

Types of HSP and HSP70, a Protein Effective on Testes

Emine SARMAN^{1,a}, Kanat GÜLLE^{1,b}, Abdullah SARMAN^{2,c}

¹Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Suleyman Demirel University, Isparta, TURKEY

²First and Emergency Aid, Department of Medical Services and Techniques, Vocational School of Health Services, Bingol University, Bingol, TURKEY

ORCIDS:^a0000-0002-4671-9315 ; ^b0000-0002-6337-8962; ^c0000-0002-5081-4593

ABSTRACT

Organisms and cells are constantly exposed to various stress factors to which they must adapt. Heat Shock Proteins (HSPs), which are originally identified as stress-sensitive proteins, are involved in many cellular functions such as protein folding, transport, maturation and degradation. Especially HSP70 is known to play an important role on testicles and that its effect increases with aging. Spermatogenesis and steroidogenesis are greatly reduced with aging. In addition, exposure to high temperatures, toxic chemicals and pathogens, or various environmental factors have adverse effects over the male reproductive system. In particular, oxidative stress is one of the main issues associated with male infertility. Various studies have shown that reactive oxygen species (ROS) cause infertility by reducing sperm motility and directly damaging sperm deoxyribonucleic acid (DNA) structure; but its etiology and pathogenesis are not fully understood yet. In this review, the types of HSP were elaborated while the studies regarding the effect mechanism of HSP70 and the role of oxidative stress over male infertility were tried to be summarized.

Keywords: HSP, HSP70, Infertility, Testicles.

HSP Türleri ve Testisler Üzerinde Etkili Bir Protein Olan HSP70

öz

Organizmalar ve hücreler sürekli olarak uyum sağlamaları gereken çeşitli stres faktörlerine maruz kalırlar. Başlangıçta strese duyarlı proteinler olarak tanımlanan Isı Şok Proteinleri (HSP'ler), protein katlanması, taşınması, olgunlaşması ve bozulması gibi birçok hücre fonksiyonunda yer almaktadır. Özellikle HSP70'in testisler üzerinde önemli rol oynadığı bilinmekte ve yaşlanmayla birlikte etkisi artmaktadır. Yaşlanmayla spermatogenez ve steroidogenez büyük ölçüde azalmaktadır. Bunun yanı sıra yüksek sıcaklık, toksik kimyasallara ve patojenlere maruz kalma ya da çeşitli çevresel faktörler erkek üreme sistemi üzerinde olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Özellikle oksidatif stres, erkek infertilitesiyle ilişkili ana konulardan biridir. Çeşitli çalışmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) sperm hareketliliğini azaltarak ve sperm deoksiribo nükleik asit (DNA) yapısına doğrudan zarar vererek infertiliteye neden olduğunu göstermiştir fakat etiyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Bu derlemede, HSP türlerinin neler olduğu üzerinde durulmuş ve HSP70'in etki mekanizması, oksidatif stresin erkek infertilitesindeki rolü üzerine yapılan çalışmalar özetlenmeye çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: HSP, HSP70, İnfertilite, Testis.

GİRİŞ

Organizmalar ve hücreler sürekli olarak uyum sağlamaları gereken çeşitli stres faktörlerine maruz kalırlar. Yüksek sıcaklık, toksik kimyasallar, patojenlere maruz kalma ve diğer çevresel faktörlerle temas bunlardan bazılarıdır. Öte yandan, tüm organizmalar için zorluk oluşturan birçok stres faktörü normal büyüme ve gelişme, hücre çoğalması, metabolizma ve hücrel farklılaşmanın bir sonucu da olabilmektedir. Stresli ya da potansiyel olarak toksik etkiler meydana getirebilecek koşullarla karşı karşıya kalan hücrelerin, sürekli değişen hücre içi ve hücre dışı ortamlara adapte olmaları için uygun algılama, değerlendirme ve cevap verme kapasitelerine sahip olmaları büyük önem taşımaktadır (Levine 1997).

1. Isı Şok Proteinlerinin (HSP) Hücresel Etkileri

Strese duyarlı proteinler olarak tanımlanan Isı Şok Proteinleri (HSP'ler), protein katlanması, taşınması, olgunlaşması ve bozulması gibi birçok hücrel fonksiyonda hayati bir rol oynamaktadır. Kimyasalların uyardığı HSP'ler, denatüre proteinlerin yeniden katlanmasına yardımcı olarak hareket ederler. Yanlış katlanmış proteinlerin birikmesinden ve proteotoksik hücre ölümünden kaynaklanan olumsuz metabolik etkileri önlerler (Rogon ve ark. 2014). Yeni sentezlenmiş proteinlerin kalitesini kontrol ettikleri için hücrel homeostazda yer alırlar. HSP'ler bakterilerden insanlara kadar hemen hemen tüm canlı organizmalarda bulunduğu belirlenmiş olan özellikli proteinlerdir (De Maio 1999).

HSP genleri, ilk olarak meyve sineği *Drosophila Melanogaster* üzerinde yapılan deneylerde keşfedilmiştir (Ritossa 1964). *Drosophila*'da ısı şoku gibi çevresel streslere maruz kalma nedeniyle aktifleşen ve tüm hücrel organizmalarda bulunan genler olduğu belirlenmiştir.

2. Isı Şok Protein Türleri ve Genel Özellikleri

Her biri yapısal olarak birbirine benzemeyen bir HSP grubunu kodlayan, stres tarafından indüklenebilen beş ana HSP ailesi bulunmaktadır. Bunlar:

1. HSPC (HSP90),
2. HSPD (HSP60)
3. HSPA (HSP70),

4. HSPB (küçük HSP ailesi) ve

5. HSPH (büyük HSP) olarak sıralanmaktadır (Kampinga ve ark. 2009).

2.1. HSPC (HSP90) Proteini

HSP90, tüm ökaryotik hücrelerde yüksek ısıya (42-46°C) maruz kalma sonrasında üretimi artan oldukça fazla bulunan bir şaperon proteindir. İnsanlarda bu protein ailesinin en önemli üyeleri, iki farklı gen tarafından ifade edilen HSP90 alfa (HSP90a) ve HSP90 beta (HSP90b) izoformlarıdır. Bu izoformların kristal yapıları çok benzerdir (Stebbins ve ark. 1997). HSP90, olgunlaşma ve stabilite için çeşitli ko-şaperonlar ile kompleks oluştururlar. HSP90 alfanın en iyi bilinen özelliği tümörögenез ile olan ilişkisidir. HSP90 betanın glukoz metabolizmasında önemli bir rol aldığı düşünülmektedir. HSP90 hücrelerde bir homodimer olarak bulunur ve aşağıda belirtilen üç özelliği kontrol eder:

- a) Bir adenin bağlanma alanı oluşturarak, hücrel proteinlerin ATPaz aktivitesinden sorumlu olmak,
- b) Ko-şaperonlar için yüksek afiniteye sahip yüklü orta bağlayıcı bölge oluşturmak,
- c) Alıcı proteinleri ve tetratrikopeptit tekrar bağlama (TRP) motifi içeren C-terminal dimerizasyon alanı oluşturmaktır.

Farklı post-translasyonel modifikasyonlar (fosforilasyon, asetilasyon, nitrosilasyon) HSP90'ın işlevini düzenlemeye yardımcı olmaktadır. Örneğin, histon de-asetilaz HDAC6'nın inhibisyonundan kaynaklanan asetilasyon, HSP90'ın şaperon fonksiyonunu bloke eder ve birkaç HSP90 alıcı proteininin degradasyonunu indüklemeye yardımcı olur (Zhang ve ark. 2008).

2.2. HSPD (HSP60) Proteini

Şaperonin olarak da bilinen HSP60, öncelikle ökaryotik hücrelilerin mitokondrilerinde lokalizedir ve mitokondriyal proteinlerin taşınmasında ve katlanmasında önemli rol oynar. Özellikle de mitokondriyal HSP70 (mortalin) ile etkileşerek glioblastoma (Ghosh, Dohi, Kang ve Altieri 2008) gibi çoklu kanserlerde ekspresyonu artış sergiler (Chatterjee ve Burns 2017). HSP60 ekspresyonunun servikal (Hwang ve ark. 2009) ve

prostat kanserinde (Castilla ve ark. 2010) tümör progresyonu ile prognostik bir ilişkisi olduğu kanıtlanmıştır. Benzer şekilde kolorektal, mide, göğüs dahil olmak üzere diğer birçok kanserin tanı ve prognozu için HSP60 ekspresyonunun önemli bir biyobelirteç olarak kullanılması söz konusudur (Desmetz ve ark. 2008).

2.3. HSPA (HSP70) Proteini

Yukarıda da belirtildiği gibi HSPC ve HSPD ailelerinin özellikle kanserde kilit rol oynadığı düşünülmektedir (Ciocca, Cuello-Carrión, Natoli, Restall ve Anderson 2012). Etkinliğini belirlemek amacıyla üzerinde en çok çalışılan HSP'ler HSP90, HSP60 ve HSP70'tir. Araştırmalarda HSP'lerin, birçok çevresel stres etkeni (ısı şoku, hücrel enerji tükenmesi ve oksidatif stres) hücrel düzeyde ve spesifik olarak indüklenen proteinler oldukları belirlenmiştir. En az sekiz homolog şaperon, insan HSP70 ailesine aittir. Altı aile üyesi sitozol ve çekirdek içinde bulunurken, kalan iki üye mitokondri ve endoplazmik retikulumda yerleşmiş haldedir. Son araştırmalar, HSP ailesinin bazı üyelerinin, hücrelerin büyümesi ve hayatta kalması için gerekli olan görevleri gerçekleştirdiğini göstermiştir. Bu ailenin belirtilen büyüme ve gelişmeyi sağlamak amacıyla en çok çalışılan üyesinin HSP70 olduğu belirlenmiştir (Young, Agashe, Siegers ve Hartl 2004).

Normal koşullar altında, HSP70 proteinleri, yeni sentezlenen polipeptitlerin katlanmasına, çoklu protein komplekslerinin birleşmesine ve proteinlerin hücrel membranlar boyunca taşınmasına yardımcı olan ATP'ye bağımlı moleküler şaperonlar olarak işlev görür (Shi ve Thomas 1992). HSP70, bir peptit bağlama alanı ve amino terminal ATPaz alanı olmak üzere iki farklı fonksiyonel bölgeyi içerir (Jego, Hazoumé, Seigneuric ve Garrido 2013). Peptit bağlama alanı, bir substrat bağlama özelliğindeki karboksil terminalinden ve katlamadan sorumlu şaperon motifinden meydana gelmektedir. Farklı eş şaperonlar HSP70'e bağlanarak şaperon işlevini düzenleyebilirler. HSP70 proteinleri düşük ATPaz aktivitesini uyararak nükleotid değişim faktörü olan ko-şaperonlarını, ATPaz döngüsünün tamamlanması için gerekli olan adenozin difosfat salınımını katalize eder. Kanser gelişiminde anormal olarak eksprese edilen HSP70, artmış hücre proliferasyon oranı ve malignite ile pozitif korelasyon göstermektedir

(Rérole, Jego ve Garrido 2011; Sherman ve Gabai 2015). Kolanjiyokarsinom, kondrosarkom, melanom, kolon, mesane, meme, oral, karaciğer, prostat, kolorektal, akciğer, servikal gibi çeşitli kanserlerde hastalığın ilerlemesiyle birlikte HSP70 ekspresyonu daha da artmaktadır (Murphy 2013; Wu ve ark. 2017).

2.4. HSPB (küçük HSP ailesi) Proteinleri

Bu protein türü göz lensindeki α -crystallin ile benzerlik gösterir (Sun ve MacRae 2005a). Hücrenin farklı kısımlarına yerleşerek önemli görevler üstlenirler. Daha çok hücre iskelet yapısı ve zarlarla etkileşerek koruyucu olarak görev yaparlar. Diğer HSP türleriyle birlikte çalışarak yeni üretilen proteinlerin çökmesini önlerler (MacRae 2000). Şaperon etkilerini ve çözünürlüklerini moleküllerindeki serbest karboksil uç sayesinde korurlar. Hücre zarında bulunan oksijen radikallerinin etkilerini bloklayarak mycobacteriumun makrofajlardan korunmasını sağlar. Kalp, beyin ve böbrekte iskemik sorunlara karşı koruyucudurlar (Sun ve MacRae 2005b).

2.5. HSPH (büyük HSP) Proteinleri

Bu protein ailesinin HSP110 ve glikoz düzenleyici protein 170 (GRP170) olmak üzere iki üyesi vardır. HSP110, meme, kolorektal, akciğer, mide, tiroid, pankreas, özofagus, kolorektal ve mesane kanserleri, melanom, lenfoma ve hipofiz adenomu gibi birçok kanser türünde daha fazla eksprese edilir (Wu ve ark. 2017). GRP170 ise kanser teşhisi ve prognozu açısından en az çalışılmış şaperon olarak bilinmektedir. Hem doğal hem de adaptif immün indüklemeye kabiliyeti ve immünoadjuvan aktivitesi nedeniyle kanser tedavisinde faydalı sonuçları olan bir proteindir (Fu ve Lee 2006).

3. Yaşlanma, Oksidatif Stres ve İnfertilitede Bazı HSP Türleri ve HSP70'in Etkisi

HSP etkilerini konu alan çok çeşitli teoriler bulunmaktadır. Bunlardan bazılarında yaşam süresinin bir organizmanın içsel ve dışsal strese karşı direnci ile ilişkili olduğu belirtilerek, yaşam süresinin stres koşullarına bağlı olduğu bilgisine atıf yapılmıştır (Muller ve ark. 2007). Bu direnç, yaşlanma sırasında HSP'yi aktive eden, stres direncini artıran ve ömrünü uzatan bir HSP geninin teşviki ile ilişkilendirilmiştir

(Macario ve Conway de Macario 2005). Bazı teoriler ise HSP'lerin yalnızca içsel ve dışsal streslere cevap olarak değil, aynı zamanda organizmanın strese karşı direncinin önemli bir aracı olduğunu savunmaktadır. Bunu sağlayan temel ajan olan ısı şok faktörü (HSF), hücreyi ölüme karşı koruyan, HSP'leri ve diğer tanımlanamayan genleri kodlayan, strese bağlı yanıtı düzenleyen büyük bir regülatördür. HSF ayrıca erkek üreme hücrelerinin apoptozuna karşı nitelikli bir koruma sağlar. Diğer taraftan, bazı çalışma sonuçları testiste HSP'nin yüksek ekspresyonunun, infertiliteye yol açabileceğini göstermiştir (Li ve ark. 2013; Setyarani ve ark. 2014).

Hücrenel anlamda yeni sentezlenen birçok proteinin katlanması, moleküler şaperonlar olarak bilinen bir dizi korunmuş proteine bağlı gerçekleşmektedir. Bunlar, hem normal şartlar altında hem de hücreler yüksek sıcaklık gibi çevresel streslere maruz kaldıklarında yanlış katlanmış protein yapılarının oluşumunu engelleyerek koruma fonksiyonlarını gerçekleştirir. HSP70, bu süreçte yeni polipeptit zincirlerinin katlanmasına yardımcı olmak için adenosin trifosfata (ATP) bağlı mekanizmaları aktifleştirmektedir (Hartl 1996). ATP, hücreler tarafından temel işlevleri (solunum, çoğalma, farklılaşma, apoptoz) için kullanılan temel enerji kaynağıdır. Belirli stres koşullarında ATP seviyeleri azalmakta, hücre homeostazi ve bütünlüğü bozulmaktadır. Bu bozulmadan en fazla etkilenen organel ise, oksijenli solunum ve ATP sentezini gerçekleştirmekle görevli olan mitokondridir.

Enerji ihtiyacına cevap verilmesi ve oksijenli solunum yanında spermlerin motilitesinde (hareket) önemli etkiye sahip olan mitokondrinin hücrelerdeki ısı artışından etkilendiği, ısı stresinin mitokondride yapısal ve işlevsel olarak değişikliklere neden olabileceği yapılan çalışma sonuçlarında gösterilmiştir (Skulachev ve Longo 2005). Yapılan başka bir çalışmada ise mitokondriyal yapılarda yaşın ilerlemesiyle yaşanabilecek fizyolojik etkilerin sonuçları değerlendirilmeye çalışılmıştır. Araştırma sonucunda yaşlanma ile ilgili mitokondriyal stres yanıtının, yaşlı organizmaların fizyolojik stresi tolere etme gücü üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabileceği belirlenmiştir (Haak ve ark. 2009). Bu gibi olumsuz etkilere karşı çok hücreli organizmalar, hücrenel hasara ve çevresel zorlamaya yanıt vermek için bir dizi moleküler sinyalleşme olayı geliştirmiştir. Normal ve gerekli birçok fizyolojik işlemin

(örneğin, gelişme, hücre yaralanması) bir parçası olarak kabul edilen apoptoz (programlı hücre ölümü), ısı şokunun önemli bir yönünü belirlemektedir. HSP70, apoptotik yollarda yer alan birçok yapı ile etkileşimi nedeniyle apoptozu farklı aşamalarda bloke edebilmektedir (Guo ve ark. 2015). Aşırı HSP70 ekspresyonunun, apoptozu inhibe ettiği ve yanlış katlanmış proteinlerin veya DNA hasarının birikmesi de dahil olmak üzere birçok hücrenel aktivasyonunu önlediği gösterilmiştir (Kim ve ark. 2008). Yapılan bir çalışmada, HSP indüksiyonunda yer alan önemli faktörlerden bazılarının hipertermi, oksidatif stres, inflamasyon, hücrenel hasar (kalsiyum aşırı yükü), hipoksi, iskemisi ve hücrenel enerji tükenmesi olduğu vurgulanmış, HSP'lerin yaşlanmada ve erkek fertilesinde rol oynayan biyolojik moleküller olduğu gösterilmiştir. Örneğin yaşlanma gibi süreçler, testisler başta olmak üzere erkek üreme sisteminde değişiklikler meydana getirmektedir. Yaşlanmanın memeli erkek üreme organları üzerindeki etkisi temel olarak testislerde analiz edilmiştir. Spermatogenez ve steroidogenez yaşlanmayla azalmaktadır (Kimura ve ark. 2003).

Sıçan, fare, yaban domuzu ve boğada HSP70 ve spermatogenez ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Spermatogenez sırasında spermatojenik hücre tiplerinde HSP70 proteininin temel olarak eksprese edildiği gösterilmiş (Rogon ve ark. 2014), HSP70'in testiste önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (He ve ark. 2013).

HSP70 ailesinin iki üyesi (farelerde HSP70-2 ve HSC70T) gelişimsel olarak düzenlenir ve spesifik olarak spermatojenik hücrelerde eksprese edilir. HSP70-2 proteini, spermatogenezin mayoz fazı sırasında sentezlenir ve pakiten aşamasındaki spermatositlerde bol miktarda bulunur. HSP70-2'nin mayozda yer alan proteinler için bir şaperon olup olmadığını belirlemek için bir çalışma yapıldığı ve HSP70-2'den yoksun erkek farelerin infertil iken HSP70-2'den yoksun dişilerin fertil olduğu bildirilmiştir. Ayrıca spermatojenik hücre gelişiminin G2-M-faz geçişinde mayoz I fazında durdurulduğu ve geç pakiten spermatositlerin apoptoz ile elimine edildiği ve sonuçta spermatit eksikliğinin ortaya çıktığı, HSP70-2'nin aynı zamanda sinaptonemal kompleks ile ilişkili olduğu ve bu proteinden yoksun erkek farelerde desinapsisin bozulduğu belirtilmiştir (Eddy 1999).

Erkek fertilesinin etiolojisi ve patogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır fakat çeşitli fizyolojik ve

hücrel sebepleri bulunmaktadır (Jungwirth ve ark. 2012). Bu sebeplerden %42.6'sı varikosel, inmemiş testisler gibi bilinen etiyojilerden kaynaklanmaktadır. Geri kalan önemli bir kısım da erkek infertilitesiyle ilişkili ana konulardan birisi olan oksidatif strestir. Çeşitli çalışmalar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) sperm hareketliliğini azaltarak veya sperm DNA'sına doğrudan zarar vererek infertiliteye neden olduğunu göstermiştir (Tremellen 2008). Bu konuda yapılan bir çalışmada floridin testislerde meydana getirdiği hasar incelenmiş ve kontrol grubuna kıyasla deney grubunda seminifer tübül çapı ve kalınlığı, serum testosteron ve sperm motilitesinde azalma meydana geldiği, HSP70 taşıyıcı RNA (mRNA) ve protein seviyelerinde ciddi bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir (Cao ve ark. 2016). Başka bir çalışmada ise 4 hafta boyunca sıçanlara karbon tetra klorür (CCl4) uygulanmış, bu durumun serbest radikal oluşumunu uyararak testis hasarına neden olduğu belirlenmiştir. İmmünohistokimyasal olarak HSP70 ekspresyonu incelendiğinde spermatojenik seriye ait hücreler ve sertoli hücresinde miktarının arttığı, serum testosteron düzeyinin yükseldiği belirlenmiştir (Kamal ve Omran 2013). 2018 yılında yapılan bir çalışmada ise Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ekstazi)'nin aşırı ısı artışı (hipertermi) ve oksidatif strese neden olduğu, hücrel homeostazı koruyan testis dokusundaki germinal epitel ve Leydig hücrelerinde HSP70'in şiddetli immün reaktivitesine neden olduğu saptanmıştır (Mobaraki ve ark. 2018).

HSP70 ve bazı HSP türlerinin sıçan testislerindeki lokalizasyonunun immünohistokimya ve Western blot kullanılarak yapıldığı bir çalışmada, HSP70'in yenidoğan ve erken gelişen testislerde germ hücrelerinde, Sertoli hücrelerinde ve Leydig hücrelerinde; ergenlikten sonra spermatositlerde ve spermatidlerde eksprese edildiği belirtilmiştir (Ogi, Tanji, Iseda ve Yokoyama 1999).

HSP70'in keçi (*Capra hircus*) testisinde immünohistokimyasal lokalizasyonunu belirlemek için yapılan bir çalışmada ise, Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarda güçlü reaksiyon gözlenirken, spermatositlerde daha zayıf bir reaksiyon gözlemlendiği, spermatozoonlarda ise reaksiyona rastlanmadığı belirtilmiştir (Çınar ve Duran 2018).

SONUÇ

Bu derlemede, HSP türlerinin neler olduğu ve özellikleri üzerinde durulmuş; yüksek sıcaklık, toksik kimyasallara ve patojenlere maruz kalma gibi durumlarda üretimi artan bir protein grubu olan HSP70'in etki mekanizması incelenerek, etiyojisi ve patogenezi tam olarak aydınlatılmamış olsa da oksidatif stresin erkek infertilitesinde önemli rol oynadığı, sperm hareketliliğini azaltarak ve sperm DNA'sına doğrudan zarar vererek infertiliteye neden olduğu literatür kapsamında özetlenmiştir. Ayrıca bu proteinin, erkek üreme sisteminde önemli rol oynaması nedeniyle erkek infertilitesine neden olan sebeplerin ortadan kaldırılması için adölesan veya erişkin dönemlerde geçirilen ateşli hastalıkların testisleri etkilediği unutulmamalı, bu konuda yapılacak çalışmaların sayısı artırılmalıdır. Bu sayede, infertilite patogeneziyle ilgili süreçlerin netleştirilmesine katkı sağlanacağı düşünülmektedir.

YAZARLIK KATKISI

Fikir/kavram: ES, KG, AS; Tasarım: ES, KG, AS; Danışmanlık: ES, KG, AS; Veri toplama: ES, KG, AS; Analiz ve/veya yorum: ES, KG, AS; Kaynak tarama: ES, KG, AS; Makalenin yazımı: ES, KG, AS; Eleştirel inceleme: ES, KG, AS

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

FİNANSAL DESTEK

Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Cao J, Chen Y, Chen J, Yan H, Li M, Wang J. (2016). Fluoride exposure changed the structure and the expressions of Y chromosome related genes in testes of mice. *Chemosphere*, 161: 292-299. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.06.106.
- Castilla C, Congregado B, Conde JM, Medina R, Torrubia FJ, Japón MA, Sáez, C. (2010). Immunohistochemical expression of Hsp60 correlates with tumor progression and hormone resistance in prostate cancer. *Urology*, 76: 1017.e1-1017.e6. doi: 10.1016/j.urology.2010.05.045.
- Chatterjee S, Burns TF. (2017). Targeting heat shock proteins in cancer: a promising therapeutic approach. *Int J Mol Sci*, 18: 1978. doi: 10.3390/ijms18091978.
- Ciocca DR, Cuello-Carrión FD, Natoli AL, Restall C, Anderson RL. (2012). Absence of caveolin-1 alters heat shock protein expression in spontaneous mammary tumors driven by

- Her-2/neu expression. *Histochem Cell Biol*, 137: 187-194. doi: 10.1007/s00418-011-0879-y.
- Çınar K, Duran C. (2018). Keçi (*Capra hircus*) testislerinde Isı Şok Proteini 70 (HSP70) in immunohistokimyasal lokalizasyonu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22: 1066-1069. doi: 10.19113/sdufbed.61968.
- De Maio A. (1999). Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams. *Shock*, 11: 1-12. doi: 10.1097/00024382-199901000-00001.
- Desmetz C, Bibeau F, Boissière F, Bellet V, Rouanet P, Maudelonde T, Mangé A, Solassol J. (2008). Proteomics-based identification of HSP60 as a tumor-associated antigen in early stage breast cancer and ductal carcinoma in situ. *J Proteome Res*, 7: 3830-3837. doi: 10.1021/pr800130d.
- Eddy EM. (1999). Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis. *Rev Reprod*, 4: 23-30. doi: 10.1530/ror.0.0040023.
- Fu Y, Lee AS. (2006). Glucose regulated proteins in cancer progression, drug resistance and immunotherapy. *Cancer Biol Ther*, 5: 741-744. doi: 10.4161/cbt.5.7.2970.
- Ghosh JC, Dohi T, Kang BH, Altieri DC. (2008). Hsp60 regulation of tumor cell apoptosis. *J Biol Chem*, 283: 5188-5194. doi: 10.1074/jbc.M705904200.
- Guo Y, Ziesch A, Hocke S, Kampmann E, Ochs S, De Toni EN, Göke B, Gallmeier E. (2015). Overexpression of heat shock protein 27 (HSP27) increases gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer cells through S-phase arrest and apoptosis. *J Cell Mol Med*, 19: 340-350. doi: 10.1111/jcmm.12444.
- Haak JL, Buettner GR, Spitz DR, Kregel KC. (2009). Aging augments mitochondrial susceptibility to heat stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296: R812-R820. doi: 10.1152/ajpregu.90708.2008.
- Hartl FU. (1996). Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature*, 381: 571-579. doi: 10.1038/381571a0.
- He Y, Luo M, Yi M, Sheng Y, Cheng Y, Zhou R, Cheng H. (2013). Identification of a testis-enriched heat shock protein and fourteen members of Hsp70 family in the swamp eel. *PLoS One*, 8: e65269. doi: 10.1371/journal.pone.0065269.
- Hwang YJ, Lee SP, Kim SY, Choi YH, Kim MJ, Lee CH, Lee JY, Kim DY. (2009). Expression of heat shock protein 60 kDa is upregulated in cervical cancer. *Yonsei Med J*, 50: 399-406. doi: 10.3349/ymj.2009.50.3.399.
- Jego G, Hazoumé A, Seigneuric R, Garrido C. (2013). Targeting heat shock proteins in cancer. *Cancer Lett*, 332: 275-285. doi: 10.1016/j.canlet.2010.10.014.
- Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, Krausz C. (2012). European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *Eur Urol*, 62: 324-232. doi: 10.1016/j.eururo.2012.04.048.
- Kamal MM, Omran OM. (2013). The role of heat shock protein 70 induced by geranylgeranylacetone in carbon tetrachloride-exposed adult rat testes. *Pathophysiol Off J Int Soc Pathophysiol*, 20: 139-146. doi: 10.1016/j.pathophys.2013.03.003.
- Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B, Hightower LE. (2009). Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones*, 14: 105-111. doi: 10.1007/s12192-008-0068-7.
- Kim H-E, Jiang X, Du F, Wang X. (2008). PHAPI, CAS, and Hsp70 promote apoptosome formation by preventing Apaf-1 aggregation and enhancing nucleotide exchange on Apaf-1. *Mol Cell*, 30: 239-247. doi: 10.1016/j.molcel.2008.03.014.
- Kimura M, Itoh N, Takagi S, Sasao T, Takahashi A, Masumori N, Tsukamoto T. (2003). Balance of apoptosis and proliferation of germ cells related to spermatogenesis in aged men. *J Androl*, 24: 185-191. doi: 10.1002/j.1939-4640.2003.tb02661.x.
- Levine AJ. (1997). p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88: 323-231. doi: 10.1016/s0092-8674(00)81871-1.
- Li Y, Li J, Cui L, Lai Y, Yao Y, Zhang Y, Pang X, Wang J, Liu X. (2013). Inhibitory effect of atorvastatin on AGE-induced HCAEC apoptosis by upregulating HSF-1 protein. *Int J Biol Macromol*, 57: 259-264. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.03.035.
- Macario AJL, Conway de Macario E. (2005). Sick chaperones, cellular stress, and disease. *N Engl J Med*, 353: 1489-1501. doi: 10.1056/NEJMra050111.
- MacRae TH. (2000). Structure and function of small heat shock/alpha-crystallin proteins: established concepts and emerging ideas. *Cell Mol Life Sci*, 57: 899-913. doi: 10.1007/pl00000733.
- Mobaraki F, Seghatoleslam M, Fazel A, Ebrahimzadeh-Bideskan A. (2018). Effects of MDMA (ecstasy) on apoptosis and heat shock protein (HSP70) expression in adult rat testis. *Toxicol Mech Methods*, 28: 219-229. doi: 10.1080/15376516.2017.1388461.
- Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A, Van Remmen H. (2007). Trends in oxidative aging theories. *Free Radic Biol Med*, 43: 477-503. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.034.
- Murphy ME. (2013). The HSP70 family and cancer. *Carcinogenesis*, 34: 1181-1188. doi: 10.1093/carcin/bgt111.
- Rérole AL, Jegou G, Garrido C. (2011). Hsp70: anti-apoptotic and tumorigenic protein. *Methods Mol Biol*, 787: 205-230. doi:

- 10.1007/978-1-61779-295-3_16.
- Ritossa FM. (1964). Experimental activation of specific loci in polytene chromosomes of *Drosophila*. *Exp Cell Res*, 35: 601-607. doi: 10.1016/0014-4827(64)90147-8.
- Rogon C, Ulbricht A, Hesse M, Alberti S, Vijayaraj P, Best D, Adams IR, Magin TM, Fleischmann BK, Höhfeld J. (2014). HSP70-binding protein HSPBP1 regulates chaperone expression at a posttranslational level and is essential for spermatogenesis. *Mol Biol Cell*, 25: 2260-2271. doi: 10.1091/mbc.E14-02-0742.
- Setyarani M, Zinellu A, Carru C, Zulli A. (2014). High dietary taurine inhibits myocardial apoptosis during an atherogenic diet: association with increased myocardial HSP70 and HSF-1 but not caspase 3. *Eur J Nutr*, 53: 929-937. doi: 10.1007/s00394-013-0596-5.
- Sherman MY, Gabai VL. (2015). Hsp70 in cancer: back to the future. *Oncogene*, 34: 4153-4161. doi: 10.1038/onc.2014.349.
- Shi Y, Thomas JO. (1992). The transport of proteins into the nucleus requires the 70-kilodalton heat shock protein or its cytosolic cognate. *Mol Cell Biol*, 12: 2186-2192. doi: 10.1128/MCB.12.5.2186.
- Skulachev VP, Longo VD. (2005). Aging as a mitochondria-mediated atavistic program: can aging be switched off? *Ann NY Acad Sci*, 1057: 145-164. doi: 10.1196/annals.1356.009.
- Stebbins CE, Russo AA, Schneider C, Rosen N, Hartl FU, Pavletich NP. (1997). Crystal structure of an Hsp90-Geldanamycin complex: targeting of a protein chaperone by an antitumor agent. *Cell*, 89: 239-250. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80203-2.
- Sun Y, MacRae TH. (2005a). Small heat shock proteins: molecular structure and chaperone function. *Cell Mol Life Sci*, 62: 2460-2476. doi: 10.1007/s00018-005-5190-4.
- Sun Y, MacRae TH. (2005b). The small heat shock proteins and their role in human disease. *FEBS J*, 272(11), 2613-2627. doi:10.1111/j.1742-4658.2005.04708.x
- Tremellen K. (2008). Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Hum Reprod Update*, 14: 243-258. doi: 10.1093/humupd/dmn004.
- Ogi S, Tanji N, Iseda T, Yokoyama M. (1999). Expression of heat shock proteins in developing and degenerating rat testes. *Arch Androl*, 43: 163-171. doi: 10.1080/014850199262454.
- Wu J, Liu T, Rios Z, Mei Q, Lin X, Cao S. (2017). Heat shock proteins and cancer. *Trends Pharmacol Sci*, 38: 226-256. doi: 10.1016/j.tips.2016.11.009.
- Young JC, Agashe VR, Siegers K, Hartl FU. (2004). Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 5: 781-791. doi: 10.1038/nrm1492.
- Zhang Y, Kwon S, Yamaguchi T, Cubizolles F, Rousseaux S, Kneissel M, Cao C, Li N, Cheng HL, Chua K, Lombard D, Mizeracki A, Matthias G, Alt FW, Khochbin S, Matthias P. (2008). Mice lacking histone deacetylase 6 have hyperacetylated tubulin but are viable and develop normally. *Mol Cell Biol*, 28: 1688-1701. doi: 10.1128/MCB.01154-06.