جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آپوپتوز، مرگ برنامه ریزی شده سلول

دکتر محمد هاشمی*، دکتر سعید قوامی*، دکتر فاطمه کرمی تهرانی**

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی زاهدان، دانشکده پزشکی،گروه بیوشیمی بالینی
** دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی،گروه بیوشیمی بالینی، آزمایشگاه بیوشیمی سرطان

۱– مقدمه

واژه آپوپتوز برای اولین بار در سال ۱۹۷۲ میلادی توسط محققی بنام کر[۱] جهت توصیف مرگ فیزیولوژیک سلولی بر اساس تغییرات مورفولوژیکی و تمایز آن از نکروز معرفی شد.(۱) آپوپتوز کلمهٔ یونانی است و به معنی برگ‌ریزان می باشد. اغلب منابع دو واژهٔ آپوپتوز و مرگ برنامه ریزی شدهٔ سلول را مترادف هم به کار برده، عده ای دیگر نیز آپوپتوز را مهمترین نوع مرگ برنامه ریزی شدهٔ سلولی قلمداد کرده اند. این محققان مرگ برنامه ریزی شدهٔ سلولی را به صورت یک عنوان کلی جهت بیان و توصیف مرگ فیزیولوژیک سلولی به کار برده و آن را بر حسب عامل ایجاد کنندهٔ مرگ سلولی، مکانیسم عمل، تغییرات مورفولوژیک و بیوشیمیایی به دو نوع مرگ برنامه ریزی شدهٔ آپوپتوزی[۲] و مرگ برنامه ریزی شدهٔ غیرآپوپتوزی[۳] تقسیم بندی می نمایند.(۲)

آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک سلولی است که در شرایط طبیعی سبب حذف سلول های پیر، آسیب دیده، اضافی و مضر می شود و برای تکامل و هوموستاز بافتی ضروری است. آپوپتوز در ترمیم و نوسازی بافتی و نیز حذف سلول های T خود واکنش‌گر نقش دارد.(۳) هرگونه اختلال در روند آپوپتوز، منجر به بیماری می‌شود که می تواند ناشی از کاهش مرگ سلولی باشد که منجر به ایجاد و رشد سلول‌های سرطانی و یا اختلالات خود ایمنی می‌گردد. بالعکس افزایش غیر طبیعی مرگ سلولی در بیماری‌هایی نظیر اختلالات نورودژنراتیو و ایدز دیده می شود.(۴) داروهای شیمی درمانی سبب القاء آپوپتوز در سلول‌های سرطانی می شوند.(۵-۷)

۲–آپوپتوز و نکروز:

دو مکانیسم اصلی مرگ سلولی عبارتند از: آپوپتوز و نکروزکه این دو با هم تفا وت هایی دارند(۳و۸و۹) که می توان به شرح زیر خلاصه کرد:

- آپوپتوز مرگ فیزیولوژیک سلولی است و در طی تحریکات خاصی اتفاق می افتد. در حالی که نکروز مرگ پاتولوژیک سلول بوده و در طی آسیب‌های شدید به سلول از قبیل هیپوکسی، هیپرترمی و سموم خارجی، این نوع مرگ سلولی اتفاق می افتد.
- نکروز فرایند غیر فعال است و در غیاب ATP نیز اتفاق می افتد در حالی که فرایند آپوپتوز فعال بوده و به انرژی وابسته است.
- در فرایند آپوپتوز سلول چروکیده و کوچک می‌شود در حالی که در نکروز سلول متورم و بزرگ می‌شود.
- در آپوپتوز غشاء سیتوپلاسمی به صورت اجسام آپوپتوتیک در می آیند، در حالی که در نکروز غشاء تخریب می شود و سبب آزاد شدن محتویات داخل سلولی می‌شود.
- ارگانل‌های سیتوپلاسمی در فرایند آپوپتوز دست نخورده باقی می مانند، در حالی که در نکروز تخریب می‌شوند.
- تراکم کروماتین و قطعه قطعه شدن آن در روند آپوپتوز مشاهده می گردد.

---

[۱] *Kerr*
[۲] *apoptotic programmed cell death*
[۳] *non-apoptotic programmed cell death*

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

- در بافت وقوع نکروز همراه با واکنش‌های التهابی است، در حالی که آپوپتوز بدون التهاب رخ می‌دهد.

۳– مسیر های آپوپتوزی

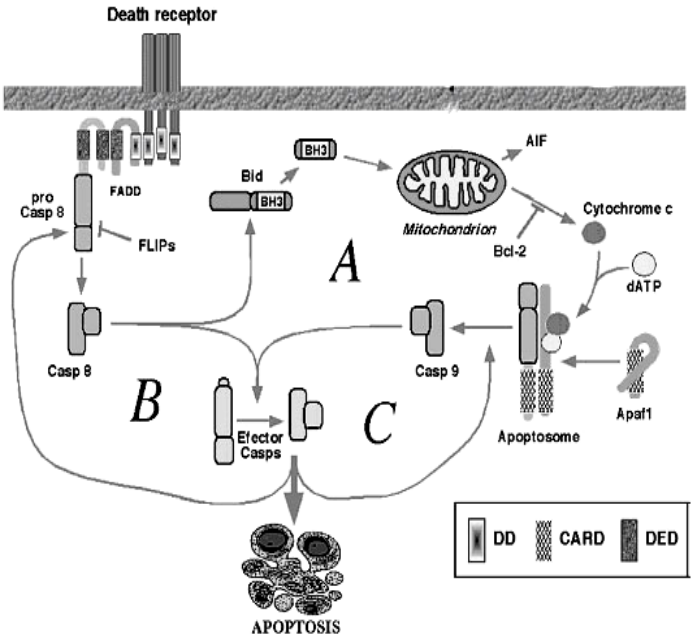
۳–۱– مسیر خارجی یا آپوپتوز القاء شده توسط گیرنده های مرگ

در غشاء پلاسمایی اغلب سلول ها گیرنده های مرگ وجود دارد. گیرنده های مرگ، اعضاء ابرخانوادهٔ گیرندهٔ فاکتور نکروز دهنده تومور[۴](TNF) می باشند. زمانی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوطه تحریک شوند، سبب فعال شدن کاسپازها و القاءآپوپتوز می گردند. ویژگی این ابر خانواده وجود توالی غنی از سیستئین در بخش خارج سلولی است. این گیرنده ها در بخش سیتوپلاسمی خود دارای توالی به نام ناحیه مرگ[۵] بوده و از این رو در انتقال پیام آپوپتوزی به درون سلول شرکت می نمایند. شناخته ترین گیرنده های مرگ عبارتند از:

CD95/Fas/Apo1, TNFR1, TNFR2, DR4/TRAIL-R1, DR5/TRAIL-R2

تحریک گیرنده های مرگ توسط لیگاند های مربوط، منجربه تریمریزاسیون گیرنده و به کارگیری پروتئین های آداپتور می گردد.[۱۰] برای مثال لیگاندCD95 (CD95L) با گیرنده مربوط به خود (CD95R) میان‌کنش نموده و باعث القاء تریمریزاسیون آن می شود. این عمل باعث تشکیل خوشهٔ مرگ در ناحیه سیتوزولی گیرنده گردیده و باعث می شود که پروتئین‌های آداپتور از قبیل FADD/Mort1[۶] به آن متصل شود. FADD دارای ناحیه مرگ (DD) درC ـ ترمینال است که این پروتئین را قادر می سازد تا به گیرندهٔ تریمریزه شده از طریق میان کنش ناحیهٔ مرگ ـ ناحیهٔ مرگ متصل گردد. همچنین این پروتئین در ناحیهٔ N ـ ترمینال دارای "ناحیهٔ مؤثرمرگ"[۷] (DED) می باشد که با ناحیهٔDED مشابه در پرودمین کاسپاز– ۸ میان کنش می کند. به این کمپلکس پروتئین ها (مجموعه لیگاند ـ گیرنده مرگ، ملکول آداپتور و پروکاسپاز)، "کمپلکس علامت دهندهٔ القاء مرگ"[۸] (DISC) گفته می شود. به این طریق پروکاسپاز– ۸ به کاسپاز– ۸ فعال تبدیل می شود.[۱۱] کاسپاز– ۸ فعال سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی شده و در نتیجه فرایند آپوپتوز صورت می گیرد. در تصویر۱ به طور شماتیک مسیر خارجی آپوپتوز نشان داده شده است.

تصویر۱– واکنش های آبشاری فعال شدن کاسپاز ها توسط گیرنده های مرگ(مسیر خارجی)[۳۱].



۳–۲– مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز

میتوکندری هم در حیات و هم در مرگ سلولی دخالت دارد. این ارگانل انرژی رایج سلول را به فرم ATP فراهم می‌سازد. هوموستاز داخل سلولی را در ارتباط با یون ها و استرس های اکسیداتیو حفظ می نماید. در پاسخ به سیگنال های مرگ سلولی، نفوذپذیری غشاء خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن مولکول های پروآپوپتوتیک از قبیل فاکتور القاء کنندهٔ آپوپتوز[۹] (AIF) ، سیتوکروم c، Smac/DIABLO و اندونوکلئاز G از فضای بین دو غشاء میتوکندری به داخل

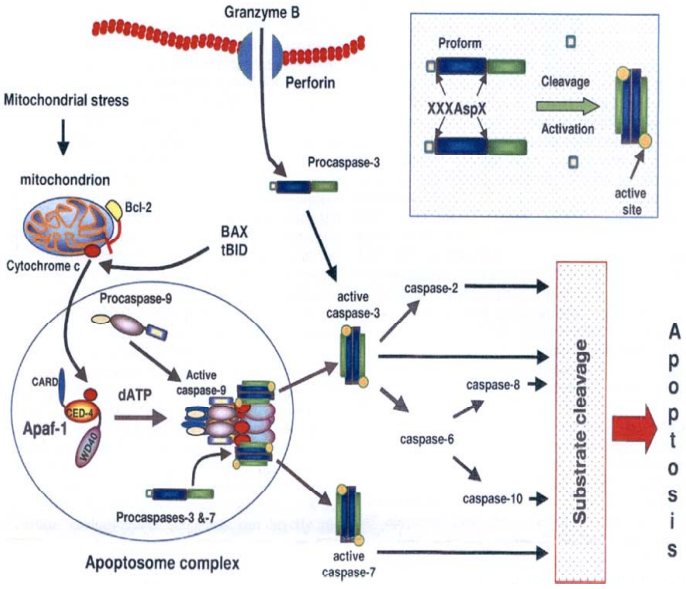
[۴] *Tumor necrosis factor*
[۵] *Death domain (DD)*
[۶] *Fas-associated death domain*
[۷] *Death effector domain (DED)*
[۸] *Death-inducing signaling complex*
[۹] *Apoptosis inducing factor (AIF)*

جهت تهیه فایل ورد این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

سیتوپلاسم می شوند. Smac/DIABLO اثر آنتاگونیستی روی مهار کنندگان کاسپاز دارد.[۱۲] فاکتور القاء کنندهٔ آپوپتوز (AIF) یک فلاوپروتئین ۵۷ کیلودالتونی است که در حالت طبیعی نقش آنتی اکسیدانی در میتوکندری به عهده دارد. بیان شده است که AIF آزاد شده از میتوکندری در طی روند آپوپتوز سبب آسیب به DNA هسته ای در مسیر مستقل از کاسپاز می شود.[۱۳] آزادشدن سیتوکروم c به نظر می رسد که یک واقعه معمول در آپوپتوز است و مکانیسمی که آزاد شدن آن را کنترل می کند در دست بررسی است. مکانیسم های احتمالی عبارتند از باز شدن "منفذ انتقال نفوذپذیری"[۱۰] میتوکندریایی، وجود کانال اختصاصی برای سیتوکروم c در غشاء خارجی میتوکندری و یا تورم و پاره شدن غشاء خارجی میتوکندری بدون از دست دادن پتانسیل غشایی.

Apaf-1 در حالت عادی درسلول به صورت بی اثر و غیر فعال حضور داشته و در پروسه آپوپتوز به سبب رهایی سیتوکروم c از میتوکندری فعال می گردد. وزن مولکولی این پروتئین ۱۳۰ کیلودالتون بوده و درناحیه انتهای آمینی دارای دمین CARD و در انتهای کربوکسیلی دارای چندین بخش تکراری از موتیف WD-40 می باشد. برای فعال شدن پروتئین Apaf-1 ایجاد میان کنش بین این پروتئین و سیتوکروم c ضروری است. با مکانیسمی که به درستی مشخص نیست، سیتوکروم c و dATP/ATP بـاعث الیگومـرشدن Apaf-1 می گردند. توالی CARD[۱۱] پروکاسپاز ـ ۹ با نسبت یک به یک به ناحیه CARD در Apaf-1 متصل گشته و سبب فعال شدن کاسپاز- ۹ می شود و کاسپاز- ۹ فعال سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی از قبیل کاسپاز- ۳ و ۷ می شود. مجموعه پروتئین Apaf-1 ، سیتوکروم c و پروکاسپاز ـ ۹ را آپوپتوزوم[۱۲] می نامند. تصویر ۲ به طور شماتیک مسیر داخلی آپوپتوز را نشان می دهد. در مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی کاسپاز آغازگر کاسپاز-۹ می باشد.[۷-۵ و ۱۱و۱۴و۱۵] کاسپاز- ۹ فعال سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی (کاسپاز-۳ و ۶ و ۷) می گردد و

تصویر-۲ واکنش های آبشاری فعال شدن کاسپازها در مسیر میتوکندریایی (مسیر داخلی) و مسیر وابسته به گرانزیم B [۱۱]



در نتیجه کاسپازهای اجرایی روی سوبستراهای خود عمل می نمایند و فرایند آپوپتوز صورت می گیرد. در برخی از رده های سلولی آپوپتوز غیر وابسته به کاسپاز- ۳ به دنبال تیمار با ترکیبات مختلف صورت می گیرد.[۶و۷و۱۶] در حالی که در اغلب رده های سلولی آپوپتوز وابسته به کاسپاز- ۳ می باشد.[۵و ۷ و۱۶ - ۱۴] لنفوسیت های-T سیتوتوکسیک و سلول های کشندهٔ طبیعی(NK- cells) ممکن است مستقیماً از طریق "مسیر وابسته به رسپتور کاذب"[۱۳] در سلول های هدف ایجاد آپوپتوز نمایند. در این حالت گرانول های محتوی گرآنزیمB[۱۴] (GrB) که یک سرین پروتئاز است همراه با پرفورین تحویل غشاء پلاسمایی سلول های هدف داده می شود. پرفورین پروتئینی است که سبب ایجاد حفره در غشای پلاسمایی می شود

[۱۰] *Permeability transition pore*
[۱۱] *caspase recruitment domain (CARD)*
[۱۲] *Apoptosome*
[۱۳] *Pseudo-receptor-mediated pathway*
[۱۴] *Granzyme B (GrB)*

و اجازه می دهد که گرآنزیمB وارد سلول شده و واکنش آبشاری فعال شدن کاسپازها را به راه اندازد[۱۱] که در تصویر ۲ نشان داده شده است.

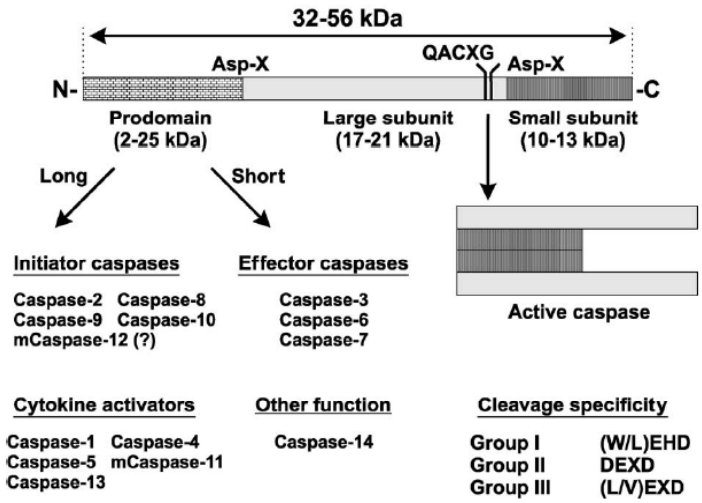
۴- کاسپازها

کاسپازها[۱۵] جزء خانوادهٔ سیستئین پروتئاز هستند که نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا می نمایند. به دنبال فعال شدن، این آنزیم ها روی سوبستراهای خاصی عمل و تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک ایجاد می نمایند. ازجمله چروک شدن سلول، متراکم شدن کروماتین، قطعه قطعه شدن DNA و... بنابراین ارزیابی فعالیت کاسپاز به عنوان یک مارکر بیوشیمیایی آپوپتوز مطرح است.[۱۷]

خانواده کاسپازها در پستانداران دارای ۱۴ عضو است. این آنزیم ها به طور پیوسته در تمام سلول ها به صورت پروآنزیم (زیموژن) ساخته می‌شوند و در پاسخ به محرک های پروآپوپتوتیک فعال می شوند. پروکاسپاز دارای وزن ملکولی ۳۲ تا ۵۶ کیلو دالتون بوده و دارای ۴ دمین می باشد که عبارتند از پرودمین N ـ ترمینال ، زیر واحد بزرگ (۱۷ تا ۲۱ کیلودالتون)، زیرواحد کوچک (۱۰ تا ۱۳ کیلودالتون) و یک ناحیه اتصالی کوتاه بین زیرواحد کوچک و بزرگ.[۱۸] فعال شدن کاسپاز به دنبال پروتئولیز پروآنزیم در جایگاه ریشهٔ آسپارتات خاص بین دمین ها صورت می گیرد که منجر به حذف پرودمین و همچنین ناحیه اتصالی گردیده و منجر به تشکیل هترودیمر، متشکل از یک زیر واحد کوچک و یک زیر واحد بزرگ می شود.[۱۹] کاسپاز فعال تترامر بوده و از دو هترودیمرتشکیل شده است. تمام کاسپازها دو مشخصهٔ مهم مشترک دارند، یکی این که سیستین پروتئاز هستند و دارای توالی پنتاپپتیدی حفظ شدهٔ QACXG، حاوی جایگاه فعال سیستئین می باشند.[۲۰] دوم اینکه در سوبسترا، پیوند پپتیدی بین ریشهٔ آسپارتات با اسید آمینه بعدی را می شکنند. مشاهدهٔ شواهدی مبنی بر فعال شدن پی در پی کاسپازها در روند آپوپتوز، منجر به ارائهٔ مسیر واکنش آبشاری برای کاسپازها گردید.[۲۱و۲۲]این واکنش آبشاری با فعال شدن کاسپازهای آغازگر شروع شده و پیام را از طریق فعال کردن کاسپازهای اجرایی منتقل می‌نماید.[۱۱و۲۱] پروکاسپازهای‌آغازگر (پروکاسپاز ۲،۸،۹،۱۰و۱۲) و همچنین کاسپازهای التهابی (پروکاسپاز ۱،۴،۵،۱۱و۱۳) که عموما در آپوپتوز دخالت ندارند، دارای پرودمین طویل هستند (بیش از ۱۰۰ اسید آمینه) در حالی که کاسپازهای اجرایی، دارای پرودمین کوتاه و معمولا کمتر از ۲۰ اسید آمینه می باشند.[۱۸]

کاسپازها را بر اساس ساختار، ویژگی نسبت به سوبسترا، فعالیت فیزیولوژیک و اندازهٔ پرودمین پروکاسپاز، تقسیم بندی می نمایند. اما چیزی که در آپوپتوز بیشتر حائز اهمیت است تقسیم بندی کاسپاز ها به دو گروه کاسپازهای آغازگر (کاسپاز- ۸ ، ۹، ۱۰ و ۱۲) با پرودمین طویل و کاسپازهای اجرایی (کاسپاز-۳، ۶ و ۷) با پرودمین کوتاه می باشند.[۱۷] ساختار کاسپازها و چگونگی فعال شدن آن ها در تصویر ۳ به طور شماتیک نشان داده شده است.

تصویر ۳ - ساختار و چگونگی فعال شدن کاسپازها[۱۷]



[۱۵] *Cysteine aspartate specific proteases (Caspases)*

۴-۲ – سوبستراهای کاسپاز

تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع از سوبستراهای کاسپاز شناخته شده است و مرتباً سوبستراهای جدیدی به این لیست اضافه می‌گردد.[۲۳و۲۴] این سوبستراها پروتئین هایی هستند که اعمال مختلفی را انجام می دهند و دارای رزیدوی آسپارتات در وضعیت خاص در ساختار خود هستند که توسط کاسپاز کاتالیز می شوند. تخریب این پروتئین ها در اغلب موارد منجر به غیرفعال شدن آن ها و یا فعال شدن پروتئین های هدف می گردد. در میان پروتئین هایی که کاتالیز آن ها توسط کاسپاز منجر به غیر فعال شدن آن ها می شود می توان از پروتئین های اسکلت سلولی نظیر لامین، آلفا فودرین و اکتین نام برد. از پروتئین های دخیل در ترمیم DNA توپوایزومراز I، پلی ADP- ریبوز پلیمراز (PARP) و DNA-PK می باشند. از پروتئین های دخیل در چرخه سلولی نیز می توان از پروتئین رتینوبلاستوما (P^{Rb})، p21 و MDM2 نام برد.[۲۵و۲۶] DNase فعال شده (CAD) به طور غیر مستقیم با تخریب زیر واحد مهاری (ICAD) و آزاد شدن زیر واحد کاتالتیک، فعال می‌شود.[۳۹-۳۷]

فعال شدن کاسپاز به میزان زیادی، مختص آپوپتوز است و تعیین فعالیت کاسپاز ها برای تمایز بین نکروز و آپوپتوز می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.[۵و۳۰] علاوه بر نقش و اهمیت کاسپازها در فرایند آپوپتوز، کاسپازها در فرایند تکامل، تمایز و التهاب نیز دخالت دارند.[۳۱]

منابع — *References*

1- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26:239-57.

2- Amin F, Bowden ID, Szegedi Z, Mihalik R, Szende B. Apoptotic and non-apoptotic modes of programmed cell death in MCF-7 human breast carcinoma cells. Cell Biol Int 2004; 24:253-60.

3- Israels LG, Israels ED. Apoptosis. The oncologist 1999; 4:332-9.

4- Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995; 267:1456-62.

5- Hashemi M, Karami-Tehrani F, Farzami B. Caspase dependent apoptosis induced by Cladribine in the estrogen receptor negative breast cancer cell line, MDA-MB468. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 2003; 14:303-10.

6- Hashemi M, Karami-Tehrani F, Ghavami S. Cytotoxicity effect of Cladribine on the MCF-7 human breast cancer cell line. Iranian biomedical journal 2004;8:7-12.

۷- هاشمی محمد ، پنجه پور مجتبی، کرمی تهرانی، فاطمه. بررسی القا آپوپتوز توسط ۲-کلرو۲-داکسی آدنوزین در رده های سلولی سرطان پستان MCF-7 و MDA-MB468 . ویژه نامه شانزدهمین کنگره فیزیولوژی و فارماکولوژی. مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی، بهار ۸۲، ص ۳-۷.

8- Sjostrom J, Bergh J. How apoptosis is regulated, and what goes wrong in cancer. B M J 2001; 322:1538-9.

9- Saraste A. Morphologic criteria and detection of apoptosis. Herz 1999; 24:189-95.

10- Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. Science 1998; 281:1305-8.

11- Bratton SB, MacFarlane M, Cain K, Cohen GM. Protein complexes activate distinct caspase cascades in death receptor and stress-activated apoptosis. Exp Cell Res 2000; 256:27-33.
12- Kaufmann SH, Hengartner MO. Programmed cell death: Alive and well in the new millennium. Trends Cell Biol 2001; 11:526-34.
13- Hansen TM, Nagley P. AIF: A multifunctional cog in the life and death machine. Sci STKE2003; 31:1-4.
14- Ghavami S, Karami-Tehrani F, Hashemi M, Nikoogoftar Zarif M. Possible involvement of a specific cell surface receptor for calprotectin-induced apoptosis in colon adenocarcinoma and carcinoma cell lines (SW742 and HT29/219). Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 2004; 15:3-11.
15- Ghavami S, Kerkhoff C, Los M, Hashemi M, et al. Mechanism of apoptosis induced by S100A8/A9 in colon cancer cell lines: the role of ROS and the effect of metal ions. J Leukoc Biol. (in press)
16- Salami S, Karami-Tehrani F. Biochemical studies of apoptosis induced by tamoxifen in estrogen receptor positive and negative breast cancer cell lines. Clin Biochem 2003; 36:247-53.
17- Ko¨hler C, Orrenius S, Zhivotovsky B. Evaluation of caspase activity in apoptotic cells. J Immun Methods 2002; 265:97-110.
18- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. Annu Rev Biochem 1999; 68:383- 424.
19- Liang H, Fesik SW. Three-dimensional structures of proteins involved in programmed cell death. J Mol Biol 1997; 274:291- 302.
20- Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. Biochem J 1997; 326:1- 6.
21- Salvesen GS, Dixit VM. Caspase activation: the induced proximity model. Proc Natl Acad Sci 1996; 96:10964-7.
22- Hirata H, Takahashi A, Kobayashi S, et al. Caspases are activated in a branched protease cascade and control distinct downstream processes in Fas-induced apoptosis. J Exp Med 1998; 187:587- 600.
23- Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. The most unkindest cut of all: on the multiple roles of mammalian caspases. Leukemia 2000; 14:1514- 25.
24- Stennicke HR, Salvesen GS. Caspases controlling intracellular signals by protease zymogen activation. Biochim Biophys Acta 2000; 1477:299- 306.
25- Chang HY, Yang X. Proteases for cell suicide: functions and regulation of caspases. Microbiol Mol Biol Rev 2000; 64:821- 46.
26- Blajeski AL, Kaufman SH. Methods for detecting proteolysis during apoptosis in intact cells. In: Apoptosis: A practical approach (ed. Studzinski G.P) 1999, oxford.
27- Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, et al. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature 1998; 391:43- 50.

28- Sakahira H, Enari M, Nagata S. Cleavage of CAD inhibitor in CAD activation and DNA degradation during apoptosis. Nature 1998; 391:96- 9.
29- Nagata S. Apoptotic DNA fragmentation. Exp Cell Res 2000; 256:12- 8.
30- Armstrong RC, Aja TJ, Hoang KD, et al. Activation of the CED3/ICE-related protease CPP32 in cerebellar granule neurons undergoing apoptosis but not necrosis. J Neurosci 1997; 17:553- 62.
31- Sadowski-Debbing K, Coy J, Mier W, Hug H, Loss M. Caspases – Their Role in Apoptosis and Other Physiological Processes as Revealed by Knockout Studies. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis 2002; 50: 19-34.