

LAS PROTEÍNAS DEL ESTRÉS. SU RELACIÓN CON LOS TUMORES, EL ENVEJECIMIENTO Y EL EJERCICIO (II)

THE STRESS PROTEINS. THEIR RELATIONSHIP WITH TUMORS, AGING AND EXERCISE (II)

HSPS Y TUMORES

El mundo científico y en especial los médicos, se hallan muy esperanzados en que el avance de la investigación de las HSPs aporte beneficios al diagnóstico, al pronóstico, e incluso al tratamiento de los tumores. Desgraciadamente, hasta el momento sólo se han publicado un pequeño número de trabajos sobre este tema.

Las HSP poseen la capacidad de proteger a las células contra diversos insultos y evitar la apoptosis y también pueden predecir el pronóstico de varios tipos de cánceres.

La expresión del HSP27 en las células prostáticas aporta nueva información sobre el diagnóstico y el pronóstico de la supervivencia de los pacientes afectados por el cáncer de próstata. En especial, cuando la prueba se lleva a cabo en el momento de descubrir el tumor. En tanto que la ausencia de HSP 27 constituye un marcador seguro y objetivo de la neoplasia prostática inicial, la reexpresión de dicha proteína en las células de un carcinoma invasivo augura un mal pronóstico clínico. Por otra parte, el desarrollo de nuevas técnicas basadas en la modulación de la expresión de la HSP27 nos permitiría instaurar el tratamiento específico que evitase la proliferación de las células tumorales y aumentase la supervivencia del enfermo

Schueller y colaboradores ⁽⁹³⁾ han observado una clara correlación entre los niveles de las proteínas HSP70 y HSP90 y la subpoblación de células necróticas en los tejidos tumorales expuestos al shock térmico. Por ello se hallan esperanzados en que, la expresión de ambos tipos de proteínas en las

células del hepatocarcinoma humano (HepG2) pueda ser aumentada por el tratamiento del shock térmico realizado in vitro.

El hecho de saber que en el periodo fetal la HSP73 se halla presente en las células piramidales del cerebro y en las gliales de la médula espinal, y que su función más importante reside en intervenir en la diferenciación de las células nerviosas ⁽³⁶⁾, además de conocer que la HSC70 (similar a la HSP70) interviene en la reparación del daño de las células de los nervios periféricos ⁽³⁰⁾, hizo concebir esperanzas a los neurólogos, de que este tipo de proteínas podría aportar datos muy valiosos en el diagnóstico y pronóstico de los tumores cerebrales.

Sin embargo, los datos aportados hasta el momento muestran que las HSPs no son capaces de señalar de antemano el pronóstico de los tumores astrocitarios y oligodendrogiales, ni la respuesta de sus células a la radioquimioterapia ⁽⁹⁷⁾.

También se ha llevado a cabo algún trabajo sobre las HSPs y el cáncer de endometrio. Los resultados publicados sugieren que, las HSP70 y HSP90 contribuyen a la proliferación de las células epiteliales del endometrio, y que el aumento de la expresión del HSP27 en la hiperplasia endometrial se origina como resultado de la activación del receptor de los estrógenos. Sin embargo, este hecho disminuye en el cáncer, debido a la pérdida de la función de dicho receptor ⁽¹⁰⁵⁾.

HSPS Y EJERCICIO

El ejercicio, de forma similar a como lo hacen otros agentes estresantes como la hipertermia, la isquemia,

Dr. J. F. Marcos Becerro*

Dr. Javier González Gallego**

*Presidente del Instituto Español de Longevidad y Salud.
Vicepresidente de la Federación Española de Medicina Deportiva
**Catedrático de Fisiología. Director del Departamento de Fisiología de la Universidad de León.

CORRESPONDENCIA:

Dr. J.F. Marcos Becerro. C/ Arturo Soria, 262. 28033 Madrid.

Aceptado:
22.02.02

el estrés oxidativo y el muscular, la disminución de la glucosa y las modificaciones del calcio y del pH, induce la expresión de las HSP en las células y en los tejidos ⁽¹⁴⁾.

El estrés excesivo puede producir daños más o menos importantes en el DNA, algunos de los cuales pueden ser reparados. La muerte celular por apoptosis o necrosis, o la reparación defectuosa de los desperfectos celulares dan lugar a alteraciones secuenciales del DNA, y posiblemente al desarrollo del cáncer, o en el caso del DNA mitocondrial a disfunción metabólica. Así, mientras que el ejercicio intenso origina modificaciones substanciales en el DNA de los leucocitos periféricos, el moderado, o el entrenamiento regular ejercen un efecto protector contra el daño del DNA originado por el ejercicio intenso. El aumento de la actividad de los antioxidantes endógenos y la expresión de las proteínas HSP70, HSP27 y HO1 observados en respuesta al entrenamiento, presupone que el ejercicio influye beneficiosamente en la salud ⁽¹⁵⁾.

La literatura médica es rica en publicaciones en las que se demuestra que, tanto el ejercicio agudo ⁽⁵⁴⁾⁽⁵⁸⁾⁽⁹⁵⁾⁽⁸⁸⁾ como el crónico ⁽⁸⁹⁾⁽¹⁶⁾⁽⁹⁾ son capaces de inducir la síntesis de las HSPs en varias células y tejidos (leucocitos, esplenocitos, músculo, corazón, adrenales, etc), y realizar algún tipo de protección sobre ellos. El efecto protector lo ejercen fundamentalmente los miembros de la familia HSP70 y en especial la HSP72, no obstante, las HSP27 y Hsp90 también poseen esta propiedad.

Los niveles elevados de HSP70 confieren a las células de los mamíferos defensa contra la isquemia ⁽⁷²⁾ y contra el calor ⁽⁴⁹⁾, y lo mismo hacen sus isoformas HSC73 y HSP72 contra el estrés térmico ⁽⁴⁸⁾.

Las concentraciones de HSP72 en los leucocitos pueden indicar la respuesta al estrés del ejercicio y la adaptación de las células inmunocompetentes al ejercicio y al calor ⁽¹⁶⁾.

HSP. Ejercicio y corazón

Probablemente el corazón es la víscera mejor estudiada en lo referente a la acción protectora que las HSPs ejercen sobre él.

El concepto de “tolerancia cruzada” se ha utilizado en los modelos animales de investigación para definir el hecho de que, cuando las HSPs han sido inducidas por el calor, éstas protegen al individuo contra otros tipos de estrés, como por ejemplo: la isquemia. Así pues, en los animales sometidos al estrés térmico la elevación de las HSP72 no sólo mejora la recuperación funcional postisquémica del corazón ⁽⁶⁾, sino que también reduce el tamaño del infarto ⁽³¹⁾.

La isquemia del miocardio y su consiguiente infarto, no solamente inducen la expresión miocárdica de la HSP60, sino que también originan la liberación de esta proteína al torrente circulatorio, lugar donde ejerce su influencia sobre las HSPs sistémicas, con el objeto de inducir las respuestas inmunitarias adecuadas para corregir los daños ocasionados por el infarto ⁽⁹²⁾.

Otros agentes estresantes distintos al calor estimulan la formación de HSPs en el corazón. Así, la infección de los miocitos cardíacos obtenidos de las ratas recién nacidas y de las adultas con un adenovirus recombinante que expresa HSP27, o cristalina-alfaB, da lugar a un aumento de la expresión de ambas proteínas, lo que protege contra el daño isquémico a las células cardíacas de las ratas adultas. De igual forma, el aumento de la expresión de la cristalina-alfaB ejerce los mismos efectos en las recién nacidas ⁽⁶⁵⁾.

Por otra parte, los ratones transgénicos que expresan la HSP70 humana se recuperan a mayor velocidad de la isquemia consecutiva al infarto ⁽⁸²⁾.

Aunque desconocemos la forma en que las HSPs producen los efectos beneficiosos sobre el corazón, se sospecha que tenga algo que ver con la protección que este tipo de proteínas lleva a cabo sobre las mitocondrias, contra la acción de los radicales libres ⁽⁸³⁾ y sobre la apoptosis ⁽⁷³⁾.

Sin embargo, no todos los autores están de acuerdo con estos postulados. Así, por ejemplo, Gray y sus colaboradores ⁽²³⁾ dicen que en las ratas jóvenes la mejoría se produce por el aumento de la concentración de la forma oxidada del dinucleótido de la nicotinamida adenina ((NAD⁺), y de la del fosfato de este mismo cuerpo (NADP⁺) y no por el de la HSP70 ⁽²³⁾.

Para Hamilton y su equipo ⁽²⁸⁾, la protección que el ejercicio realiza del corazón contra los insultos de corta duración producidos por la isquemia-reperusión, no depende del aumento de la expresión de las HSPs en el miocardio, sino del incremento de las defensas antioxidantes .

Como ya se ha señalado, el ejercicio, como otros muchos agentes estresantes estimula la síntesis de las HSPs. Algunos autores han demostrado que, una simple tanda de ejercicios agudos realizados en la cinta sin fin, promueve la expresión de las HSP en el miocardio de las ratas ⁽⁸⁸⁾⁽⁹⁹⁾. Y lo mismo sucede con el entrenamiento crónico. Sesenta minutos diarios de ejercicio aerobio realizado al 65-70% de la VO₂ max, durante 10-12 semanas, aumenta el HSP72 un 500% en el corazón de las ratas ⁽⁸⁴⁾.

Algún autor asegura que dicha elevación solamente se produce en los animales que realizan el ejercicio en la cinta sin fin ⁽⁷⁹⁾.

La activación del factor de transcripción del shock térmico hace su aparición en el músculo cardíaco a los 40 minutos, y más tarde, cuando el ejercicio se realiza hasta el agotamiento. En este caso se produce una mayor cantidad del mRNA del HSP72. ⁽⁵⁵⁾.

Para Knowlton ⁽⁴¹⁾ y Locke ⁽⁵⁷⁾, el aumento de las HSPs producido por el ejercicio otorga defensa contra la isquemia-reperusión.

Entre 3 y 5 días consecutivos de ejercicio mejora el rendimiento contráctil del miocardio en el transcurso de la isquemia/reperusión realizada in vivo, y a su vez, dicha protección miocárdica inducida por el ejercicio se halla asociada al aumento del HSP72 en el miocardio y al incremento de las defensas antioxidantes del corazón en las ratas ⁽¹⁰⁾. El entrenamiento de resistencia aerobio es el que mejores efectos posee sobre las lesiones originadas por el fenómeno isquemia-reperusión ⁽⁸⁴⁾⁽⁹⁹⁾.

Los hallazgos descritos sugieren que, durante el ejercicio agudo la acumulación de la HSP70 y el aumento de la potencia y la resistencia del sistema del transporte del Ca²⁺ en el miocardio son dos mecanismos muy importantes en la protección adaptativa del corazón ⁽⁸⁶⁾.

El mecanismo por el que el ejercicio ejerce esta función no se conoce con exactitud, pero se sospecha que el calor producido por el mismo sea el responsable ⁽²⁾. Sin embargo Skinmore ⁽⁹⁵⁾ dice haber observado aumentos de la HSP70 en los músculos esqueléticos y en el corazón de las ratas, sin que la temperatura corporal se elevase con el esfuerzo. No obstante, algunos de estos autores, a pesar de estar convencidos de que dicha protección es debida a la HSP72, no excluyen la existencia de otros mecanismos ⁽⁹⁹⁾.

HSPs. Ejercicio y Músculo

Es bien sabido que durante la contracción muscular aumentan los niveles de las EOR y que cuando la producción de los mismos es excesiva, las defensas naturales que intervienen en su neutralización (enzimas antioxidantes endógenas) se ven impotentes para cumplir su misión, por lo que para evitar el daño a las miocélulas el organismo puede recurrir a las HSPs. Varios autores han confirmado que, durante el ejercicio aumentan en los músculos en actividad la síntesis de este tipo de proteínas ⁽⁹⁰⁾, en especial la HSP72 ⁽⁹⁶⁾⁽²¹⁾⁽⁵⁷⁾, la HSP60 ⁽³⁸⁾⁽⁶⁷⁾, la GRP75 ⁽⁶⁸⁾, la HSP27, la HSC/HSP70 ⁽¹⁰⁰⁾⁽³⁸⁾, la ubiquitina ⁽³⁾ y la HSC73 ⁽⁵⁷⁾.

La función de las HSPs en respuesta al ejercicio y al entrenamiento se puede deducir de la forma en que las mismas se sintetizan, la cual se correlaciona muy bien con el síndrome de adaptación al estrés descrito por Selye ⁽⁴⁰⁾. Así, la adaptación de las ratas al ejercicio en la cinta sin fin necesita del aumento de la expresión de las HSP60 y GRP75 en los músculos plantares, con el objeto de mejorar la importación de proteínas y su acoplamiento ⁽⁶⁷⁾.

Parece ser que, cualquier tipo de ejercicio es capaz de aumentar la expresión de las HSPs en el músculo, sea el dinámico excéntrico ⁽³⁾, o el concéntrico ⁽¹³⁾. Lo mismo sucede con la forma en que se realiza: aguda ⁽¹³⁾ o crónica ⁽²¹⁾. Para Liu y su grupo ⁽⁵⁰⁾, la intensidad es la cualidad más importante para expresar las HSPs, mientras que para González y sus asociados ⁽²²⁾ lo es la duración. En cuanto al tiempo de aparición de las HSPs después del ejercicio Thompson y sus colaboradores ⁽¹⁰⁰⁾ y Bond y su grupo ⁽³⁾ dicen que sucede a las 48 horas de realizar una tanda de ejercicios excéntricos. Una vez producida la elevación, ésta puede persistir hasta seis días después de finalizado el ejercicio submáximo ⁽³⁸⁾.

El ejercicio y el decanoato de nandrolona, solos o asociados entre sí, producen un aumento de los niveles de expresión de la HSP72 en las fibras musculares rápidas, lo que en opinión de González y sus colaboradores ⁽²²⁾ puede significar que, este esteroide anabolizante contribuya a mejorar la tolerancia del músculo esquelético al ejercicio de gran intensidad, lo que explicaría, al menos en parte, su empleo en los deportistas.

Para luchar contra los RLO producidos durante el ejercicio, el músculo posee algunos mecanismos defensivos, entre los que se incluyen abundantes modificaciones estructurales y bioquímicas, como el aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes y el del contenido de las HSP. Mediante este tipo de adaptaciones el músculo se protege contra los efectos dañinos de un segundo periodo de ejercicio. La señal para que se produzca dicha adaptación proviene de los cambios originados en el estado redox del músculo ⁽⁷⁰⁾.

A diferencia de lo que sucede con la protección del corazón por las HSPs, sobre lo que se han publicado bastantes estudios, no sucede lo mismo con la del músculo esquelético, aunque algún trabajo señala que la exposición previa al calor protege a los músculos de los ratones contra el daño isquémico ⁽¹⁹⁾.

La exposición de las ratas al estrés térmico reduce la atrofia muscular consecutiva a la falta de acción de las cargas, lo que puede ser debido al aumento en los músculos del HSP70 y/o al de otras proteínas del estrés ⁽⁷⁶⁾. De igual forma, el ejercicio excéntrico,

además de aumentar en el músculo la síntesis de las HSPs, le defiende de las posibles lesiones futuras ⁽⁹⁴⁾.

Parece ser que, la protección del ejercicio sobre el músculo esquelético se lleva a cabo preferentemente sobre los que se hallan constituidos por fibras lentas, en las que se expresan con gran abundancia la HSP72 y la HSC73 ⁽⁵⁷⁾.

RESUMEN

Las proteínas albergadas en las células de los seres vivos se ven sometidas constantemente a la acción de numerosos agentes estresantes lo que les produce múltiples alteraciones, algunas de las cuales pueden ser incompatibles con la vida. Para luchar contra ellos, las células se hallan dotadas de una serie de mecanismos protectores entre los que se encuentran las proteínas del shock térmico, también conocidas como proteínas del estrés. Por ello se las considera como elementos de gran importancia en el mantenimiento de la salud. Su cometido fundamental consiste en proteger a las proteínas estructurales contra los efectos que el estrés origina sobre su síntesis y funcionalismo, incluida la muerte celular programada o apoptosis.

Dado que el envejecimiento y algunas enfermedades tan importantes como los tumores y las afecciones cardiovasculares se hallan asociadas de alguna manera a la disfunción de las proteínas del estrés; y como quiera que el ejercicio se ha mostrado efectos favorables sobre ellos, es por lo que se ha llevado a cabo esta revisión.

B I B L I O G R A F I A

- 1 BERNSTEIN SL, LIU AM, HANSEN BC, and SOMIARI RI. Heat shock cognate-70 gene expression declines during normal aging of the primate retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:2857-2862.
- 2 BLAKE MJ, GERSHON D, FARGNOLI J and HOLBROOK NJ. Discordant expression of heat shock protein mRNAs in tissues of heat-stressed rats. *J.Biol.Chem.* 1990;265:15275-15279.
- 3 BOND U. and SCHLESINGER MJ. The chicken ubiquitin gene contains a heat shock promoter and expresses an unstable mRNA in heat-shocked cells. *Mol.Cell.Bio.* 1986;16:4602-4610.
- 4 CHIAN HL, TERLECKY SR, PLANT CP, and DICE JF. A role for a 70k-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intracellular proteins. *Science.* 1989;246:382-385.
- 5 CHOI HS, LIN Z, LI B, and LIU AYC. Age-dependent decrease in the heat-inducible DNA sequence-specific binding activity in human diploid fibroblasts. *J.Biol.Chem.* 1990;265:18005-18011.
- 6 CURRIE NFA, KARMAZYN M, KLOC M. et al. A heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery. *Cir.Res.* 1988;63:543-549.
- 7 CYR D. Cooperation of the molecular chaperone YDJ1p with specific HSP70 homologs to suppress protein aggregation. *FEBS.Lett.* 1995;359:129-132.
- 8 DE MEESTER SL, BUCHMAN TG, and COBB JP. The heat shock paradox: does NF-kappaB determine cell fate? *FASEB J.* 2001;15:270-274.

- 9 **DEMIREL HA, POWERS SK, NAITO H, and TUMER N.** The effects of exercise duration on adrenal HSP72/73 induction in rats. *Acta Physiol Scand.* 1999 ;167:227-231
- 10 **DEMIREL HA, POWERS SK, ZERGEROGLU MA, et al.** Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *J Appl Physiol.* 2001;91:2205-2212.
- 11 **ELLIS RJ. and VAN DER VIES SM.** Molecular chaperones. *Annu.Rev.Biochem.* 1991;60:321-347.
- 12 **ELLIS RJ.** Do molecular chaperones have to be proteins?. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1997;29:687-692.
- 13 **FEBBRAIO MA, and KOUKOULAS I.** HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* 2000;89:1055-1060.
- 14 **FEHRENBACH E, and NIESS AM.** Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev.* 1999;5:57-77.
- 15 **FEHRENBACH E, and NORTHOFF H.** Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. *Exerc Immunol Rev.* 2001;A 7:66-89.
- 16 **FEHRENBACH E, NIESS AM, VEITH R, et al.** Changes of HSP72-expression in leukocytes are associated with adaptation to exercise under conditions of high environmental temperature. *J Leukoc Biol.* 2001;69:747-754.
- 17-**FRIGUET B, BULTEAU AL, CHONDROGIANNI N. et al.** Protein degradation by the proteasome and its implications in aging. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;908:143-154.
- 18 **GABAI VL, MERIIN AB, YAGLOM JA. et al.** Role of Hsp70 in regulation of stress-kinase JNK: implications in apoptosis and aging. *FEBS Lett.* 1998; 438:1-4.
- 19 **GARRAMONE RR, WINTERS RM, DAS D. and DECKERS PJ.** Reduction of skeletal muscle injury through stress conditioning using the heat shock response. *Plast.Reconstr.Sur.* 1994;93:1242-1247.
- 20 **GARRIDO C, GURBUXANI S, RAVAGNAN L, and KROEMER G.** Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;286:433-442.
- 21 **GONZALEZ B, HERNANDO R, and MANSO R.** Stress proteins of 70 kDa in chronically exercised skeletal muscle. *Pflugers Arch.* 2000;440:42-49.
- 22 **GONZALEZ B, HERNANDO R, AND MANSO R.** Anabolic steroid and gender-dependent modulation of cytosolic HSP70s in fast- and slow-twitch skeletal muscle. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2000;74:63-71.
- 23 **GRAY CC, AMRANI M, SMOLENSKI RT, et al.** Age dependence of heat stress mediated cardioprotection. *Ann Thorac Surg.* 2000;70:621-626.
- 24 **GUTSMANN-CONRAD A, HEYDARI AR, YOU S, and RICHARDSON A.** The expression of heat shock protein 70 decreases with cellular senescence in vitro and in cells derived from young and old human subjects. *Exp Cell Res* 1998;Jun 15;241(2):404-413.
- 25 **GUTZEIT HO.** Interaction of stressors and the limits of cellular homeostasis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001;283:721-725.
- 26 **HALL DM, XU L, DRAKE VJ, et al.** Aging reduces adaptive capacity and stress protein expression in the liver after heat stress. *J Appl Physiol.* 2000;89:749-759.
- 27 **HALL DM, SATTLER GL, SATTLER CA, et al.** Aging lowers steady-state antioxidant enzyme and stress protein expression in primary hepatocytes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001;56:B259-B267
- 28 **HAMILTON KL, POWERS SK, SUGIURA T, et al.** Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;281:H1346-H1352.
- 29 **HEYDARI AR, WU B, TAHASHI R, et al.** Expression of heat shock protein 70 is altered by age and diet at the level of transcription. *Mol.Cell.Biol.* 1993;13:2909-2918
- 30 **HOUENOU LJ, LI L, LEI M, and KENT CR.** Exogenous heat shock cognate protein Hsc 70 prevents axotomy-induced death of spinal sensory neurons. *Cell Stress Chaperones.* 1996;1:161-166.
- 31 **HUNTER MM, SIEVERS RE, BARBOSA V. and WOLFE CL.** Heat-shock protein induction in rats hearts. A direct correlation between the amount of heat-shock protein and the degree of the myocardial protection. *Circulation.* 1994;89:355-360
- 32 **HUOT JF, HOULE D, SPITZ R and LANDRY J.** HSP27 phosphorylation-mediated resistance against actin fragmentation and cell death induced by oxidative stress. *Cancer.Res.* 1996;56:273-279.
- 33 **KABAKOV AE, and GABAI VL.** Heat Shock Proteins and Cytoprotection: ATP-Deprived Mammalian Cells. New York: Chapman & Hall 1997; 1-327.
- 34 **KANG PJ, OSTERMANN J, SHILLING J. et al.** Requirement for hsp70 in the mitochondrial matrix for translocation and folding of precursor proteins. *Nature.* 1990;348:137-142.
- 35 **KARLIN S, and BROCCHERI L.** Heat shock protein 60 sequence comparisons: duplications, lateral transfer, and mitochondrial evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97:11348-11353.
- 36 **KATO M, MIZUGUCHI M, and TAKASHIMA S.** Developmental changes of heat shock protein 73 in human brain. *Brain Res Dev Brain Res.* 1995;86:180-186.
- 37 **KAYO T, ALLISON DB, WEINDRUCH R, and PROLLA TA.** Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:5093-5098.

- 38 **KHASSAF M, CHILD RB, MCARDLE A, et al.** Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J Appl Physiol.* 2001;90:1031-1035.
- 39 **KIANG J, and TSOKOS G.** Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacol. Ther.* 1998;80:183-201.
- 40 **KILGORE JL, MUSCH TI, and ROSS CR.** Physical activity, muscle, and the HSP70 response. *Can J Appl Physiol* 1998 Jun;23(3):245-260.
- 41 **KNOWLTON A.** An overview of the heat shock proteins, their regulation, and function. In: *Heat Shock Proteins and the Cardiovascular System.* Knowlton A (Ed) Boston: Kluwer Academic Publishers. 1997, 1-24.
- 42 **KREGAL KC, MOSELEY PL, SKIDMORE R, et al.** HSP70 accumulation in tissues of heat-stressed rats is blunted with advancing age. *J Appl Physiol.* 1995;97:163-1678.
- 43 **KREGEL KC, and MOSELEY PL.** Differential effects of exercise and heat stress on liver HSP70 accumulation with aging. *J Appl Physiol.* 1996;80:547-551.
- 44 **KUZ, YANG J, MENON V, and THOMASON DB.** Decreased polysomal HSP70 may slow polypeptide elongation during skeletal muscle atrophy. *Am.J.Physiol.* 1995;268:C1369-C1374.
- 45 **LANDRY JP, CHRETIEN P, LAMBERT H, et al.** Heat shock resistance conferred by expression of the human HSP27 gene in rodent cells. *J.Cell.Biol.* 1989;109:7-15
- 46 **LANDRY JP, CHRETIEN H, LASZLO A, and LAMBERT H.** Phosphorylation of HSP27 during development and decay of thermotolerance in Chinese hamster cells. *J.Cell.Physiol.* 1991;147:93-101.
- 47 **LEE YK, MANALO D, and LIU AY.** Heat shock response, heat shock transcription factor and cell aging. *Biol Signals.* 1996;5:180-191.
- 48 **LI GC.** Elevated levels of 70,000 dalton heat shock protein in transiently thermotolerant Chinese hamster fibroblasts and in their heat resistant variants. *Int.J.Radiat.Oncol.Biol.Phys.* 1985;11:165-177
- 49 **LI GC, LI LG, LIU YK, et al.** Thermal response of rat fibroblasts stably transfected with the human 70-kDa heat shock protein-encoding gene. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 1991;88:1681-1685-.
- 50 **LIU Y, LORMES W, BAUR C, et al.** Human skeletal muscle HSP70 response to physical training depends on exercise intensity. *Int J Sports Med.* 2000;21:351-355.
- 51 **LIU Y, and STEINACKER JM.** Changes in skeletal muscle heat shock proteins: pathological significance. *Front Biosci.* 2001;6:D12-D25.
- 52 **LO CICERO J 3rd, XU X, and ZHANG L.** Heat shock protein suppresses the senescent lung cytokine response to acute endotoxemia. *Ann Thorac Surg.* 1999;68:1150-1153.
- 53 **LOCKE M, NOBLE EG, and ATKINSON BG.** Exercising mammals synthesize proteins. *Am.J.Physiol.* 1990;258:C723-C729.
- 54 **LOCKE M, TANGUAY RM, and IANUZZO CD.** Enhanced post-ischemic myocardial recovery following exercise induction of HSP72. *Am.J.Physiol.* 1995;267:H320-H325.
- 55 **LOCKE M, NOBLE E, TANGUAY R, et al.** Activation of heat-shock transcription factor in rat heart after heat shock and exercise. *Am.J.Physiol.* 1995;268:C1387-C1394
- 56 **LOCKE M, and TANGUAY RM.** Diminished heat shock response of the aged myocardium. *Cell.Stress.Chaperones.* 1996 ;1 A:189-196A
- 57 **LOCKE M, and TANGUAY RM.** Increased HSF activation in muscles with a high constitutive HSP70 expression. *Cell.Stress.Chaperones.* 1996;1:189-196.
- 58 **LOCKE M.** The cellular stress response to exercise: role of stress proteins. *Exerc.Sports.Sci.Rev.* 1997;25:105-136.
- 59 **LOCKE M.** Heat shock transcription factor activation and hsp72 accumulation in aged skeletal muscle. *Cell Stress Chaperones.* 2000;5:45-51.
- 60 **LU Z, and CYR D.** The observed carboxyl terminus and zinc finger-like domain of the HSP40 co-chaperone Sis1 and Ydj1 assist HSP70 in protein folding. *J.Biol.Chem.* 1998;273:5970-5978.
- 61 **LU J, PARK JH, LIU AY, and CHEN KY.** Activation of heat shock factor 1 by hyperosmotic or hypo-osmotic stress is drastically attenuated in normal human fibroblasts during senescence. *J Cell Physiol.* 2000;184:183-190.
- 62 **MACARIO AJ.** Heat-shock proteins and molecular chaperones: implications for pathogenesis, diagnostics, and therapeutics. *Int J Clin Lab Res.* 1995;25:59-70.
- 63 **MAIELLO M, BOERI D, SAMPIETRO L, et al.** Basal synthesis of heat shock protein 70 increases with age in rat kidneys. *Gerontology* 1998;44(1):15-20.
- 64 **MARTIN J, HORWICH AL, and HARTL FU.** Prevention of protein denaturation under heat stress by the chaperonin Hsp60. *Science.* 1992;258:995-998.
- 65 **MARTIN JL, MESTRIL R, HIL AL-DANDAN R, et al.** Small heat shock proteins and protection against ischemic injury in cardiac myocytes. *Circulation.* 1997;96:4343-4348.
- 66 **MASORO EJ.** Nutrition and aging: a current assessment. *J.Nutr.* 1985;115:842-848.
- 67 **MATTSON JP, ROSS CR, KILGORE JL, and MUSCH TI.** Induction of mitochondrial stress proteins following treadmill running. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:365-369.
- 68 **MATTSON MP, DUAN W, LEE J, and GUO Z.** Suppression of brain aging and neurodegenerative disorders by dietary restriction and environmental enrichment: molecular mechanisms. *Mech Ageing Dev.* 2001;122:757-778.

- 69 MAULIK N, SHARMA HS. and DAS DK.** Induction of heme oxygenase gene expression during the reperfusion of ischemic rat myocardium. *J.Mol..Cell.Cardiol.* 1996;28:1261-1270.
- 70 MCARDLE A, and JACKSON MJ.** Exercise, oxidative stress and ageing. *J Anat.* 2000;197. Pt 4:539-541.
- 71 MERKER K, STOLZING A, and GRUNE T.** Proteolysis, caloric restriction and aging. *Mech Ageing Dev.* 2001;122:595-615.
- 72 MESTRIL R, CHI SH, SAYEN MR. et al.** Expression of inducible stress protein 70 in rat heart myogenic cells confers protection against simulated ischemia induced injury. *J.Clin.Invest.* 1994;93:759-767
- 73 MOSER D, CARON A, BOURGET L. and DENIS-LAROSE C.** Role of the human heat shock protein HSP70 in protection against stress-induced apoptosis. *Mol.Cell.Biol.* 1997;17:5317-5327.
- 74 MURAKAMI S, TEDESCO PM, CYPSEY JR. and JOHNSON TE.** Molecular genetic mechanisms of life span manipulation in *Caenorhabditis elegans*. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;908:40-49.
- 75 MURAMATSU T, HATOKO M, TADA H. et al.** Age-related decrease in the inductability of heat shock protein 72 in normal human skin. *Br J Dermatol.* 1996;134:1035-1038.
- 76 NAITO H, POWERS SK, DEMIREL HA, et al.** Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. *J Appl Physiol.* 2000 ;88:359-363
- 77 NAITO H, POWERS SK, DEMIREL HA. and AOKI J.** Exercise training increases heat shock protein in skeletal muscles of old rats. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:729-734.
- 78 NITTA Y, KABEK AOKI M. et al.** Diminished heat shock protein 70 mRNA induction in aged rats heart after ischemia. *Am.J.Physiol.* 1994;267:H1795-H1803
- 79 NOBLE EG, MORASKA AMAZZEO RS. et al.** Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training. *J.Appl.Physiol.* 1999;86:1696-1701.
- 80 ORNATSKY OL, CONNOR MK. and HOOD DA.** Expression of stress proteins and mitochondrial chaperonins in chronically stimulated skeletal muscle. *Biochem.J.* 1995;311:119-123-.
- 81 PELHAM HR.** A regular upstream promoter element in *Drosophila* hsp 70 heat shock gene. *Cell.* 1982;30:5175-28
- 82 PLUMIER JCL, ROSS BM, CURRIE RW. et al.** Transgenic mice expressing the human heat shock protein 70 have improved post-ischemic myocardial recovery. *J.Clin.Invest.* 1995;95:1854-1860.
- 83 POLLA B, KANTENGWA S, FRANCOIS D. et al.** Mitochondria are selective targets for the protective effects of heat shock against oxidative injury. *Pro.Natl.Acad.Sci. USA.* 1996;93:6458-6463.
- 84 POWERS SK, DEMIREL HA, VINCENT HK. et al.** Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Am.J.Physiol.* 1998;275:R1468-R1477.
- 85 POWERS SK, LOCKE M and DEMIREL HA.** Exercise, heat shock proteins, and myocardial protection from I-R injury. *Med.Sci.Sports.Exerc.* 2001.;33: 386-392
- 86 PSHENNIKOVA MG, PRODIUS PA, SAZONTOVA TG. et al.** Rol' HSP70 i Ca(2+) nasosa sarkoplazmatscheskogo retikuluma miokarda v kardioprotekornykh effektakh adaptatsii k fizicheskoj nagruzke u krys. [The role of HSP70 and Ca(2+)-pump from the myocardial sarcoplasmic reticulum in cardioprotective effects during adaptation to physical load in rats] *Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 1998;84:1214-1222.
- 87 REA IM, MCNERLAN S. and POCKLEY AG.** Serum heat shock protein and anti-heat shock protein antibody levels in aging. *Exp Gerontol.* 2001;36:341-52.
- 88 SALO DC, DONOVAN CM. and DAVIES K.J.** HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Fre.Rad.Biol.Med.* 1991;11:239-246.
- 89 SAMELMAN TR. and ALWAY SE.** Heat shock protein expression after training in the plantaris muscle of Fischer 344 rats. *Med.Sci.Sports.Exerc.* 1996;28:S115.
- 90 SAMELMAN TR.** Heat shock protein expression is increased in cardiac and skeletal muscles of Fischer 344 rats after endurance training. *Exp Physiol.* 2000 ;85:92-102.
- 91 SCHAEFER J, NIERHAUS KH, LOHFF B. et al.** Mechanisms of autoprotection and the role of stress-proteins in natural defenses, autoprotection, and salutogenesis. *Med Hypotheses.* 1998;51:153-63.
- 92 SCHETT G, METZLER B, KLEINDIENST R. et al.** Myocardial injury leads to a release of heat shock protein (hsp) 60 and a suppression of the anti-hsp65 immune response. *Cardiovasc Res.* 1999;42:685-95.
- 93 SCHUELLER G, PAOLINI P, FRIEDL J. et al.** Heat treatment of hepatocellular carcinoma cells: increased levels of heat shock proteins 70 and 90 correlate with cellular necrosis. *Anticancer Res.* 2001;21:295-300.
- 94 SCHWANE JA. and ARMSTRONG RB.** Effect of training on skeletal muscle injury from downhill running in rats. *J.Appl.Physiol.* 1983;55.:969-975.
- 95 SKIDMORE R, GUTIERREZ JA, GUERREIRO V. and KREGEL K.** HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. *Am.J.Physiol.* 1995 ;268:R92-R97.
- 96 SMOLKA MB, ZOPPI CC, ALVES AA. et al.** HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2000;279:R1539-R1545.
- 97 STRIK HM, WELLER M, FRANK B. et al.** Heat shock protein expression in human gliomas. *Anticancer Res.* 2000 Nov-Dec; 20(6B):4457-4462.

- 98 SUBJECK JR, SHYY T, SHEN J. and JOHNSON RJ.** Association between the mammalian 110,000-dalton heat shock protein and nucleoli. *J.Cell.Biol.* 1983;97:1389-1395.
- 99 TAYLOR RP, HARRIS M and STARNES J.** Acute exercise can improve cardioprotection without increasing heat shock protein content. *Am.J.Physiol.* 1999;276:H1098-H1102.
- 100 THOMPSON HS, SCORDILIS SP, CLARKSON PM. and LOHRER WA.** A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 2001;171:187-193.
- 101 VOLLOCH V. and RITS S.** A natural extracellular factor that induces Hsp72, inhibits apoptosis, and restores stress resistance in aged human cells. *Exp Cell Res.* 1999 Dec; 15;253(2):483-492.
- 102 WALKER GA, WHITE TM, MCCOLL G. et al.** Heat shock protein accumulation is upregulated in a long-lived mutant of *Caenorhabditis elegans*. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2001;56:B281-B287.
- 103 WALTERS TJ, RYAN KL, TEHRANY MR. et al.** HSP70 expression in the CNS in response to exercise and heat stress in rats. *J Appl Physiol.* 1998;84:1269-1277.
- 104 WALTERS TJ, RYAN KL. and MASON PA.** Regional distribution of Hsp70 in the CNS of young and old food-restricted rats following hyperthermia. *Brain Res Bull.* 2001;55:367-374.
- 105 WATABA K, SAITO T, FUKUNAKA K. et al.** Over-expression of heat shock proteins in carcinogenic endometrium. *Int J Cancer.* 2001;91:448-456.
- 106 ZIETARA MS. and SKORKOWSKI EF.** Thermostability of lactate dehydrogenase LDH-A4 isoenzyme:effect of heat shock protein DnaK on the enzyme activity. *Int.J.Biochem.Cell.Biol.* 1995;27:1169-1174.