

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



İNVOLÜSYON DÖNEMİNDEKİ SIÇAN UTERUSUNDA
ISI ŞOK PROTEİNLERİ

Proje No: TSY-10-3052
Proje Türü: Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü
Prof.Dr. Narin LİMAN
Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

MAYIS 2013
KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TSY-10-3052 nolu proje olarak desteklenmiş olup teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
KAPAK	1
TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3
ÖZET	4
ABSTRACT	5
1. GİRİŞ VE AMAÇ	6
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1. UTERUSUN YAPISI	10
2.1.1. Endometriyum.....	10
2.1.2.Miyometriyum.....	11
2.1.3. Perimetriyum.....	11
2.2. SIÇANLARDA POSTPARTUM UTERUS İNVLÜSYONU.....	12
2.3. ISI ŞOK PROTEİNLERİ	13
2.3.1. Hsp105/110	17
2.3.2. Hsp90	18
2.3.3. Hsp70	18
2.3.4. Hsp60	19
2.3.5. Isı şok proteinlerinin genel fonksiyonları.....	20
2.3.6. Isı şok proteinlerinin dışı üreme sistemi ile ilgili fonksiyonları.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. DOKU TEMİNİ VE HAZIRLANMASI	26
3.2. İMMUNOHİSTOKİMYASAL ANALİZ.....	26
4. BULGULAR	28
4.1. Hsp105/110	28
4.2. Hsp90	36
4.3. Hsp70	44
4.4. Hsp60	53
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	61
6. KAYNAKLAR	66

İNVOLÜSYON DÖNEMİNDEKİ SIÇAN UTERUSUNDA ISI ŞOK PROTEİNLERİ

ÖZET

Bu araştırma, fizyolojik ve non-fizyolojik şartlar altındaki ökaryotik hücrelerde hücre siklusunun devamlılığında, hücre proliferasyonu ile gelişiminde, hücre canlılığı ve ölümünde, hücre iskeletinin organizasyonunda, hücresel yaşlanmada işlev gören proteinler olan ısı şok proteinlerinin (Hsp) postpartum 1., 3., 5., 10., 15. günlerde ve gebeliğin 5. gününde sıçan uterusundaki lokalizasyonlarında oluşabilecek değişimleri immunohistokimyasal yöntemle ortaya koymak amacıyla yapıldı. Çalışmada toplam 30 dişi sıçan kullanıldı. Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve Hsp105/110'nun incelenen tüm dönemlere ait sıçanların uteruslarında luminal ve bez epitelinde, stromal hücrelerde, mast hücrelerinde, miyometriyumdaki düz kas hücrelerinde, damar endoteli ile düz kas hücrelerinde eksprese olduğu gözlemlendi. Bu hücrelerde Hsp105/110'un sitoplazmik, Hsp90 ve Hsp70'in sitoplazmik ve nüklear, Hsp60'ın ise sitoplazmada partiküller şeklinde (mitokondriyal formda) bir immunboyanma sergiledikleri saptandı. Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve Hsp110'un hücrelerdeki boyanma yoğunluklarının gerek gebelik ve gerekse involüsyon sürecinde yapısal değişimlere paralel değişimler gösterdiği tespit edildi.

Sonuç olarak, Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve Hsp110'nun involüsyon dönemindeki uterusun çoğu bileşeninde eksprese olduğu ve involüsyon sürecine bağlı olarak değiştiği saptanmış olup, bu moleküllerin involüsyon sürecindeki uterusun endometriyumunda rejenerasyon ve apoptoz, miyometriyumunda miyositlerin klasmatosisi ve apoptozisi gibi olaylar ile immunolojik olaylarda görev alabilecekleri ileri sürülebilir.

Anahtar kelimeler: sıçan, uterus, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp105/110, immunohistokimya.

HEAT SHOCK PROTEINS IN RAT UTERUS DURING THE POSTPARTUM INVOLUTION PERIOD

ABSTRACT

This study was conducted to demonstrate the possible changes in localization of Heat shock proteins which their functions in eukaryotic cells are the continuity of the cell cycle, cell proliferation, and the development and measurement of cell viability, cytoskeleton organization, cellular aging under physiological and non-physiological conditions, at 1st, 3th, 5th, 10th and 15th days of postpartum and at day 5 of pregnancy rat uterus, using immunohistochemical techniques. In the study, 30 female rats were totally used. It was observed that Hsp60, Hsp70, Hsp90 and Hsp105/110 localized to the luminal and glandular epithelium, some stromal cells, mast cells, muscle cells in the myometrium as well as and the endothelium and smooth muscle cells of blood vessel in rat uterus throughout involution period and day 5 of pregnancy. In these cells, Hsp105/110 is cytoplasmic, Hsp90 and Hsp70 cytoplasmic and nuclear, Hsp60 in the form of particles in the cytoplasm (mitochondrial form) exhibited an immunostaining was detected. It was found that the immunostaining intensities of Hsp60, Hsp70, Hsp90 and Hsp105/110 in cells were changed as parallell to structural changes in the involution process and pregnancy of uterus.

Consequently, it was determined that Hsp60, Hsp70, Hsp90 and Hsp105/110 were expressed in the most component of uterus, but these expressions were determined to be changed depending to duration of involution, it might be asserted that these molecules can work in such cases endometrial regeneration and apoptosis, and klastosis and apoptosis of myometrial myocytes as well as immunological events at duration of involution.

Key words: Rat, uterus, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp105/110, immunohistochemistry

1. GİRİŞ/ AMAÇ VE KAPSAM

Uterus çok sayıda fonksiyona sahip bir dişi genital organıdır. Çiftleşme sırasında miyometriyal kontraksiyonlar spermiyumların uterus lumeninden ovidukta taşınmasında, endometriyal bezlerin salgısı ise spermlerin kapasitasyonunda önemli rol oynar. Uterus luteolitik veya antiluteolitik etkiler göstererek ovaryumda korpus luteumun fonksiyonunu düzenler. Steroid hormonların etkisi altında farklılaşarak blastosistin implantasyonunu kolaylaştırır. İmplantasyondan sonra da embriyonun gelişimi için uygun ortam oluşturur. Gebelikte embriyonun gelişimine paralel olarak yapı, hacim ve pozisyon açısından değişikliklere uğrar. Gebelik süresince uterusun kontraktilitesi geçici olarak durur ve doğumla birlikte yeniden başlar. Doğumun tamamlanmasından sonra uterusun anatomik, histolojik ve fizyolojik açıdan gebelik öncesi durumuna dönmesi için geçen süreç postpartum dönem (postparturient veya puerperal dönem) olarak tanımlanır. Postpartum dönem, fertilitenin sürekliliği yönünden oldukça önemli olup, uterusda meydana gelen değişiklikler uterus involusyonu olarak adlandırılır (Hafez and Hafez B, 2000).

İnvolusyon, gebeliğin olduğu kornunun gebeliğin olmadığı kornuya çok yakın ölçülere dönmesi, pelvik çatıdaki normal yerine gelmesi, normal tonusunu ve içeriğini tekrar kazanması olarak tanımlanır. Doğum sonrası 1- 6 günler arasında uterusun yaş doku ağırlığı 8 kat azalır (Shkurupiy et al., 2008a). İnvolüsyon, bir yara iyileşmesine benzer şekilde doku kaybı ve doku rejenerasyonu olmak üzere iki aşamada gerçekleşen kompleks bir biyolojik olgudur. Bu olgu uterus endometriyumundaki hücrelerin apoptozisi, nötrofil granülosit girişi, lipaz, karbohidraz, proteaz, nükleaz gibi yıkıcı enzimlerin salgılanması ve hücre döküntülerinin fagositozu ile (Nilsen-Hamilton et al., 2003), uterusun miyometriyumundaki miyositlerin klasmatosisi (sitoplazmik parçalanması), fibroblastlarda otofagositozis ve miyositlerin apoptozisi olaylarını içine alır (Shkurupiy et al., 2008a, Shkurupiy et al., 2008a).

Uterusun involusyon sürecini endometriyumun rejenerasyonu yanında bakteriyel kontaminasyonunun eliminasyonu da etkiler. Gebelik süresince serviks müköz bir tıpa ile kapalı olduğundan uterus lumeni bakteriyel kontaminasyondan korunur. Ancak, uterusu koruyan bu fiziksel bariyer doğum sırasında ortadan kalkar. Yavrunun doğumunu takiben oluşan negatif basınç nedeniyle gaita ve çevredeki mikroorganizmalar kolayca uterusu girerler. Gebelik süresince uterus anaerob bir ortam olmasına rağmen sterildir. Ideal olarak postpartum dönem de non-infeksiyöz bir periyod olup, uterus büyüklüğündeki azalma ve uterus içeriğinin te yönlü akışı ile serviksin kademeli olarak kapanması mikrobiyal kontaminasyonu önler. Ancak uterusdaki nekrotik doku, hücre döküntüleri, fetal sıvılar ve kan bakteriler için uygun üreme ortamı oluştururlar. Uterus endometriyumu uterusu enfeksiyonlara karşı koruyan doğal savunma bir savunma sistemine sahip olan bir mukozadır. Doğumu takiben periferik kandan uterus lumenine ilk olarak nötrofil göçü şekillenir. Böylece bakterilere karşı fagositik bir bariyer oluşturularak bakterilerin eliminasyonu sağlanmaya çalışılır. Postpartum dönemde uterus involüsyonu fizyolojik bir olgu olmasına karşılık, humoral immün mekanizmalardaki ve lokal immün sistemdeki yetersizlikler nedeniyle uterusun savunma sisteminin bakteriyel ajanlara karşı etkisiz kalması uterusu bir enfeksiyon şekillenmesine yol açar ve postpartum uterus enfeksiyonu (metritis) şekillenebilir.

Isı şok proteinleri fizyolojik ve non-fizyolojik şartlar altındaki prokaryot ve ökaryotlarda bulunan proteinler olup, ökaryotik hücrelerde hücre siklusunun devamlılığında, hücre proliferasyonu ile gelişiminde, hücre canlılığı ve ölümünde, hücre iskeletinin organizasyonunda, hücre yaşlanmada işlev görürler (Pechan, 1991). Isı şok proteinleri hücrede şaperon moleküller olarak olgunlaşmamış olan ve stres sonucu yanlış katlanmış proteinlerin doğru katlanmasına yardım ederek veya onların agregasyonunu önleyerek protein homeostasisinde önemli bir rol oynarlar (Walter and Buchner, 2002). Memeli ısı şok proteinleri molekül ağırlıklarına göre Hsp110, Hsp90, Hsp70, Hsp60, Hsp40 ve küçük ısı şok

proteinleri olarak sınıflandırılırlar (Kaźmierczuk and Kiliańska, 2009). Her bir ısı şok protein ailesini oluşturan üyeler ya yapısal olarak ya da indüklenme sonucu hücrenin farklı hücresel komponentlerine lokalize olurlar. Isı şok proteinleri, hücrelerde normal fizyolojik şartlarda düşük düzeylerde bulunurlar. Ancak infeksiyon, yangı, egzersiz, etanol, arsenik, ağır metaller, ultraviyole ışınları gibi hücresel toksinlere maruz kalma, açlık, hipoksi, oksijen yetersizliği, duygusal ve mekanik stres gibi stres faktörlerinin varlığında artış gösterirler (Lindquist S and Craig, 1988; Cotto and Morimoto, 1999; Santoro, 2000). Hsp90, Hsp70 ve Hsp60 memeli hücrelerinin yapısında bulunurlar, oysa Hsp70 ve Hsp27 farklı stresörler tarafından indüklenirler (Lindquist S and Craig, 1988; Cotto and Morimoto, 1999; Santoro, 2000). Isı şok proteinleri apoptozisin düzenlenmesinde son derece kompleks bir role sahiptirler (Bere, 2004; Lanneau et al, 2008). Isı şok proteinlerinden Hsp27 ve Hsp70 antiapoptotik olduğu halde, Hsp60 ve Hsp10 proapoptotik etkilidir. Hsp90'nın ise apoptotik uyarana bağlı olarak farklı moleküler partnerlere sahip olduğu ve ağırlıklı etkisinin antiapoptotik olduğu bildirilmektedir (Garrido, 2001; Lanneau et al., 2007). Hsp60, Hsp70, Hsp90 gibi ısı şok proteinlerinin antijen sunumu, makrofaj ve lenfositlerin aktivasyonu, dentritik hücrelerin olgunlaşması ve aktivasyonu gibi immunolojik olaylarda da önemli roller üstlendiği rapor edilmektedir (Moseley, 2000; Multhoff, 2006; Tsan and Gao, 2009; Multhoff, 2009).

Isı şok proteinlerinin sentezlerinin steroid hormonlar gibi indükleyicilerin etkisiyle arttığı, genital sistemde steroid reseptörler için şaperon moleküller olduğu (Koshiyama et al., 1995; Pratt and Toft, 1997) ve bu proteinlerin implantasyon, desidualizasyon ve plasantasyon sırasında önemli roller üstlendiği (Li et al., 1996) bilinmektedir. Isı şok proteinlerinin seksüel siklus, gebelik ve doğum sırasında uterusdaki lokalizasyonları insan ve çeşitli hayvanlarda yapılan çalışmalarla (Koshiyama et al., 1995; Nip et al., 1994; Komatsu et al., 1997; Tabibzadeh et al., 1996; tabibzadeh et al., 1999; Wu et al., 1996; Tyson et al., 2008; Mariani et al., 2000; Cross et al., 2007; Ciocca et al., 1996; Lachance et al., 2007; MacIntyre et al.,

2008; White et al., 2005; Neuer et al., 1997; Neuer et al., 2002; Yuan et al., 2009) ortaya konmuş olup, bu çalışmalarda ısı şok proteinlerinden Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve Hsp110/105'in ekspresyonlarının özellikle endometriyumda seksüel sıklusa ve gebeliğe bağlı değişimler gösterdiği bildirilmektedir. Isı sok proteinlerinden Hsp20, Hsp27 ve α B-crystalin gibi küçük molekül ağırlıklı proteinlerin ise uterusun miyometriyumunda düz kas hücrelerinin proliferasyonu, göçü, canlılığı, sinyal proteinlerinin oluşumu ve kontraksiyonların regülasyonunda rol oynayan şaperonlar olduğu belirtilmektedir (Tyson et al., 2008; Mariani et al., 2000; Cross et al., 2007; Ciocca et al., 1996; Lachance et al., 2007; MacIntyre et al., 2008; White et al., 2005; Salinthonet al., 2008; hatayama et al., 1997). Küçük moleküler ağırlıklı proteinlerden Hsp20'nin gebelik sırasında miyometriyal miyositler üzerinde relakse edici etkilerinin bulunduğu (Tyson et al., 2008), gebe sıçanlarda Hsp20 ekspresyonunun gebeliğin erken döneminde çok yüksek iken, doğumda azaldığı bilinmektedir (Cross et al., 2007). Doğumda miyometriyumda Hsp27 ve α B-crystalin'de %69 oranında bir azalma olduğu, total Hsp27 düzeyinin değişmediği ancak Hsp27-Ser15'nin üç kat arttığı, dolayısıyla Hsp27 fosforilasyonunun arttığı ifade edilmektedir (MacIntyre et al., 2008).

Uterusun involusyon sürecinde apoptosis ile nötrofil granülosit girişinin olması ve ısı şok proteinlerinden özellikle Hsp60, Hsp70, Hsp 90 ile Hsp110/105'in hem hücrel apoptoz, hem de immunolojik mekanizmalardaki etkinlikleri birlikte ele alındığında, uterusun involusyon sürecinde özellikle bu proteinlerin ekspresyonlarının farklılık gösterebileceği düşüncesi akla gelmektedir. Buradan yola çıkılarak hazırlanan bu çalışmada uterusun endometriyal ve miyometriyal dokularında ısı şok proteinlerinden Hsp60, Hsp70, Hsp 90 ve Hsp110/105'in lokalizasyonlarının belirlenmesi ve bu bağlamda involüsyon sürecinde ısı şok proteinlerinden hangisinin veya hangilerinin etkin olduğunun ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uterusun yapısı

Uterus ovaryumdan salgılanan hormonların etkisi altında yapısal değişiklikler gösteren ve ovidukt ile vagina arasında yer alan önemli bir dişi genital sistem organıdır. Uterus duvarı histolojik olarak üç ana katmandan oluşur: Tunika mukoza (endometriyum), Tunika muskularis (miyometriyum), Tunika seroza (perimetriyum)

2.1.1. Tunika mukoza (endometriyum): Lamina epiteliyalis ve lamina propriya (stroma) olmak üzere iki alt katmandan oluşur.

Lamina epiteliyalis: İnsan, at, etçiller ve sıçanda tek katlı prizmatik, genişletirenler ve domuzda çok katlı veya yalancı çok katlı prizmatik epitel olup silyumlu ve sekresyon yapan hücreler içerir.

Lamina proriya: Fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan damarları ve basit tubuler özellikte bezler (uterus bezleri-Gll. uterinae) içeren gevşek bağdokusundan oluşur. Uterus bezlerini oluşturan epitel yüzey epiteline benzemekle birlikte az sayıda silyumlu hücreler içerir. Pubertiden önce endometriyum inaktif olup tubular bezler, yoğun bir fibroblastik stroma (lamina propriya) ve ince kan damarlarını içerir. Endometriyum hipofiz bezi ve ovaryumların hormonal aktivitesi sonucu değişimler gösterir. Bezler stroma ve kan damarlarında gözlenen bu değişiklikler uterinal siklus olarak adlandırılır. Ovaryumdaki değişikliklerle birlikte endometriyal değişiklikler genital siklus (seksüel siklus veya östrus siklusu) olarak adlandırılır. Ovaryumdan salgılanan steroid hormonların (östrojen ve progesteron) etkisi altında endometriyal değişiklikler üç evre altında toplanabilir:

Proliferasyon evresi: Hipofizden salgılanan FSH (follikül stimule edici hormon)'ın etkisiyle ovaryumlarda folliküllerin geliştiği dönemdir. Bu nedenle follikül hormonu evresi adı da

verilir. Follikül gelişimine paralel olarak östrojen seviyesinde bir artış söz konusu olduğundan östrojenik evre olarak da adlandırılır. Östrojenin mitozu aktive etmesi sonucu stromal hücrelerin artışı ve uterus bezlerinin büyümesi ile endometriyumun kalınlığında artış gözlenir.

Sekresyon evresi: Hipofizden salgılanan LH (Luteinizasyon hormonu)'nın etkisiyle ovaryumda Graff follikülünün patlaması sonucu şekillenen ovulasyonu izleyen dönemdir. Lutein hormonu evresi (Luteal evre) olarak da adlandırılır. Bu dönemde uterus bezleri glikoproteinden zengin bir salgı yapmaya başlarlar. Bez epitelyum hücrelerinin sitoplazmaları ve bezlerin lumenleri salgı ile dolarak hacimli bir görünüm alırlar. Bezler lamina propriayı hemen tamamen doldurur. Kapılar damarların geçirgenliklerinin artması sonucu lamina propriya ödemli bir hal alır.

İnvölüsyon evresi: Döllenme olmadığı takdirde kandaki progesteron seviyesinde düşüşe paralel olarak uterus bezlerinde sekresyon durur, bezler küçülür ve endometriyumun kalınlığında bir azalma gözlenir. Bu değişikliklerin olduğu evre involüsyon evresi olarak tanımlanır.

2.1.2. Tunika muskularis (miyometriyum):

Uterus duvarının en kalın katmanı olan miyometriyum organizmadaki en uzun düz kas hücrelerini içerir. Miyometriyum içte kalın sirküler, dışta ince longitudinal seyirli iki kas katmanından oluşur. Bu iki katman stratum vasculare adı verilen arter, ven ve lenf damarlarından zengin bir bağdoku alanı bulunur.

2.1.3. Tunika serosa (perimetriyum):

Uterusun en dış katmanı olup peritonun viseral yaprağından oluşur. Dış yüzeyi mezotel hücrelerinden oluşan bu katman subserosa adı verilen içinde kan ve lenf damarları bulunan gevşek bağdoku ile miyometriyuma bağlanır.

2.2. Sıçanlarda postpartum uterus involüsyonu.

İnvolüsyon; dişi genital organların doğumu sonrası normal ölçülerine ve fonksiyonlarına dönme süreci olarak tanımlanır. İnvolüsyon süreci normal fizyolojik bir süreçtir. Dişi genital organlar arasında en belirgin olarak uterusda görülen involüsyon bir yara iyileşmesine benzer şekilde doku kaybı ve doku rejenerasyonu olmak üzere iki aşamada gerçekleşen kompleks bir biyolojik olgudur. Bu olgu genel olarak hem endometriyumdaki hem de miyometriyumdaki hücresel değişiklikleri içine alır (Shkurupiy et al., 2008a; Shkurupiy et al., 2008b; Nilsen-Hamilton, et al. 2003; 995: 94-108). Bu değişiklikler epiteliyal rejenerasyon ve proliferasyon, stromal bağdokunun temel maddesindeki suda eriyebilir mukoprotein ve mukopolisakkarid içeriğinin artması, matriks metalloproteinazlardan MT1-MMP, MMP2, MMP9'un artışına bağlı olarak ekstraselüler matriks ile kollajenin bozulması (degradasyon), miyometriyal hücrelerin otolizi ve uterus kontraksiyonlarından oluşur (Warbrick, 1955; Harkness an Moralee 1956; Maibenco, 1960; Henell et al., 1983; Elkhilil et al., 2005; Manase et al., 2006; Alan ve Liman, 2011). Sıçanlarda doğum sonrası erken postpartum östrus görülmesi nedeniyle re-epitelizasyonun ilk 36 saat içerisinde gerçekleştiği (Warbrick, 1955; Elkhilil et al., 2005), ancak epitelin rejenerasyon ve farklılaşma sürecinin 10. güne kadar devam ettiği (Alan ve Liman, 2011) belirtilmektedir. Sıçanlarda involüsyon sürecinde uterusdaki yapısal değişiklikleri inceleyen Alan ve Liman (2011) postpartum 1. günde geniş olan uterus lumeninin mukozal dörümlemlerle kuşatıldığını, kriptlerin derin ve düzensiz olduğunu, intraepiteliyal kapilar damarlarla birlikte farklı hücre tipleri içeren epitelin yalancı çok katlı prizmatik, lamina propriyanın ise ödemli olduğunu bildirmektedirler. Postpartum 3. günde intraepiteliyal damarların kaybolduğunu, kriptlerin derinliklerinin azaldığını, lamina propriyanın hücre yoğunluğunun arttığını, 5. günde ise uterus lumeninin daralarak T şeklini aldığını, epitelin aynı tipteki prizmatik hücrelerden oluştuğunu ve çok az kript bulunduğunu rapor

etmektedirler. Bu yazarlar postpartum 10. ve 15. günlerde kriptlerin tamamen kaybolduğunu, yüzey epitelinin ise yüksek prizmatik özellik kazandığını belirtmektedirler. Postpartum 1., 3. ve 5. günlerdeki yüzey epitel yüksekliklerinin, 10. ve 15. günlerdekinden farklı olduğunu ($p<0.01$), 1., 3., ve 5. günlerde ölçülebilen kript yüksekliklerinin de farklılık gösterdiğini ($p<0.01$) ifade etmektedirler. Gerek stroma ve gerekse miyometriyum kalınlıklarının da postpartum birinci günden 10. güne kadar değişim gösterdiğini ve sıçanlarda uterus involüsyonunun postpartum 10. günde tamamlandığını ileri sürmektedirler. Nitekim Elkhail ve ark. postpartum birinci günde longitudinal düz kas tabakasının geniş bağdoku alanlarına sahip olduğunu, postpartum 3. günde bu alanların azaldığını ve bu azalmanın da postpartum 10. güne kadar devam ettiğini bildirmektedirler. Postpartum birinci günde miyometriyumun sirküler katmanında mekik şekilli hücrelerin daha belirgin olduğunu, postpartum 3. günde bu hücrelerin mekik şeklini kaybederek daha kompakt bir yapı kazandığını da ifade etmektedirler. Postpartum 3. günde düz kas hücrelerinde hem apoptoz, hem de hücre proliferasyonunun en yüksek düzeyde olduğu bildirilmektedir (Takamoto et al., 1998; Elkhail et al., 2005). Elkhail ve ark. (2005) da postpartum 10. günde sıçan uterusunda sirküler kas tabakasının gebe olmayan uterusunkine benzer özellik gösterdiği ve involüsyonün 10. günde tamamlandığını ifade etmektedirler.

2.3. Isı şok proteinleri

Isı şok proteinleri veya stres proteinleri, normal şartlar altındaki hücrelerde bulunan, fakat ısı yükselmesi gibi stres faktörlerine maruz kalan hücrelerde yüksek düzeyde eksprese olan bir protein ailesidir. Bu proteinlerin prokaryotik bakterilerden memelilere kadar tüm organizmalarda bulunduğu ortaya konmuştur (Schlesinger, 1990). İlk olarak 1962 yılında ısı stresine maruz kalan meyve sineğinin (*Drosophila melanogaster*) tükürük bezinde keşfedilmiş

(Ritossa, 1962) olan bu proteinler, 1974 yılında Tissiere ve ark. (Tissiere et al., 1974) tarafından ısı şok proteinleri olarak adlandırılmıştır.

Isı şok proteinleri ökaryotik hücrelerde hücre siklusunun devamlılığında, hücre proliferasyonu ile gelişiminde, hücre canlılığı ve ölümünde, hücre iskeletinin organizasyonunda, hücre yaşlanmada işlev görürler (Pechan, 1991). Isı şok proteinlerinin bazı üyelerinin esansiyel rolleri protein homeostasisi olduğu için bütün organizmalarda düşük veya orta seviyelerde bulunurlar. Isı şok proteinleri özellikle infeksiyon, yangı, egzersiz, etanol, arsenik, ağır metaller, ultraviyole ışınları gibi hücresel toksinlere maruz kalma, açlık, hipoksi, oksijen yetersizliği, duygusal ve mekanik stres gibi stres faktörlerinin varlığında artış gösterirler (Lindquist and Craig, 1988; Cotto and Morimoto 1999; Santoro, 2000).

Isı şok proteinini indükleyen durumlar

Fizyolojik	Patolojik	Çevresel
Hücre bölünme siklusu	Viral infeksiyon	Isı değişiklikleri (soğuk, sıcak stresi)
Büyüme faktörleri	Bakteriyel infeksiyon	Ağır metaller
Hücre farklılaşması	Parazitik infeksiyon	Alkol
Doku gelişimi	Ateş	Antibiyotikler
Hormonal stimülasyon	Yangı	Radyasyon
	İskemi	
	Hipertrofi	
	Oksidan yaralanma	
	Malignite	
	Otoimmünite	
	Toksinler	
	Lipopolisakkarid	

Isı şok proteinleri ve özellikleri (Prohászka and Füst, 2004)

Ökaryotik (Prokaryotik) aile	Gen sembolü	Gen adı	Gen lokasyonu	Hücresel lokalizasyon
Hsp110 (C1P)	Hsp105A, Hsp105B	Heat-shock 110 kDa protein	13q12.3	Sitosol/çekirdek
	APG-1	Heat-shock 110 kDa protein, osmotic stress protein 94	4q28	Sitosol/çekirdek
	APG- 2/HspA4	Heat-shock 70 kDa protein 4 (Hsp apg-2)	5q31.1-q31.2	Sitosol/çekirdek
Hsp90 (HtpG)	HspCA	Heat-shock 90 kDa protein 1, alfa	14q32.3 (4q3.5, 11p14.1-14.2, 1q212- q22, pseudogenes)	Sitosol, çekirdek
	HspCB	Heat-shock 90 kDa protein 1, beta	6p12 (4q21-q25, 15pter-q21, pseudogenes)	Sitosol, çekirdek
	TRAP1	Heat-shock protein 75	16p13.3	Mitokondriyon
Hsp70 (DnaK)	HspA1A	Heat-shock 70 kDa protein 1A	6p21.3	Sitosol, çekirdek
	HspA1B	Heat-shock 70 kDa protein 1B	6p21.3	Sitosol, çekirdek
	HspA1L	Heat-shock 70 kDa protein-like 1	6p21.3	Sitosol, çekirdek
	HspA2	Heat-shock 70 kDa protein 2	14q24.1	Sitosol, çekirdek
	HspA3	Heat-shock 70 kDa protein 3	21	Sitosol, çekirdek
	HspA5	Heat-shock 70 kDa protein 5 (glucose regulated protein, 78 kDa, grp78, BiP	9q33-q34.1	Endoplazmik retikulum
	HspA6	Heat-shock 70 kDa protein 6 (Hsp70B')	1cen-qter	Sitosol, çekirdek
	HspA7	Heat-shock 70 kDa protein 7 (Hsp70B)	1q23.1	Sitosol, çekirdek
	HspA8	Heat-shock 70 kDa protein (HSC70)	11q23.3-q25	Sitosol, çekirdek
	HspA9A	Heat-shock 70 kDa protein 9A (mortalin 1)	İnsanda bilinmiyor, farede kromozom 18	Sitosol, çekirdek
	HspA9B	Heat-shock 70 kDa protein 9B (mortalin-2)	5q31.1	Sitosol, çekirdek
Hsp60 (GroEL)	HspD1	Heat-shock 60 kDa protein (chaperonin)	12q12-13.2	Mitokondriyon, sitosol

Isı şok proteinlerinin molekül ağırlıkları 10-150 kDa arasında değişmekte olup, fonksiyonlarından ziyade molekül ağırlıklarına göre; büyük (HSP100: 100-110kDa ve HSP 90: 75- 96 kDa), intermediyer (HSP70:66-78kDa, HSP60 ve HSP40) ve küçük (sHSP:8.5-40kDa) ısı şok proteinleri olarak adlandırılırlar (Prohászka and Füst, 2004; Kaźmierczuk and Kiliańska, 2009).

2.3.1.Hsp 110

Hsp110 bütün omurgalılarda bulunan bir ısı şok proteini ailesidir. Hsp110 aynı zamanda Hsp105 olarak da bilinir (40). Hsp110 ailesinin memelilerde özellikle de fare ve insanlarda osmotik stres proteini 94 [Apg-1/Osp94 (A: ATP-, P: peptid- bağlayan parça, G: germ hücre kökenli)], iskemiye duyarlı protein 94 [Apg-2/Irp94] ve Hsp110/105 olmak üzere üç üyesi bulunmaktadır (Yasuda et al., 1995; Kaneko et al., 1997a; 1997b; Kojima et al., 1996; Yagita et al.,1999). Apg-1 ve Apg-2 özellikle farelerde gonadlarda eksprese olurlar. Farenin diğer dokularında düşük düzeydedirler. Apg-1 testisin germ hücrelerinde en yüksek oranda bulunur. Germ hücrelerinin olgunlaşmasına paralel olarak Apg-1 düzeyinin artması, Apg-1'in germ hücrelerinin gelişiminde önemli rol oynadığını göstermektedir (Kaneko et al., 1997c). Apg- 2 farenin ovaryum ve testis dokularında yüksek oranda eksprese edilir (Kaneko et al., 1997a).

Hsp110/105 serebral korteks ve hippokampusu için alan beynin nöronal bölgelerinde bulunur (Yagita et al., 2001; Nakamura et al., 2008). Hsp110/105'in Hsp105 α ve Hsp105 β olmak üzere iki alternatif formu bulunmaktadır (Hatayama et al., 1994a; Hatayama et al., 1994b, 48). Hsp105 α yapısal olarak eksprese edilir ve stresin çeşitli şekillerine cevapta üretilir, oysa Hsp105 β Hsp105 α 'nın 44 aminoasit eksik olan formudur ve 42°C'deki ısı şokunu takiben şekillenir (Yasuda et al., 1995, Ishihara et al., 1999; Yasuda et al., 1999). Memeli hücrelerinde bu proteinler Hsp70 veya Hsc70 ile ilişkili proteinler olarak bulunurlar (Easton et al., 2000; Lee-Yoon et al., 1995; Hatayama et al., 1998) ve *in vivo* ile *in vitro* olarak

Hsc70'in şaperon aktivitesini baskırlar (Yamagishi et al., 2000). Hsp105 α memeli hücrelerinin sitoplazmasında, Hsp105 β ise çekirdeğinde yerleşir (Saito et al., 2007).

2.3.2.Hsp90

Hsp90 protein ailesi bakteri ve tüm ökaryotlarda bulunan ve hücre proteinlerinin %1-2'sini oluşturan 90 kDa'luk molekül ağırlığındaki ATP bağımlı şaperonlardır (Csermely et al., 1998). Hsp 90 proteinleri stres yanıtının regülasyonunda, yeni sentezlenen proteinlerin doğru katlanmasında, stres sonrası denatüre proteinlerin yeniden katlanması ve stabilize edilmesinde, katlanmış ve katlanmamış proteinlerin agregasyonu ve yanlış katlanmasının önlenmesinde, endoplazmik retikulum ve organel membranlarında protein transportunda görev alırlar (Schatz and Dobberstein, 1996; Young et al., 2001). Hsp90 proteinleri sitosolik proteinlerin %1-2'sini oluştururlar ve strese yanıt olarak birikebilirler. Hsp90 proteinleri Hsp90A, Hsp90B, Hsp90C, TRAP (tumor necrosis factor receptor-associated protein 1) and HTPG (High-temperature protein G) olmak üzere beş alt aileden oluşur. Hsp90A ve Hsp90B bütün ökaryotik canlılarda bulunduğu halde, Hsp90C bitkilerde kloroplastta, Trap hayvanlarda and HTPG ise bakterilerde bulunur. HSP90A sitosolde, HSP90B (GrP94, 94-kDa glukoz ile ilişkili protein) endoplazmik retikulumda, TRAP ise mitokondrilerde bulunan Hsp90 proteinidir. Hsp90A, Hsp90AA1 (Hsp90 α , indüklenebilir form) ve Hsp90AB1 (Hsp90 β , yapısal form) olarak ikiye ayrılır (Chen et al., 2006). Hsp90 ailesine yeni katılan ve Hsp90N olarak adlandırılan sitosolik ısı şok proteini hücrel transpormasyonla ilişkili bir proteindir (Grammatikakis et al., 2002).

2.3.3.Hsp70

Stres proteinlerinin Hsp70 ailesi ısı şok proteinlerinin en fazla incelenen sınıfını oluşturur. Hsp70 ailesi, indüklenebilir Hsp70, yapısal olarak eksprese olan Hsc70, mitokondrial Grp75 (mortalin) ve endoplazmik retikulumda lokalize olan GRP78 olmak üzere dört üyeden oluşur (Jaattela 1999). Normal koşullarda Hsp70 proteinleri ATP-bağımlı moleküler şaperonlar

olarak multiprotein komplekslerinin oluşumunu kolaylaştırır; hücre membranı ve çekirdekte polipeptid translokasyonuna katılırlar ve olgunlaşmamış proteinlerin katlanmasına yardım ederler (Bukau and Horwich, 1998; Ryan and Pfanner 2002; Mayer and Bukau, 2005). Stres altında ise indüklenebilir Hsp70'in sentezi hücrelerin denatüre veya katlanmamış proteinlerin artan konsantrasyonu ile başa çıkabilme yeteneğini artırır (Nollen et al., 1999). Hsp70 hariç, Hsp70 ailesinin diğer üyeleri primat hücrelerinde yapısal olarak eksprese olurlar. Hsp70 proteini ısı stresi ile indüklenir. Olgunlaşmamış polipeptid zincirlerinin şaperonu olan Hsp70 ve Hsc70, memeli hücrelerinin çekirdek ile sitoplazmalarında bulunurlar. Bu proteinler yanlış katlanmış proteinlerin birikimine karşı hücrelerin korunmasında görev alırlar (Goldfarb et al., 2006). Grp78 endoplazmik retikulumda lokalizedir. Olgunlaşmamış peptid zincirlerin katlanması ve translokasyonuna hizmet eder (Little et al., 1994). Grp75 mitokondriyal matriksde sınırlı olarak eksprese olan ısı şok proteinidir. Çekirdek ve mitokondri orijinli olgunlaşmamış polipeptid zincirlerinin katlanması ve translokasyonuna katılır. Grp75 ve Grp78 glukoz yoksunluğu sonucu indüklenirler (Wadhwa et al., 1993).

2.3.4. Hsp60

Hsp60 proteini mitokondriyal proteinlerin sentezi ile sitoplazmadan mitokondriyal matrikse transportundan sorumlu mitokondriyal bir şaperondur. Hsp60 hücrede primer olarak mitokondriyonlarda (mitokondriyal form), %15-20 oranında da sitoplazmada (sitoplazmik form) bulunur. Hsp60 alt üniteleri çekirdekdeki genler tarafından kodlanırlar ve sitosole aktarılırlar. Daha sonra mitokondri matriksine taşınırlar ve mitokondrideki diğer Hsp60 proteinleri tarafından işlenirler (Itoh et al., 1995; Itoh et al., 2002). Hsp60 linear aminoasid zincirlerinin üç boyutlu yapıya dönüştürülmesine yardım eder ve hücresel proteinlerin yaklaşık %15-30'unu oluşturur (Ranford et al., 2000). Hsp60 mitokondriyal DNA'nın transmisyonu ve replikasyonunda da rol oynar (Kaufman et al., 2003). Hsp60 mitokondriyal proteinlerin katlanmasına katılır ve denatüre veya yanlış katlanmış proteinlerin proteolitik

yıkımını ATP bağımlı olarak kolaylaştırır. Hsp60'ın şaperon fonksiyonu Hsp60'a bağlanan ve substrat bağlanması ile ATPaz aktivitesini düzenleyen Hsp10 tarafından ayarlanır. ADP varlığında iki Hsp10 molekülü bir Hsp60 molekülüne bağlanır (Bukau and Horwich, 1998).

2.3.5. Isı şok proteinlerinin genel fonksiyonları

Genel olarak ısı şok proteinleri intrasellüler ve ekstrasellüler yerleşimlerine göre bir çift fonksiyona sahiptirler (Schmitt et al., 2007). İntrasellüler ısı şok proteinleri hücredeki diğer proteinler için intrasellüler şaperonlar olarak işlev görürler. Isı şok proteinleri protein sentezinde, protein konformasyonunda, protein agregasyonun ve bozuk yapıdaki proteinlerin neden olduğu hasarın önleminde sitoprotektif rol oynarlar. Özellikle katlanmamış proteinleri stabilize ederek hücrede membranlar arasındaki taşıyıcı proteinlere yardım ederler (Walter and Buchner, 2002). Eski proteinleri çekirdek ve sitoplazmada bulunan ve hücrenin geri dönüşüm kutusu olarak adlandırılan proteazomlara taşırlar ve yeni sentezlenen proteinlerin katlanmalarına yardım ederler. Bu aktiviteler bir hücrenin kendi onarım sisteminin bölümleridir ve hücrel stres yanıtı veya ısı şok yanıtı olarak adlandırılırlar (Kuhn et al., 2006). Moleküler şaperonlar sadece yeni şekillenen proteinlerin katlanmaları için değil aynı zamanda ısı şoku gibi stres durumlarında proteinlerin korunması için de gereklidirler (Hightower and Hendershot, 1997). Ekstrasellüler veya membranda yerleşmiş olan ısı şok proteinleri immün sistemi aktive ederler (18, Prohászka and Füst 2004; Kuhn et al., 2006; Schmitt et al., 2007; Malaïtsev et al., 2008; Nishikawa et al., 2008; Multhoff, 2009). Son yıllardaki çalışmalar Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve gp96 [Hsp90'nın endoplasmik retikulum (ER) formu]'nın antijen sunumu, lenfosit ve makrofajların aktivasyonu, antijen sunan hücreler olan dentritik hücrelerin olgunlaşması ve aktivasyonunda görev alarak doğal ve edinsel immün yanıtı katıldıklarını göstermektedir (Li et al., 2002; Wallin et al., 2002; Tsan and Gao, 2004; Calderwood, et al., 2007; Pockley et al., 2008).

Isı şok proteinleri farklı moleküler ağırlıkta olmalarına karşılık ortak bir fonksiyonel alanlara (domain) sahiptirler. Bunlar: 1) adenin nükleotidi bağlayan alan: ATP'ye bağlanır ve onu hidrolize eder 2) peptid bağlayan alan: Substrat proteinlerin açık hidrofobik rezidülerine bağlanır. (Fink, 1999; Hartl and Hayer-Hartl, 2002; Hightower and Hendershot, 1997; Jaattela, 1999). ATP'ye bağlanma substrat proteinin serbest bırakılmasına yol açacak önemli bir yapısal değişimi tetikler (Fink, 1999; Hartl and Hayer-Hartl, 2002) Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein *Science* 295,1852-1858; McCarty et al., 1995; Palleros et al., 1994). Isı şok proteinleri protein olmayan moleküllerin açık hidrofobik rezidülerine de bağlanırlar. Nitekim, ısı şok proteinlerinden Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve gp96 bakteriyel LPS (endotoksin)'e bağlandıkları gösterilmiştir (Habichet et al., 2005; Triantafyllou, et al., 2001; Byrd et al., 1999; Reed et al., 2003). Yüksek molekül ağırlıklı ısı şok proteinleri ATP-bağımlı şaperonlardır ve ATP'ye bağlanmaları için yardımcı şaperonlara gereksinim duyarlar. Oysa Hsp27 gibi küçük molekül ağırlıklı proteinler ATP-bağımsız şaperonlardır (Garrido et al., 2001).

Sitosolde bulunan Hsp70 ve Hsp90'nın ve endoplazmik retikulumda bulunan gp96'nın hücrede üretilen antijenik peptide bağlandıkları belirtilmektedir. Bu antijenik peptidler lenfositlere sunulmak üzere hücre yüzeyinde bulunan MHC sınıf I moleküllerine ısı şok proteinleri tarafından transport edilirler (Liet et al., 2002; Ishii et al., 1999; Srivastava, 2008). Bu ısı şok proteinlerinin şaperon fonksiyonlarının bir uzantısı olup CD8+ T lenfositlerin aktivasyonuna neden olan antijen sunumunun endojen yolunun bir parçası olduğunu gösterir. Yapılan çalışmalar Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve gp96 gibi ısı şok proteinlerinin TNF- α , IL-1, IL-6, ve IL-12 gibi proinflatuvar sitokinlerin üretimini ve monositler, makrofajlar ve dentritik hücreler tarafından üretilen C-C kemokinlerin ve nitrik oksitin salımını stimule ettiğini göstermektedir. Ayrıca ısı şok proteinlerinin dentritik hücrelerin olgunlaşmasını indüklediği (Basuet et al., 2000; Somersan et al., 2001; Flohe et al., 2003), Doğal Katil hücrelerinin (NK

hücreleri) proliferasyonu, migrasyonu ve sitosolik aktivitesini (Multhoff et al., 1999; Gastpar et al., 2004) ve antijen bağımlı T lenfosit aktivasyonunu ve IFN- γ üretimini (More et al., 2001; Breloer et al., 2001) stimule ettiği rapor edilmektedir. Isı şok proteinlerinin sitokin benzeri fonksiyonlarından ötürü ekstrasellüler olarak salındığı stres veya doku yaralanma bölgelerinde konakçının bağışıklık sistemi için tehlike sinyalleri olarak hizmet ettiği ileri sürülmektedir (Chen et al., 1999; Williams and Ireland, 2008).

Isı şok proteinlerinin hücre apoptozisini ya direkt hücre apoptozisini teşvik ederek veya bir anahtar sinyal proteininin şaperonu olarak apoptotik cevabı inhibe ederek düzenledikleri ifade edilmektedir (Sreedhar and Csermely, 2004). Memelilerde Hsp105'in hücre tipine bağlı olarak ya proapoptotik (Yamagishi et al., 2002) ya da anti-apoptotik faktör olarak (Hatayaama et al., 2001) işlev gördükleri belirtilmektedir. Hsp105'in stresle indüklenmiş apoptozise karşı neuronal hücreleri koruduğu ve memeli beyinde anti-apoptotik nöroprotektif faktör olduğu bilinmektedir (Wakatsuki and Hatayama, 1998). Hsp105'in maymun testisinde ısı stresıyla indüklenmiş germ hücrelerinin apoptozunun düzenlenmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Zhang et al., 2005). Isı şok proteinlerinden Hsp70 antiapoptotik olduğu halde, mitokondriyal Hsp60'ın proapoptotik, sitosolik Hsp60'ın ise anti-apoptotik etkili olduğu belirtilmektedir (Kirchhoff et al., 2002; Gupta and Knowlton, 2002). Normal kalp kası hücrelerinin sitoplazmasında Hsp60 apoptotik proteinlerden Bax, Bak ve Bcl-XL proteinleri ile kompleks oluşturur. Oysa hipoksi şekillendiğinde mitokondriyal Hsp60 değişmez, ancak Hsp60-Bax kompleksinin çözülmesiyle sitosolik Hsp60 sitosolden membrana, Bax ise mitokondiyona taşınır. Bu da apoptozu başlatır (Gupta and Knowlton, 2002). Hsp90 ise apoptotik uyaran bağlı olarak farklı moleküler partnerlere sahip olduğu ve ağırlıklı etkisinin antiapoptotik olduğu bildirilmektedir (Garrido et al., 2001). Hsp70'in sitokrom C, Apaf-1 veya AIF gibi proapoptotik efektörler ile etkileşerek kaspaz-bağımlı ve kaspaz-bağımsız apoptozu inhibe ettiği bilinmektedir (Tsan and Gao, 2009).

2.3.6. Isı şok proteinlerinin dişi üreme sistemi ile ilgili fonksiyonları

Çalışmalar hücresel ısı şok proteinlerinin hedef dokunun steroid hormonlarının regülasyonunda önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunlardan Hsp90'nın hücrede tubulin, aktin, çeşitli protein kinazlar ve steroid reseptörler ile kompleksler oluşturabildiği ve bu reseptörlerin DNA ile etkileşimlerini inhibe ettiği (Ramachandran et al., 1988), Hsp90 ve Hsp70'in seks steroid reseptörlerinin fonksiyonel modülasyonuna karıştığı (Koshiyama et al.,1995; Pratt and Toft, 1997) belirtilmektedir. Isı şok proteinlerinin insanda genital kanalın farklı organlarında bulunduğu gösterilmiştir. Uterus endometriyumunun steroid hormonların etkisi altında proliferasyon, sekresyon ve doku atılması gibi siklik değişikliklere uğradığı, bu değişikliklere paralel olarak da ısı şok proteinlerinin ekspresyonlarının değiştiği bilinmektedir. İnsan uterusunda Hsp60 ve Hsc70'in menstrüel siklus boyunca primer olarak endometrium epitelinde lokalize olduğu ve her iki proteinin geç proliferatif ve erken sekretorik fazda arttığı, ancak orta ve geç sekretorik fazda azaldıkları ifade edilmektedir. Bunların aksine indüklenabilir Hsp70'in siklusa bağlı değişim göstermediği bildirilmektedir (Tabibzadeh et al., 1996). İnsanda Hsp90'nın menstrual siklusun proliferative fazında glandular ve stromal hücrelerde kuvvetli olarak eksprese oldukları, ancak sekretorik fazda her iki hücre tipinde Hsp90 ekspresyonunun zayıfladığı rapor edilmektedir (Koshiyama et al.,1995; Komatsu et al., 1997; Tabibzadeh et al., 1996). Hsp60 ve Hsp70 ailesinden Grp78 proteinlerinin insan uterusu ile oviduktunda bulundukları, endometriyumun glanduler ve luminal epitel hücrelerinde Grp78'in Hsp60'dan daha kuvvetli ekprese olduğu bildirilmektedir. Ayrıca Grp78'in stromal hücrelerde de lokalize olduğu ifade edilmektedir. Grp78'in oviduktta hem epitelde, hem de stromal hücrelerde, Hsp60'ın ise sadece ovidukt epitelinde bulunduğu belirtilmektedir (Lachance et al., 2007).

Isı şok protein ailesinden Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 döllenmeden sonra zigotta (Bensaude et al.,1983), gebeliğin ilk üç aylık döneminde desiduada Neuer et al., 1996) ve gebelik boyunca

plasental dokularda (Ziegert et al., 1999) eksprese edilen ilk proteinlerdir. Isı şok proteinlerinin insan plasentasında stromal hücreler ve kas hücrelerinden ziyade sinsityotrofoblastların apikal yüzeyinde lokalize oldukları rapor edilmektedir. Bu proteinlerin plasental ekspresyonlarının zamanında veya erken doğum olgularında farklı olmadığı, fizyolojik olarak gebelik olgusunda bulundukları da bildirilmektedir (Divers et al., 1995; Ziegert et al. 1999). Shah ve ark. (Shah et al., 1998) gebeliğin birinci, ikinci ve üçüncü üç aylık dönemlerindeki insanların desidual dokularında Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'nın desidual stromal hücrelerde bulunduğunu, Hsp60'ın ekspresyonunun gebelik boyunca değişmediğini oysa Hsp70 ve Hsp90'nın ekspresyonlarının gebeliğin ilerlemesiyle azaldığını ifade etmektedirler. Bu araştırmacılar Hsp90 ve Hsp60'ın primer olarak çekirdekte, Hsp70'in ise çekirdek ve sitoplazmada eşit olarak bulunduğunu belirtmektedirler. Ayrıca aynı dönemlerdeki insan plasentasında ise Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'nın sitotrofoblast, sinsityotrofoblast, intermediyer trofoblast, Hofbauer ve endotel hücrelerinde bulunduğunu bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar Hsp90 ve Hsp60'ın primer olarak çekirdekte, Hsp70'in ise çekirdek ve sitoplazmada bulunduğunu da ifade etmektedirler (Shah et al., 1998).

Hsp105'in gebeliğin 8. gününe kadar olan periyottaki fare embriyolarında az miktarda eksprese olmasına karşılık 9.-12. günler arasında belirgin derecede arttığı, bu artışın organogenesis ile ilişkili olabileceği ve embriyonun gelişiminde önemli rol oynadığı rapor edilmektedir. Ayrıca gebeliğin 9.-12. günleri arasındaki embriyolarda apoptotik hücrelerde de Hsp105 ekspresyonunun artması nedeniyle organogenesis sırasında oluşan apoptosisin regülasyonunda Hsp105'in önemli rol oynadığı vurgulanmaktadır (Hatayama et al., 1997). Sıçanlarda uterusda Hsp105 ekspresyonunun gebeliğin birinci gününde esas olarak luminal epitelde, 2-3. günlerinden başlayarak glandular epitelde, 4. ve 5. günlerinden itibaren ise luminal epitelin altındaki stromal hücrelerde gözlemlendiği ve gebeliğin 5. gününde pik düzeye ulaştığı bildirilmektedir. Gebeliğin 6. gününde ise blastosistin ve implantasyon yerinin

etrafındaki stromal hücrelerin Hsp105 pozitif olduğu, luminal epiteldeki reaksiyonun fark edilemeyecek düzeyde azaldığı sonuçta Hsp105'in erken implantasyon periyodunda önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Yuan et al., 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi deney hayvanları merkezinde yetiştirilen ve daha önce herhangi bir deneysel çalışmada kullanılmamış olan 250-300 g ağırlıklarındaki Wistar (*Rattus norvegicus*) ırkı 30 adet erişkin dişi ve 4 adet erişkin sıçanlar kullanıldı. Sabah 09.00-10.00 saatleri arasında dişi sıçanlardan vaginal smearlar alınarak östrus siklusu belirlendi ve östrusdaki sıçanlar erkek sıçanlarla çiftleştirildi. Vaginal smearde ilk spermiyumların görüldüğü gün gebeliğin birinci günü olarak değerlendirildi. Gebeliğin 5. gününde ve doğumun 1, 3, 5, 10, 15. günlerinde (her gün için 5'er adet olmak üzere) sıçanların anestezisi altında uterus dokuları alındı ve kalbin sağ atriyumları kesilerek hayvanlar ötenazi edildi. Erkek sıçanlar ve yavru sıçanlar deney hayvanları ünitesine geri iade edildi.

3.1. DOKU TEMİNİ ve HAZIRLANMASI

Gebeliğin 5. günündeki ve doğumun 1, 3, 5, 10, 15. günlerindeki sıçanların rompun ve ketalar anestezisi (Rompun 13 mg/kg, Ketalar 87 mg/kg) altında alınan uterus dokuları %10 formol-alkol solüsyonunda 18 saat tespit edildi. Takiben dereceli alkol serilerinde (%96'lık alkol, Absol alkol I, Absol alkol II, Absol alkol III) birer saat tutularak dehidrasyon işlemi uygulandı. Daha sonra metil benzoat ve benzol solüsyonlarında şeffaflaştırılan dokular paraplastta bloklandı. Bu bloklardan rotari mikrotom (Leica RM 2125) ile 5 µ kalınlığında belirli aralıklarla (50-100 µm) kesitler alınarak su banyosunda APES [(3-Aminopropyl) triethoxysilane] ile kaplı lamalar üzerine yapıştırıldı. Çalışmada 4 tip antikor (Hsp60, Hsp70, Hsp 90 ile Hsp110/105) kullanıldığından her bir hayvan için dört seri preparat hazırlandı ve bu antikorların hücresel lokalizasyonlarını belirlemek üzere Streptavidin Biotin Kompleks (Strept-ABC) immunoperoksidaz tekniği uygulandı.

3.2. İMMUNOHİSTOKİMYASAL ANALİZ

Deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra kesitler PBS'de çalkalandı ve metanol ya da PBS'de hazırlanmış %0.3- %3' lük H₂O₂ ile muamele edilerek tekrar PBS'de yıkandı.

Doku antijeninin yeniden kazanımını sağlamak için kesitler pH'sı 6.00 olan sitrat buffer'da 80°C'de 20 dak. süreyle kaynatıldı ve takiben oda ısısında 20 dak. soğumaya bırakıldı. Tekrar PBS ile dört kez yıkamayı takiben nonspesifik bağlanmaları önlemek için kesitler 5 dakika bloklama solüsyonu ile bir nem odası içinde inkube edildi. Uygun dilusyonlarda hazırlanmış primer antikorlar kesitler üzerine eklenerek +4 °C'de bir gece inkube edildi. Negatif kontroller olarak alınan doku örnekleri ise sadece PBS ile ve kullanılan antikora göre normal keçi ve tavşan non-immun serumu ile muamele edildi. İnkubasyonu takiben PBS'te 4 kez yıkanan kesitler, biotinlenmiş sekonder antikor ile 20 dakika oda ısısında inkube edilip, tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra da enzim konjugatlı strepavidinde 20 dakika muamele edildi. Tekrar 4 kez PBS ile yıkandıktan sonra 10 dakika DAB (Diaminobenzidin) kromojen solüsyonunda bekletildi. Distile suda birkaç kez çalkalanan kesitler Gill'in Hematoksilen'inde 4 dakika boyandıktan sonra çeşme suyunda mavileşinceye kadar yıkandı ve alkoller, ksilenler serisinden geçirilip entellan ile kapatıldı. Kahverengi presipitasyonun görülmesi sonucunda reaksiyon pozitif olarak değerlendirildi.

İmmunohistokimyasal reaksiyonun spesifikliğini belirlemek üzere negatif kontrollerin yanı sıra pozitif kontrol dokularına da aynı prosedür uygulandı. Bu amaçla Hsp1110/105 ve Hsp60 için kolon karsinomu, Hsp90 α/β ve Hsp70 için meme karsinomu dokuları kullanıldı.

Preparatlar Olympus BX-51 (JAPAN) ışık mikroskopunda incelenerek Olympus DP72 (JAPAN) kamera ile fotoğraflandı.

4. BULGULAR

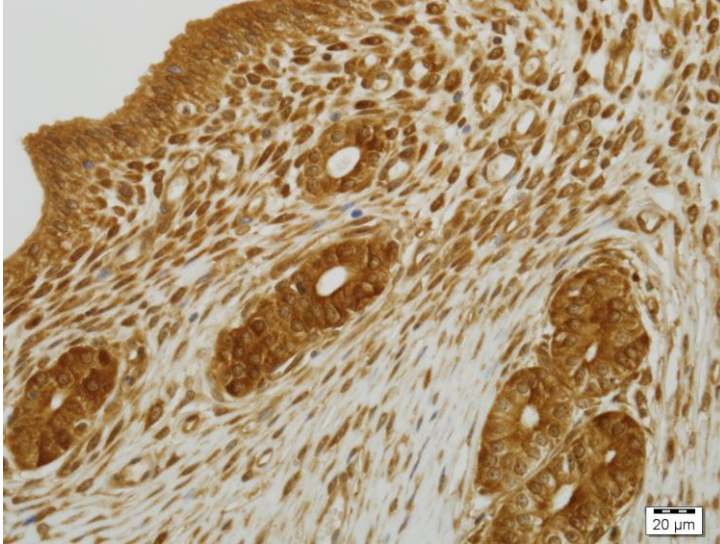
Çalışmamızda immunohistokimyasal reaksiyonların spesifikliğini test etmek amacıyla pozitif ve negatif kontrol kesitler kullanıldı. Pozitif kontrol olarak Hsp110/105 ve Hsp60 için kolon karsinomu ve meme karsinomu, Hsp90 α / β ve Hsp70 için meme karsinomu dokularına streptavidin-biotin peroksidaz tekniği uygulandı. Negatif kontrol kesitlerine ise Hsp110/105 primer antikoru yerine non-immun tavşan serumu, Hsp60, Hsp90 α / β ve Hsp70 antikorları yerine ise non-immun keçi serumu primer antikor ile aynı dilüsyonda olmak üzere hazırlanarak kesitler üzerine uygulandı. Gerek pozitif kontrol dokularındaki pozitif boyanmalar ve gerekse non-immun serum uygulamaları sonucu negatif boyanmanın gözlenmesi çalışmamızda kullandığımız antikorların spesifikliğini doğruladı.

4.1. Hsp105/110

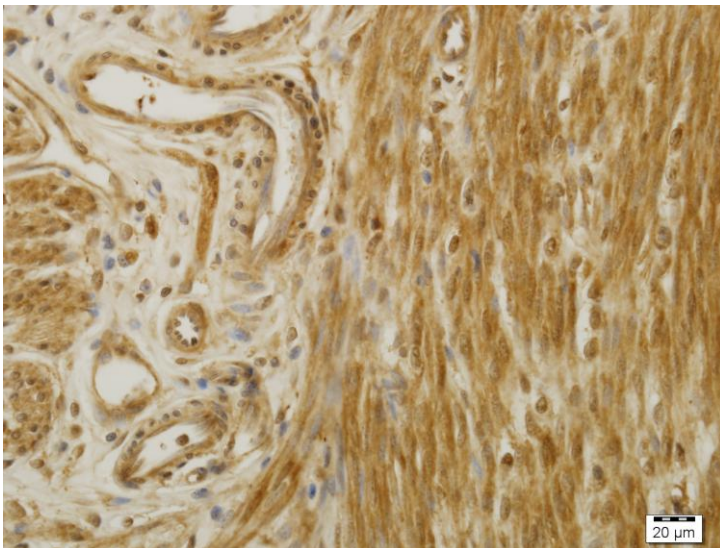
Hsp105/110 immunreaksiyonunun gebeliğin beşinci gününde ve incelenen tüm postpartum günlerinde endometriyumda yüzey ve bez epitelini oluşturan hücrelerin sitoplazmalarında, stromadaki kan damarlarının endotel hücreleri ile bazı stromal hücrelerin sitoplazmalarında, miyometriyumun iç ve dış kas katmaları ile kan damarlarının medya katmanını oluşturan kas hücrelerinin sitoplazmalarında bulunduğu belirlendi (Şekil 1A-C). Gebeliğin beşinci gününde luminal epiteldeki (lamina epiteliyalis) reaksiyonun orta şiddette olduğu, endometriyumun derin katmanında bulunan uterus bezlerindeki reaksiyonun hem luminal epiteldekinden hem de yüzeyel stromada yerleşen bezlerdekenden daha yoğun olduğu izlendi. Luminal epitelin hemen altında bol miktarda olduğu gözlenen stromal hücrelerin sitoplazmalarında da yoğun Hsp105/110 pozitif reaksiyon görüldü. Miyometriyumun sirküler kas katmanında da Hsp105/110 için orta yoğunlukta bir reaksiyon belirlendi. Gerek stromadaki kapılar damarların ve gerekse miyometriyumun stratum vaskulare'deki damarların endotel hücreleri ile medya katmanındanki düz kas hücrelerinin sitoplazmalarında Hsp105/110 pozitif immunreaksiyon tespit edildi.



Şekil 1A. Gebeliğin 5. gününde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 1B. Gebeliğin 5. gününde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

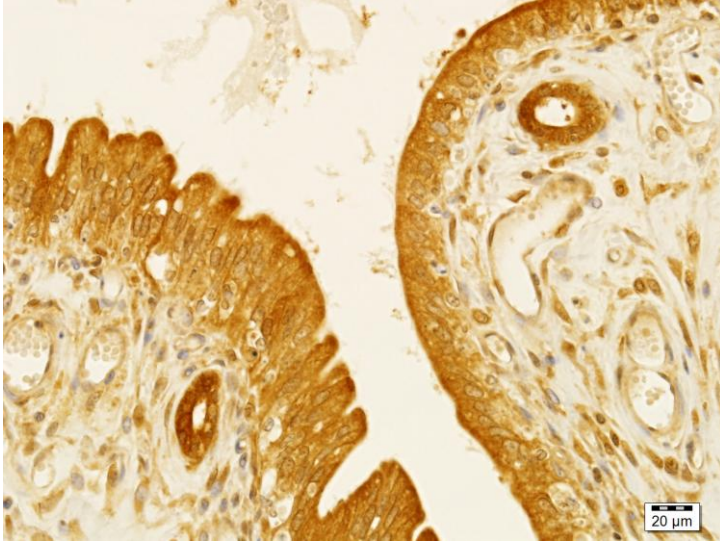


Şekil 1C. Gebeliğin 5. gününde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm

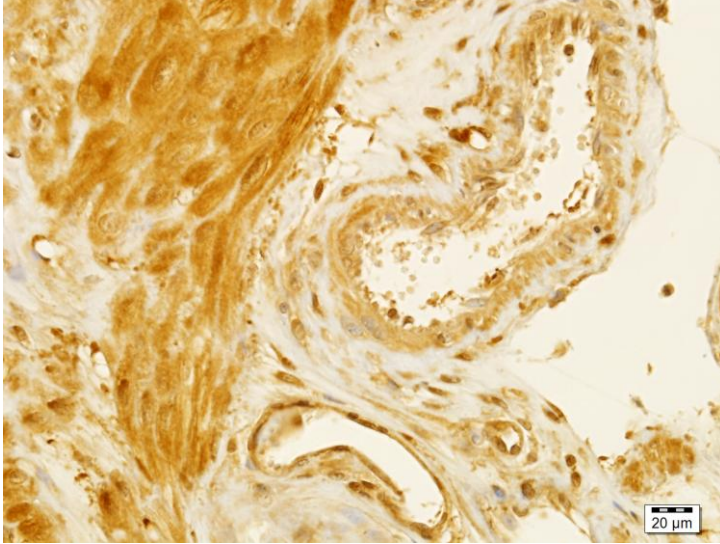
Hsp105/110 immunreaksiyonunun doğumu sonrası birinci günde luminal epitelde, kript epiteli ile bez epitelinde ve ayrıca ödemli ve oldukça geniş olduğu gözlenen stromadaki tek tük hücrede bulunduğu gözlemlendi. Luminal epitel ile kript epitelindeki reaksiyonun hücrelerin bazal kısımlarının vakuoler olması nedeniyle daha çok apikal ve lateral sitoplazmalarında yoğunlaştığı dikkati çekti. Miyometriyumun iç katmanındaki reaksiyonun dış katmandakine kıyasla daha yoğun olduğu da tespit edildi (Şekil 2A-C).



Şekil 2A. Doğum sonrası 1. günde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

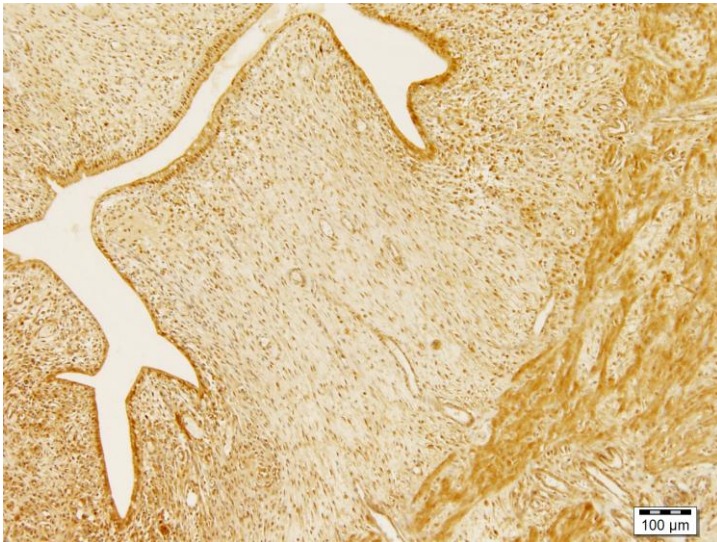


Şekil 2B. Doğum sonrası 1. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

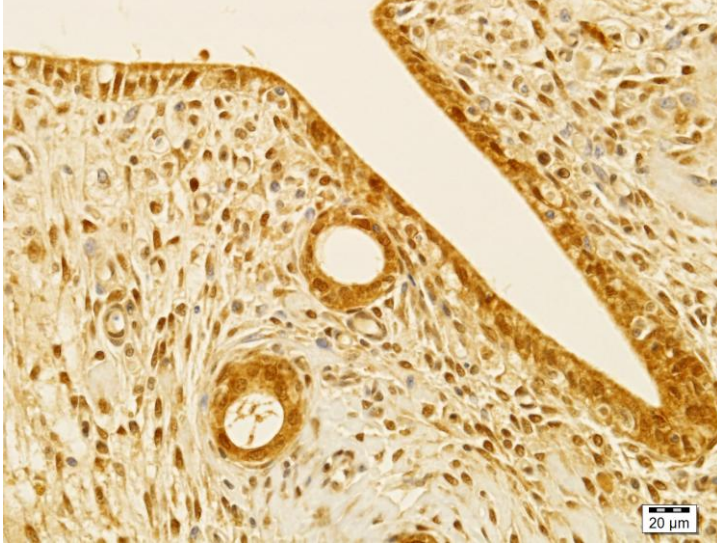


Şekil 2C. Doğum sonrası 1. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

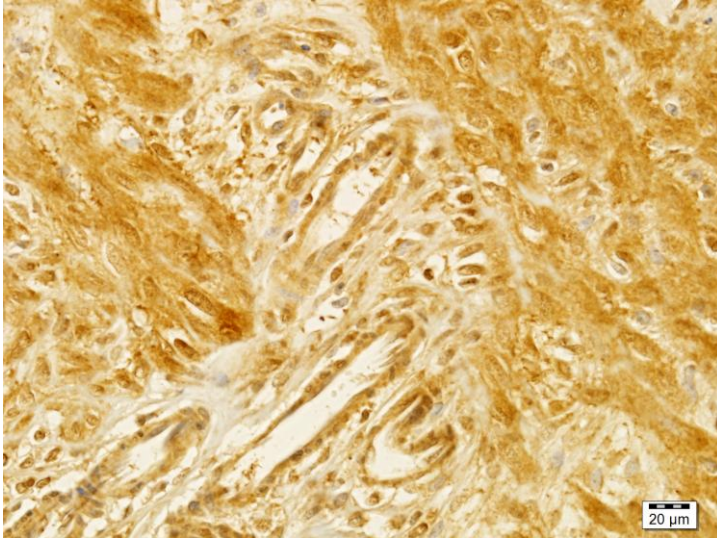
Doğum sonrası üçüncü günde Hsp105/110 immunreaksiyonunun lokalizasyonlarının farklılık göstermediği, ancak luminal epiteldeki bazı hücrelerde reaksiyonun negatif olduğu belirlendi. Bunun dışında luminal epitel, stroma ve glandular epiteldeki çoğu hücrenin çekirdeğinin de Hsp105/110 için pozitifreaksiyon verdiği dikkati çekti. Stromadaki ödemin azalmasına ve stromal hücrelerin artmasına paralel olarak Hsp105/110 pozitif stromal hücrelerde de bir artış görüldü (Şekil 3A-C).



Şekil 3A. Doğum sonrası 3. günde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



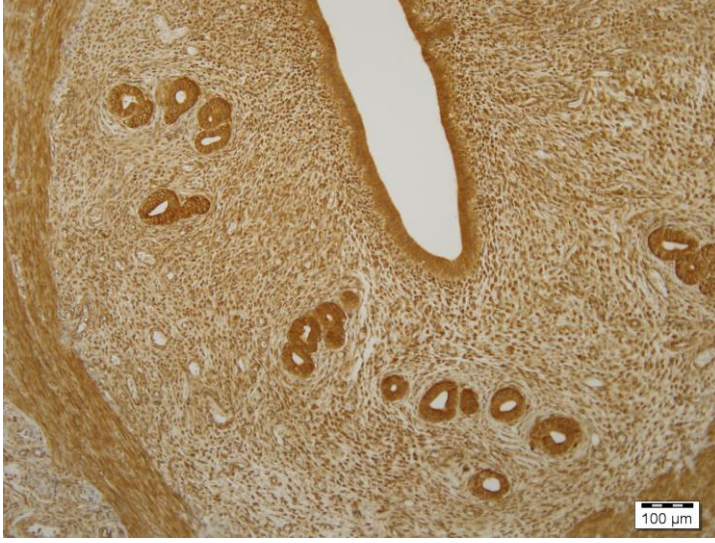
Şekil 3B. Doğum sonrası 3. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



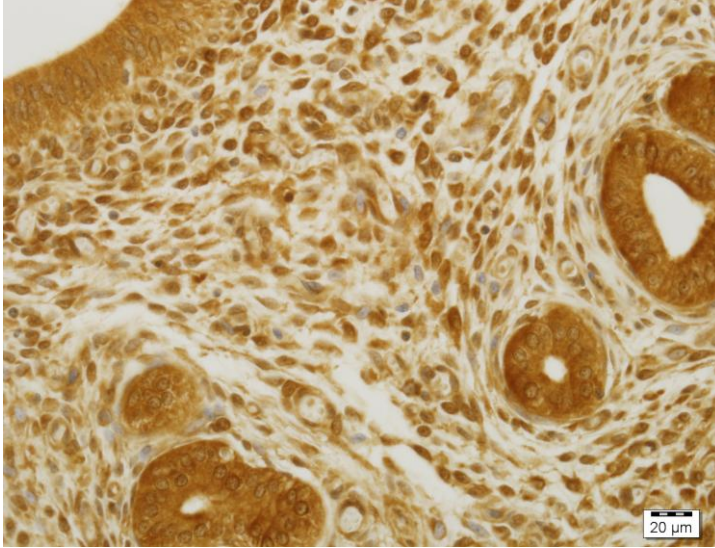
Şekil 3C. Doğum sonrası 3. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

Doğum sonrası beşinci gününden itibaren involüsyonun diğer günlerinde stromanın kalınlığının azaldığı ancak hücresel içeriğinin arttığı belirlendi. İnvolüsyonun beşinci gününden 15. gününe kadar olan periyotta özellikle luminal epitelin hemen altında yerleşmiş olan stromal hücrelerin sayıca arttıkları gözlemlendi (Şekil 4A-C, 5A-C, 6A-C). Bu morfolojik değişikliklere paralel olarak stromal hücrelerin Hsp105/110 pozitif immunreaksiyon sergiledikleri belirlendi. Ayrıca stromanın derin katmanlarındaki bazı hücrelerin de

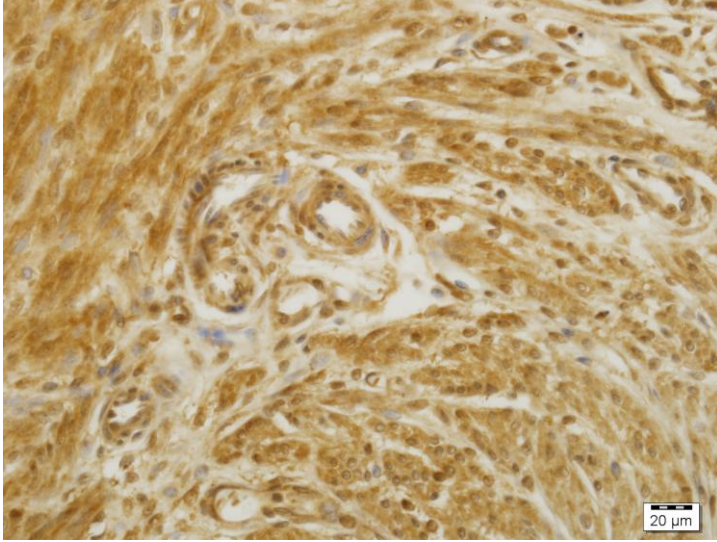
Hsp105/110 pozitif oldukları görüldü. Postpartum involüsyon sürecinde miyometriyumun özellikle sirküler kas katmanında Hsp105/110 pozitif reaksiyon izlendi.



Şekil 4A. Doğum sonrası 5. günde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



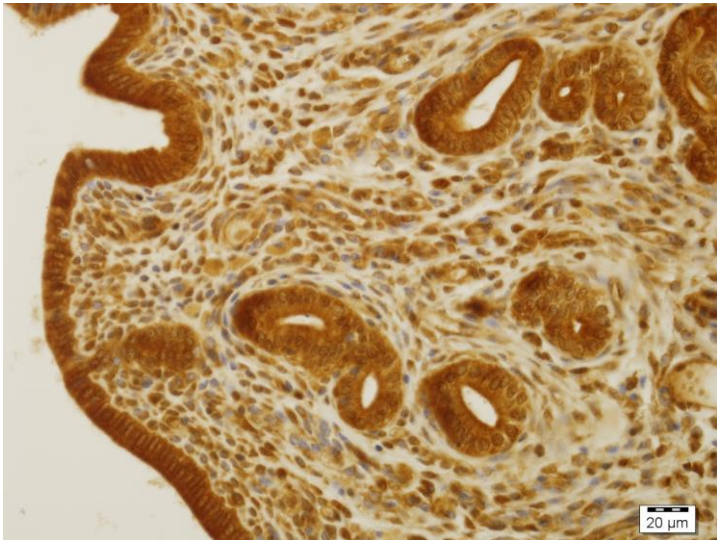
Şekil 4B. Doğum sonrası 5. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



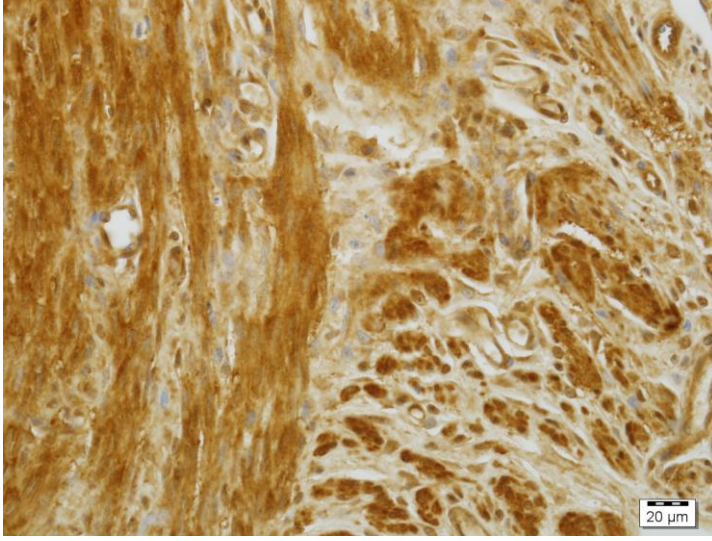
Şekil 4C. Doğum sonrası 5. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



Şekil 5A. Doğum sonrası 10. günde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



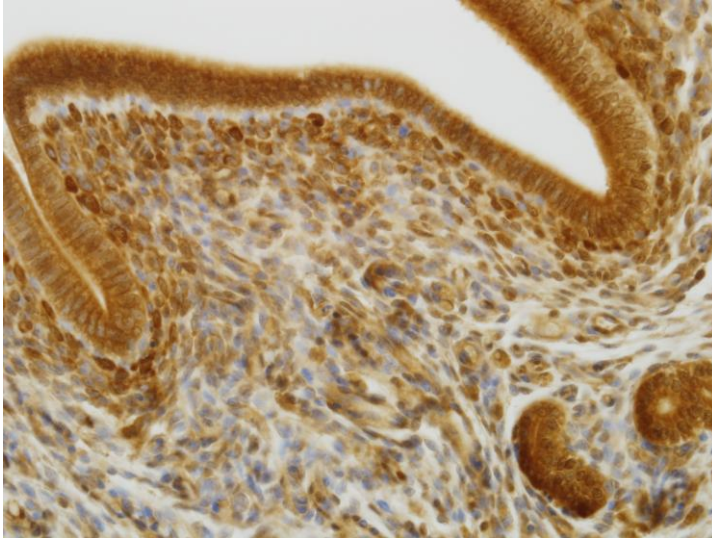
Şekil 5B. Doğum sonrası 10. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



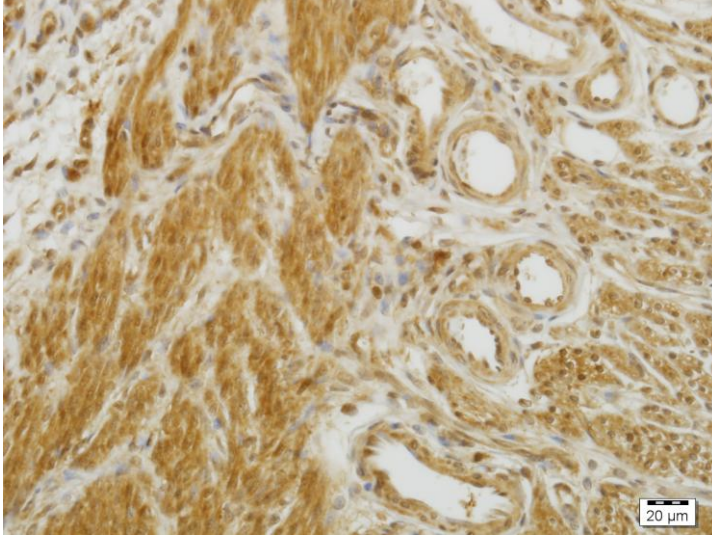
Şekil 5C. Doğum sonrası 10. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



Şekil 6A. Doğum sonrası 15. günde uterusda Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



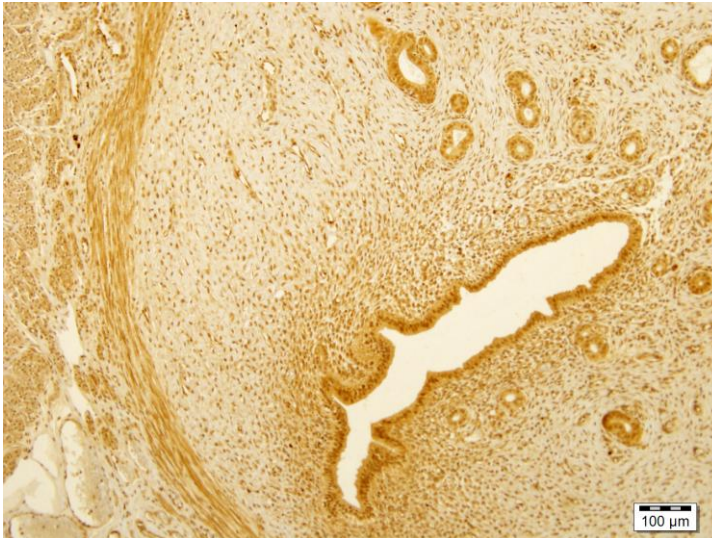
Şekil 6B. Doğum sonrası 15. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



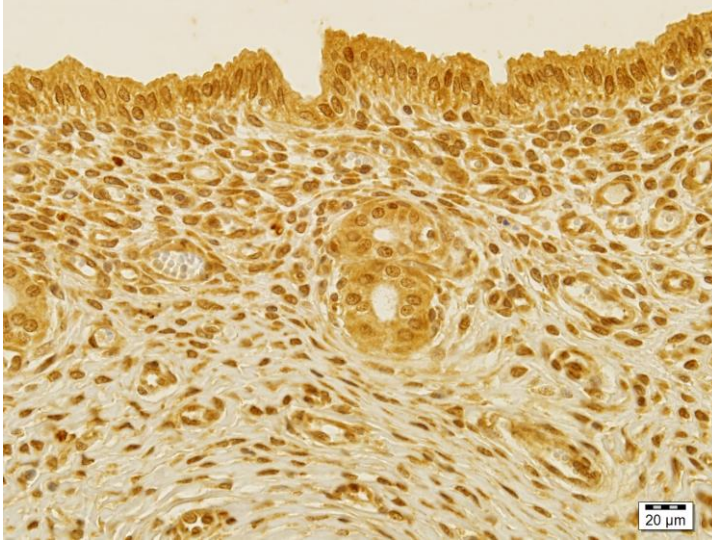
Şekil 6C. Doğum sonrası 15. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp105/110 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

4.2. Hsp90

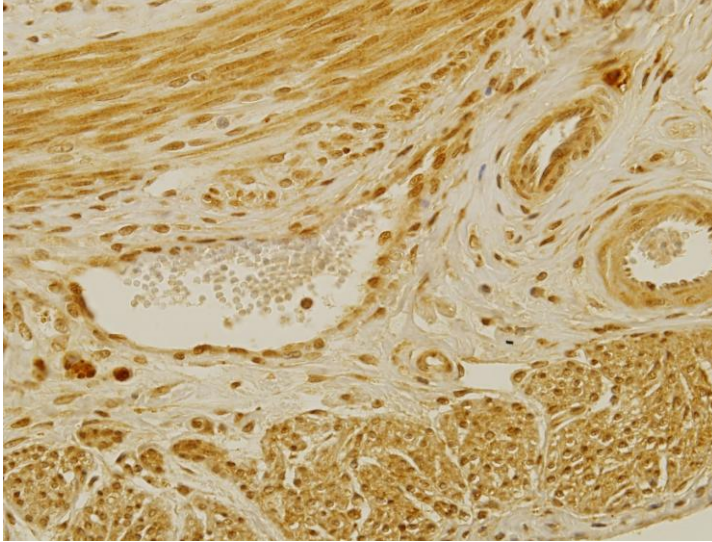
Hsp90 immunreaksiyonunun sitoplazmik ve nüklear reaksiyon gösterdikleri saptandı. Gebeliğin beşinci gününde ve incelenen tüm postpartum günlerinde endometriyumda yüzey ve bez epitelinin oluşturan hücrelerinde, gerek subepitelial ve gerekse endometriyumun derin katmanlarında bulunan stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 7A-C).



Şekil 7A. Gebeliğin 5. gününde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 7B. Gebeliğin 5. gününde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



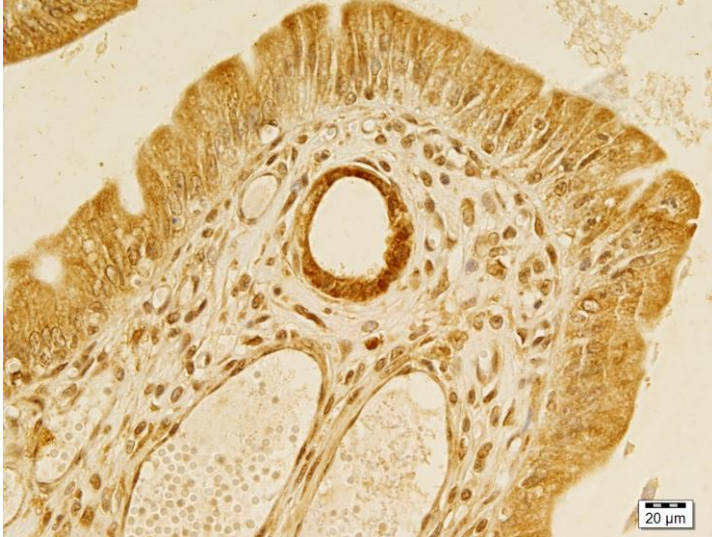
Şekil 7C. Gebeliğin 5. gününde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

Hsp90 immunreaksiyonunun doğumu sonrası birinci günde luminal epitelde, kript epiteli ile bez epitelinde, ayrıca ödemli ve oldukça geniş olduğu gözlenen lamina propriyadaki stromal hücrelerde bulunduğu gözlemlendi. Luminal epitel ile kript epitelindeki reaksiyonun nüklear reaksiyonun çekirdek membranında daha belirgin olarak lokalize olduğu ayrıca hücrelerin bazal kısımlarının vakuoler olması ve intraepitelial hücreler ve kapilar damarlar içermesi nedeniyle sitoplazmik reaksiyonun daha çok apikal ve lateral sitoplazma yoğunlaştığı dikkati çekti. Bu dönemde genişlemiş ve az sayıda olduğu gözlenen bezlerdeki reaksiyonun luminal

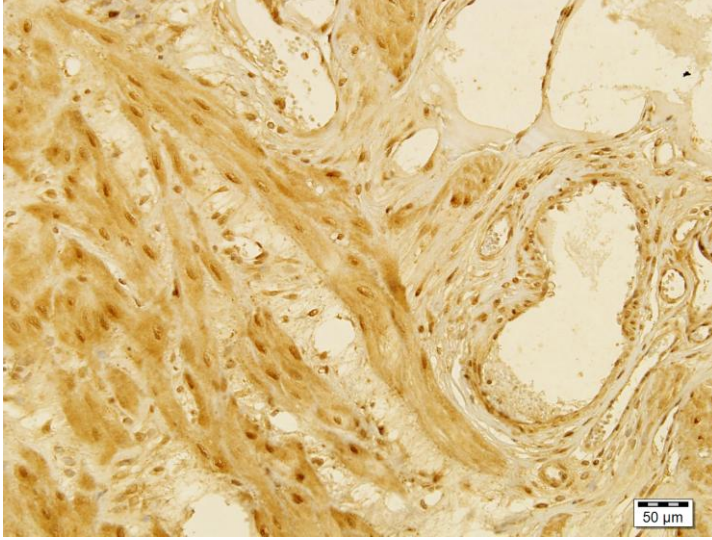
ve kript epitelindekine kıyasla daha yoğun olduğu dikkati çekti. Miyometriyumdaki reaksiyonun gebe sıçanlarınkine göre orta şiddette olduğu tespit edildi. Bu dönemde de stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 8A-C).



Şekil 8A. Doğum sonrası 1. günde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

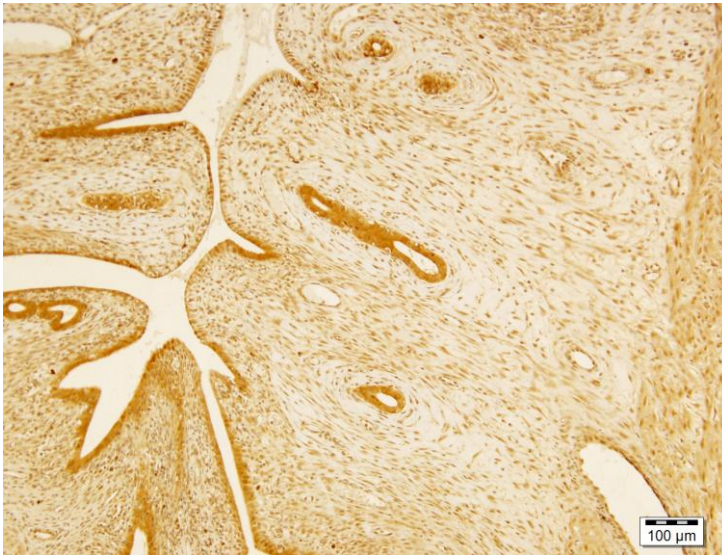


Şekil 8B. Doğum sonrası 1. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

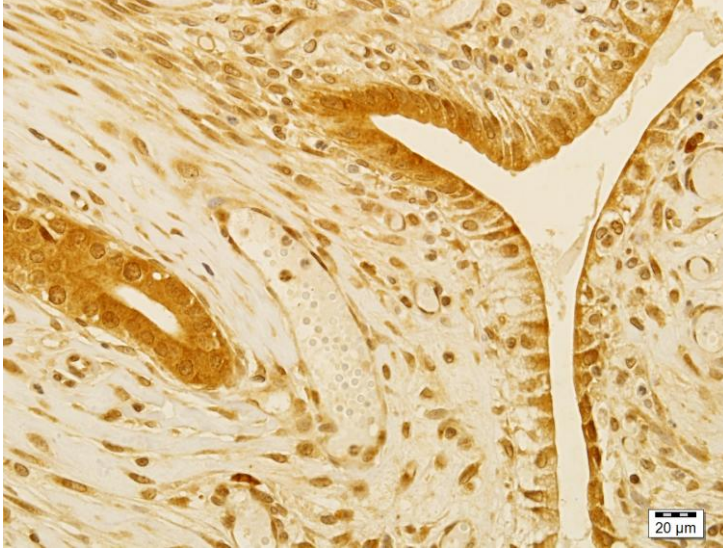


Şekil 8C. Doğum sonrası 1. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

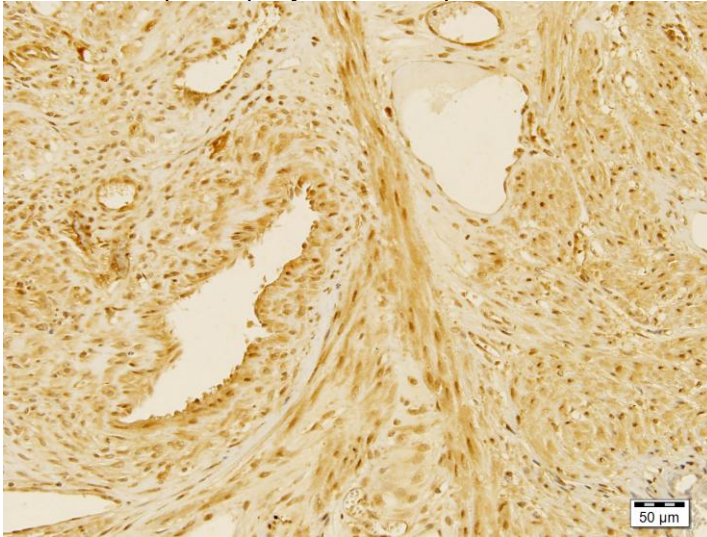
Doğum sonrası üçüncü günde Hsp90 immunreaksiyonunun lokalizasyonlarının farklılık göstermediği, ancak luminal epitelin yüksekliğinin azalmasına paralel olarak apikal sitoplazmada bulunduğu, bazı hücrelerde ise reaksiyonun negatif olduğu belirlendi. Ancak kript epiteli ile glandular epitelde daha yoğun bir reaksiyon izlendi. Stromadaki ödemin azalmasına ve stromal hücrelerin artmasına paralel olarak Hsp90 pozitif stromal hücrelerde de bir artış görüldü. Uterusun diğer bileşenlerindeki reaksiyonların doğum sonrası birinci gündeki reaksiyonlara benzediği tespit edildi (Şekil 9A-C).



Şekil 9A. Doğum sonrası 3. günde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 9B. Doğum sonrası 3. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

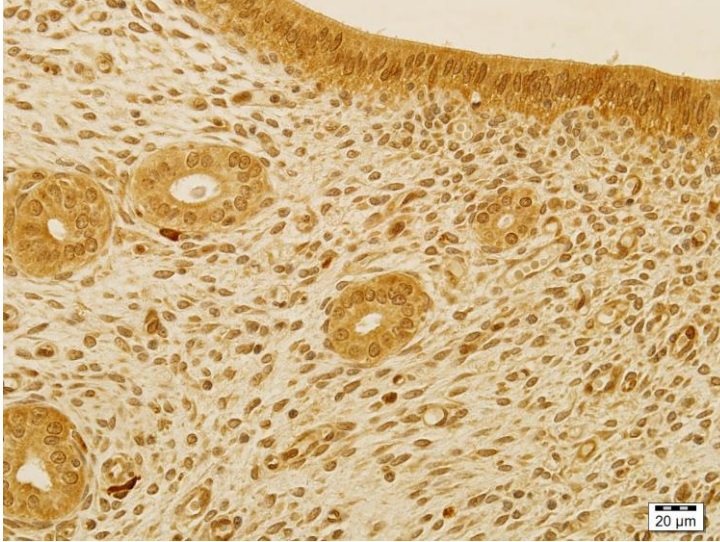


Şekil 9C. Doğum sonrası 3. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

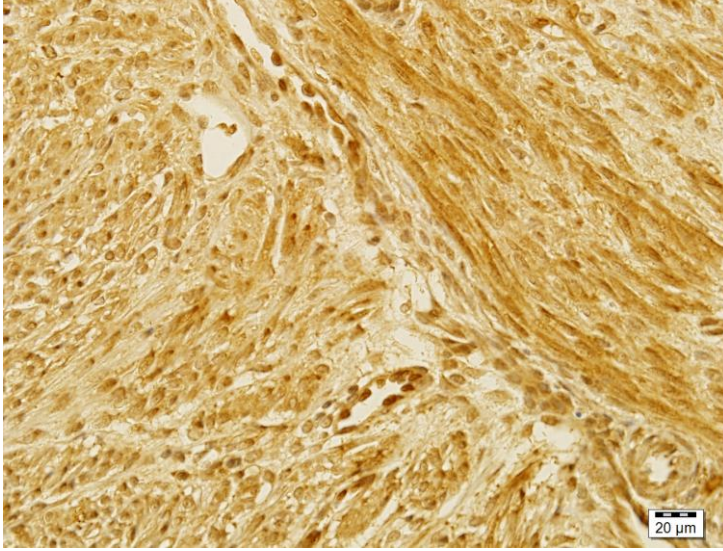
Doğum sonrası beşinci günde Luminal glandular epiteldeki immunreaksiyonların birbirine benzer oldukları izlendi. Stromal kalınlığının azalması ve stromal hücrelerin sayısındaki artışa paralel olarak Hsp90 pozitif hücre sayısının arttığı belirlendi. Ayrıca stromada çok kuvvetli pozitif boyanan hücreler de dikkati çekti. Bunun yanı sıra miyometriyumda damar duvarlarına yakın olarak Hsp90 pozitif mast hücreleri görüldü. Bu dönemde miyometriyumdaki reaksiyonun da artmış olduğu tespit edildi (Şekil 10A-C).



Şekil 10A. Doğum sonrası 5. günde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

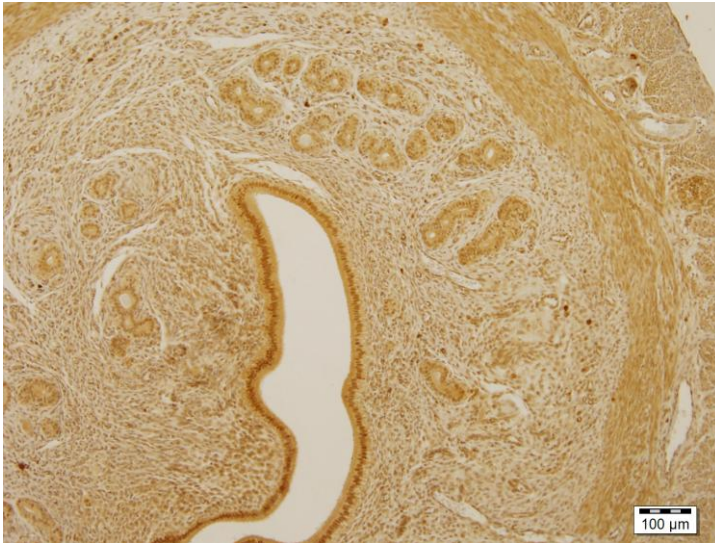


Şekil 10B. Doğum sonrası 5. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

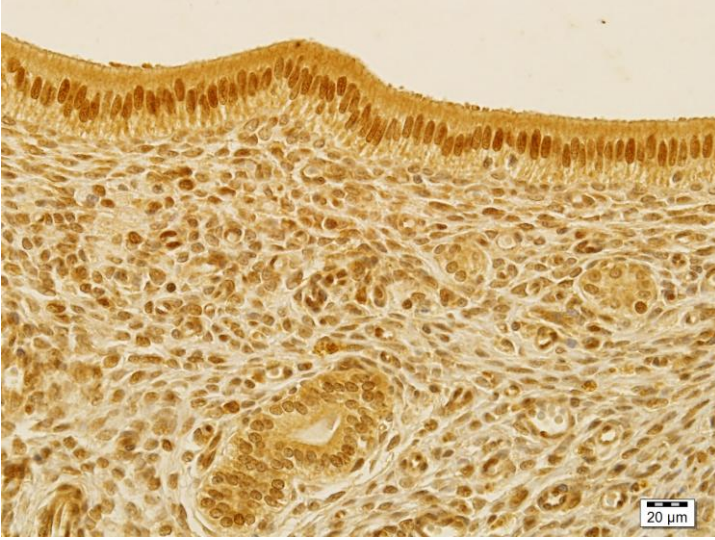


Şekil 10C. Doğum sonrası 5. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

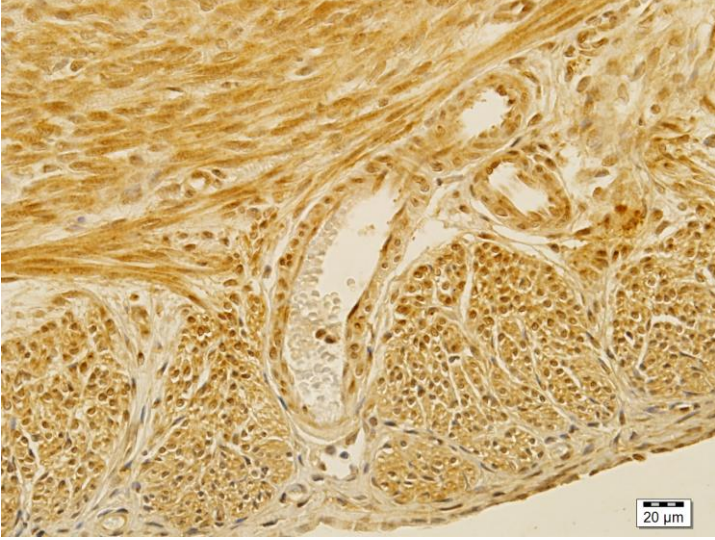
Doğum sonrası 10. ve 15 günlerde Hsp90'nın uterusdaki lokalizasyonunun 5. Gündekine benzer olduğu ancak, luminal epiteldeki nüklear reaksiyonun sitoplamik reaksiyondan daha yoğun olduğu tespit edildi (Şekil 11A-C, 12A-C).



Şekil 11A. Doğum sonrası 10. günde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



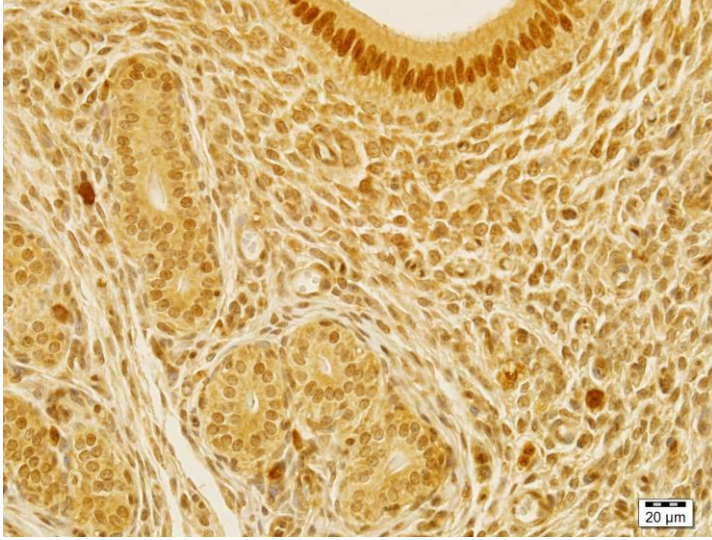
Şekil 11B. Doğum sonrası 10. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



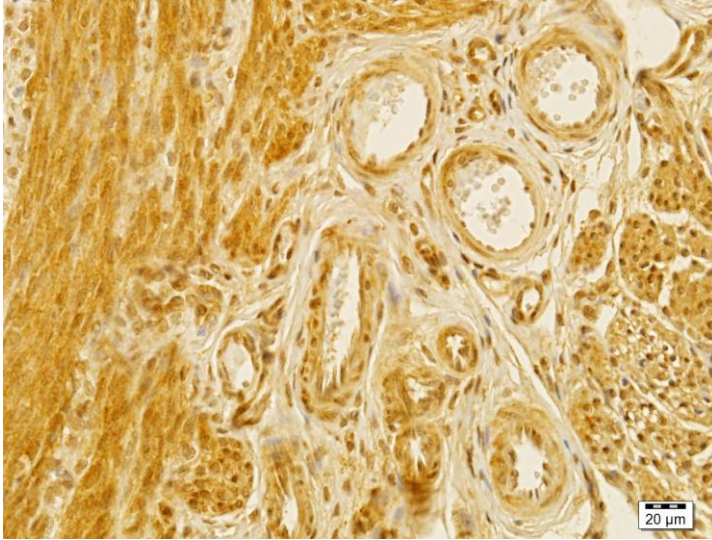
Şekil 11C. Doğum sonrası 10. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



Şekil 12A. Doğum sonrası 15. günde uterusda Hsp90 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



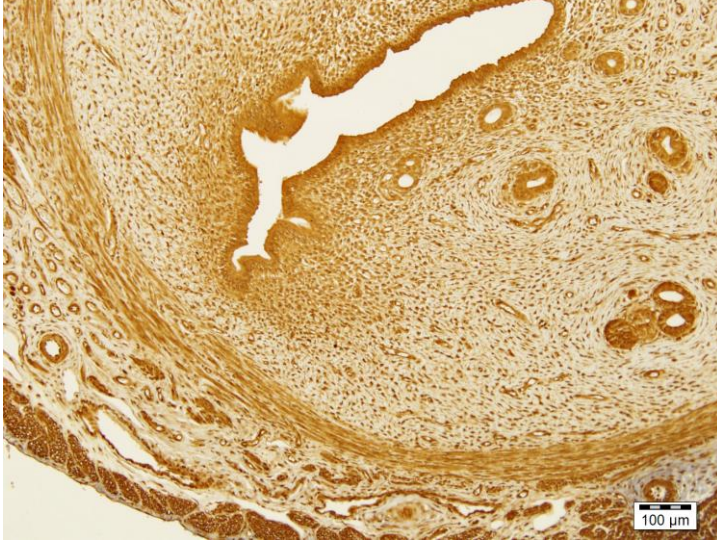
Şekil 12B. Doğum sonrası 15. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp90 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



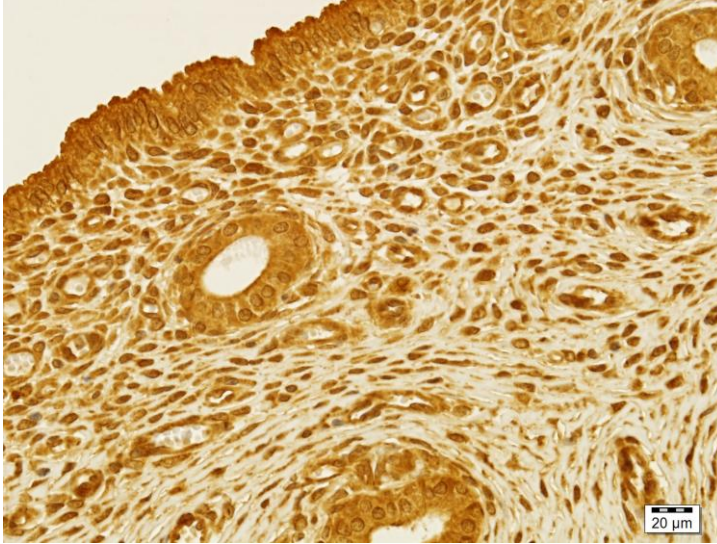
Şekil 12C. Doğum sonrası 15. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp90 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

4.3. Hsp70

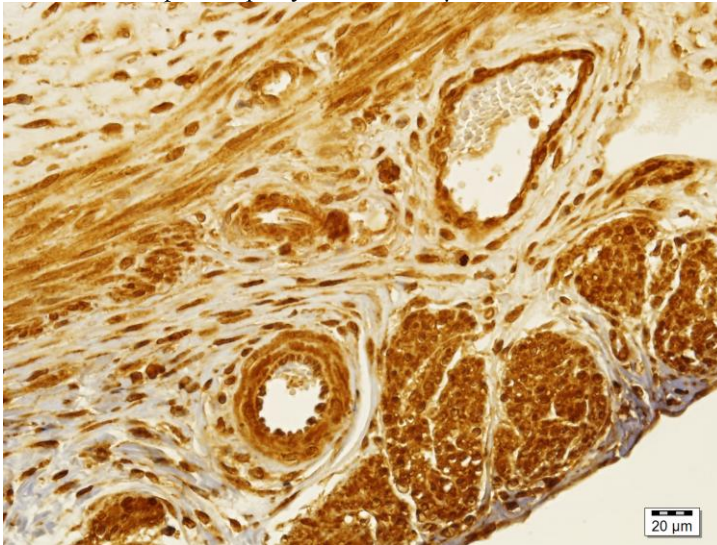
Hsp70 immunreaksiyonunun Hsp90 immunreaksiyonuna benzer olarak sitoplazmik ve nüklear reaksiyon gösterdikleri saptandı. Gebeliğin beşinci gününde ve incelenen tüm postpartum günlerinde endometriyumda yüzey ve bez epitelini oluşturan hücrelerinde, gerek subepitelyal ve gerekse endometriyumun derin katmanlarında bulunan stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 13A-C).



Şekil 13A. Gebeliğin 5. gününde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

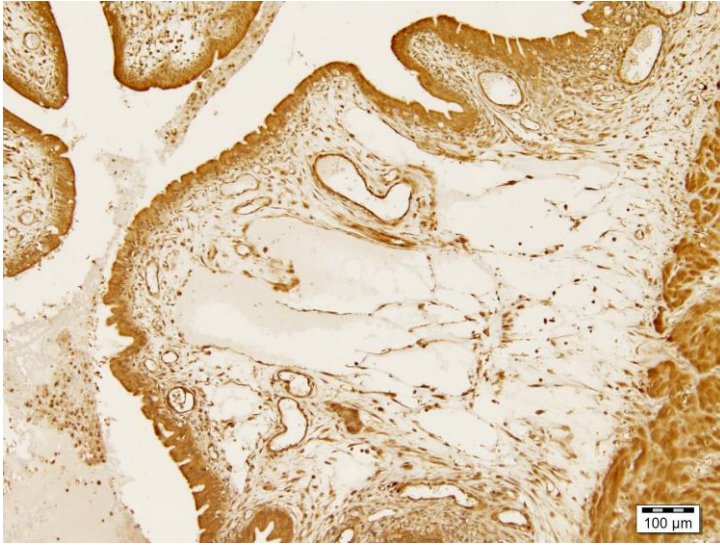


Şekil 13B. Gebeliğin 5. gününde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

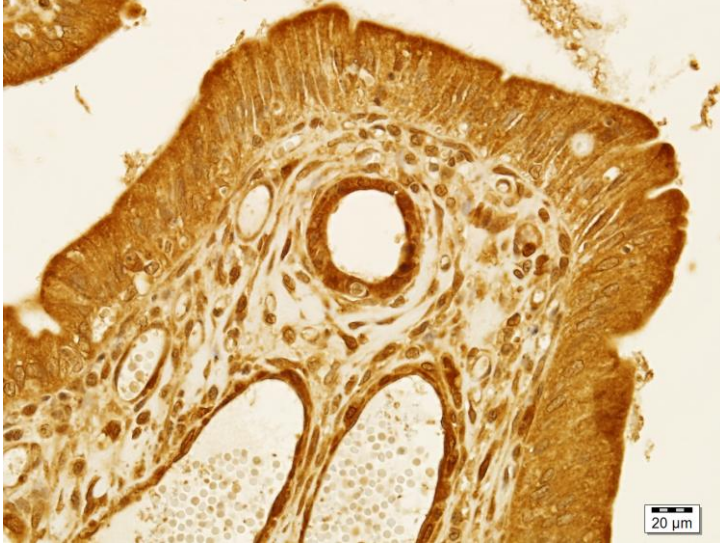


Şekil 13C. Gebeliğin 5. gününde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

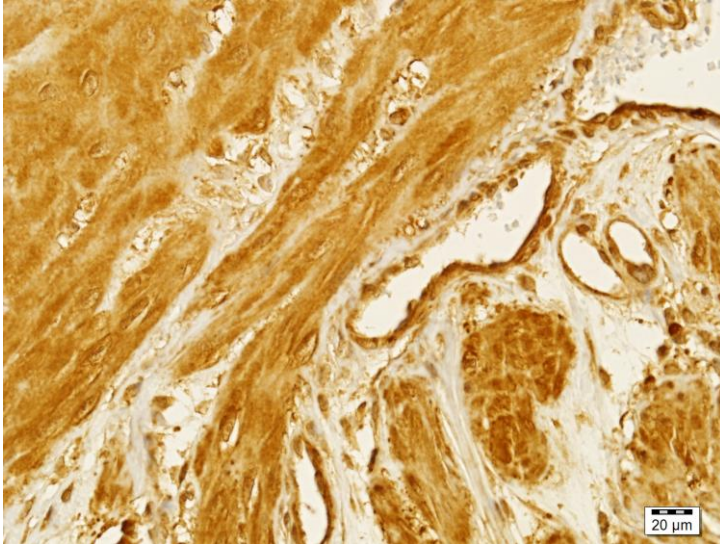
Hsp70 immunreaksiyonunun doğumu sonrası birinci günde luminal epitelde, kript epiteli ile bez epitelinde, ayrıca ödemli ve oldukça geniş olduğu gözlenen lamina propriyadaki stromal hücrelerde bulunduğu gözlemlendi. Luminal epitel ile kript epitelindeki reaksiyonun nüklear reaksiyonun çekirdek membranında daha belirgin olarak lokalize olduğu ayrıca hücrelerin bazal kısımlarının vakuoler olması ve intraepiteliyal hücreler ve kapilar damarlar içermesi nedeniyle sitoplazmik reaksiyonun daha çok apikal ve lateral sitoplazma yoğunlaştığı dikkati çekti. Bu dönemde de stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 14A-C)



Şekil 14A. Doğum sonrası 1. günde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

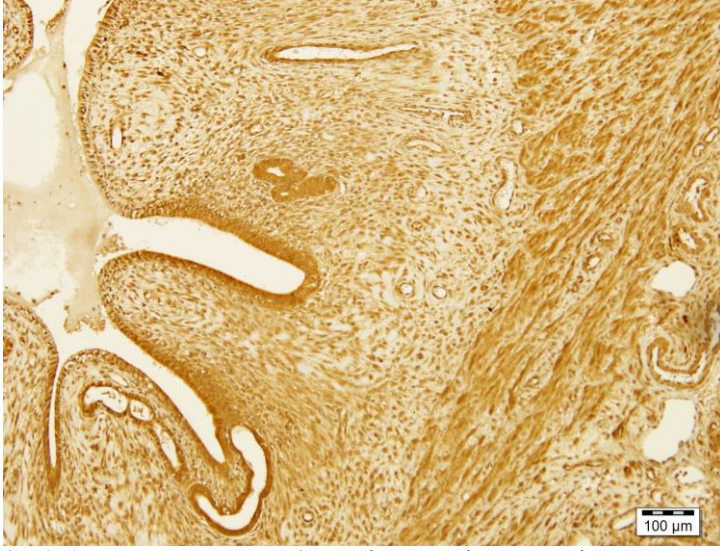


Şekil 14B. Doğum sonrası 1. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

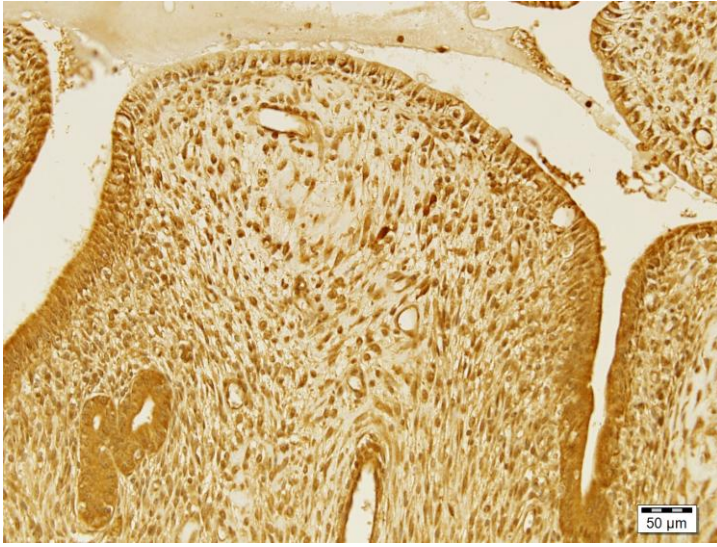


Şekil 14C. Doğum sonrası 1. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vasculare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

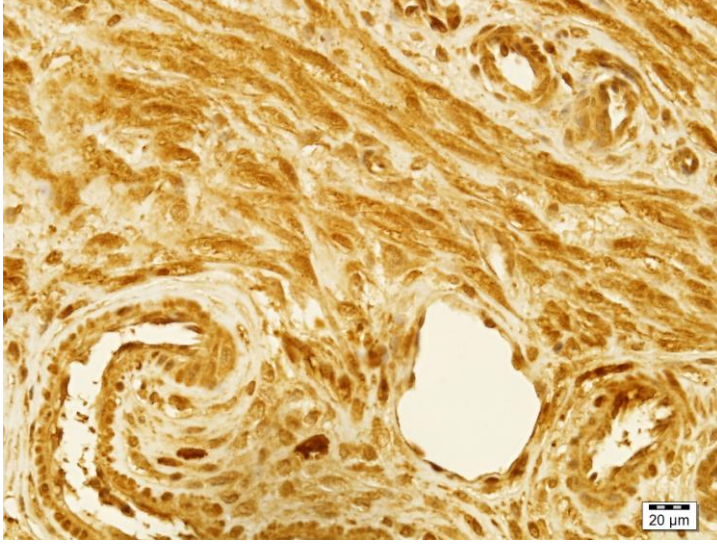
Doğum sonrası üçüncü günde Hsp70 immunreaksiyonunun lokalizasyonlarının farklılık göstermediği, ancak luminal epitelin yüksekliğinin azalmasına paralel olarak apikal sitoplazmada bulunduğu, bazı hücrelerde ise reaksiyonun negatif olduğu belirlendi. Ancak kript epiteli ile glandular epitelde daha yoğun bir reaksiyon izlendi. Stromadaki ödemin azalmasına ve stromal hücrelerin artmasına paralel olarak Hsp70 pozitif stromal hücrelerde de bir artış görüldü. Uterusun diğer bileşenlerindeki reaksiyonların doğum sonrası birinci gündeki reaksiyonlara benzediği tespit edildi (Şekil 15A-C).



Şekil 15A. Doğum sonrası 3. günde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

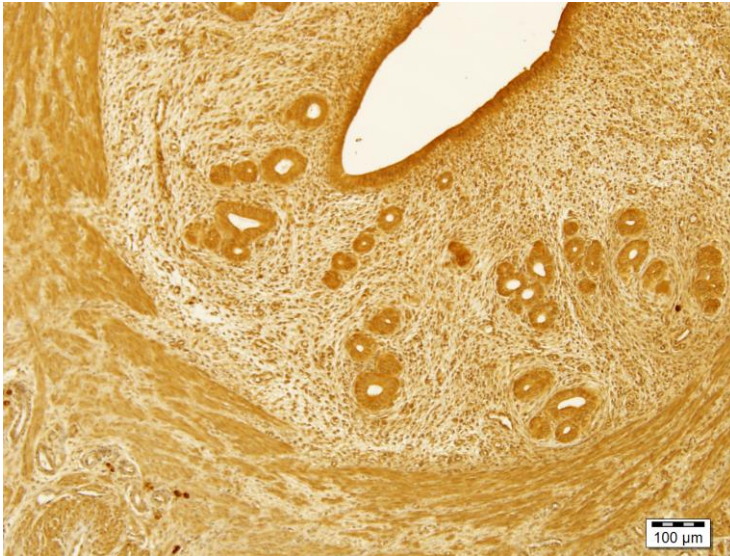


Şekil 15B. Doğum sonrası 3. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

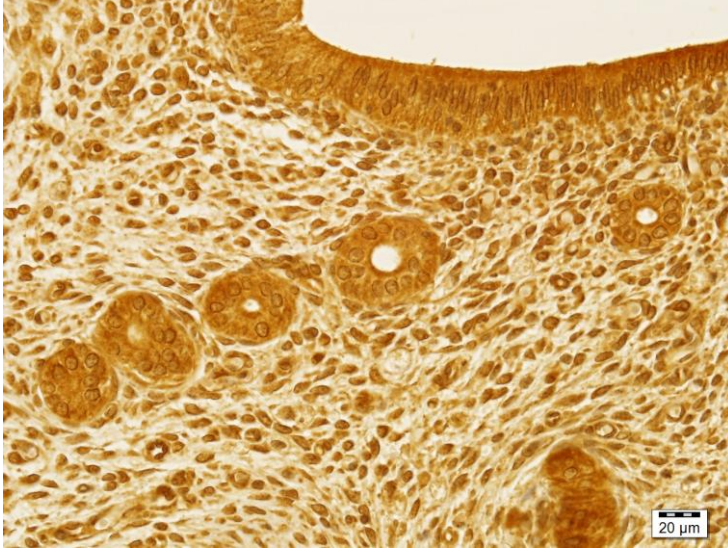


Şekil 15C. Doğum sonrası 3. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

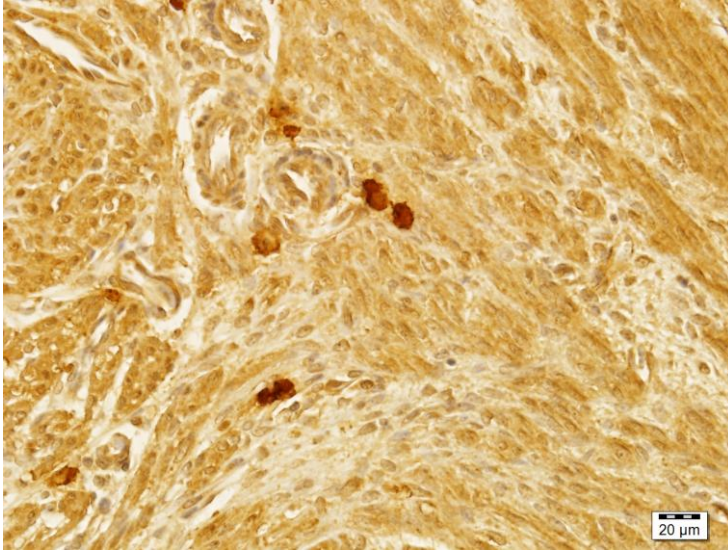
Doğum sonrası beşinci günde luminal ve glandular epiteldeki immunreaksiyonların birbirine benzer oldukları izlendi. Stromal kalınlığının azalması ve stromal hücrelerin sayısındaki artışa paralel olarak Hsp70 pozitif hücre sayısının arttığı belirlendi. Ayrıca stromada çok kuvvetli pozitif boyanan hücreler de dikkati çekti. Bunun yanı sıra miyometriyumda damar duvarlarına yakın olarak Hsp70 pozitif mast hücreleri görüldü (Şekil 16A-C).



Şekil 16A. Doğum sonrası 5. günde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 16B. Doğum sonrası 5. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

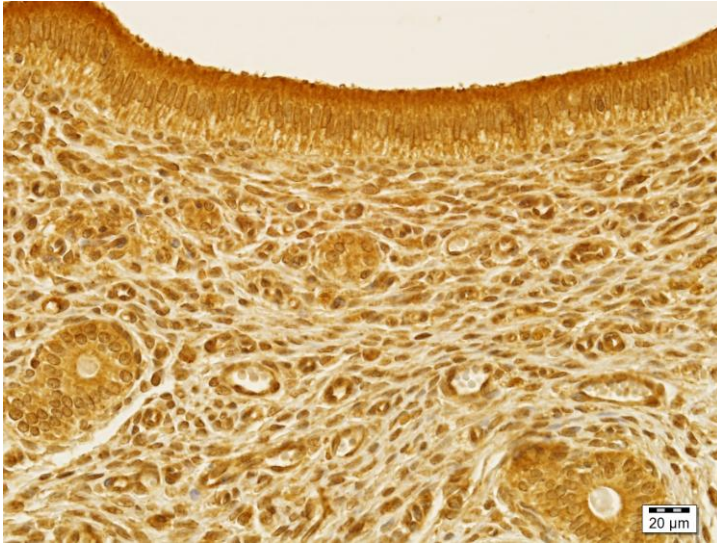


Şekil 16C. Doğum sonrası 5. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

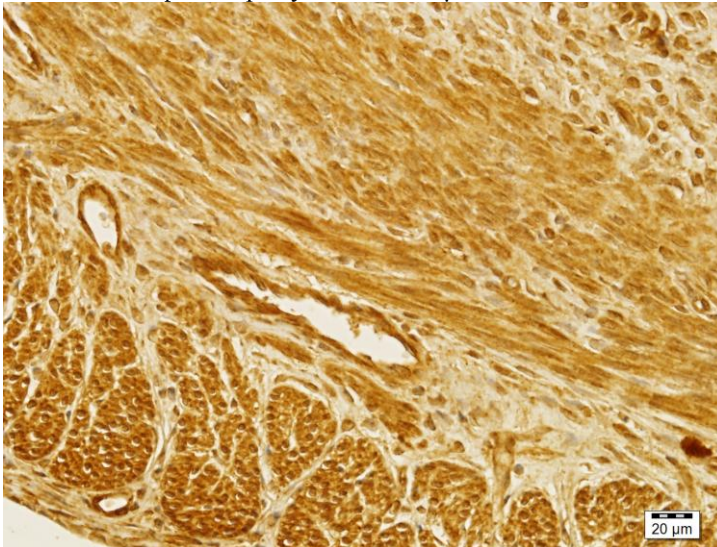
Doğum sonrası 10. ve 15 günlerde Hsp70'in uterusdaki lokalizasyonunun 5. gündekine benzer olduğu tespit edildi (Şekil 17A-C, 18A-C).



Şekil 17A. Doğum sonrası 10. günde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



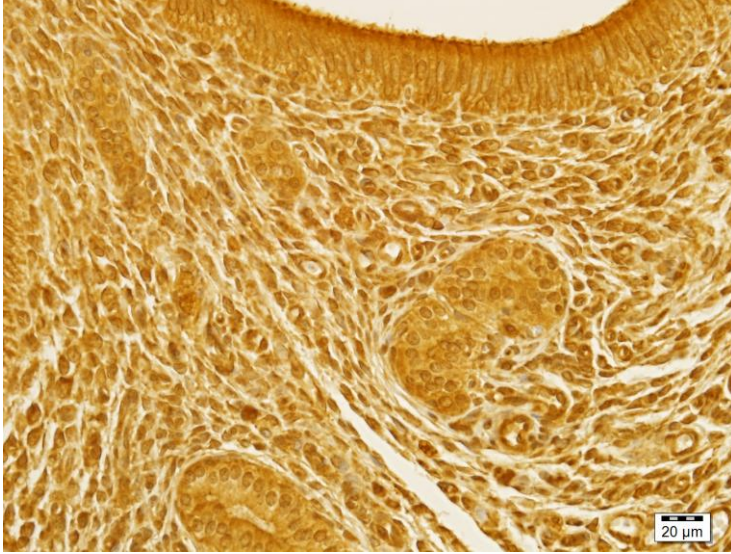
Şekil 17B. Doğum sonrası 10. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



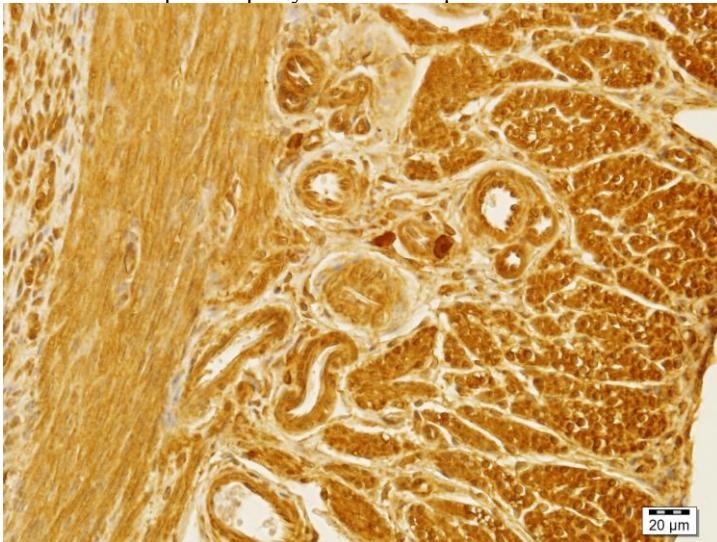
Şekil 17C. Doğum sonrası 10. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



Şekil 18A. Doğum sonrası 15. günde uterusda Hsp70 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



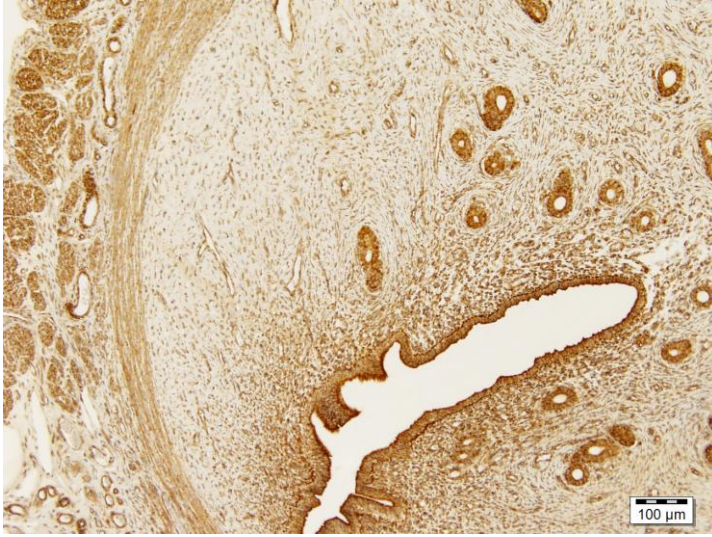
Şekil 18B. Doğum sonrası 15. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp70 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



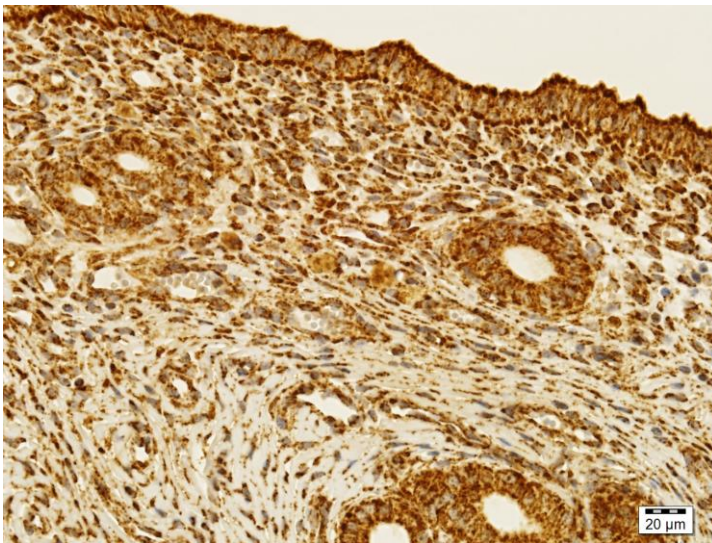
Şekil 18C. Doğum sonrası 15. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp70 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

4.4. Hsp60

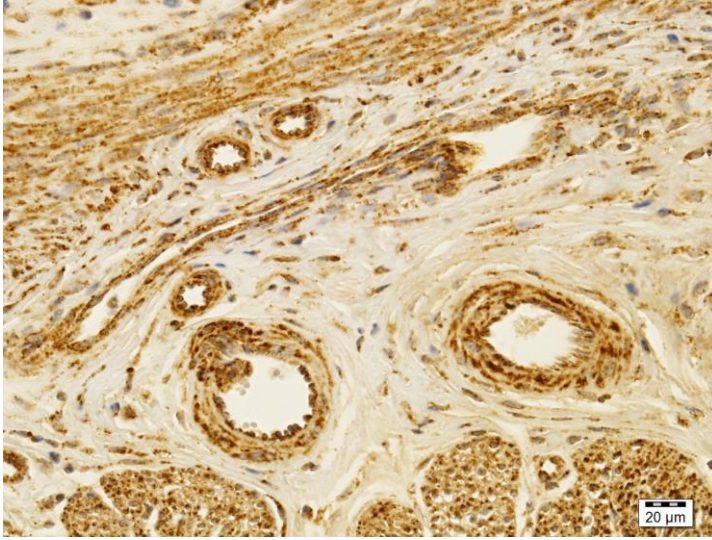
Hsp60 immunreaksiyonunun sitoplazmada iri grnaüler veya partiküler formda olduğu saptandı. Gebeliğin beşinci gününde ve incelenen tüm postpartum günlerinde endometriyumda yüzey ve bez epitelinin oluşturan hücrelerinde, gerek subepiteliyal ve gerekse endometriyumun derin katmanlarında bulunan stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 19A-C).



Şekil 19A. Gebeliğin 5. gününde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 19B. Gebeliğin 5. gününde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

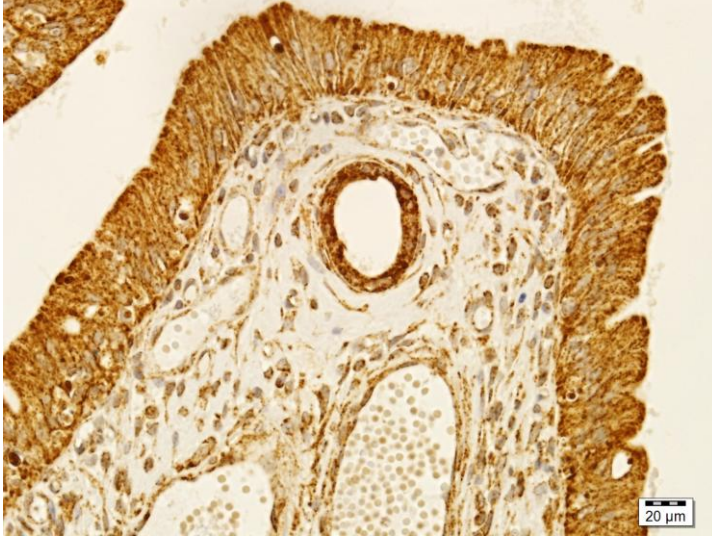


Şekil 19C. Gebeliğin 5. gününde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

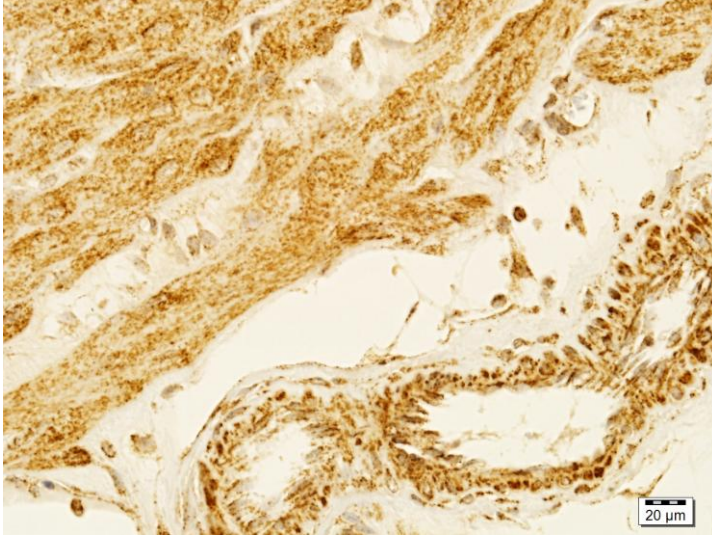
Hsp60 immunreaksiyonunun doğumu sonrası birinci günde luminal epitelde, kript epiteli ile bez epitelinde, ayrıca ödemli ve oldukça geniş olduğu gözlenen lamina propriyadaki stromal hücrelerde bulunduğu gözlemlendi. Luminal epitel ile kript epitelinde granüler reaksiyonun apikal ve bazal sitoplazmada bulunduğu, bunun dışında oval çekirdeklerin membranlarına bitişik olarak bulunduğu dikkati çekti. Bu dönemde de stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlendi (Şekil 20A-C).



Şekil 20A. Doğum sonrası 1. günde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.

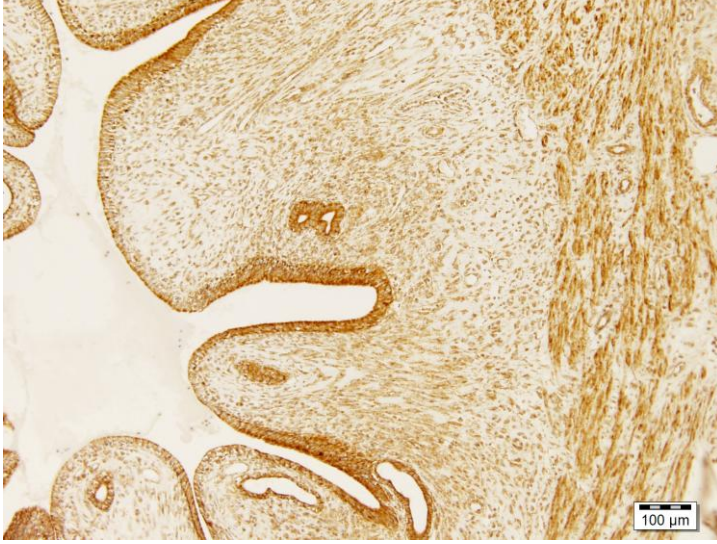


Şekil 20B. Doğum sonrası 1. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

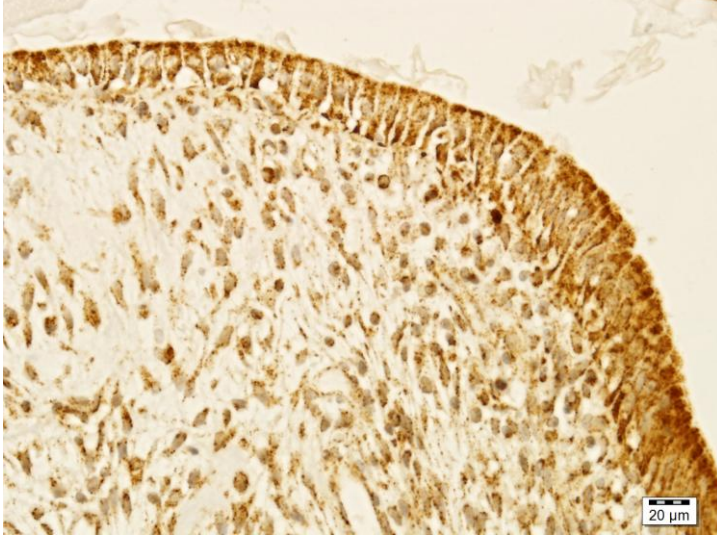


Şekil 20C. Doğum sonrası 1. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vasculare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

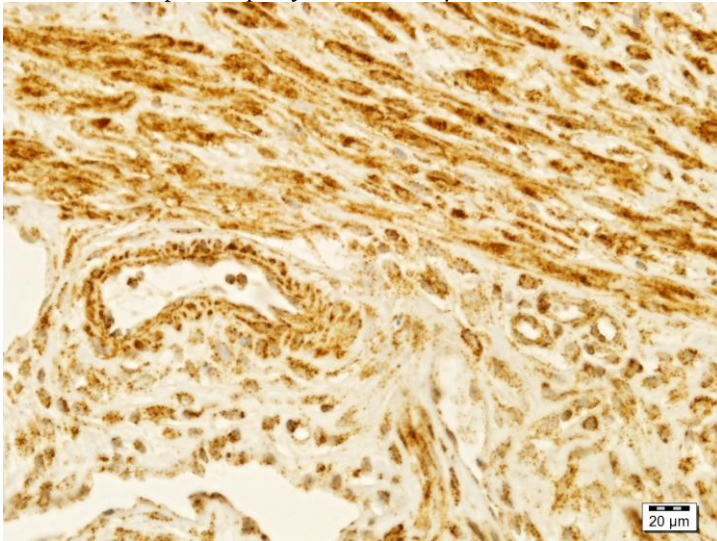
Doğum sonrası üçüncü günde Hsp60 immunreaksiyonunun lokalizasyonlarının farklılık göstermediği, ancak luminal epitelin yüksekliğinin azalmasına paralel olarak apikal sitoplazmada bulunduğu, kript epitelinde ise hem apikal hemde bazal sitoplazmada görüldüğü belirlendi. Stromadaki ödemin azalmasına ve stromal hücrelerin artmasına paralel olarak Hsp60 pozitif stromal hücrelerde de bir artış görüldü. Uterusun diğer bileşenlerindeki reaksiyonların doğum sonrası birinci gündeki reaksiyonlara benzediği tespit edildi (Şekil 21A-C).



Şekil 21A. Doğum sonrası 3. günde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 21B. Doğum sonrası 3. günde endometriyumda luminal epitel ve stromal hücreler ile kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

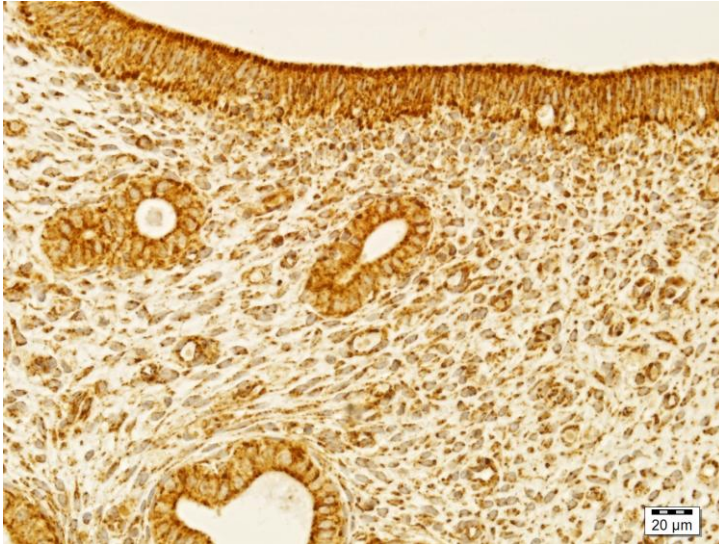


Şekil 21C. Doğum sonrası 3. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

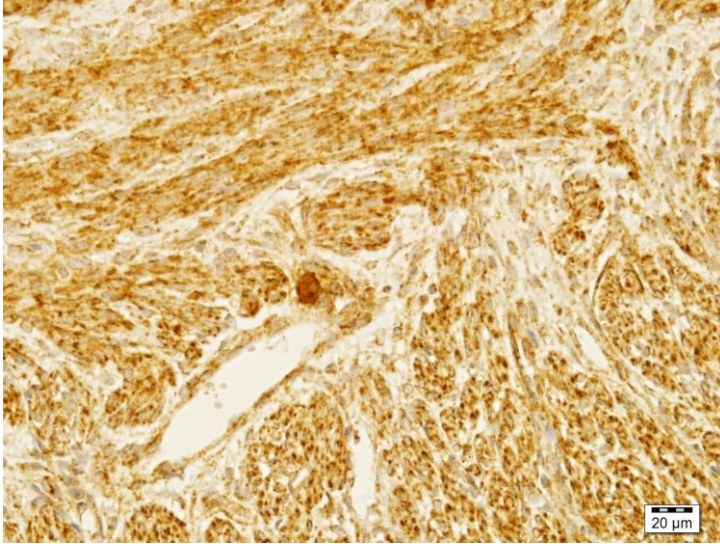
Doğum sonrası beşinci günde luminal ve glandular epitelde apikal ve bazal sitoplazmada iri granüler immunreaksiyonlar izlendi. Stromal kalınlığın azalması ve stromal hücrelerin sayısındaki artışa paralel olarak Hsp60 pozitif hücre sayısının arttığı belirlendi. Ayrıca stromada çok kuvvetli pozitif boyanan hücreler de dikkati çekti. Bunun yanı sıra miyometriyumda damar duvarlarına yakın olarak Hsp60 pozitif mast hücreleri görüldü (Şekil 22A-C).



Şekil 22A. Doğum sonrası 5. günde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 22B. Doğum sonrası 5. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.

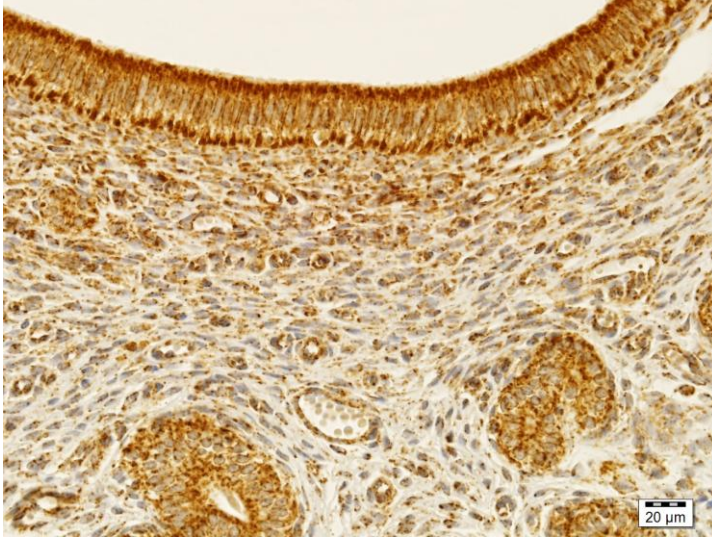


Şekil 22C. Doğum sonrası 5. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

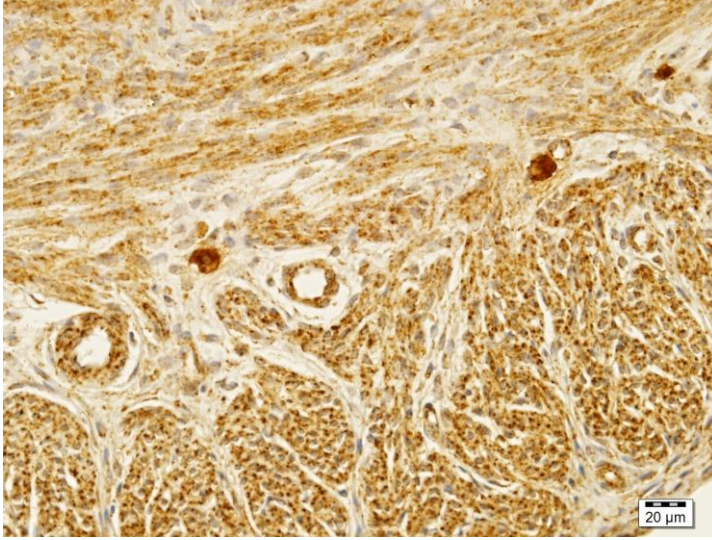
Doğum sonrası 10. ve 15 günlerde Hsp60 immunreaksiyonunun uterusdaki lokalizasyonunun 5. günde benzer olduğu tespit edildi (Şekil 23A-C, 24A-C).



Şekil 23A. Doğum sonrası 10. günde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



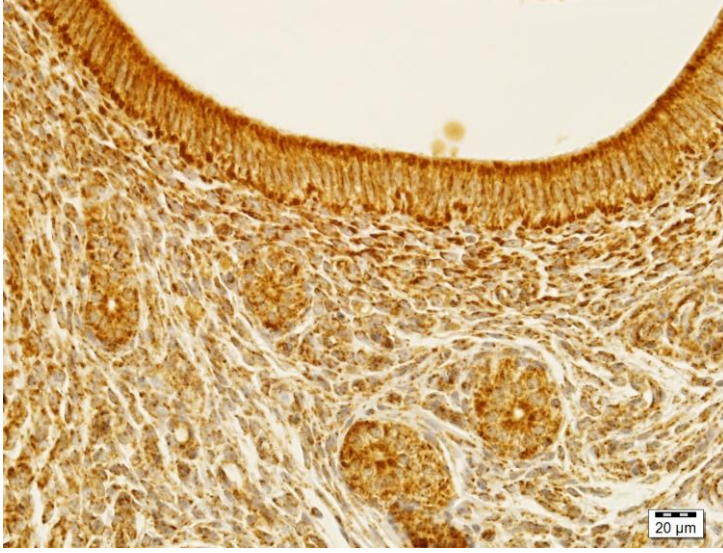
Şekil 23B. Doğum sonrası 10. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



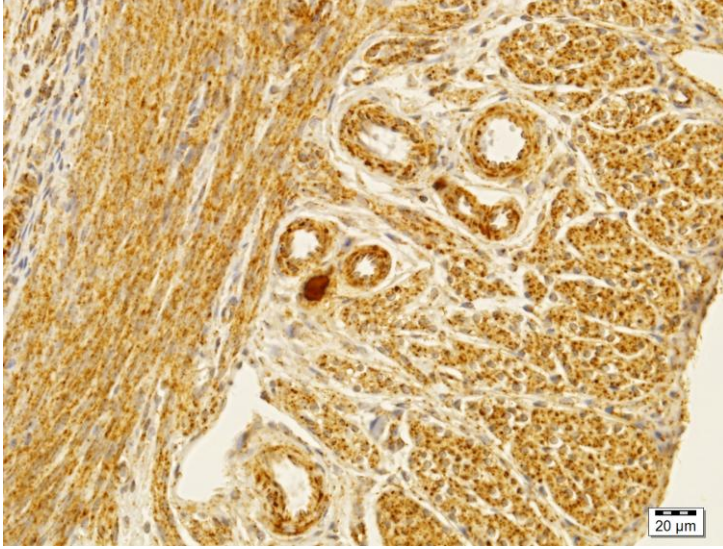
Şekil 23C. Doğum sonrası 10. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.



Şekil 24A. Doğum sonrası 15. günde uterusda Hsp60 ekspresyonu. Bar: 100 µm.



Şekil 24B. Doğum sonrası 15. günde endometriyumda luminal epitel, bezler, stromal hücreler ve kapilar damar endotelinde Hsp60 ekspresyonu. Bar: 50 µm.



Şekil 24C. Doğum sonrası 15. günde miyometriyumda düz kas hücreleri ile stratum vaskulare'deki damarların endotel ve medya katmanındaki düz kas hücrelerindeki Hsp60 ekspresyonu. Bar: 20 µm.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada rat uterusunda ısı şok proteinlerinden Hsp60, Hsp70, Hsp90 ve Hsp110'un ekspresyonlarında gebelik ve postpartum involüsyon dönemine bağlı olarak şekillenen değişimler immunohistokimyasal olarak ortaya konmuştur.

Uterus endometriyumunun steroid hormonların etkisi altında proliferasyon, sekresyon ve doku atılması gibi siklik değişikliklere uğradığı, bu değişikliklere paralel olarak da ısı şok proteinlerinin ekspresyonlarının değiştiği bilinmektedir. Çalışmalar hücrel ısı şok proteinlerinin hedef dokunun steroid hormonlarının regülasyonunda önemli rol oynayabileceğini göstermektedir. Bunlardan Hsp90'nın hücrede tubulin, aktin, çeşitli protein kinazlar ve steroid reseptörler ile kompleksler oluşturabildiği ve bu reseptörlerin DNA ile etkileşimlerini inhibe ettiği (Ramachandran et al., 1988), Hsp90 ve Hsp70'in seks steroid reseptörlerinin fonksiyonel modülasyonuna karıştığı (Koshiyama et al.,1995; Pratt and Toft, 1997) belirtilmektedir. Isı şok proteinlerinin insanda genital kanalın farklı organlarında bulunduğu gösterilmiştir. Hsp60 ve Hsp70 ailesinden Grp78 proteinlerinin insan uterusu ile oviduktunda bulundukları, endometriyumun glanduler ve luminal epitel hücrelerinde Grp78'in Hsp60'dan daha kuvvetli eksprese olduğu bildirilmektedir. Ayrıca Grp78'in stromal hücrelerde de lokalize olduğu ifade edilmektedir. Grp78'in oviduktta hem epitelde, hem de stromal hücrelerde, Hsp60'ın ise sadece ovidukt epitelinde bulunduğu belirtilmektedir (Lachance et al., 2007). Çeşitli çalışmalar ısı şok proteinlerinden HSP90 ve Hsp70'in insan uterusunda endometriyumda eksprese olduğunu göstermektedir (Nip et al., 1994; Koshiyama et al., 1995; Tabibzadeh et al., 1996; Tabibzadeh et al., 1999).

Shah ve ark. (1998) Hsp90 ve Hsp60'ın primer olarak çekirdekte, Hsp70'in ise çekirdek ve sitoplazmada bulunduğunu da ifade etmektedirler (Shah et al., 1998). Ayrıca, Hsp60 proteinin mitokondriyal proteinlerin sentezi ile sitoplazmadan mitokondriyal matrikse transportundan sorumlu mitokondriyal bir şaperon olduğu, Hsp60'ın hücrede primer olarak

mitokondriyonlarda (mitokondriyal form), %15-20 oranında da sitoplazmada (sitoplazmik form) bulunduğu bilinmektedir ((Itoh et al., 1995; Itoh et al., 2002).

Shah ve ark. (1998)'nın bildirdiklerinin aksine incelenen her bir döneme ait çalışmamız bulguları Hsp105/110'un sitoplazmik, Hsp90 ve Hsp70'in sitoplazmik ve nüklear, Hsp60'ın ise sitoplazmada partiküller şeklinde bir immün boyanma sergilediklerini ortaya koymuştur. Hsp60'ın hücrelerde partikül şeklindeki immünreaksiyonu uterusun tüm bileşenlerine ait hücrelerde primer olarak mitokondriyonlarda (mitokondriyal form) yerleştiğinin göstergesi olarak yorumlanmıştır.

Koshiyama et al. (1995) Hsp70 ve Hsp90'nın insan endometriyumunda menstrual siklus boyunca eksprese olduğunu, Hsp70'in basalis katmanında ifadelendiği halde, proliferatif fazda fonksiyonalis katmanında zayıf olduğunu, Hsp90 ekspresyonunun ise sekretorik fazda zayıf olduğunu bildirmektedirler. İnsanda Hsp90'nın menstrual siklusun proliferative fazında glandular ve stromal hücrelerde kuvvetli olarak eksprese oldukları, ancak sekretorik fazda her iki hücre tipinde Hsp90 ekspresyonunun zayıfladığı rapor edilmektedir (Koshiyama et al.,1995; Komatsu et al., 1997; Tabibzadeh et al., 1996). Tabibzadeh ve ark. (1996) Hsp70 ekspresyonunun epitelde stromadan daha güçlü olduğunu, Hsp90'nın ise epitel ve stromanın her ikisinde bulunduğunu, ancak Hsp70 ve Hsp90 ekspresyonunun menstrual siklus boyunca değişmediğini rapor etmektedirler. Çalışmamız bulguları postpartum involüsyon döneminde sıçan uterusunda Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'nın doğumu sonrası 1-3. günde luminal epitelde, kript epiteli ile bez epitelinde, ayrıca lamina propriadaki stromal hücrelerde bulunduğu gözlenmiştir Luminal epitel ile kript epitelindeki nüklear reaksiyonun çekirdek membranında daha belirgin olarak lokalize olduğu dikkati çekmiştir. Her iki günde de de stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde pozitif reaksiyon izlenmiştir. Doğum sonrası 5., 10, ve 15. günlerde

luminal ve glandular epiteldeki immunreaksiyonların birbirine benzer oldukları belirlenmiştir. Stromal kalınlığın azalması ve stromal hücrelerin sayısındaki artışa paralel olarak Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 pozitif hücre sayısının arttığı belirlendi. Ayrıca stromada çok kuvvetli pozitif boyanan hücreler de dikkati çekti. Bunun yanı sıra miyometriyumda damar duvarlarına yakın olarak Hsp70 pozitif mast hücreleri görüldü. Bu bulgular ısı şok proteinlerinden Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'ın uterusdaki ekspresyonuna ilişkin çalışmalarla (Nip et al., 1994; Koshiyama et al., 1995; Tabibzadeh et al., 1996; Tabibzadeh et al., 1999) uygunluk göstermektedir. Çalışmamız bulguları involüsyon döneminde Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'ın uterus bileşenlerindeki ekspresyonlarının involüsyon sürecine bağlı yapısal değişikliklere paralel değişimler gösterdiğini açıkça ortaya koymuştur.

Ayrıca çalışmamız postpartum involüsyon döneminde sıçan uterusunda Hsp105/110'un luminal ve glandular epitel ile stromal hücrelerde sitoplazmik yerleşim gösterdiğini, özellikle postpartum dönemin 5-15.günleri arasındaki süreçte stromal hücreler ile glanduler epitelde yoğun olarak eksprese olduğunu ortaya koymuştur. Hsp105'in uterus endometriyumunda lokalizasyonuna ilişkin sadece bir çalışmaya rastlanmış olup bu çalışmada sıçan uterusunda implantasyon sürecinde Hsp105/110'un ekspresyonu incelenmiştir (Yuan et al., 2009). İnvolüsyon dönemindeki uterusda Hsp105/110'un ekspresyonuna ilişkin herhangi bir çalışma bulunmadığından sunulan çalışma sıçan uterusunun involüsyonu sırasında Hsp105/110'un lokalizasyonunu gösteren ilk çalışmadır.

Isı şok protein ailesinden Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 döllenmeden sonra zigotta (Bensaude et al.,1983), gebeliğin ilk üç aylık döneminde desidua (Neuer et al., 1996) ve gebelik boyunca plasental dokularda (Ziegert et al., 1999) eksprese edilen ilk proteinlerdir. Isı şok proteinlerinin insan plasentasında stromal hücreler ve kas hücrelerinden ziyade sinsityotrofoblastların apikal yüzeyinde lokalize oldukları rapor edilmektedir. Bu proteinlerin plasental ekspresyonlarının zamanında veya erken doğum olgularında farklı olmadığı,

fizyolojik olarak gebelik olgusunda bulundukları da bildirilmektedir (Divers et al., 1995; Ziegert et al. 1999). Shah ve ark. (Shah et al., 1998) gebeliğin birinci, ikinci ve üçüncü üç aylık dönemlerindeki insanların desidual dokularında Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'nın desidual stromal hücrelerde bulunduğunu, Hsp60'ın ekspresyonunun gebelik boyunca değişmediğini oysa Hsp70 ve Hsp90'nın ekspresyonlarının gebeliğin ilerlemesiyle azaldığını ifade etmektedirler. Ayrıca aynı dönemlerdeki insan plasentasında ise Hsp60, Hsp70 ve Hsp90'nın sitotrofoblast, sinsityotrofoblast, intermediyer trofoblast, Hofbauer ve endotel hücrelerinde bulunduğunu bildirmektedirler. Hsp105'in gebeliğin 8. gününe kadar olan periyottaki fare embriyolarında az miktarda eksprese olmasına karşılık 9.-12. günler arasında belirgin derecede arttığı, bu artışın organogenesis ile ilişkili olabileceği ve embriyonun gelişiminde önemli rol oynadığı rapor edilmektedir. Ayrıca gebeliğin 9.-12. günleri arasındaki embriyolarda apoptotik hücrelerde de Hsp105 ekspresyonunun artması nedeniyle organogenesis sırasında oluşan apoptosisin regülasyonunda Hsp105'in önemli rol oynadığı vurgulanmaktadır (Hatayama et al., 1997). Sıçanlarda uterusda Hsp105 ekspresyonunun gebeliğin birinci gününde esas olarak luminal epitelde, 2-3. günlerinden başlayarak glandular epitelde, 4. ve 5. günlerinden itibaren ise luminal epitelin altındaki stromal hücrelerde gözlendiği ve gebeliğin 5. gününde pik düzeye ulaştığı bildirilmektedir. Gebeliğin 6. gününde ise blastosistin ve implantasyon yerinin etrafındaki stromal hücrelerin Hsp105 pozitif olduğu, luminal epiteldeki reaksiyonun fark edilemeyecek düzeyde azaldığı sonuçta Hsp105'in erken implantasyon periyodunda önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Yuan et al., 2009).

Sunulan çalışmada gebeliğin sadece 5. günü incelenmiş olup bunun nedeni özellikle Hsp105/110'un sıçan uterusunda gebeliğin 5. gününde pik düzeye ulaştığı bildirilmesidir (Yuan et al., 2009). Gebeliğin 5. gününde de endometriyumda yüzey ve bez epitelini oluşturan hücrelerde, gerek subepitelial ve gerekse endometriyumun derin katmanlarında bulunan stromal hücrelerde, stromadaki kapilar damarların endotel hücrelerinde stratum

vaskulare katmanında bulunan kan damarlarının endotel ve medya katmanına ait düz kas hücrelerinde, ayrıca miyometriyal düz kas hücrelerinde Hsp60,Hsp70, Hsp90 ve Hsp105/Hsp110 pozitif reaksiyon belirlenmiştir. Bu bulgular incelenen ısı şok proteinlerinin sıçanlarda gebelik sürecinde de eksprese olduğunu ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak ısı şok proteinlerinden Hsp70 ile 90'ın gerek gebelik ve gerekse involüsyon sürecindeki uterusun tüm bileşenlerinde sitoplazmik ve nüklear olarak eksprese edildiği, Hsp60'ın gebelik ve involüsyon sürecinde mitokondriyal formda uterusun tüm bileşenleri tarafından eksprese edildiği, Hsp105/Hsp110'un da sitoplazmik olarak eksprese edildiği, bu ısı şok proteinlerinin ekspresyonlarının involüsyon sürecindeki yapısal değişikliklere paralel bir değişim gösterdiği ifade edilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Alan E, Liman N. Postpartum dönemde sıçan uterusundaki yapısal değişiklikler. Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences) 2011; 20: 83–91.
- Ambrosio L., Schedl, P. (1984) Gene expression during *Drosophila melanogaster* oogenesis: Analysis by in situ hybridization to tissue sections. *Dev Biol* 1984; 105: 80–92.
- Basu S, Binder RJ, Suto R, Anderson KM, Srivastava PK. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF- κ B pathway. *Int Immunol* 2000; 12: 1539–1546.
- Breloer M, Dorner B, More SH, Roderian T, Fleischer B, von Bonin A. Heat shock proteins as “danger signals”: eukaryotic Hsp60 enhances and accelerates antigen-specific IFN- γ production in T cells. *Eur J Immunol* 2001; 31: 2051–2059.
- Byrd CA, Bornmann W, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Pavletich N, Rosen N, Nathan CF, Ding A. Heat shock protein 90 mediates macrophage activation by taxol and bacterial lipopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 5645–5650.
- Bensaude O, Babinet C, Morange M, Jacob F: Heat shock proteins, first major products of zygotic gene activity in mouse embryo. *Nature* 1983; 305: 331–333.
- Bere HM. “The stress of dying”: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *J Cell Sci* 2004; 117: 2641–2651.
- Bukau B and Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines *Cell* 1998; 92: 351–366.
- Calderwood SK, Mambula SS, Gray PJ, Jr Theriault JR. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. *FEBS Lett* 2007; 581: 3689–3694.
- Chen, W., Syldath, U., Bellmann, K., Burkart, V., Kolb, H. Human 60-kDa heat-shock protein: a danger signal to the innate immune system *J. Immunol.* 1999; 162: 3212–3219.

Chen B, Zhong D, and Monteiro A. Comparative genomics and evolution of the Hsp90 family of genes across all kingdoms of organisms *BMC Genomics* 2006; 7: 156.

Ciocca DR, Stati AO, Fanelli, MA, and Gaestel M. Expression of Heat shock protein 25000 in rat uterus during pregnancy and pseudopregnancy. *Biol Reprod* 1996; 54: 1326– 1335.

Cotto JJ and Morimoto RI. Stress-induced activation of the heat-shock response: cell and molecular biology of heat-shock factors *Biochemical Society Symposium* 1999; 64: 105–118.

Cross BE, O’dea HM, and MacPhee DJ. Expression of small heat shock-related protein 20 (HSP20) in rat myometrium is markedly decreased during late pregnancy and labour *Reproduction* 2007; 133: 807– 817.

Csermely P, Schnaider T, Söti C, Prohászka Z and Nardai G. The 90-kDa molecular chaperone family: Structure, function, and clinical applications A comprehensive review, *Pharmacol. Ther.* 1998; 79: 129–168.

Divers M, Bulmer JN, Miller D, Lilford RJ. Placental heat shock proteins: no immunohistochemical evidence for a differential stress response in preterm labour. *Gynecol Obstet Invest* 1995; 40: 236–243.

Easton, DP, Kaneko, Y, and Subjeck, JR. The hsp110 and Grp1 70 stress proteins: newly recognized relatives of the Hsp70s. *Cell Stress Chaperones* 2000; 5: 276– 290.

Elkhalil AO, Maejima Y, Aoyama M, Tanaka H, Sugita S. Morphometric and histochemical study of involution in the rat uterus after parturition. *Anim Sci J* 2005; 76: 313–323.

Fink AL. Chaperone-mediated protein folding. *Physiol Rev* 1999; 79: 425–449.

Flohe SB., Bruggemann, J., Lendemans, S., Nikulina, M., Meierhoff, G., Flohe, S., Kolb, H. (2003) Human heat shock protein 60 induces maturation of dendritic cells versus a TH1-promoting phenotype *J. Immunol.* 170,2340–2348.

Garrido C, Gurbuxani S, Ravagnan L, Kroemer G. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2001; 286: 433–442.

Gastpar, R, Gross C, Rossbacher L, Ellwart J, Riegger J, Multhoff G. The cell surface–localized heat shock protein 70 epitope TKD induces migration and cytolytic activity selectively in human NK cells. *J Immunol* 2004; 172: 972–980.

Goldfarb S, Kashlan O, Watkins J, Suaud L, Yan W, Kleyman T, and Rubenstein R. Differential effects of Hsc70 and Hsp70 on the intracellular trafficking and functional expression of epithelial sodium channels *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 5817– 22.

Grammatikakis N, Vultur A, Ramana CV, Siganou A, Schweinfest C W, Watson DK, and Raptis L. The role of HSP90N, a new member of the Hsp90 family, in signal transduction and neoplastic transformation *J Biol Chem* 2002; 277: 8312–8320.

Gupta S and Knowlton AA. Cytosolic heat shock protein 60, hypoxia, and apoptosis *Circulation* 2002; 106: 2727– 2733.

Habich C, Kempe K, van Der Zee R, Rumenapf R, Akiyama H, Kolb H, Burkart V. Heat shock protein 60: specific binding of lipopolysaccharide. *J Immunol* 2005; 174: 1298–1305.

Hafez ESE and Hafez B. *Reproduction in farm animals* Ed. BaladoWilliams and Wilkins USA, 2000.

Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002; 295: 1852–1858.

Hatayama T, Nishiyama E, and Yasuda K. Cellular localization of high–molecular–mass heat shock proteins in murine cells *Biochem Biophys Res Commun* 1994a; 200: 1367–1373.

Hatayama T, Yasuda K, Nishiyama E. Characterization of high–molecular–mass heat shock proteins and 42 °C–specific heat shock proteins of murine cells *Biochem Biophys Res Commun* 1994b; 204: 357–365.

Hatayama T, Takigawa T, Takeuchi S, and Shiota K. Characteristic expression of high molecular mass heat shock protein HSP105 during mouse embryo development *Cell Struct Funct* 1997; 22: 517– 552.

Hatayama T, Yasuda K, and Nishiyama E. Association of HSP105 with HSC70 in high molecular mass complexes in Mouse FM3A cells *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 248: 395–401.

Hatayama T, Yamagishi N, Minobe E, and Sakai K. Role of hsp105 in protection against stress-induced apoptosis in neuronal PC12 cells *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288: 528– 534.

Henell F, Ericson JLE, Glaumann H. An electron microscopic study of the post-partum involution of the rat uterus. With a note on apparent crinophagy of collagen. *Virchows Archiv B Cell Pathology Zell-Pathologie* 1983; 42: 271–287.

Hightower LE, Hendershot LM. Molecular chaperones and the heat shock response at Cold Spring Harbor. *Cell Stress Chaperones* 1997; 2:1–11.

Ishihara K, Yasuda K, and Hatayama T. Molecular cloning, expression and localization of human 105 kDa heat shock protein, hsp105. *Biochem Biophys Acta* 1999; 1444: 138–142.

Ishii, T., Udono, H., Yamano, T., Ohta, H., Uenaka, A., Ono, T., Hizuta, A., Tanaka, N., Srivastava, P. K., Nakayama, E. (1999) Isolation of MHC class 1–restricted tumor antigen peptide and its precursors associated with heat shock proteins hsp70, hsp90, and gp96 *J. Immunol.* 162,1303–1309.

Itoh H, Komatsuda A, Ohtani H, Wakui H, Imai H, Sawada K, Otaka M, Ogura M, Suzuki A, and Hamada F. Mammalian HSP60 is quickly sorted into the mitochondria under conditions of dehydration *Eur J Biochem.* 2002; 269:5931–5938.

Itoh H, Kobayashi R, Wakui H, Komatsuda A, Ohtani H, Miura AB, Otaka M, Masamune O, Andao H, Koyama K, Sato Y, and Tashima Y. Mammalian 60–kDa stress protein (chaperonin homolog). Identification, biochemical properties, and localization. *J Biol Chem* 1995; 270:13429–13435.

Kaneko Y, Kimura T, Kishishita M, Noda Y, and Fujita J. Cloning of Apg- 2 encoding a novel member of heat shock protein 110 family Gene 1997a; 189: 19– 24.

Kaneko Y, Nishiyama H, Nonoguchi K, Higashitsuji H, Kishishita M, and Fujita J. A novel hsp110- related gene, apg- 1, that is abundantly expressed in the testis responds to a low temperature heat shock rather than the traditional elevated temperatures J Biol Chem 1997b; 272: 2640–2645.

Kaneko Y, Kimura T, Nishiyama H, Noda Y, and Fujita J. Developmentally regulated expression of APG- 1, a member of heat shock protein 110 family in murine male germ cells Biochem Biophys Res Comm 1997c; 223:113–116.

Kaufman BA, Kolesar JE, Perlman PS, and Butow RA. A function for the mitochondrial chaperonin Hsp60 in the structure and transmission of mitochondrial DNA nucleoids in *Saccharomyces cerevisiae* J Cell Biol 2003; 163(3):457– 461.

Kaźmierczuk A and Kiliańska ZM. The pleiotropic activity of heat-shock proteins Postepy Hig Med Dosw 2009; 63:502–21.

Kirchhoff S.R., Gupta S., Knowlton A.A. (2002) Cytosolic heat shock protein 60, apoptosis, and myocardial injury. Circulation, 105: 2899–2904.

Kojima R, Randall J, Brenner BM, Gullans SR. Osmotic stress protein 94 (Osp94). A new member of the Hsp110/SSE gene subfamily. J Biol Chem 1996; 271: 12327–12332.

Komatsu T, Konishi I, Fukumoto M, Nanbu K, Koshiyama M, Mandai M, and Mori T. Messenger Ribonucleic Acid Expression of Heat Shock Proteins HSP70 and HSP90 in Human Endometrium and Myometrium during the Menstrual Cycle J Clin Endocrinol Metab 1997; 82: 1385– 1389.

Koshiyama M, Konishi I, Nanbu K, Nanbu Y, Mandai M, Komatsu T, Yamamoto S, Mori T, and Fujii S. Immunohistochemical localization of heat shock proteins HSP70 and HSP90 in

the human endometrium, correlation with sex steroid receptors and Ki- 67 antigen expression
J Clin Endocrinol Metab 1995; 80: 1106–1112.

Kuhn DJ , Zeger EL and Orlowski RZ. Proteasome inhibitors and modulators of heat shock protein function. Update on Cancer Therapeutics 2006; 1: 91–116.

Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, Didelot C, and Garrido C. Apoptosis versus cell differentiation. Role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and Hsp27 Landes Bioscience 2007; 1: 53– 60.

Lachance C, Bailey JL, and Leclerc P. Expression of Hsp60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions Human Reprod 2007; 22: 2606– 2614.

Lanneau D, Brunet M, Frisan E, Solary E, Fontenay M, and Garrido C. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation J Cell Mol Med 2008; 12:743– 761.

Lee–Yoon, D, Easton, D, Murawski, M, Burd, R, and Subject, JR. Identification of a major subfamily of large hsp70–like proteins through the cloning of the mammalian 110–kDa heat shock protein J Biol Chem 1995; 270:15725–15733.

Li CB, Stagg CA, and Udelsman R. Heat shock protein expression in human placenta and umbilical cord. Shock 1996; 5: 320– 323.

Li Z, Menoret A, Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in antigen presentation and cross–presentation. Curr Opin Immunol 2002; 14: 45–51.

Lindquist S and Craig EA. The heat–shock proteins Annual Review of Genetics 1988; 22: 631–677.

Little E, Ramakrishnan M, Roy B, Gazit G, and Lee AS. The glucose–regulated proteins (GRP78 and GRP94): functions, gene regulation, and applications Crit Rev Eukaryot Gene Expr 1994; 4:1– 18.

Maibenco HG. Connective tissue changes in postpartum uterine involution in the albino rat. *Anat Rec* 1960; 136: 59–71.

Manase K, Endo T, Chida M, Nagasawa K, Honnma H, Yamazaki K, Kitajima Y, Goto T, Hayashi T, Mitaka T, Saito T. Coordinated elevation of membrane type 1-matrix metalloproteinase and matrix metalloproteinase-2 expression in rat uterus during postpartum involution. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2006; 4: 32, doi:10.1186/1477-7827-4-32.

MacIntyre DA, Tyson EK, Read M, Smith R, Yeo G, Kwek, and Chan E–C. Contraction in human myometrium is associated with changes in small heat shock proteins *Endocrinology* 2008; 149: 245– 252.

Malaïtsev VV, Bogdanova IM, and Makarova OV. Heat shock proteins and their role in the development of pathological processes *Arkh Pathol* 2008; 70: 31–38.

Mariani ML, Souto M, Fanelli, MA, and Ciocca DR. Constitutive expression of heat shock proteins hsp25 and hsp70 in the rat oviduct during neonatal development, the oestrus cycle and early pregnancy *J Reprod Fertil* 2000; 120: 217–223.

Mayer MP and Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism *Cel Mol Life Sci* 2005; 62: 670– 684.

McCarty JS, Buchberger A, Reinstein J, Bukau B. The role of ATP in the functional cycle of the DnaK chaperone system. *J Mol Biol* 1995; 249: 126–137.

More, S. H., Breloer, M., von Bonin, A. (2001) Eukaryotic heat shock proteins as molecular links in innate and adaptive immune responses: Hsp60-mediated activation of cytotoxic T cells *Int. Immunol.* 13,1121–1127.

Moseley P. Stress proteins and the immune response *Immunopharmacol* 2000; 48: 299–302.

Multhoff G. Heat shock proteins in immunity *Handb Exp Pharmacol* 2006; 172:279–304.

Multhoff G. Activation of natural killer cells by heat shock protein 70 *Int J Hypothermia* 2009; 25: 169– 175.

Multhoff, G., Mizzen, L., Winchester, C. C., Milner, C. M., Wenk, S., Eissner, G., Kampinga, H. H., Laumbacher, B., Johnson, J. (1999) Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of NK cells *Exp. Hematol.* 27,1627–1636 .

Nakamura J, Fujimoto M, Yasuda K, Takeda K, Akira S, Hatayama T, Takagi Y, Nozaki K, Hosokawa N, and Nagata, K Targeted. Disruption of Hsp110/105 Gene Protects Against Ischemic Stress Stroke 2008; 39:2853–2859.

Neuer A, Spandorfer SD, Giraldo P, Mele C, Liu HC, Marzusch K Kneissl D, and Witkin SS. Immune sensitization to the 60kD heat shock protein and pregnancy outcome *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology* 1997; 5: 154–157.

Neuer A, Ruck P, Marzusch K, Dietl J, Kaiserling E, Horny HP, Witkin SS: Human heat shock proteins in first trimester human decidua. *Infect Dis Obstet Gynecol* (1996) 3:188–189.

Neuer A, Spandorfer SD, Giraldo P, Dieterle S, Rosenwaks Z, Witkin SS. The role of heat shock proteins in reproduction *Human Reproduction* 2000; 6: 149–159.

Nilsen–Hamilton M, Liu Q, Ryon J, Bendickson L, Lepont P, and Chang Q. Tissue involution and the acute phase response *Ann N Y Acad Sci* 2003; 995: 94–108.

Nip MMC, Miller D, Taylor PV, Gannon MJ and Hancock KW. Expression of heat shock protein 70 kDa in human endometrium of normal and infertile women *Human Reproduction* 1994; 9:1253– 1256.

Nishikawa M, Takemoto S, and Takakura Y. Heat shock protein derivatives for delivery of antigens to antigen presenting cells *Int J Pharm* 2008; 354: 23–27.

Nollen EA, Brunsting JF, Roelofsen H, Weber LA, Kampinga HH. In vivo chaperone activity of heat shock protein 70 and thermotolerance. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 2069–2079.

Palleros DR, Shi L, Reid KL, Fink AL. Hsp70-protein complexes. Complex stability and conformation of bound substrate protein. *J Biol Chem* 1994; 269: 13107–13114.

Pechan PM. Heat shock proteins and cell proliferation *FEBS Lett* 1991; 280: 1–4.

Pockley AG, Muthana M, Caderwood SK. The dual immunoregulatory roles of stress proteins. *Trends Biochem Sci* 2008; 33: 71–79.

Pratt WB and Toft DO. Steroid Receptor Interactions with Heat Shock Protein and Immunophilin *Chaperon Endocrine Reviews* 1997; 18: 306–360.

Prohászka Z., Füst G. 2004. Immunological aspects of heat-shock proteins—the optimum stress of life. *Molecular Immunology* 41: 29–44.

Ramachandran C, Catelli MG, Schneider W, and Shyamala G. Estrogenic regulation of uterine 90-kilodalton Heat shock protein *Endocrinology* 1988; 123: 956–961.

Ranford JC, Coates AR, and Henderson B. Chaperonins are cell-signalling proteins: the unfolding biology of molecular chaperones *Expert Rev Mol Med* 2000; 2: 1–17.

Reed, R. C., Berwin, B., Baker, J. P., Nicchitta, C. V. (2003) GRP94/gp96 elicits ERK activation in murine macrophages: a role for endotoxin contamination in NF κ B activation and nitric oxide production. *J. Biol. Chem.* 2003; 278:31853–31860.

Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* 1962; 18: 571–573.

Ryan MT and Pfanner N. Hsp70 proteins in protein translocation *Adv Protein Chem* 2002; 59: 223–242.

Saito Y, Yamagishi N, and Hatayama T. Different localization of Hsp105 family proteins in mammalian cells *Exp Cell Res* 2007; 313: 3707–3717.

Salinithone S, Tyagi M, and Gerthoffer WT. Small heat shock proteins in smooth muscle *Pharmacol Ther* 2008; 119:44–54.

Santoro MG Heat shock factors and the control of the stress response(2000), *Biochem Pharmacol* 59: 55–63.

Somersan, S., Larsson, M., Fonteneau, J. F., Basu, S., Srivastava, P., Bhardwaj, N. (2001) Primary tumor tissue lysates are enriched in heat shock proteins and induce the maturation of human dendritic cells *J. Immunol.*167,4844–485.

Srivastava, P. K. (2008) New jobs for ancient chaperones *Sci. Am.*299,50–55.

Schatz G and Dobberstein B. Common principles of protein translocation across membranes *Science* 1996; 271:1519– 1526.

Schlesinger MJ. Heat shock proteins *J Biol Chem* 1990; 265: 12111– 12114.

Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, and Garrido C. Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy *J Leukoc Biol* 2007; 81: 15– 27.

Shah M, Stanek J., Handwerger S. 1998. Differential localization of heat shock proteins 90, 70, 60 and 27 in human decidua and placenta during pregnancy. *Histochemical Journal* 30, 509–518.

Shkurupiy VA, Dubinin EV, and Dubinina NN. Structural transformations of myocytes during gestation and early postpartum involution of the uterus *Bull Exp Biol Med* 2008a; 146: 97– 100.

Shkurupiy VA, Dubinin E.V, and Dubinina NN. Dynamics of myocytes of different types during pregnancy and early postpartum involution *Bull Exp Biol Med* 2008b; 146: 101–104.

Sreedhar AS and Csermely P.Heat shock proteins in the regulation of apoptosis: new strategies in tumor therapy: a comprehensive review *Pharmacol Ther* 2004; 101: 227– 257.

Tabibzadeh S, Kong QF, Satyaswaroop PG, and Babaknia A.Heat shock proteins in human endometrium throughout the menstrual cycle *Hum Reprod* 1996; 11: 633–640.

Tabibzadeh S and Broome J. Heat shock proteins in human endometrium throughout the menstrual cycle *Infect Dis Obstet Gynecol* 1999; 7: 5– 9.

Takamoto N., Leppert PC, Yu SY. (1998) Cell death and proliferation and its relation to collagen degradation in uterine involution of rat. *Connect Tissue Res* 1998; 37:163–175.

Tissiere A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol* 1974; 84: 389–398.

Triantafilou K, Triantafilou M, Dedrick RL. A CD14-independent LPS receptor cluster. *Nat Immunol* 2001; 2: 338–345.

Tsan M-F, Gao B. Cytokine function of heat shock proteins. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: C739–C744.

Tsan M-F, and Gao B. Heat shock proteins and immune system. *J Leukoc Biol* 2009; 85: 905–910.

Tyson EK, MacIntyre DA, Smith R, Chan E–C, and Read M. Evidence that a protein kinase A substrate, small heat shock protein 20, modulates myometrial relaxation in human pregnancy *Endocrinol* 2008; 149: 6157–6165.

Wadhwa R, Kaul SC, Ikawa Y, and Sugimoto Y. Identification of a novel member of mouse hsp70 family. Its association with cellular mortal phenotype *J Biol Chem* 1993; 268: 6615–6621.

Wakatsuki T and Hatayama T. Characteristic expression of 105–kDa heat shock protein (HSP105) in various tissues of nonstressed and heat–stressed rats *Biol Pharm Bull* 1998; 21: 905– 910.

Wallin RP, Lundqvist A, More SH, von Bonin A, Kiessling R, Ljunggren HG. Heat-shock proteins as activators of the innate immune system. *Trends Immunol* 2002; 23:130–135.

Walter S and Buchner J. Molecular chaperones—cellular machines for protein folding *Angew Chem Int Ed* 2002; 41: 1098–1113.

Warbrick JG. Postpartum Changes in the uterus of rat. *J Embryol Exp Morph* 1955; 3: 256–264.

White BG, Williams SJ, Highmore K, and MacPhee DJ. Small heat shock protein 27 (Hsp27) expression is highly in rat myometrium during late pregnancy and labour *Reprod* 2005; 129:115– 126.

Williams, J. H., Ireland, H. E. (2008) Sensing danger—Hsp72 and HMGB1 as candidate signals *J. Leukoc. Biol.* 83,489–492.

Wu WX, Derks JB, Zhang Q, and Nathanielsz PW. Changes in heat shock protein–90 and –70 messenger ribonucleic acid in uterine tissues of the ewe in relation to parturition and regulation by estradiol and progesterone *Endocrinol* 1996; 137: 5685– 5693.

Yagita Y, Kitagawa K, Taguchi A, Ohtsuki T, Kuwabara K, Mabuchi T, Matsumoto M, Yanagihara T and Hori M. Molecular cloning of a novel member of the HSP110 family of genes, ischemia–responsive protein 94 kDa (irp94), expressed in rat brain after transient forebrain ischemia. *J Neurochem* 1999; 72: 1544–1551.

Yagita Y, Kitagawa K, Ohtsuki T, Tanaka S, Hori M, and Matsumoto M. Induction of the HSP110/105 family in the rat hippocampus in cerebral ischemia and ischemic tolerance *J Cereb Blood Flow Metab.* 2001; 21:811– 819.

Yamagishi N, Nishihori H, Ishihara K, Ohtsuka K, Hatayama T. Modulation of the chaperone activities of Hsc70/Hsp40 by Hsp105 α and Hsp105 β *Biochem Biophys Res. Commun.* 2000; 272: 850– 855.

Yamagishi N, Ishihara K, Saito Y, and Hatayama T. Hsp105 α enhances stress–induced apoptosis but not necrosis in mouse embryonal f9 cells *J Biochem* 2002; 132: 271– 278.

Yasuda K, Nakai A, Hatayama T, and Nagata K. Cloning and expression of murine high molecular mass heat shock proteins, HSP105 *J Biol Chem* 1995; 270: 29718–29723.

Yasuda K, Ishihara K, Nakashima K, and Hatayama T. Genomic cloning and promoter analysis of the mouse 105-kDa heat shock protein (HSP105) gene *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 75– 80.

Yuan J-X, Xiao L-J, Lu C-L, Zhang X-S, Liu T, Chen M, Hu Z-Y, Gao F and Liu Y-X. Increased expression of heat shock protein 105 in rat uterus of early pregnancy and its significance in embryo implantation *Reprod Biol Endocrinol* 2009; 7: 23.

Young JC, Moarefi I, Hartl FU. Hsp90: a specialist but essential protein-folding tool *J Cell Biol* 2001; 154: 267– 273.

Zhang XS, Lue YH, Guo SH, Yuan JX, Hu ZY, Han CS, Hikim AP, Swerdloff RS, Wang C, and Liu YX. Expression of HSP105 and HSP60 during germ cell apoptosis in the heat-treated testes of adult cynomolgus monkeys (*macaca fascicularis*) *Front Biosci* 2005; 10: 3110– 3121.

Ziegert M, Witkin SS, Sziller I, Alexander H, Brylla E, Hartig W: Heat shock proteins and heat shock protein-antibody complexes in placental tissues. *Infect Dis Obstet Gynecol* (1999) 7:180–185.