



Necrosis Neuronal Programada

Programmed Neuronal Necrosis

María Leonor López-Meraz^{1,2}, Enrique Juárez-Aguilar³, Jesús Servando Medel-Matus^{1,2}, Dulce Mariely Álvarez Croda^{1,2}, Ricardo Galán Zamora^{1,2}, César A. Pérez Estudillo¹, María Elena Hernández¹, Marta Miquel⁴, Jorge Manzo¹.

RESUMEN

Desde el punto de vista morfológico, la muerte celular se ha clasificado en numerosos tipos, siendo los principales la necrosis, caracterizada por la ruptura de la membrana plasmática y el hinchamiento de organelos, y la apoptosis, en la que se observa condensación nuclear mientras la membrana celular se encuentra intacta. Tradicionalmente, la apoptosis se ha denominado muerte celular programada, ya que se relaciona con la ejecución de un mecanismo intracelular orquestado que implica la expresión génica, la síntesis de proteínas y activación de caspasas. En cambio, la necrosis, se asume como un mecanismo pasivo que se genera por la entrada masiva de iones y agua al interior celular. Sin embargo, evidencia actual apunta a la existencia de muerte celular con morfología necrótica, pero cuya génesis implica la ejecución regulada de eventos intracelulares. Específicamente para el caso de las neuronas, este tipo de necrosis “activa” se ha observado en ciertas condiciones experimentales y se ha denominado ya sea “necrosis programada” ó “necroptosis”, dependiendo del mecanismo de señalización involucrado. El objetivo de esta revisión es describir el conocimiento actual sobre estas formas de necrosis neuronal con énfasis en los mecanismos de la “necrosis programada”.

PALABRAS CLAVE:

Muerte celular, muerte neuronal, necrosis, apoptosis.

ABSTRACT

Cell death has been classified in different types considering the morphological features displayed; the main categories are necrosis and apoptosis. Necrosis is characterized by rupture of plasmatic membrane and organelle swelling, while apoptosis courses with high chromatin condensation without disruption of cell membrane. Traditionally, apoptosis has been denominated programmed cell death, since it is associated with the execution of an orchestrated program which implies gen expression, protein synthesis and caspase activation; whereas necrosis has been considered a passive and disordered phenomenon generated by the massive influx of ions and water to the cell. However, recent evidence points to the existence of a type of cell death with necrotic morphology, which implies the execution of well-regulated cell events. Specifically for neurons, this type of active necrosis has been observed under specific experimental conditions and has been termed programmed necrosis or necroptosis. The goal of this review is to describe the mechanisms known about these forms of necrosis in neurons emphasizing the knowledge existing nowadays about programmed necrosis.

KEY WORDS:

Cell death, neuronal cell death, necrosis, apoptosis.

¹Centro de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana.

²Posgrado en Neuroetología, Universidad Veracruzana.

³Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana.

⁴Área de Psicobiología, Universidad Jaume I, Castellón, España.

Correspondencia:

Dra. María Leonor López-Meraz

Centro de Investigaciones Cerebrales, Universidad Veracruzana

Av. Luis Castelazo s/n Carr. Xalapa-Veracruz, Km. 3.5 Col. Industrial-Ánimas, C.P. 91190, Xalapa, Veracruz, México.

Correo-e: leonorlopez@uv.mx

Tel: + 52 (228) 8418900 Ext. 13609

INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo la muerte celular se ha descrito en términos morfológicos y bioquímicos, e incluso como una mezcla de ambos criterios, pero cierto es que la clasificación de la muerte celular se basa principalmente en la morfología. En este contexto y de acuerdo al Comité de Nomenclatura sobre Muerte Celular (*The Nomenclature Committee on Cell Death*) se considera que una célula está muerta cuando ha perdido la integridad de su membrana plasmática (definido por la incorporación de colorantes vitales *in vitro*, e.g. el yoduro de propidio); ha sufrido fragmentación completa, incluyendo su núcleo, en pequeños cuerpos (frecuentemente denominados cuerpos apoptóticos) y/o el cadáver (o los fragmentos) han sido engullidos por una célula adyacente *in vivo*¹. Este mismo comité ha dividido a la muerte celular en cinco tipos principales: apoptosis, autofagia, necrosis, cornificación y atípica (ésta última incluye a la catástrofe mitótica, anoikis, excitotoxicidad, degeneración valeriana, paraptosis, pironecrosis y entosis)¹. Sin embargo, debe mencionarse que esta clasificación incluye los diferentes ejemplos de muerte celular que se han observado, muchos de los cuales son exclusivos para un tipo celular particular, tal es el caso de la cornificación que ocurre específicamente en la epidermis¹. Para el lector interesado en conocer los detalles de estos tipos de muerte celular, se recomienda ampliamente la clasificación reportada por Kroemer y colegas¹. Vale la pena destacar que en esta categorización, se menciona a la excitotoxicidad como un fenómeno atípico propio de las neuronas, indicando que es causada por la activación de receptores glutamatérgicos del tipo NMDA y el influjo de iones calcio (Ca⁺⁺) que su apertura promueve. Sin embargo, debe tenerse claro, que las neuronas pueden morir por apoptosis o necrosis, lo cual puede depender en gran medida de la magnitud y la naturaleza del estímulo que desencadena la muerte celular, así como de otros aspectos fisiológicos propios de cada estirpe neuronal, incluyendo el nivel de maduración de las mismas^{2,3,4}.

Apoptosis vs necrosis

Aún hoy en día, existe controversia en los criterios que permiten la distinción entre apoptosis y necrosis. Sin embargo, la clasificación original de los tipos de muerte celular considera a la morfología para su identificación. Con el advenimiento de numerosas técnicas bioquímicas, se identificó que la apoptosis cursaba con la síntesis y activación de proteínas, e incluso con la expresión de genes específicos, razón por la cual se le calificó como un proceso activo. Además, a la apoptosis se le consideró ordenada, ya que las caspasas se activan durante este proceso, lo hacían de manera específica y altamente organizada. En cambio, en los primeros estudios, la necrosis se caracterizó por ejecutarse en ausencia de síntesis proteica e independiente de

un programa celular definido, razón por la que se consideró un proceso pasivo y desordenado^{1,4}. Efectivamente, este tipo de necrosis es la que prevalece; sin embargo, investigaciones realizadas en los últimos años, muestran que puede existir una forma de necrosis que sigue un programa específico de ejecución, y por lo tanto se considera activa.

Características morfológicas

Como se mencionó anteriormente, la apoptosis y la necrosis pueden identificarse por diferentes criterios morfológicos¹. A este respecto, las características morfológicas propias de la necrosis incluyen el hinchamiento temprano de los organelos intracelulares como las mitocondrias y el retículo endoplásmico, así como de la célula en general (oncosis) y la ruptura de la membrana plasmática; mientras que el núcleo se mantiene relativamente preservado^{1,5}. En cambio, la apoptosis se caracteriza por cambios iniciales en el núcleo celular que incluyen la condensación de la cromatina (picnosis) y su ruptura en fragmentos (cariorrhexis), mientras que los organelos citoplasmáticos se encuentran relativamente normales y la membrana celular intacta hasta etapas muy avanzadas^{1,6}. Frecuentemente en estados avanzados de la apoptosis, se observan los llamados cuerpos apoptóticos, fragmentos de la célula muerta los cuales son normalmente fagocitados¹.

Aspectos bioquímicos

Tradicional e históricamente, la apoptosis se considera un proceso activo y ordenado, dependiente de la síntesis de proteínas y de la expresión génica y que involucra la activación de un programa de muerte celular, e.g., la activación de caspasas⁷. En contraste, la necrosis se considera un proceso descontrolado que se origina por una falla en los procesos que mantienen el estado energético celular, lo que ocasiona la entrada masiva de iones a la célula, su hinchamiento y subsecuente explosión⁸.

Diversos atentados a la integridad cerebral pueden inducir muerte neuronal, debido a la activación de un programa de muerte celular. Los procesos mejor caracterizados son las vías extrínseca e intrínseca, los cuales ofrecen varias alternativas de activación de las caspasas, una familia de cisteína-proteasas activamente implicadas en la muerte celular⁹. La activación de la vía “extrínseca” involucra la participación de receptores localizados en la membrana plasmática comúnmente llamados “receptores de muerte celular”, que pertenecen a la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF). La activación de dichos receptores, promueve a su vez la activación de la caspasa-8, la cual eventualmente activa a la caspasa-3. Esta última, la “caspasa ejecutora” mata a la célula a través de sus efectos proteolíticos, promoviendo el rompimiento del citoesqueleto, activando la ruptura del ADN y desactivando a las enzimas de reparación del

ADN, entre otras acciones. En la vía “intrínseca”, la mitocondria juega un papel crítico. El citocromo c es liberado del espacio intermembranal de la mitocondria al citosol, y allí interactúa con el factor apoptótico activador de proteasas (*apoptotic protein factor-1*, APAF-1) y ATP para formar el apoptosoma, mismo que posteriormente activa a la caspasa-9, misma que a su vez promueve la activación de la caspasa-3 quien finalmente causa la muerte celular por procesos similares a los ya descritos¹⁰. Las caspasas-8 y -9 son denominadas también como caspasas “iniciadoras” (además de las caspasas 2 y 10), ya que su activación promueve la iniciación del programa de muerte celular, mientras que la caspasa-3 (además de las caspasas 6 y 7) se denomina “ejecutora” al ser responsable de las últimas etapas del proceso¹¹.

Debemencionarse que actualmente se han caracterizado numerosos factores adicionales implicados en los procesos de muerte celular, mismos que pueden ser “dependientes” de caspasas, *i.e.*, aquellos cuyo proceso implica la activación de las vías extrínseca o intrínseca de muerte celular, o bien procesos “independientes” de caspasas, los cuales como su nombre lo indica, se llevan a cabo sin implicación de esta familia de proteasas y que pueden incluir a otros actores mitocondriales como el factor inductor de apoptosis (*apoptosis inducing factor*, AIF), la endonucleasa-G, así como miembros de la familia de factores apoptóticos Bcl-2 como Bax, entre muchos otros^{12,13}.

Necrosis neuronal y programas de muerte celular

En años recientes, se han identificado algunos tipos de muerte neuronal con morfología necrótica, pero asociados a la expresión o activación de marcadores bioquímicos de muerte celular. Estos hallazgos, han promovido el estudio conjunto de aspectos morfológicos y bioquímicos de la muerte neuronal. Sin embargo, aún aceptando que la necrosis no es un fenómeno pasivo, existen diferentes mecanismos implicados en este proceso. De hecho la literatura no ha estandarizado los términos a emplearse para esta forma de necrosis, de manera que necrosis activa, necrosis programada, aponecrosis y necroptosis pueden parecer sinónimos. No obstante, esta revisión propone clasificar a la “necrosis activa” en al menos dos categorías considerando los procesos de ejecución conocidos hasta el momento (Figura 1). Entonces, la “necrosis activa” puede dividirse en: 1) “necrosis programada”, la cual es dependiente de caspasas y 2) necroptosis, la cual implica la participación de la cinasa serina/treonina denominada proteína de interacción con receptores tipo 1 (*Receptor Interacting Protein-1*, RIP1). En los siguientes apartados se pretende describir más a detalle estos tipos de necrosis.

“Necrosis programada”

A mediados de la década pasada, se describió un tipo de muerte neuronal con características morfológicas de necrosis, pero con características bioquímicas de apoptosis, tales como la liberación del citocromo c y la activación de caspasas^{14,15,16}. Este fenómeno se observó en cultivos neuronales primarios en condiciones de hipoxia y de excitotoxicidad y se catalogó inicialmente como “necrosis programada”^{14,15,17}. Sin embargo, este término es frecuentemente intercambiado con el de “necrosis activa”¹⁶. En estos trabajos, la hipoxia causada por la aplicación de cianuro de sodio a cultivos primarios de neuronas granulares del giro dentado, produjo una forma de “necrosis programada” con un mecanismo independiente de la síntesis de proteínas, pero asociada con la pérdida del potencial de membrana mitocondrial, la liberación del citocromo c de la mitocondria y la activación de la caspasa-9, secundada por la activación de la caspasa-3¹⁴. Un proceso similar de “muerte neuronal programada” se observó aún en presencia de antagonistas de los receptores glutamatérgicos AMPA (NBQX) y NMDA (MK-801), *i.e.* en la muerte neuronal hipóxica por mecanismos no excitotóxicos¹⁷. Por otro lado, el glutamato aplicado *in vitro* causa excitotoxicidad neuronal a través de la estimulación de los receptores tipo NMDA, proceso que promueve la activación de la vía mitocondrial de muerte celular, iniciada por la liberación de citocromo c y seguido por la activación de las caspasas-9 y -3, que finalmente produce necrosis, o más específicamente “necrosis activa”¹⁶.

Evidencia adicional refuerza la existencia de la “necrosis neuronal programada o activa” *in vivo*, aunque de manera indirecta. Uno de estos estudios evaluó la muerte neuronal causada por el *status epilepticus* (SE) en la rata adulta. El SE es una condición neurológica que cursa con crisis epilépticas persistentes que llegan a ser autosostenidas, sin que el individuo que la padece recupere el contacto con el medio exterior¹⁸ y cuyos mecanismos de generación implican a la neurotransmisión glutamatérgica, misma que también puede desencadenar muerte neuronal¹⁹. En este reporte se demostró que el SE producido por el ácido kaínico (un agonista glutamatérgico) en la rata adulta causa dos tipos de muerte en las neuronas piramidales. Un primer tipo necrótico temprano ya que se observa un día después de las convulsiones, y un tipo de necrosis tardía (3-7 días pos-SE) la cual cursa con fragmentación del ADN (determinada con la tinción de TUNEL) y con la activación de la caspasa-3²⁰. Un hecho sobresaliente, es que aunque se observaron estos marcadores bioquímicos, no se identificó muerte neuronal apoptótica, siendo la necrosis el tipo de muerte neuronal preponderante después del SE²⁰. Por otro lado, Carloni y colaboradores²¹ también identificaron que la hipoxia en ratas neonatas produjo muerte neuronal en el hipocampo y

la corteza cerebral, que estas neuronas fueron inmunoreactivas a caspasa-3 y que incorporaron al colorante yoduro de propidio (indicador de una alteración en la membrana plasmática). Cabe destacar que estos hallazgos no fueron interpretados como la existencia de tipo de necrosis “activa”, sino como un proceso de necrosis secundaria.

A partir de estos resultados, se inició el estudio conjunto de marcadores de muerte celular y de la morfología de las neuronas dañadas, para entender mejor los mecanismos celulares que inducen el daño neuronal *in vivo*, particularmente en la región CA1 del hipocampo de la rata en desarrollo después del SE inducido con el modelo de litio-pilocarpina. Los resultados sugirieron la existencia de un fenómeno similar a la “necrosis programada” observada *in vitro* y que se presenta en el área CA1 del hipocampo de ratas a las que se indujo SE durante el día postnatal 14 (P14). En estas ratas, 24 h después del SE, aproximadamente el 20% de las neuronas necróticas expresan la forma activa de la caspasa-3²², aunque no muestran activación de caspasa-9²³. Sin embargo, 6 h después del inicio del SE existe una extensa expresión de la caspasa-8 activa en el área CA1 hipocampal²³. Los hallazgos anteriores sugieren que las neuronas piramidales de CA1 podrían estar muriendo a través de un mecanismo dependiente de caspasas, pero que conlleva a una morfología necrótica^{3,22,23}. Un inhibidor general de caspasas (QVD-Oph) disminuye el número de células necróticas causadas por el SE, corroborando que este tipo de “necrosis activa” involucra la activación de estas cisteína-proteasas²³. La participación de la caspasa-8 también sugiere que la llamada vía extrínseca de muerte celular podría estar involucrada en este fenómeno. En contraste, en el giro dentado del hipocampo de la rata durante P14, el SE induce principalmente apoptosis, la cual se asocia con la activación de caspasa-3 y caspasa-9, y que posiblemente involucra la activación de la vía intrínseca de muerte celular, datos que apoyan adicionalmente la posibilidad de que la necrosis programada ocurra en tipos neuronales específicos^{3,23} (Figura 1).

De esta manera, los hallazgos previos ponen de manifiesto que esta forma de “necrosis programada” ocurre en las neuronas piramidales de CA1, pero no en las células granulares del hipocampo, lo cual sugiere que este proceso de muerte neuronal está asociado al grado de maduración de las neuronas y/o de los circuitos excitatorios de los que forman parte^{3,23}. Esta propuesta se refuerza al considerar que las neuronas granulares se desarrollan posnatalmente, mientras que las neuronas piramidales lo hacen durante la etapa fetal^{24,25,26} y que existe una regulación a la baja de algunos factores de muerte celular dependiendo de la edad del sujeto^{27,28}.

Algunos de los candidatos a activar esta vía extrínseca de muerte celular y causar necrosis programada en la región CA1

del hipocampo después del SE, son las citoquinas inflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral tipo alfa (TNF- α) y la interleucina 1-beta (IL-1 β). A este respecto, resultados preliminares de nuestro grupo de investigación muestran que la IL-1 β se expresa tempranamente en células del área CA1 piramidal (presumiblemente neuronas por su morfología)^{29,30}, región donde se identifica muerte neuronal necrótica masiva después del SE^{22,23}. Si bien es cierto que estos hallazgos son correlacionales, sugieren que esta citoquina inflamatoria podría iniciar una cascada de señalización que active a las caspasas-8 y -3 y finalmente culmine en una muerte neuronal necrótica. En cambio, después del SE existe una expresión discreta de TNF- α en la formación hipocampal, misma que no se restringe a la capa piramidal de CA1 (datos no publicados). Así, la inflamación parece estar implicada en los procesos iniciadores de la “necrosis programada” causada por el SE, aunque indudablemente es necesario realizar estudios adicionales para confirmar esta hipótesis.

Necroptosis

Este tipo de necrosis dependiente de un proceso celular organizado, se ha observado en células del sistema inmune, células cancerígenas y más recientemente en neuronas^{31,32, 33, 34}. Dentro de los agentes o mecanismos desencadenantes de la necroptosis se encuentran el TNF- α a través de su receptor TNFR1, los inhibidores de caspasas (*e.g.* el inhibidor general Z-VAD.fmk), mismos que se han estudiado en condiciones de excitotoxicidad, hipoxia o traumatismo, ya sea *in vivo* o *in vitro*^{31, 32, 33, 34, 35, 36}.

A nivel intracelular, el principal mediador de este proceso necrótico es la cinasa serina/treonina RIP1, la cual tiene un dominio de muerte que le permite interactuar con receptores membranales^{32, 33}. Sin embargo, la cascada de señalización que ocurre posterior a la activación de ésta cinasa no se conoce a detalle, aunque se propone que especies reactivas de oxígeno, factores mitocondriales, lipasas y ceramidas son los efectores de la muerte celular^{32, 35}. Otras moléculas implicadas en la necroptosis incluyen a la ciclofilina D, una peptidilpropil *cis-trans* isomerasa mitocondrial que contribuye a la denominada permeabilidad transicional mitocondrial; la polimerasa poli (ADP-ribosa) o PARP-1, una enzima de reparación de ADN, al AIF y la calpaína (proteasa dependiente de Ca⁺⁺) entre otros^{31,33}. Específicamente para el caso de las neuronas, Degtrev y colaboradores³¹, mostraron que la isquemia causada en ratones tras la ligadura de la arteria carótida media produce necroptosis, y que la necrostatina-1 (Nec-1), un inhibidor de RIP1, disminuye el tamaño de la zona infartada. Nec-1 también disminuye el daño cortical y reduce el deterioro mnemónico en ratones que sufrieron traumatismo cortical³⁶. La evidencia anterior apoya

la existencia de esta forma de necrosis neuronal activa *in vivo*. De manera similar, estudios realizados en cultivos de neuronas corticales demostraron que la necroptosis puede ser causada por el NMDA y que este efecto excitotóxico se ve disminuido por la aplicación de concentraciones crecientes de Nec-1³⁴ (Figura 1).

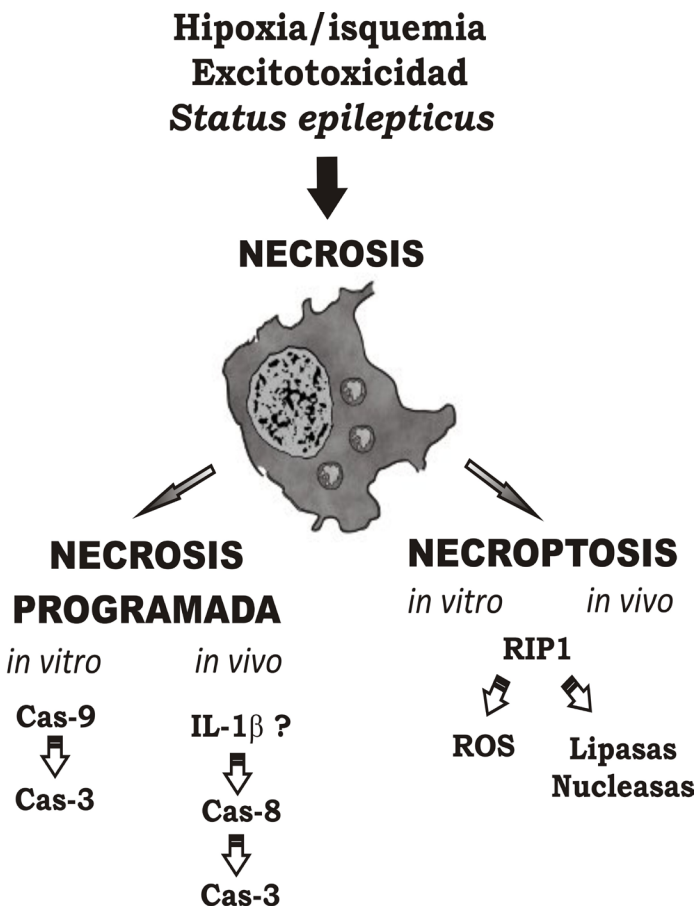


Figura 1. La hipoxia/isquemia, la excitotoxicidad, el *status epilepticus* y el traumatismo cerebral pueden causar muerte neuronal necrótica que resulte de un proceso activo: "necrosis programada" o necroptosis. Experimentos *in vitro* e *in vivo* han mostrado que estos fenómenos ocurren a través de vías de señalización diferentes. La necrosis programada es dependiente de caspasas, mientras que la necroptosis involucra a la cinasa RIP1 para llevarse a cabo. Abreviaciones: Cas-9, caspasa-9; Cas-8, caspasa-8; Cas-3, caspasa-3; RIP1, cinasa RIP1; ROS, especies reactivas de oxígeno.

CONCLUSIONES

Aún a la fecha existe discrepancia en los conceptos de necrosis y apoptosis, sobre todo porque se han mezclado aspectos morfológicos y bioquímicos, lo cual más que unificar criterios abre un abanico de posibilidades. En este contexto, las neuronas pueden morir por un proceso activo que puede culminar en necrosis: la denominada "necrosis programada" que implica la activación de un programa celular dependiente de caspasas

para llevarse a cabo, o la necroptosis, que involucra a la proteína RIP1. Los datos experimentales hasta ahora obtenidos indican que estos procesos pueden ocurrir en condiciones de hipoxia-isquemia, excitotoxicidad, *status epilepticus* y traumatismo cerebral. Finalmente, debe tenerse en cuenta que la clasificación apropiada de los procesos de muerte neuronal implica el uso correcto de los criterios morfológicos y el empleo conjunto de marcadores bioquímicos.

Agradecimientos:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el donativo de Investigación Básica CB-2008 (número 106402) otorgado a MLLM, por las becas de estudios de doctorado otorgadas a JSMM (registro 223546) y a RGZ (registro 208487), y de maestría brindada a DMAC (registro 249772). Al Programa para el Mejoramiento del Profesorado por el apoyo a Nuevos Profesores de Tiempo Completo (Oficio No. PROMEP/103.5/10/5006) otorgado a MLLM.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kroemer G y col. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ*. 2009; 16(1): 3-11.
2. Li Y y col. Induction of DNA fragmentation after 10 to 120 minutes of focal cerebral ischemia in rats. *Stroke* 1995; 26(7):1252-8.
3. Lopez-Meraz ML, Niquet J, Wasterlain CG. Distinct caspase pathways mediate necrosis and apoptosis in subpopulations of hippocampal neurons after status epilepticus. *Epilepsia* 2010; 51 (Suppl 3): 56-60.
4. Nagley P, Higgins GC, Atkin JD, Beart PM. Multifaceted deaths orchestrated by mitochondria in neurones. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1802(1):167-85.
5. Wyllie AH. Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis. In *Cell Death in Biology and Pathology*. Bowen, I.D. and Lockshin, R.A, (Eds.). Chapman and Hall, London. 1981.
6. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26:239-257.
7. Galluzzi L y col. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ* 2007; 14:1237-43.
8. Golstein P, Kroemer G. Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends Biochem Sci* 2007; 32(1):37-43.
9. Liou AKF y col. 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.
10. Li P y col. Cytochrome c and dATP-dependent formation of APAF-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 1997; 91:479-489.
11. Bao Q, Shi Y. Apoptosome: a platform for the activation of initiator caspases. *Cell Death Differ* 2007; 14:56-65
12. Niquet J, Wasterlain CG. Bim, Bad and Bax: a deadly combination in epileptic seizures. *J Clin Invest* 2004; 113:960-962.
13. Henshall DC, Murphy BM. Modulators of neuronal cell death in epilepsy. *Curr Opin Pharmacol* 2008; 8:75-81.
14. Niquet J y col. Hypoxic neuronal necrosis: protein synthesis-independent activation of a cell death program. *Proc Natl Acad Sci*

- USA 2003; 100:2825-30.
15. Niquet J, Seo DW, Wasterlain CG. Mitochondrial pathways of neuronal necrosis. *Biochem Soc Trans* 2006; 34:1347-51.
 16. Seo DW y col. Contribution of a mitochondrial pathway to excitotoxic neuronal necrosis. *J Neurosci Res* 2009; 78(4-5):131.
 17. Niquet J, Seo DW, Allen SG, Wasterlain CG. Hypoxia in presence of blockers of excitotoxicity induces a caspase-dependent neuronal necrosis. *Neuroscience* 2006; 141(1):77-86.
 18. Chen JW, Naylor DE, Wasterlain CG. Advances in the pathophysiology of status epilepticus. *Acta Neurol Scand Suppl* 2007; 186:7-15.
 19. Wasterlain CG, Shirasaka Y. Seizures, brain damage and brain development. *Brain Dev*. 1994; 16(4):279-95.
 20. Tokuhara D y col. Kainic acid dose affects delayed cell death mechanism after status epilepticus. *Brain Dev* 2007; 29:2-8.
 21. Carloni S, Carnevali A, Cimino M, Balduini W. Extended role of necrotic cell death after hypoxia-ischemia-induced neurodegeneration in the neonatal rat. *Neurobiol Dis* 2007; 27:354-61.
 22. Niquet J y col. Status Epilepticus Triggers Caspase-3 Activation and Necrosis in the Immature Rat Brain. *Epilepsia* 2007; 48:1203-6.
 23. Lopez-Meraz ML y col. Vulnerability of postnatal hippocampal neurons to seizures varies regionally with their maturational stage. *Neurobiol Dis* 2010; 37:394-402.
 24. Harris KM, Teyler TJ. Developmental onset of long-term potentiation in area CA1 of the rat hippocampus. *J Physiol* 1984; 346:27-48.
 25. Bekenstein JW, Lothman EW. An in vivo study of the ontogeny of long-term potentiation (LTP) in the CA1 region and in the dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Brain Res Dev Brain Res* 1991; 63:245-251.
 26. Bekenstein JW, Lothman EW. A comparison of the ontogeny of excitatory and inhibitory neurotransmission in the CA1 region and dentate gyrus of the rat hippocampal formation. *Brain Res Dev Brain Res* 1991; 63:237-243.
 27. Vekrellis K y col. Bax promotes neuronal cell death and is downregulated during the development of the nervous system. *Development* 1997; 124(6):1239-49.
 28. Yakovlev AG y col. Differential expression of apoptotic protease-activating factor-1 and caspase-3 genes and susceptibility to apoptosis during brain development and after traumatic brain injury. *J Neurosci* 2001; 21(19):7439-46.
 29. López-Meraz ML y col. El status epilepticus induce la expresión de la interleucina-1 β en el cerebro de la rata en desarrollo. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; 2011 Sep 10-14; León, Guanajuato, México.
 30. Álvarez-Croda DM y col. Interleukin-1 beta expression in hippocampus following status epilepticus in the developing rat. Sfn's Annual meeting of Neuroscience; 2011 Nov 12-16; Washington DC, USA.
 31. Degterev A y col. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat Chem Biol* 2005 Jul; 1(2):112-9.
 32. Christofferson D, Yuan J. Necroptosis as an alternative form of programmed cell death. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(2): 263-268.
 33. Galluzzi L, Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis. *Cell* 2008; 135(7):1161-3.
 34. Li Y y col. Necroptosis contributes to the NMDA-induced excitotoxicity in rat's cultured cortical neurons. *Neurosci Lett* 2008; 447(2-3):120-3.
 35. Chen Y. Necrosis: an energy dependent programmed cell death? *UTMJ* 2009; 86(3):110-112.
 36. You Z y col. Necrostatin-1 reduces histopathology and improves functional outcome after controlled cortical impact in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 2008; 28(9):1564-73.