



Revisión

## Proteínas de estrés: respuestas y funciones de HSP70 en el músculo esquelético durante el ejercicio físico

L. Carrasco Páez, I.C. Martínez Díaz, M. de Hoyo Lora y B. Sañudo Corrales

Departamento de Educación Física y del Deporte. Facultad de Ciencias de la Educación. Universidad de Sevilla. Sevilla. España.

*Historia del artículo:*

Recibido el 14 de agosto de 2009.

Aceptado el 28 de septiembre de 2009.

*Palabras clave:*

Proteínas de estrés.

HSP70.

Músculo estriado.

Ejercicio físico.

*Key words:*

Heat shock proteins.

HSP70.

Skeletal muscle.

Exercise.

### RESUMEN

Entre los diversos mecanismos que posee el organismo para contrarrestar la ruptura de la homeostasis, uno de los más importantes es la producción de proteínas de estrés o *heat shock proteins* (HSP). Tal es así, que en el músculo estriado la familia de HSP70 cumple funciones de protección frente al estrés oxidativo, disminuye la debilitación muscular durante la inmovilización y potencia la regeneración y proliferación muscular, atenuando el daño muscular. Factores como la edad, el sexo, el nivel de entrenamiento, la intensidad y el volumen del ejercicio realizado o el tipo de fibra muscular parecen condicionar la respuesta de HSP70, cuyas funciones durante el esfuerzo se vinculan, también, con la regulación del metabolismo energético. Sin embargo, la escasez de resultados o las controversias existentes hacen que sean necesarios más estudios para poder definir con mayor exactitud la función biológica de HSP70 relacionada con el ejercicio físico.

© 2009 Revista Andaluza de Medicina del Deporte.

### ABSTRACT

#### **Stress proteins: responses and functions of HSP70 in the skeletal muscle during physical exercise**

Among the various mechanisms that the body has to counteract the disruption of homeostasis, one of the most important is the production of stress proteins or heat shock proteins (HSP). Thus, in the skeletal muscle, the family of HSP70 serves as protection against oxidative stress, reduces muscle weakening during immobilization and enhances muscle regeneration, attenuating muscle damage. Factors such as age, sex, training level, intensity and volume of exercise performed or even the type of muscle fiber, appear to determine HSP70 responses, whose functions during exercise are also related with energetic metabolism regulation. However, due to lack of consistent results or existing disputes, further studies are needed in order to more accurately define the biological function of HSP70 related with physical exercise.

© 2009 Revista Andaluza de Medicina del Deporte.

*Correspondencia:*

L. Carrasco Páez.

Departamento de Educación Física y del Deporte.

Facultad de Ciencias de la Educación.

Universidad de Sevilla.

Avda. Ciudad Jardín, 20-22.

41005 Sevilla. España.

Correo electrónico: lcarrasco@us.es

## Introducción

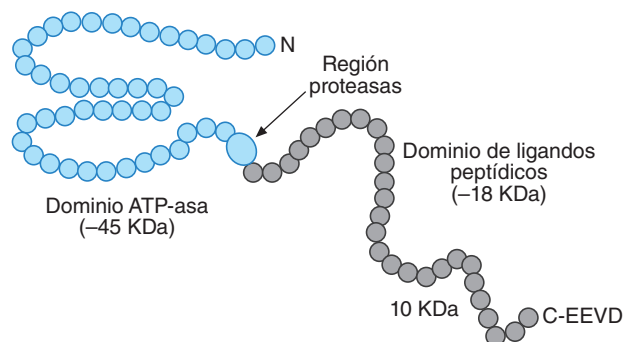
Las respuestas biológicas que diferentes organismos producen en situaciones de estrés han sido objeto de numerosas investigaciones. A nivel celular existen diferentes mecanismos para ello, aunque uno de los más interesantes, y a la vez controvertido, es la respuesta de proteínas de estrés o *heat shock proteins* (HSP). En este sentido, una de las principales funciones de las HSP es luchar contra las alteraciones y los defectos en la síntesis de otras proteínas celulares, con el objeto de proteger a las células de los daños que puedan sufrir<sup>1</sup>. Cualquier tipo de estrés, entendiéndose por tal la alteración de la homeostasis, es capaz de inducir su producción, pero en especial las temperaturas elevadas<sup>2</sup>, la disminución del pH<sup>3</sup>, los aumentos en la concentración de Ca<sup>2+</sup> y de ciertos corticoides<sup>4,5</sup>, ciertos procesos de isquemia, la disminución de los niveles de glucosa y el agotamiento del glucógeno<sup>6</sup>, así como otros factores, entre los que se encuentra el ejercicio<sup>7,8</sup>, son causantes del aumento en los niveles de HSP.

Las HSP están presentes en todo tipo de células, conservándose adecuadamente a lo largo de la evolución celular<sup>9</sup>. Además, las HSP presentan, entre especies, una alta correspondencia en sus aminoácidos residuales<sup>10</sup>, algo que apunta hacia una función universal de estas proteínas en la respuesta celular al estrés. Su descubrimiento en larvas de *Drosophila melanogaster* (mosca del vinagre) se produjo a principios de la década de los años sesenta, tras someter a estos insectos a cierto estrés térmico, de ahí su denominación<sup>2</sup>.

Son numerosas las HSP que han sido aisladas y definidas, clasificándose en diferentes grupos atendiendo, principalmente, a su masa molecular. De esta forma, pueden diferenciarse diversas proteínas en un rango de 8 a 110 kDa. Las HSP de menor masa son denominadas pequeñas HSP o *small HSP*, con una masa molecular entre 8 y 27 kDa, un intervalo en el que tienen cabida la ubiquitina, Hsp20, Hsp25, Hsp27 y alfa B-cristalina<sup>11</sup>. Con una masa molecular mayor se encuentra toda la familia HSP40 (con más de 20 proteínas distintas), así como la familia HSP50, cuyos miembros se ubican en el citosol celular<sup>12</sup>. Por su parte, la forma precursora de Hsp60 se localiza en el citoplasma, aunque, una vez madura, ejerce sus funciones en la mitocondria<sup>13</sup>.

La familia HSP70 cuenta con las proteínas mejor conservadas y, a la vez, más sensibles al estrés térmico (fig. 1). En este grupo se pueden diferenciar, principalmente, 5 moléculas: Hsp70, Hsp72, Hsp73 o Hsc70 (cognado de choque térmico-70), Hsp75 o GRP75 (proteína reguladora de la glucosa 75) y Hsp78 o GRP78. Estas proteínas se pueden localizar en el citosol, en el núcleo, en el retículo endoplasmático y en la mitocondria. Con una distribución similar se encuentra el conjunto de HSP90, el cual incluye Hsp90 $\alpha$ , Hsp90 $\beta$  y GRP94, ubicándose las dos primeras en el citoplasma y la tercera en el retículo endoplasmático<sup>14</sup>. Por último, las HSP con mayor masa molecular, entre 104 y 110 kDa, se localizan en el citosol y núcleo de la célula, respectivamente.

Dado que, prácticamente, las HSP se encuentran en todas las células del cuerpo humano, es fácil dilucidar su presencia en todos los tejidos, localizándose, también, en el intersticio y en la circulación sanguínea<sup>15</sup>. Parece, además, que la concentración extracelular de un buen número de estas proteínas es un reflejo de su liberación desde diferentes células, esencialmente de aquellas que sufren necrosis<sup>16</sup>. En cualquier caso, la familia proteica más determinante en el músculo esquelético es la HSP70, de la que destacan Hsp70 y Hsp72 por sus funciones en diferentes procesos biológicos y enfermedades que afectan al músculo esquelético. Así, los objetivos de esta revisión son, por un lado, ofrecer una información más detallada sobre estas funciones y, por otro, resumir las investigaciones que, en los últimos años, se han efectuado con el fin de



**Fig. 1.** Representación esquemática de la estructura molecular de HSP70. Adaptada de Liu et al<sup>11</sup>.

analizar las respuestas y funciones de estas proteínas en una de las principales situaciones estresantes para el músculo: el ejercicio físico.

## HSP70 en el músculo esquelético

Como se ha indicado con anterioridad, la población de HSP70 se ubica en diferentes estructuras de la fibra muscular como son el citosol, el núcleo, el retículo endoplasmático y la mitocondria. Si bien su presencia es característica en este tipo de tejido, el estudio de estas proteínas se ha centrado en las funciones que éstas pueden ejercer en él. Entre estas funciones se pueden destacar la protección frente al estrés oxidativo<sup>17,18</sup>, la disminución de la debilitación muscular durante la inmovilización<sup>17,19</sup>, el incremento de la regeneración y proliferación<sup>18,20</sup> y la atenuación del daño muscular<sup>8,21</sup>. Por esta razón, varios estudios intentan aclarar en la actualidad los efectos terapéuticos de la inducción de HSP en el músculo esquelético<sup>21,22</sup>.

Otras de las funciones de HSP70 tienen que ver con su actuación a modo de chaperones, evitando una formación errónea de proteínas dentro de las células<sup>23,24</sup>, interviniendo en el plegado de las proteínas de nueva síntesis, en el control de la actividad de las proteínas reguladoras y en la prevención y replegado de agregados de proteínas<sup>23,25</sup>. Además de las funciones establecidas de protección intracelular, se ha planteado la hipótesis de que la Hsp70 y la Hsp72 cumplen funciones sistémicas. Sin embargo, uno de los aspectos que más ha estimulado a los investigadores ha sido la implicación de HSP70 en diferentes alteraciones o enfermedades que afectan al músculo esquelético. En este sentido, se ha realizado un buen número de investigaciones con el objetivo de definir el papel de estas proteínas en los diferentes procesos biológicos subyacentes a distintas enfermedades y/o lesiones musculares.

## Papel de HSP70 en enfermedades y lesiones que afectan al músculo esquelético

Diversos estudios han demostrado que las variaciones en la concentración intracelular de Hsp70 se producen como consecuencia de diferentes alteraciones del músculo esquelético. Una de ellas es el síndrome de miopatía con agregados tubulares. Esta patología puede estar asociada a procesos inflamatorios y, en este caso, parece evidente que la Hsp70 está regulada por citoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF)- $\alpha$ , interleucina (IL)-1 e IL-6<sup>26,27</sup>.

Por otro lado, hay cierta evidencia de la implicación de Hsp70 en la distrofia muscular de Duchenne (DMD). En este caso, la presencia de

Hsp70 en fibras degenerativas de músculos afectados por la DMD<sup>28</sup> y la reducción en su expresión génica cuando disminuye la gravedad de la enfermedad<sup>29</sup> marcan una relación entre dicha proteína de estrés y este tipo de enfermedad.

La diabetes, y más en concreto su repercusión en el músculo esquelético, ha sido también objeto de diferentes investigaciones en las que se ha valorado la respuesta de las HSP. Teniendo en cuenta que la diabetes causa en el músculo una alteración en el mecanismo antioxidante de defensa, se ha observado una baja concentración intramuscular de Hsp72 ARNm y Hsp32 ARNm (hemo-oxigenasa-1) en pacientes con diabetes tipo 2<sup>30</sup>. Estos hallazgos están en la línea de los obtenidos en otras investigaciones, en las que se han registrado bajas concentraciones de Hsp70 ARNm en pacientes con diabetes tipo 2, unos niveles que, además, correlacionaron con el consumo de glucosa por parte del músculo<sup>31</sup>.

En cuanto a las lesiones del músculo esquelético, todo parece indicar que aquellas alteraciones que provocan un incremento de las concentraciones sanguíneas de creatín kinasa (CK) se acompañan de un aumento en los niveles musculares de Hsp70<sup>32</sup>. Sin embargo, y como se indica en uno de los apartados posteriores de este trabajo, no todos los estudios realizados en este sentido han llegado a las mismas conclusiones.

### **HSP70 y procesos adaptativos musculares**

La familia HSP70 también ha sido relacionada con diferentes procesos adaptativos que afectan al músculo esquelético. Dos de los más evidentes son los procesos que conducen a la atrofia y a la hipertrofia muscular. En el caso de la atrofia, que puede derivarse de una degradación y/o de una supresión de la síntesis proteica en la célula muscular<sup>33</sup>, diferentes HSP pueden verse implicadas<sup>34,35</sup>. Así, tras la suspensión de los miembros traseros durante 9 semanas, se observó una reducción del 38% en el contenido de Hsp70 en el músculo sóleo de las ratas analizadas, necesitando entre dos a cuatro semanas para su recuperación<sup>36</sup>. Por otra parte, la exposición a estrés térmico reduce, en ratas, la atrofia muscular consecutiva a la falta de acción de las cargas, lo que puede ser debido al aumento en los músculos de HSP70 y/o de otras proteínas de estrés<sup>19</sup>.

En la hipertrofia, entendida como un proceso adaptativo fundamental de las células del músculo esquelético, la Hsp70 parece desempeñar un papel fundamental. Así, 6 semanas de entrenamiento de fuerza produjeron una conversión de las cadenas pesadas de miosina y un incremento en la expresión de la isoforma cardiaca de las cadenas pesadas de miosina (MCH-I $\alpha$  ARNm) en el tríceps braquial. Además, al valorar el contenido de Hsp70 en dicho músculo se encontraron niveles tres veces superiores a nivel proteico y cuatro veces mayores a nivel del correspondiente ARNm<sup>37,38</sup>. Y después de entrenar un músculo que hasta entonces se había mantenido en reposo, se ha observado un crecimiento del mismo y un aumento significativo en la expresión de Hsp70 y Hsp72<sup>36,39</sup>. Unido a ello, parece existir una estrecha relación entre la respuesta de Hsp70 y la respuesta del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) inducidas por el ejercicio, lo que certifica el papel que, en la hipertrofia muscular, puede desempeñar la familia de HSP70<sup>40,41</sup>.

Por otro lado, el papel de las HSP en el proceso apoptótico ha sido objeto de diferentes investigaciones a lo largo de los últimos años. Al igual que ocurre con las pequeñas HSP, la Hsp70 ejerce un efecto negativo sobre la apoptosis. Suzuki et al<sup>42</sup> encontraron que, en un cultivo celular (mioblastos L6), un pretratamiento consistente en la aplicación de calor (42 °C durante una hora) antes de una agresión de tipo hipoxia-reoxigenación redujo el porcentaje de apoptosis temprana. En esta lí-

nea, se ha sugerido que la glutamina ejerce un efecto estimulador del *turnover* proteico en el músculo esquelético, promoviendo así la apoptosis<sup>43</sup>. Además, la relación entre Hsp70 y IGF-1 puede tener una repercusión sobre el proceso apoptótico, ya que el aumento en la concentración de IGF-1 inducido por el ejercicio se ve acompañado de la activación de la fosfatidilinositol-3-OH quinasa, inhibiendo el proceso de apoptosis<sup>44</sup>. Asimismo, es posible que la Hsp70 pueda inhibir la apoptosis evitando la captación de caspasa-9 por el factor activador de la proteasa apoptótica (APAF-1) para formar el apoptosoma<sup>45</sup>, aunque también se ha registrado una correlación positiva del contenido de Hsp70 con la proteína de linfoma-2 de células B (Bcl-2) y el Hsp70 ARNm, así como una correlación negativa con el contenido de Bcl-2 asociada a la proteína X (Bax) ARNm. Teniendo en cuenta que la proteína Bax es proapoptótica y la proteína Bcl-2 antiapoptótica, estos datos sugieren que el ejercicio físico puede atenuar el proceso de apoptosis en el músculo esquelético<sup>46</sup>.

### **Respuestas de HSP70 al ejercicio físico**

Tal y como se ha indicado con anterioridad, el ejercicio físico se presenta como una de las principales fuentes de estrés, en especial sobre el aparato locomotor. Aunque algunos estudios apuntan a células hepáticas y cerebrales como precursoras de la liberación de HSP70 provocada por el ejercicio físico<sup>27,47</sup>, el aumento de la temperatura corporal, las repetidas e intensas activaciones musculares, los impactos mecánicos sufridos y todas aquellas alteraciones metabólicas y estructurales experimentadas durante el esfuerzo son diferentes estímulos desencadenantes de la respuesta de HSP70 en la fibra muscular<sup>16</sup>. En cualquier caso, un buen número de variables relacionadas con el ejercicio físico puede condicionar la respuesta de estas proteínas. En las tablas siguientes se resumen las principales investigaciones que, durante los últimos años, se han desarrollado con seres humanos de cara a determinar las respuestas de HSP70 al ejercicio físico. En su confección se ha tenido en cuenta la naturaleza de las variables que pueden afectar a dicha respuesta, correspondiendo ésta bien a las características del ejercicio físico (tabla 1), bien a los procesos fisiológicos relacionados con el esfuerzo (tablas 2 y 3).

Tal y como se desprende de la información resumida en las tablas anteriores, existe un buen número de condicionantes capaces de modular la respuesta de HSP70 al ejercicio físico. En lo que hace referencia al factor sexo, y a pesar de contar con muy pocos datos al respecto (además, ciertamente contradictorios), se han llegado a observar diferencias en la respuesta de HSP70 tras entrenamientos de tipo interválico, registrándose en hombres una mayor reacción de estas proteínas<sup>49</sup>. Por su parte, la edad parece ejercer cierta influencia en la respuesta de HSP70 al ejercicio, siendo ésta superior en personas mayores<sup>48</sup>.

Aunque, *a priori*, se podría considerar que el nivel de entrenamiento podría inducir ciertas adaptaciones en los niveles de HSP70, los resultados de las investigaciones más recientes no apuntan en una única dirección, ya que al comparar los niveles basales y los obtenidos tras el ejercicio en sujetos entrenados y no entrenados, los resultados son muy discordantes<sup>50-55</sup>.

Como es bien sabido, dos de las principales variables que determinan el ejercicio físico son su intensidad y duración. Al igual que sucede con otros procesos biológicos en respuesta al estrés, HSP70 reacciona en mayor medida cuando el ejercicio es intenso<sup>57-59</sup>, siendo la duración del mismo un factor que parece ejercer una menor influencia. De hecho, se ha llegado a registrar una disminución en la respuesta de estas proteínas en ejercicios de larga duración<sup>59</sup>.

**Tabla 1**  
Respuestas de HSP70 según las características del ejercicio físico y de sus practicantes

| Género y edad de los practicantes         | Autores                            | Muestra   | Hsp                | Protocolo   | Resultados/conclusiones   |
|---|------------------------------------|---|--------------------|---|---|
|   | Simar et al <sup>48</sup>          | 8 H jóvenes (G25), 12 M sexagenarias (G65) y 9 H octogenarias (G85), todos activos            | Hsp72              | GXTmáx. Citometría de flujo (linfocitos, monocitos y granulocitos)  | G85: -% Hsp72 basal en linfocitos (frente a G25). ↑ Hsp72 tras ejercicio en todos los grupos (p < 0,05 en G85)                                  |
|   | Morton et al <sup>49</sup>         | 5 H y 5 M activos/as  | HSP70              | Entreno intervalico y continuo 3 s/sem; 6 sem). Biopsia vasto pre y 72 h post-entreno   | ↑ HSP70 en H tras el entreno intervalico. α ↔ HSP70 en M tras ambos protocolos  |
| <b>Nivel de entrenamiento</b>             | Fehrenbach <sup>50,51</sup>        | 12 H atletas y 12 H inactivos   | HSP70, HSC70       | Comparación niveles basales   | Basal: HSP70 y HSC70 entrenados inferiores a los no entrenados  |
|   | Shastri et al <sup>52</sup>        | 11 H entrenados, 8 H no entrenados  | HSP70              | Entrenados: 1 h carrera 70% VO <sub>2</sub> máx   | Niveles basales de HSP70 superiores en entrenados. Intensidad moderada de ejercicio no es suficiente para inducir producción de HSP70           |
|   | Gjøvaag y Dahl <sup>53</sup>       | 40 H no entrenados (4 grupos)   | HSP72, GRP75       | G1 y G2 extensiones de codo HINT, G3 y G4 LINT (5-8 sem)  | Los ejercicios de alta intensidad inducen +HSP que los de menor intensidad  |
|   | Banfi et al <sup>54</sup>          | 44 futbolistas y 15 sedentarios   | HSP70              | HSP en suero (basal)  | +↑ HSP70 en futbolistas (p < 0,05)  |
|   | Morton et al <sup>55</sup>         | 6 H entrenados y 6 H no entrenados  | HSP70              | 45 min 75% VO <sub>2</sub> máx. Biopsias vasto lateral (pre, 48 h y 7 días post)  | Antes del ejercicio: +HSP70 basal (16%) en entrenados. ↔ HSP70 tras ejercicio en entrenados   |
| <b>Intensidad y volumen del ejercicio</b> | Febbraio y Koukoulas <sup>56</sup> | 5 H activos.  | Hsp72              | Cicloergómetro: 63% VO <sub>2</sub> pico  | ↑ progresivo de Hsp72 con el ejercicio  |
|   | Fehrenbach <sup>50,51</sup>        | 12 H atletas  | HSP70, HSC70       | Media maratón (pre y 0, 3, 24 h post). Citometría de flujo  | ↑ % leucocitos que expresan HSP70; HSC70 sin cambios. ↑ % expresión de HSP70 en monocitos (0, 3, y 24 h). ↑ % HSP70 en granulocitos (24 h post) |
|   | Vogh et al <sup>57</sup>           | 30 H no entrenados; 4 grupos (2 HINT y 2 LINT, uno de ellos en normoxia y el otro en hipoxia) | HSP70              | 5 sesiones/sem en 6 sem sobre cicloergómetro; en condiciones normales e hipóxicas   | ↑ HSP70 tras ejercicios HINT tanto en condición hipóxica como normóxica   |
|   | Liu et al <sup>58</sup>            | 6 H remeros   | HSP70, HSP70, ARNm | 3 sem entreno HINT, 3 sem LINT y 1 sem recuperación tras cada periodo (R1 y R2)   | ↑ HSP70 tras HIT; ↓ tras R1, ↔ LIT y R2. ↑ HSP70 ARNm tras HIT (257%); ↓ gradualmente en R1, LIT, y R2  |
|   | Fehrenbach et al <sup>59</sup>     | 7 H atletas entrenados  | Hsp72              | Tapiz al 75% VO <sub>2</sub> máx x 60 min. Tapiz al 60% VO <sub>2</sub> máx x 120 min. Intervalico (10 x 1.000 m 88% VO <sub>2</sub> máx; 35 min). Maratón (60% VO <sub>2</sub> máx; 220-300 min) | +Hsp72 con ejercicios HINT. -Hsp72 en ejercicios de mayor duración que en los de menor duración   |
|   | Gjøvaag y Dahl <sup>60</sup>       | 40 H no entrenados; 4 grupos  | Hsp72              | G1 y G2: entreno extensiones de codo HINT; G3 y G4: LINT; G1 y G3: gran volumen; G2 y G4: bajo volumen. Entreno: 5-8 sem  | ↑ Hsp72 (71%); sin diferencias entre grupos. Correlación negativa entre Hsp72 y la variación porcentual tras el entreno                         |

H: hombre; HINT: alta intensidad; LINT: baja intensidad; M: mujer; GTXmáx: test progresivo y máximo; VO<sub>2</sub>máx: consumo máximo de oxígeno; ↑: aumento; ↓: descenso; ↔: mantenimiento, sin cambios; +: mayor; -: menor.

**Tabla 2**

Respuestas de HSP70 atendiendo al tipo de fibra, activación muscular y como consecuencia del estrés oxidativo y daño muscular

| Autores                      | Muestra              | Hsp                  | Protocolo  | Resultados/conclusiones   |
|------------------------------|----------------------|----------------------|--|---|
| Thompson et al <sup>61</sup> | 5 H y 5 M activos/as | HSC/HSP70            | Ejercicio excéntrico de máxima resistencia con flexores del codo del brazo no dominante. Biopsia muscular 48 h post  | ↑ HSP70 en bíceps braquial dañado en relación con el brazo control ( $p < 0,05$ ).<br>↑ HSC/HSP70 106%  |
| Khassaf et al <sup>62</sup>  | 7 H sedentarios      | HSP70                | 45 min al 70% VO <sub>2</sub> máx en cicloergómetro. Biopsia en el vasto lateral 7 días pre y días 1, 2, 3 y 6 post  | ↑ progresivo hasta el 3.100% en HSP70 6 días post   |
| Tupling et al <sup>63</sup>  | 10 H no entrenados   | Hsp70                | Extensión isométrica de rodilla al 60% MVC durante 30 min  | La expresión de Hsp70 inducida por el ejercicio parece depender del tipo de fibra muscular (+ en fibras tipo I)   |
| Thompson et al <sup>64</sup> | 8 M eumenorreicas    | HSP70                | 2 ejercicios separados por 2 semanas, consistentes, cada uno de ellos, en 50 activaciones excéntricas de los flexores del codo del brazo no dominante. Biopsias musculares (pre y 48 h post)   | Primer ejercicio: ↑ HSP70 y marcadores de daño muscular superiores al segundo ejercicio. Segundo ejercicio: -HSP70 (pre); similar en situación post. ↓ marcadores de daño muscular (post)   |
| Fischer et al <sup>65</sup>  | 21 H jóvenes activos | Hsp72 ARNm.<br>Hsp72 | 3 grupos: 1) RRR-alfa-tocoferol 400 UI/día + AA 500 mg/día (CEalpha). 2) RRR-alfa-tocoferol 290 UI/día + RRR-gamma-tocoferol 130 UI/día + AA 500 mg/día (CEalphagamma). 3) Placebo. Veintiocho días de suplementación. Tres h de extensiones de piernas al 50% de la Pmáx. Biopsia vasto lateral: Hsp72 ARNm y Hsp72. Suero: Hsp72. Evaluación a las 3 h (tras finalizar) y 6 h (3 h tras finalizar) | Control: ↑ Hsp72 ARNm 2,5 veces a las 3 h post-ejercicio y retorno a los niveles basales tras 6h. ↑ Hsp72 sérica 4 veces en respuesta al ejercicio (3 h post). En músculo: ↑ Hsp72 no significativo. CEalpha: Hsp72 ARNm, Hsp72 sérica y Hsp72 muscular no fueron diferentes en respuesta al ejercicio. No se encontraron diferencias al comparar con el control en las 3 y 6 h. CEalphagamma: no hubo diferencias tras el ejercicio. Sí hubo diferencias significativas al comparar con el control a las 3 y 6 h en Hsp72 ARNm. Diferencias a las 3 h en Hsp72 muscular y sérica con control |

AA: ácido ascórbico; H: hombre; M: mujer; MVC: fuerza máxima isométrica (voluntaria); Pmáx: potencia máxima; VO<sub>2</sub>máx: consumo máximo de oxígeno; ↑: aumento.

En la tabla 2 se puede apreciar cómo la respuesta de HSP70 es acorde a los casos de daño muscular y estrés oxidativo<sup>61,65</sup>, especialmente en ejercicios excéntricos aislados, ya que con la práctica frecuente dicha respuesta parece reducirse como parte de la adaptación al ejercicio<sup>64</sup>. En cualquier caso, las concentraciones de HSP70 pueden quedar elevadas hasta 6 días después de la realización del esfuerzo<sup>63</sup>, como ocurre con ciertos marcadores de daño muscular. Por otra parte, la respuesta de HSP70 al ejercicio está influenciada por el tipo de fibra implicada, siendo en las fibras tipo I donde se ha registrado una mayor respuesta de estas proteínas.

Por último, y si las contrariedades precedentes son sustanciales, aún son más contundentes cuando se relaciona la respuesta de HSP70 al ejercicio físico y los aumentos de temperatura corporal experimentados por los practicantes. Como se puede observar en la tabla 3, los resultados de algunas investigaciones apuntan hacia una estrecha relación entre la respuesta de estas proteínas de estrés y los aumentos de temperatura corporal inducidos por el ejercicio<sup>9,67,68</sup>. Sin embargo, las conclusiones a las que se llega en otros recientes estudios se oponen a la anterior, negando tal relación<sup>66</sup> o afirmando que además de los aumentos de temperatura corporal, otros factores vinculados con el propio ejercicio físico son los responsables más directos de la respuesta de HSP70<sup>16</sup>.

### Funciones de HSP70 durante el ejercicio físico

Si la descripción de las respuestas de HSP70 al ejercicio físico puede resultar una tarea más o menos fácil, el esclarecimiento de sus funciones es una tarea mucho más compleja. Las conclusiones a las que han llega-

do la mayoría de estudios indican que las funciones de esta familia proteica parecen estar vinculadas a la protección y adaptación celular, así como a la regulación del metabolismo durante el ejercicio.

### Protección celular y facilitación de la adaptación muscular

De forma general, el envejecimiento aumenta la susceptibilidad de las células de diferentes tejidos orgánicos a morir por apoptosis. Las HSP (principalmente HSP70), bien de forma aislada o combinada, ejercen una acción crucial en la supervivencia de los miocitos, al prevenir la aparición de la apoptosis una vez que el corazón ha sufrido los efectos de un proceso de isquemia/repercusión<sup>69,70</sup>.

Al igual que sucede en el miocardio<sup>1,71-75</sup>, las HSP parecen desempeñar un papel protector en el músculo estriado, pudiendo facilitar su adaptación cuando su actividad se ve aumentada a causa del ejercicio físico. De hecho, en las horas y días posteriores a un esfuerzo intenso se observa un incremento en la síntesis de HSP70, probablemente para modular los procesos de recuperación y remodelación/adaptación y proteger así a las fibras musculares que se ven implicadas en dicho ejercicio<sup>76,77</sup>. En esta línea se cree, de forma hipotética, que como resultado de un programa de ejercicio físico las concentraciones de HSP70 en los músculos se incrementarían, protegiéndolos del deterioro y de la pérdida de su funcionalidad relacionada con la edad<sup>78</sup>. Además, parece ser que esta función protectora de HSP70 se lleva a cabo, preferentemente, sobre los músculos que se hallan constituidos principalmente por fibras lentas, en las que se expresan con gran abundancia la Hsp72 y la Hsp73<sup>79</sup>.

**Tabla 3**

Respuestas de HSP70 relacionadas con los aumentos de temperatura durante el ejercicio físico

| Autores                     | Muestra                     | Hsp          | Protocolo   | Resultados/conclusiones  |
|-----------------------------|-----------------------------|--------------|---|--|
| Ruell et al <sup>9</sup>    | 29 H activos (7 controles)  | Hsp72        | Carrera de 14 km. Tres grupos: muy cansados (GMC), cansados (GC) y control (GCo). Concentración plasmática de Hsp72   | GMC: +alteraciones neurológicas, +TC y +Hsp72 tras la prueba en comparación con GC y GCo. Correlación entre TC y Hsp72   |
| Whitham et al <sup>16</sup> | 11 H activos                | Hsp72        | 2 pruebas con ejercicio físico: carrera en agua profunda a temperatura neutral (35,3 °C) y a 23,5 °C, y 2 sin ejercicio: en agua caliente (38 °C) y en agua neutra (35,3 °C) (control)                        | Con ejercicio: ↑ Hsp72 extracelular en las dos pruebas (+ en agua a 35,5 °C). Sin ejercicio: ↑ Hsp72 en agua caliente (38 °C) y agua neutra (35,3 °C) inferiores a los observados con el ejercicio |
| Morton et al <sup>66</sup>  | 7 H activos                 | HSP70, HSC70 | Inmersión de una extremidad en tanque de agua a 45 °C aprox. La extremidad contralateral fuera del tanque de agua y no expuesta a estrés térmico. Biopsia muscular del vasto lateral (pre-48 h y 7 días post) | ↑ TC y muscular local no producen ↑ de HSP70 en el músculo esquelético   |
| Amorin et al <sup>67</sup>  | 9 (7 H y 2 M) adultos sanos | Hsp72        | 2 pruebas (una con ropa que impide la transpiración y otra con chalecos refrigerados) de caminata sobre tapiz rodante al 50% del VO <sub>2</sub> máx en una cámara a 42 °C y 30% de Hr                        | ↑ Hsp72 similar tras ambas condiciones, en las que los sujetos alcanzaron la misma temperatura corporal  |
| Lovell et al <sup>68</sup>  | 6 H activos                 | HSP70        | Inducción de hipertermia (39 °C) mantenida 90 min de forma activa (ejercicio físico) y pasiva (inmersión en agua caliente)  | ↑ HSP70 intracelular (no significativo) en ambos protocolos  |

H: hombre; Hr: humedad relativa; M: mujer; TC: temperatura corporal (rectal); VO<sub>2</sub>máx: consumo máximo de oxígeno; ↑: aumento; +: mayor.

### Regulación del metabolismo energético

El metabolismo energético es crucial para el funcionamiento celular, donde HSP70 actúa a modo de pivote en el mantenimiento de la homeostasis y facilitando la adaptación celular. La participación de HSP70 en la regulación del metabolismo energético se centra en dos aspectos<sup>11</sup>. Por un lado, y como ya se ha indicado en un apartado anterior, diferentes condiciones energéticas (depleción de glucógeno y ATP, acumulación de ácido láctico y descenso del pH) provocan la respuesta de HSP70. Por otra parte, HSP70 puede ejercer un efecto directo o indirecto sobre el metabolismo energético. En el primer caso, y tal y como se ha demostrado, la Hsp70 contiene un fragmento de ATPasa, algo que puede modular la concentración intracelular de ATP<sup>80</sup>.

En otro de los estudios realizados, se demostró que un tratamiento hipertérmico previo en el músculo incrementa significativamente la actividad oxidativa de enzimas mitocondriales como el citocromo C, coincidiendo con un aumento paralelo en la expresión de HSP70<sup>81</sup>.

En una investigación en la que se utilizó una línea celular Hella transgénica con el fin de determinar la incidencia de HSP70 sobre la concentración de ATP, se controló la expresión de esta proteína de estrés, diferenciando células con baja, moderada y elevada expresión de HSP70 tomando como referencia los niveles fisiológicos. Los resultados mostraron que, en comparación con las células no modificadas, las mayores concentraciones de ATP fueron registradas en aquellas en las que se indujo una expresión de HSP70 de tipo moderada (similar a la que se produce bajo estrés fisiológico), y no en aquellas en las que se indujo una elevada expresión de esta proteína de estrés. En este estudio se analizó, además, el efecto ejercido por la expresión de HSP70 sobre el metabolismo glucídico y oxidativo. Los datos obtenidos, relacionados con las células en las que se indujo una sobreexpresión de Hsp70, muestran un aumento en la tasa de consumo de glucosa y de producción de ácido láctico, mientras que, a excepción de un aumento en la actividad de la citrato sintetasa, no se registraron diferencias significativas en el metabolismo oxidativo con las células no modificadas y utilizadas como con-

trol<sup>82</sup>. Además, para estos autores, el papel de HSP70 en la preservación de la concentración intracelular de ATP está vinculado a su efecto estimulante sobre la glucólisis.

En cuanto al efecto indirecto de la HSP70 sobre el metabolismo energético, se ha especulado que su influencia sobre la glucólisis puede estar asociada con el transporte de glucosa. De hecho, se ha descubierto, por un lado, que en células musculares de pacientes diabéticos tipo 2, los niveles de HSP70 se vieron significativamente reducidos<sup>30</sup>, y por otro, que la baja expresión de HSP70 correlaciona con la resistencia a la insulina<sup>31</sup>.

Por último, otra posible participación de HSP70 en el metabolismo energético tiene que ver con la modulación de la calmodulina, una proteína reguladora del calcio que interactúa con la hexoquinasa, la única enzima glucolítica que, ligada a la mitocondria, desempeña un importante papel en el intercambio de hidrógeno<sup>83</sup>. También se ha indicado que el efecto de HSP70 sobre la glucólisis se basa en la prevención de la inhibición de la enzima lactato deshidrogenasa, la cual es causada, principalmente, por el estrés celular<sup>84</sup>.

### Conclusiones

Como cualquier otra célula sometida a estrés, la fibra muscular atiende a una respuesta de HSP, más en concreto de la familia HSP70. Hsp70 y Hsp72 desarrollan funciones biológicas de protección celular, actuando como chaperones proteicos e interviniendo en diferentes alteraciones, enfermedades y otros procesos biológicos que atañen al músculo esquelético. El ejercicio físico, entendido como una de las principales fuentes de estrés sobre el aparato locomotor, provoca las respuestas de HSP70, siendo su intensidad el principal factor desencadenante de las mismas. Además, parece existir una mayor respuesta de HSP70 en fibras tipo I, siendo los ejercicios que mayor daño muscular y estrés oxidativo producen los que mayor reacción generan en estas proteínas. Paradójicamente, la relación entre HSP70 y los aumentos de temperatura derivados de

la actividad muscular está aún por definir. Por último, las funciones que estas proteínas pueden acometer durante el ejercicio parecen estar también relacionadas con la regulación del metabolismo energético y con la facilitación de la recuperación. Es necesario llevar a cabo nuevos estudios que concreten estas cuestiones y definan nuevos vínculos entre ejercicio físico, HSP y otros sistemas reguladores orgánicos, como el endocrino y el inmunológico.

## Bibliografía

1. Powers SK, Locke M, Demirel HA. Exercise, heat shock proteins, and myocardial protection from I-R injury. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:386-92.
2. Ritossa F. Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones.* 1996;1:97-8.
3. Whelan SA, Hightower LE. Differential induction of glucose-regulated and heat shock proteins: effects of pH and sulfhydryl-reducing agents on chicken embryo cells. *J Cell Physiol.* 1985;125(2):251-8.
4. Ding XZ, Smallridge RC, Galloway RJ, Kiang JG. Increases in HSF1 translocation and synthesis in human epidermoid A-431 cells: role of protein kinase C and [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>. *J Invest Med.* 1996;44:144-53.
5. Sun L, Chang J, Kirchoff SR, Knowlton AA. Activation of HSF and selective increase in heat-shock proteins by acute dexamethasone treatment. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000;278:H1091-7.
6. Febbraio MA, Steensberg A, Walsh R, Koukoulas I, van Hall G, Saltin B, et al. Reduced glycogen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle. *J Physiol.* 2002;538:911-7.
7. Maglara AA, Vasilaki A, Jackson MJ, McArdle A. Damage to developing mouse skeletal muscle myotubes in culture: protective role of heat shock proteins. *J Physiol.* 2003;548:837-46.
8. McArdle F, Spiers S, Aldemir H, Vasilaki A, Beaver A, Iwanejko I, et al. Preconditioning of skeletal muscle against contraction-induced damage: the role of adaptations to oxidants in mice. *J Physiol.* 2004;561:233-44.
9. Ruell PA, Thompson MW, Hoffman KM, Brotherhood JR, Richards DAB. Plasma Hsp72 is higher in runners with more serious symptoms of exertional heat illness. *Eur J Appl Physiol.* 2006;97:732-6.
10. Lindquist S, Petersen R. Selective translation and degradation of heat-shock messenger RNAs in *Drosophila*. *Enzyme.* 1990;44(1-4):147-66.
11. Liu Y, Gampert L, Nething K, Steinacker JM. Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. *Front Biosci.* 2006;11:2802-27.
12. Ellis RJ. Do molecular chaperones have to be proteins? *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;29:687-92.
13. Martin J, Horwich AL, Hartl FU. Prevention of protein denaturation under heat stress by the chaperonin Hsp60. *Science.* 1992;258:995-8.
14. Montel V, Gardrat F, Azanza JL, Raymond J. Heat shock protein 90: intrinsic peptidase activity and in vitro long-term self-processing. *Life Sci.* 2000;67:1585-600.
15. Pockley AG, Shepherd J, Corton JM. Detection of heat shock protein 70/Hsp70 and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol Invest.* 1998;27:367-77.
16. Whitham M, Laing S, Jackson A, Maassen N, Walsh N. Effect of exercise with and without a thermal clamp on the plasma heat shock protein 72 response. *J Appl Physiol.* 2007;103:1251-6.
17. Selsby JT, Dodd SL. Heat treatment reduces oxidative stress and protects muscle mass during immobilization. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289:R134-9.
18. Selsby JT, Rother S, Tsuda S, Prakash O, Quindry J, Dodd SL. Intermittent hyperthermia enhances skeletal muscle regrowth and attenuates oxidative damage following reloading. *J Appl Physiol.* 2007;102:1702-7.
19. Naito H, Powers SK, Demirel HA, Sugiura T, Dodd SL, Aoki J. Heat stress attenuates skeletal muscle atrophy in hindlimb-unweighted rats. *J Appl Physiol.* 2000;88:359-63.
20. Uehara K, Goto K, Kobayashi T, Kojima A, Akema T, Sugiura T, et al. Heat-stress enhances proliferative potential in rat soleus muscle. *Jpn J Physiol.* 2004;54:263-71.
21. Miyabara EH, Martin JL, Griffin TM, Moriscot AS, Mestril R. Overexpression of inducible 70-kDa heat shock protein in mouse attenuates skeletal muscle damage induced by cryolesioning. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290:C1128-38.
22. Nosaka K, Muthalib M, Lavender A, Laursen PB. Attenuation of muscle damage by preconditioning with muscle hyperthermia 1-day prior to eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99:183-92.
23. Mayer MP, Bukau B. Hsp chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62:670-84.
24. Whitham M, Fortes MB. Effect of blood handling on extracellular Hsp72 concentration after high-intensity exercise in humans. *Cell Stress Chaperones.* 2006;11:304-8.
25. Mehta TA, Greenman J, Ettelaie C, Venkatasubramaniam A, Chetter IC, McCollum PT. Heat shock proteins in vascular disease: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005;29:395-402.
26. Schett G, Redlich K, Xu P, Bizan P, Gröger M, Tohidast-Akrad M, et al. Enhanced expression of heat shock protein 70 (hsp70) and heat shock factor 1 (HSF1) activation in rheumatoid arthritis synovial tissue. *J Clin Invest.* 1998;102:302-11.
27. Febbraio MA, Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Hiscock N, Pedersen BK. IL-6 activates Hsp72 gene expression in human skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;296:1264-6.
28. Ardle AM, Jackson MJ. Heat shock protein 70 expression in skeletal muscle. *Biochem Soc Trans.* 1996;24:485S.
29. Bornman L, Polla BS, Lotz BP, Gericke GS. Expression of heat shock/stress proteins in Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 1995;18:23-31.
30. Bruce CR, Carey AL, Hawley JA, Febbraio MA. Intramuscular heat shock protein 72 and heme oxygenase-1 mRNA are reduced in patients with type 2 diabetes: evidence that insulin resistance is associated with a disturbed antioxidant defense mechanism. *Diabetes.* 2003;52:2338-45.
31. Kurucz I, Morva A, Vaag A, Eriksson KF, Huang X, Groop L, et al. Decreased expression of heat shock protein 72 in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes correlates with insulin resistance. *Diabetes.* 2002;51:1102-9.
32. Liu Y, Mayr S, Opitz-Gress A, Zeller C, Lormes W, Baur S, et al. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol.* 1999;86:101-4.
33. Tessitore L, Costelli P, Baccino FM. Hormonal medication for cachexia. *Br J Cancer.* 1993;67:15-23.
34. Medina R, Wing SS, Goldberg AL. Increase in levels of polyubiquitin and proteasome mRNA in skeletal muscle during starvation and denervation atrophy. *Biochem J.* 1995;307:631-7.
35. Sakuma K, Watanabe K, Tosuka T, Kato K. Pathological changes in levels of three small stress proteins, alphaB crystallin, HSP 27 and p20, in the hindlimb muscle of dy mouse. *Biochem Biophys Acta.* 1998;1406:162-8.
36. Oishi Y, Taniguchi K, Matsumoto H, Kawano F, Ishihara A, Ohira Y. Upregulation of HSP72 in reloading rat soleus muscle after prolonged hindlimb unloading. *Jpn J Physiol.* 2003;53:281-6.
37. Liu Y, Schlumberger A, Wirth K, Schmidtbleicher D, Steinacker JM. Different effects on human skeletal myosin heavy chain isoform expression: strength training vs. combination training. *J Appl Physiol.* 2003;94:2282-8.
38. Brkic M, Liu Y, Schlumberger A, Wirth K, Schmidtbleicher D, Steinacker JM. Arm muscle HSP70 response to strength training. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36:S318.
39. Desplanches D, Ecochard L, Sempore B, Mayet-Sornay MH, Favier R. Skeletal muscle HSP72 response to mechanical unloading: influence of endurance training. *Acta Physiol Scand.* 2004;180:387-94.
40. Thompson HS, Maynard EB, Morales ER, Scordilis SP. Exercise-induced HSP27, HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 2003;178:61-72.
41. Hameed M, Orrell RW, Cobbold M, Goldspink G, Harridge SDR. Expression of IGF-1 splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. *J Physiol.* 2003;547:247-54.
42. Suzuki K, Smolenski RT, Jayakumar J, Murtuza B, Btand NJ, Yacoub MH. Heat shock treatment enhances graft cell survival in skeletal myoblast transplantation on the heart. *Circulation.* 2000;102:III216-21.
43. Roth E, Oehler R, Manhart N, Exner R, Wesner B, Strasser E, et al. Regulatory potential of glutamine-relation to glutathione metabolism. *Nutrition.* 2002;18:217-21.
44. Párrizas M, Saltiel AR, LeRoith D. Insulin-like growth factor 1 inhibits apoptosis using the phosphatidylinositol 3'-kinase and mitogen-activated protein kinase pathways. *J Biol Chem.* 1997;272:154-61.
45. Beere HM, Wolf BB, Cain K, Mosser DD, Mahboubi A, Kuwana T, et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol.* 2000;2:469-75.
46. Siu P, Bryner RW, Martyn JK, Always SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB J.* 2004;18:1150-2.
47. Lancaster GI, Moller K, Nielsen B, Secher NH, Febbraio MA, Nybo L. Exercise induces the release of heat shock protein 72 from the human brain in vivo. *Cell Stress Chaperones.* 2004;9:276-80.
48. Simar D, Malesta D, Koechlin C, Cristol JP, Vendrell JP, Caillaud C. Effect of age on Hsp72 expression in leukocytes of healthy active people. *Exp Gerontol.* 2004;39:1467-74.
49. Morton JP, Holloway K, Woods P, Cable NT, Burniston J, Evans L, et al. Exercise training-induced gender-specific heat shock protein adaptations in human skeletal muscle. *Muscle Nerve.* 2009;39(2):230-3.
50. Fehrenbach E, Passet F, Niess AM, Pohla H, Weinstock C, Dickhuth HH, et al. HSP expression in human leukocytes is modulated by endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:592-600.
51. Fehrenbach E, Niess AM, Scholtz E, Passet F, Dickhuth HH, Northhoff H. Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *J Appl Physiol.* 2000;89:704-10.
52. Shastry S, Toft DO, Joyner MJ. Hsp 70 and hsp 90 expression in leukocytes after exercise in moderately trained humans. *Acta Physiol Scand.* 2002;175:139-46.

53. Gjøvaag TF, Vikne H, Dahl HA. Effect of concentric or eccentric weight training on the expression of heat shock proteins in m. biceps brachii of very well trained males. *Eur J Appl Physiol.* 2006;96(4):355-62.
54. Banfi G, Malavazos A, Iorio E, Dolci A, Doneda L, Verna R, et al. Plasma oxidative stress biomarkers, nitric oxide and heat shock protein 70 in trained elite soccer players. *Eur J Appl Physiol.* 2006;96:483-6.
55. Morton JP, MacLaren DP, Cable T, Campbell IT, Evans L, Kayani AC, et al. Trained men display increased basal heat shock protein content of skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:1255-62.
56. Febbraio MA, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increase in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. *J Appl Physiol.* 2000;89:1055-60.
57. Vogt M, Puntcharadt A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H. Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under stimulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol.* 2001;91:173-82.
58. Liu Y, Lormes W, Wang L, Reissnecker S, Steinacker JM. Different skeletal muscle hsp70 responses to high-intensity strength training and low-intensity endurance training. *Eur J Appl Physiol.* 2004;91:330-5.
59. Fehrenbach E, Niess AM, Voelker K, Northoff H, Mooren FC. Exercise intensity and duration affect blood soluble HSP72. *Int J Sports Med.* 2005;26:552-7.
60. Gjøvaag TF, Dahl HA. Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m. triceps brachii of untrained males and females. *Eur J Appl Physiol.* 2006;98(3):310-22.
61. Thompson HS, Scordilis SP, Clarkson PM, Lohrer WA. A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand.* 2001;171:187-93.
62. Khassaf M, Child RB, McArdle A, Brodie DA, Esanu C, Jackson MJ. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J Appl Physiol.* 2001;90:1031-5.
63. Tupling AR, Bombardier E, Stewart RD, Vigna C, Aquí AE. Muscle fiber type-specific response of Hsp70 expression in human quadriceps following acute isometric exercise. *J Appl Physiol.* 2007;103(6):2105-11.
64. Thompson HS, Clarkson PM, Scordilis SP. The repeated bout effect and heat shock proteins: intramuscular HSP27 and HSP70 expression following two bouts of eccentric exercise in humans. *Acta Physiol Scand.* 2002;174:47-56.
65. Fischer CP, Hiscock NJ, Basu S, Vessby B, Kallner A, Sjogaard LB, et al. Vitamin E isoform-specific inhibition of the exercise-induced heat shock protein 72 expression in humans. *J Appl Physiol.* 2006;100:1679-87.
66. Morton JP, MacLaren DP, Cable NT, Campbell IT, Evans L, Bongers T, et al. Elevated core and muscle temperature to levels comparable to exercise do not increase heat shock protein content of skeletal muscle of physically active men. *Acta Physiol.* 2007;190(4):319-27.
67. Amorim FT, Yamada PM, Robergs RA, Schneider SM, Moseley PL. The effect of the rate of heat storage on serum heat shock protein 72 in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2008;104:965-72.
68. Lovell R, Madden L, McNaughton LR, Carroll Lovell S. Effects of active and passive hyperthermia on heat shock protein 70 (HSP70). *Amino Acids.* 2008;34:203-11.
69. Lin KM, Lin B, Lian IY, Mestril R, Scheffler IE, Dillmann WH. Combined and individual mitochondrial HSP60 and HSP10 expression in cardiac myocytes protects mitochondrial function and prevents apoptotic cell deaths induced by simulated ischemia-reoxygenation. *Circulation.* 2001;103:1787-92.
70. Marini M, Lapalombella R, Margonato V, Ronchi R, Samaja M, Scapin C, et al. Mild exercise training, cardioprotection and stress genes profile. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99:503-10.
71. Harris MB, Starnes JW. Effects of body temperature during exercise training on myocardial adaptations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280:H2271-80.
72. Demirel HA, Powers SK, Zergeroglu MA, Shanelly RA, Hamilton K, Coombes J, et al. Short-term exercise improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *J Appl Physiol.* 2001;91:2205-12.
73. Hamilton KL, Staib JL, Phillips T, Hess A, Lennon SL, Powers SK. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:800-9.
74. Quindry J, French J, Hamilton K, Lee Y, Mehta JL, Powers S. Exercise training provides cardioprotection against ischemia-reperfusion induced apoptosis in young and old animals. *Exp Gerontol.* 2005;40:416-25.
75. Quindry JC, Hamilton KL, French JP, Lee Y, Murlasits Z, Tumer N, et al. Exercise-induced HSP-72 elevation and cardioprotection against infarct and apoptosis. *J Appl Physiol.* 2007;103:1056-62.
76. Mattson JP, Ross CR, Kilgore JL, Musch TI. Induction of mitochondrial stress proteins following treadmill running. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:365-9.
77. Paulsen G, Vissing K, Kalkhovde JM, Ugelstad I, Bayer ML, Kadi F, et al. Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol.* 2007;293:R444-53.
78. Kayani AC, Close GL, Jackson MJ, McArdle A. Prolonged treadmill training increases HSP70 in skeletal muscle but does not affect age-related functional deficits. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008;294:R568-76.
79. Locke M, Tanguay RM. Increased HSF activation in muscles with a high constitutive HSP70 expression. *Cell Stress Chaperones.* 1996;1:189-96.
80. Flaherty KM, McKay DB, Kabsch W, Holmes KC. Similarity of the three-dimensional structures of actin and the ATPase fragment of a 70-kDa heat shock cognate protein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:5041-5.
81. Chen HW, Chen SC, Tsai JL, Yang RC. Previous hyperthermic treatment increases mitochondria oxidative enzyme activity and exercise capacity in rats. *Kaoshiung J Med Sci.* 1999;15:572-80.
82. Steinacker JM, Wang J, Gampert L, Liu Y, Nething K, Prokopchuk O. Effects of overexpression of heat shock protein 70 on energy metabolism. *Med Sci Sport Exerc.* 2005;37:S455.
83. Ehrhardt MR, Urbauer JL, Wand AJ. The energetics and dynamics of molecular recognition by calmodulin. *Biochemistry.* 1995;34:2731-8.
84. Zietara MS, 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;27:1169-74.