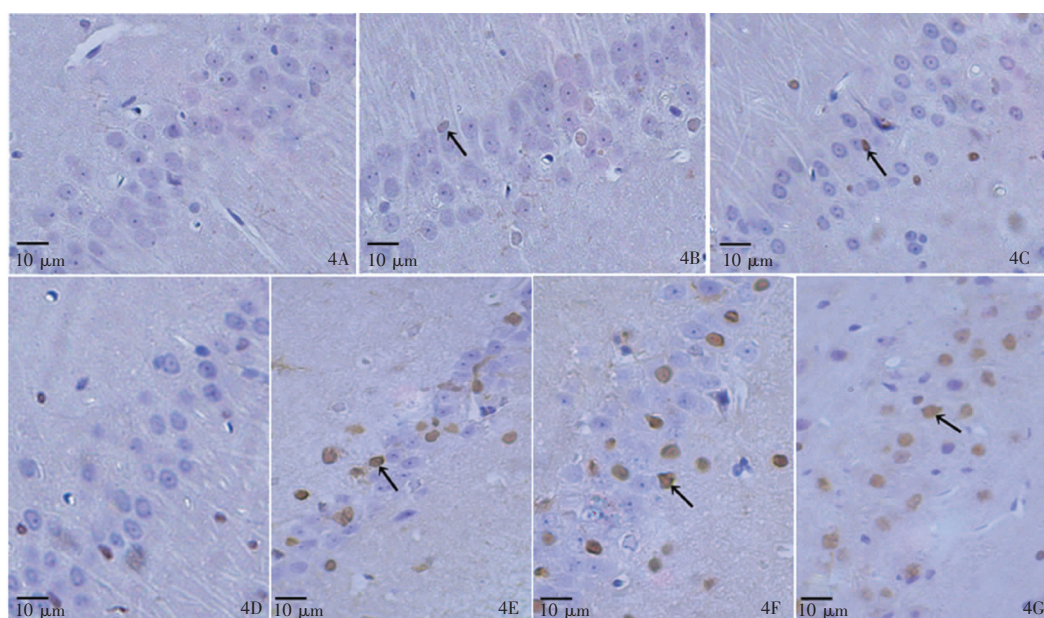
Fig.2 Pathological changes in hippocampal CA1 area in every group (HE staining)



箭头示阳性表达细胞

图 3 各组大鼠大脑 Caspase-3 蛋白表达 (免疫组化法, DAB 显色)

Fig.3 Expression of Caspase-3 protein in hippocampal CA1 area in every group (IHC, DAB staining)



箭头示阳性表达细胞

图 4 各组大鼠大脑 PARP-1 蛋白表达 (免疫组化法, DAB 显色)

Fig.4 Expression of PARP-1 protein in hippocampal CA1 area in every group (IHC, DAB staining)

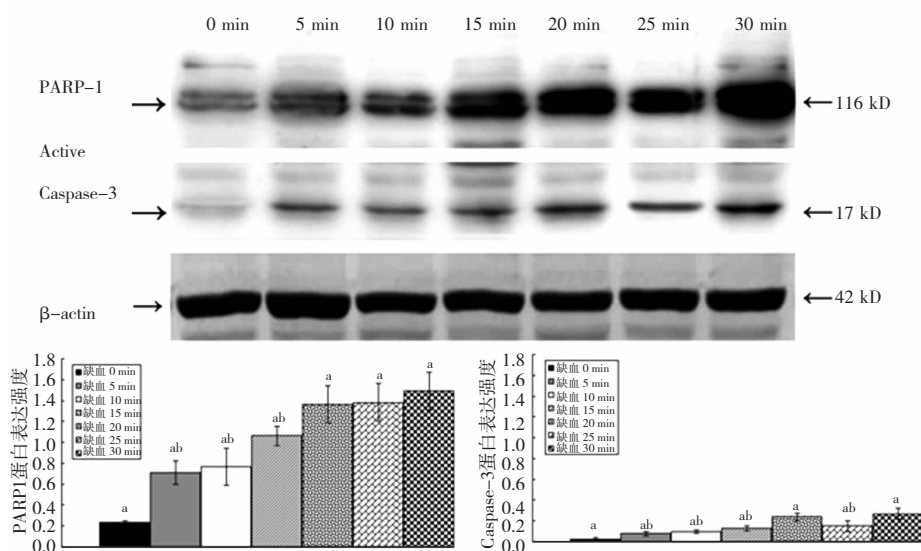
a, 与缺血 0 min 时间点比较, $P < 0.05$; b, 与缺血 30 min 时间点比较, $P < 0.05$

图 5 大鼠大脑海马 CA1 区 PARP-1 和 Caspase-3 的免疫印迹条带

Fig.5 Western blot strips of PARP-1 and Caspase-3 proteins in hippocampal CA1 area in every group

3 讨论

1995年 Magno 和 Joris^[9]首次提出细胞胀亡的概念,认为肿胀的死亡细胞即为胀亡。1997年3月美国毒理病理学家学会经过讨论,将坏死作为诊断名称,而将胀亡作为坏死的途径提出。同时对胀亡的形态学表现进行了描述:细胞肿胀,体积增大,胞质空泡化,核内染色质分散、聚集在核膜及核仁周围,

胞膜起泡,通透性增加,细胞膜完整性破坏甚至崩解,最后细胞核溶解,导致细胞内容物外溢。以往研究认为坏死是不可调控的,而2009年和2012年细胞死亡命名委员会进一步对细胞死亡的调控机制进行了论述,认为部分坏死(如继发于胀亡的坏死)是可以调控的^[6]。一般认为,PARP-1是胀亡的主要调节因子,Caspase-3是凋亡的主要调节因子^[7-8]。当PARP-1被激活时细胞的死亡方式倾向于胀亡,而

当 Caspase-3 被激活时细胞的死亡方式则倾向于凋亡,因某些基因的表达,引起核酸内切酶和蛋白裂解的合成,导致 DNA 的断裂,出现形态改变。PARP-1 是 PARP 家族中一个主要成员,被激活后它的活性占 PARP 总活性的 90%。生理条件下适当的 PARP-1 激活与 DNA 修复机制相互配合来维持细胞基因的稳定性。由于外源性因素如缺氧、再灌注、细胞毒等引起细胞损伤坏死过程中 PARP-1 常被过度激活,其结果产生的一系列反应如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(简称辅酶 I)耗竭、线粒体内聚核糖堆积等导致细胞死亡。由于 PARP-1 被过度激活而引起的细胞死亡被称作 PARP-1 介导的细胞死亡或细胞胀亡^[9-11]。Caspase-3 是 Caspase 家族中重要调控因子,当受到外在或内在的因素影响后,Caspase 家族被激活,引发酶联反应,启动细胞凋亡。而 Caspase-3 最后被激活而作为凋亡的执行人,常被用作确认细胞凋亡的生物化学标志^[12]。

最近有研究发现,在全脑缺血损伤中同时存在着细胞胀亡和凋亡^[13-14]。随着细胞胀亡调控机制研究的进展,缺血性脑损伤细胞死亡的调控机制再一次受到研究者的关注。本实验研究结果显示,当全脑缺血损伤之初,脑内的 PARP-1 即被激活,胀亡细胞显著增加,当大鼠全脑缺血时间为 15 min 时胀亡细胞达到峰值后趋于平稳;而脑内 Caspase-3 激活则于缺血性损伤 5 min 时方可出现,缺血 20 min 时表达增高,至缺血 30 min 达到最高。本研究推测,全脑缺血初期细胞内 PARP-1 受到缺血缺氧的刺激被过度激活,15 min 后达到高峰期。此时,细胞内 Caspase 家族也受到缺氧等因素的影响产生了系列的酶促反应,最终导致 Caspase-3 的活化。而作为 Caspase-3 的底物之一,部份活化的 PARP-1 可被其酶切后失去活性。虽然持续的缺血缺氧导致过量的 PARP-1 活化,但是 Caspase-3 的酶切效应使得部分 PARP-1 失活,使其表达水平维持在一个动态的平衡状态。而 PARP-1 的过度活化消耗了大量的 ATP,使细胞膜的稳定性遭到破坏,导致部分细胞发生胀亡。而 Caspase-3 活化也促进了其他受损细胞发生凋亡。研究证实,从脑缺血损伤开始到不可逆胀亡之间存在着一个 DNA 可修复的时间段^[2],如果在这一时间段中可以进行有效的干预,将会改善缺血的预后,因此本课题组认为尽早应用 PARP-1 抑制剂抑制细胞的胀亡可减轻细胞核组织的损伤,增加组织血流供应,促进组织的修复,对脑缺血预后

有着十分重要的临床意义。本研究仅探讨了全脑缺血早期海马 CA1 区锥体细胞 PARP-1 和 Caspase-3 的活化情况,虽然该区域是大脑缺血的敏感区,但是不能完全代替其他脑区的表现,有必要对其他脑区的细胞凋亡和胀亡机制进行深入研究。此外,PARP-1 和 Caspase-3 的活化对于神经胶质细胞的结构和功能是否也存在一定的影响,都是有待进一步探讨的问题。

参 考 文 献

- [1] Kroemer G, El-Deiry WS, Golstein P. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death[J]. Cell Death Differ, 2005, 12(s2): 1463-1467.
- [2] Chu X, Fu X, Zou L, et al. Oncosis, the possible cell death pathway in astrocytes after focal cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2007, 1149: 157-164.
- [3] Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia[J]. Stroke, 2009, 40(5): e331-e339.
- [4] Moroni F. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) and postischemic brain damage[J]. Curr Opin Pharmacol, 2008, 8(1): 96-103.
- [5] Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death[J]. Am J Pathol, 1995, 146(1): 3-15.
- [6] Levin S. Apoptosis, necrosis, or oncosis; what is your diagnosis? a report from the Cell Death Nomenclature Committee of the Society of Toxicologic Pathologists[J]. Toxicol Sci, 1998, 41(2): 155-156.
- [7] Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009[J]. Cell Death Differ, 2009, 16(1): 3-11.
- [8] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012[J]. Cell Death Differ, 2012, 19(1): 107-120.
- [9] Wyrch P, Blenn C, Bader J, et al. Cell death and autophagy under oxidative stress: roles of poly(ADP-ribose) polymerases and Ca(2+)[J]. Mol Cell Biol, 2012, 32(17): 3541-3553.
- [10] Drel'VR, Shymans'kyi IO, Sybirna NO, et al. Role of PARP and protein poly-ADP-ribosylation process in regulation of cell functions[J]. Ukr Biokhim Zh, 2011, 83(6): 5-34.
- [11] Weerasinghe P, Buja LM. Oncosis: an important non-apoptotic mode of cell death[J]. Exp Mol Pathol, 2012, 93(3): 302-308.
- [12] Pradelli LA, BenetEAU M, Ricci J. Mitochondrial control of caspase-dependent and independent cell death[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(10): 1589-1597.
- [13] Li X, Klaus JA, Zhang J, et al. Contributions of poly(ADP-ribose) polymerase-1 and -2 to nuclear translocation of apoptosis-inducing factor and injury from focal cerebral ischemia[J]. J Neurochem, 2010, 113(4): 1012-1022.
- [14] Ford AL, Lee JM. Climbing STAIRs towards clinical trials with a novel PARP-1 inhibitor for the treatment of ischemic stroke[J]. Brain Res, 2011, 1410: 120-121.

(责任编辑:冉明会)