

热预处理对大鼠急性运动抗氧化能力和 HSP70 表达的影响

王军力^{1,2}, 肖国强¹

(1.华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510006; 2.怀化学院 体育系, 湖南 怀化 418008)

摘 要: 通过观察急性运动和热预处理后急性运动对大鼠股四头肌热休克蛋白(HSP)70 表达影响的时相性变化和氧化应激标志物超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的变化, 探讨 HSP70 对急性运动大鼠股四头肌抗氧化能力的影响和股四头肌 HSP70 表达的应答性反应。雄性 SD 大鼠随机分为室温安静组、室温运动后即刻组、室温运动后 3 h 组、室温运动后 24 h 组、热预处理安静组、热预处理运动后即刻组、热预处理运动后 3 h 组、热预处理运动后 24 h 组。热预处理组在恒温干燥箱进行热暴露处理(直肠温度达到 $(41.5\pm 0.5)^\circ\text{C}$, 持续 15 min)。安静组大鼠在热预处理 24 h 后对股四头肌进行取样。运动组大鼠在热预处理 24 h 后进行急性跑台运动(速度为 25 m/min, 坡度为 0° , 时间为 60 min), 分别在运动后即刻、运动后 3 h、运动后 24 h 对大鼠进行股四头肌取样, 检测 HSP70 蛋白表达量、SOD 活性和 MDA 含量。结果表明, 大鼠急性运动后两组大鼠运动后即刻 HSP70 蛋白表达有上升的趋势, 但差异无统计学意义($P>0.05$), 3 h 显著增加($P<0.05$), 24 h 后回降, 室温组与基础水平相比差异无显著性($P>0.05$), 而热预处理组仍显著高于基础水平($P<0.05$), 在变化过程中热预处理组 HSP70 蛋白表达量显著高于室温组($P<0.05$); 室温组和热预处理组大鼠急性运动后即刻股四头肌 SOD 活性明显升高($P<0.05$), 3 h 后活性降低, 但显著高于基础水平($P<0.05$), 24 h 后回降到基础水平。在变化过程中热预处理组 SOD 活性显著高于室温组($P<0.05$); 室温组和热预处理组大鼠运动后即刻股四头肌 MDA 的含量显著升高($P<0.05$), 3 h 后热预处理组 MDA 含量恢复至基础水平, 室温组含量减少, 但是仍显著高于基础水平($P<0.05$), 室温组 24 h 恢复至基础水平, 在变化过程中热预处理组较室温组 MDA 含量降低速率快($P<0.05$)。这些发现表明急性运动可以诱导 HSP70 表达增加和热预处理后进行运动可以产生 HSP70 表达的累加效应。诱导 HSP70 大量表达可能提高机体的抗氧化能力, 减轻机体运动时的氧化应激损伤。

关 键 词: 运动生物化学; 热休克蛋白 70; 超氧化物歧化酶; 股四头肌; 急性运动

中图分类号: G804.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2010)01-0101-06

Effect of hyperthermic treatment on antioxidant ability and the HSP70 expression in rat quadriceps femoryafteries an acute exercise

WANG Jun-li^{1,2}, XIAO Guo-qiang¹

(1.School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China;

2.Department of Physical Education, Huaihua University, Huaihua 418008, China)

Abstract: The purpose of this study was to examine the effect of acute exercise and acute exercise after hyperthermic treatment on hsp70 and oxidative stress markers SOD and MDA. At the same time, we investigated hsp70 response changes to exercise. Adult male SD rats were divided into eight groups: normothermic sedentary (Norm sed), normothermic exercise 0 h (Norm Exe 0 h), normothermic exercise 3 h (Norm Exe 3 h), normothermic exercise 24 h (Norm Exe 24 h), heat stress sedentary (Heat Sed), heat stress exercise 0 h (Heat Exe 0 h), heat stress exercise 3 h (Heat Exe 3 h), heat stress exercise 24 h (Heat Exe 24 h). The rats were heated until the rectal temperature reached $(41.5\pm 0.5)^\circ\text{C}$ for 15 min in oven. Then the rats of Heat Sed were at rest under the normal temperature for 24 h. The

rats were killed according to specified time after acute treadmill running (velocity is 25 m/min, gradient is 0°, time is 60 min) and quadriceps femories were sampled to analyze HSP70, SOD, MDA. The results were as follows: HSP70 content had no significant change immediately postexercise ($P>0.05$), HSP70 content increased significantly After 3 h ($P<0.05$), and it returned to the basal level at 24 h ($P>0.05$). The HSP70 content is higher in Heat Sed than Norm Sed during the process ($P<0.05$); SOD activity in quadriceps femories elevated significantly immediately after an acute exercise in both Seds ($P<0.05$). Its activity decreased after 3 h ($P<0.05$) and returned the basal level at 24 h. The SOD activity is higher in Heat Sed than Norm Sed during the process ($P<0.05$); (4)MDA content increased immediately postexercise ($P<0.05$). Its content decreased, but still higher than Norm Exe 0 h Sed, after 3 h ($P<0.05$). Its content returned the basal level at 3 h in Heat sed. MDA content returned the basal level at 24 h in Norm sed. Compared with Norm sed, the MDA is eliminated more easily in Heat Sed ($P<0.05$). These finds demonstrated acute exercise induced the expression of HSP70 and acute exercise after hyperthermic treatment can produce a cumulative effect of HSP70. HSP70 is expressed largely by hyperthermic treatment may increase antioxidant capacity and reduce oxidative stress damage caused by the exercise.

Key words: exercise biochemistry; HSP70; SOD; MDA; quadriceps femoryafteries; acute exercise

应激状况下,生物体能够合成一类称之为热休克蛋白(heat shock protein, HSP)的蛋白质家族。HSP70 是 HSPs 家族中最重要的一员,具有分子伴侣^[1]、抗氧化^[2]、协同免疫^[3-5]、抗细胞凋亡^[6-8]及参与细胞的生长和分化^[9-11]等重要的生物学作用。在环境和生理应激(包括热、冷、缺血再灌注、缺氧和能量消耗等)的情况下,细胞通过合成 HSPs,对于维持机体的内稳态有非常重要的保护作用。大量研究表明热环境下 HSP70 能够大量表达,增加机体对热应激的耐受能力^[2, 12]。热耐受能力获得后同样可以增强机体在其它应激条件下的耐受能力,即热休克蛋白的交叉耐受性作用。氧自由基是新陈代谢的必然产物,运动可以导致氧自由基的水平提高,是造成细胞和组织损伤的主要原因之一。不适应的运动和剧烈运动可引起氧化和抗氧化稳态之间的失衡,这可能是造成运动中和运动后运动性疲劳的发生、运动性免疫抑制、骨骼肌和心肌过度凋亡和延迟性肌肉酸痛的原因之一。很多方法,如饮食控制、转基因动物模型、抗氧化类似药物的干预等已经用来尝试提高机体内源性的抗氧化能力,但是效果并不明显。有学者提出,提高机体内源性抗氧化能力的最好方法可能就是氧化应激本身^[13]。氧化应激可以激活热休克蛋白转录因子(HSF),HSF 激活后能迅速启动热休克基因,导致 HSPs 的合成。而 HSPs 是稳定氧化与抗氧化稳态的重要分子。本实验通过热预处理诱导 HSP70 表达后进行急性运动,观察 HSP70 对股四头肌抗氧化能力的影响,探讨 HSP70 对机体抗氧化能力的改善作用。关于急性运动和热预处理后急性运动对 HSP70 表达的时相性研究国内外鲜有报道,本实验也对此进行了初探。

1 研究内容与方法

1.1 实验动物与分组

3 月龄雄性 SD(Sprague Dawley)大鼠 64 只,体重 (270 ± 24) g,购自中山大学动物实验中心,领回后在室温、自然昼夜光周期的条件下喂养。大鼠适应性运动 1 周熟悉跑台后。随机分为 8 组每组 8 只:室温安静组、室温运动后即刻组、室温运动后 3 h 组、室温运动后 24 h 组、热预处理安静组、热预处理运动后即刻组、热预处理运动后 3 h 组、热预处理运动后 24 h 组。

1.2 热休克模型的建立

热预处理组用质量分数为 1%的戊巴比妥钠腹腔注射(45 mg/kg)麻醉后,置于 45℃的恒温干燥箱箱中,监测大鼠直肠温度达到(41.5 ± 0.5)℃并持续 15 min^[14]。室温组用质量分数为 1%的戊巴比妥钠腹腔注射(45 mg/kg)麻醉,但不予热预处理。所有大鼠在室温下恢复 24 h,剔除死亡的和精神萎靡的大鼠。

1.3 实验方案与指标测试

1)实验方案。

热预处理运动组大鼠室温恢复 24 h 后进行跑台运动,速度为 25 m/min,坡度为 0°,时间为 60 min。室温运动组方案同热预处理运动组。跑台运动结束后,运动组大鼠在运动后即刻、3 h、24 h 后立刻处死。安静组大鼠在热预处理 24 h 后处死,取其股四头肌,用于检测 HSP70、MDA 和 SOD。

2)测试仪器、试剂及指标测试方法。

(1)主要仪器和试剂:垂直平板电泳仪(Apollo, 美国)、半干印迹转移槽(OWL)、凝胶成相分析系统(GeneGenius)、内切式匀浆机(Tolyfron, 瑞士)、721 分光光度计(上海)。鼠抗人 HSP70(小鼠 IgG, 抗 HSC73

和 HSP72), HRP 标记的羊抗鼠 IgG(武汉博士德生物工程公司); SOD、MDA 试剂盒; 硝酸纤维膜(GELMAN)。

(2) 指标测试方法: MDA 含量和 SOD 活性采用南京建成生物公司提供的试剂盒测试, 严格按照说明书进行。利用 Dotblotting 和 Westernblotting 对 HSP70 进行测试。

Dotblotting 测定 HSP70: ①裁剪硝酸纤维膜, 划分 64 个小格(每小格 1 cm²), 将膜浸入水中; ②取出膜晾干后(约 40 min)加 3 μL 样品于小格中央, 干燥 40 min; ③干燥的硝酸纤维膜用封闭液封闭 2 h; ④TBS 洗膜 3 次, 每次 10 min; ⑤加入一抗(1:4000, 1 μL 鼠抗人 HSP70 稀释于 4000 μL TBS 缓冲液)脱色摇床缓慢摇动孵育 12 h; ⑥TBS 洗膜 2 次, 每次 10 min; ⑦加入二抗(1:800, 1 μL HRP 标记的羊抗鼠 IgG 稀释于 800 μL TBS 缓冲液)孵育 2 h; ⑧TBS 洗膜 3 次; ⑨显色, 将膜放入显色液中显色 15 min 后用 TBS 漂洗终止显色; ⑩由凝胶成相分析系统(GeneGenius)进行灰度测试。

Westernblotting 检测 HSP70: ①SDS-PAGE 电泳: 将样品加入后, 打开电泳仪将电压调至 160 V, 当溴酚蓝前沿至浓缩胶和分离胶交界处将电压调到 110 V, 在恒定电压下进行电泳(约 1.5 h)。②转膜: 电泳完毕后, 将胶取下, 放在电转移槽中央。胶在槽中的顺序为 3 片 3 mm² 滤纸(预先用转移缓冲液浸湿过)+胶+硝酸纤维膜+3 片 3 mm² 滤纸。在恒定的电流下完成电转移(电流的大小要依据胶的面积而确定), 大约 2 h 完成转膜。③封闭: 将膜取下放入容器中, 加入 8 mL 质量分

数为 13% BSA/TBS 溶液(液面需没过膜), 在脱色摇床上轻摇 80 min。④加一抗(1:4000, 1 μL 鼠抗人 HSP70 稀释于 4000 μL TBS 缓冲液): 弃去封闭液, 用 TBS 洗膜 3 次(每次 10 min), 将封闭后的膜放入有一抗的 BSA/TBS 溶液中, 在脱色摇床上温和摇动孵育 12 h。

⑤加二抗(1:800, 1 μL HRP 标记的羊抗鼠 IgG 稀释于 800 μL TBS 缓冲液), 弃去一抗溶液, 用 TBS 溶液洗膜 2 次(每次 10 min), 然后将膜放入有二抗稀释的溶液中, 在脱色摇床上温和摇动 2 h。⑥显色: 弃去二抗溶液, 用 TBS 洗膜 3 次(每次 10 min), 弃去 TBS, 加入显色液, 显色 15 min, 用双蒸水洗膜终止显色。

1.4 统计处理

运用 SPSS for Windows12.0 统计软件包对实验数据进行统计分析, 所有数据结果以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)来表示, 采用 Paired Samples T Test 分析, 显著性差异为 $P < 0.05$ 。

2 实验结果与分析

2.1 股四头肌 HSP70 表达量的变化

表 1 显示, 室温组运动后即刻 HSP70 表达量与安静组比较有上升的趋势, 但是无统计学意义($P > 0.05$); 运动后 3 h 显著性升高($P < 0.05$), 24 h 降到基础水平。热预处理安静组 HSP70 表达量较室温安静组显著升高($P < 0.05$), 运动后即刻和运动后 3 h HSP70 表达量都显著高于热预处理安静组($P < 0.05$)。热预处理组运动后 24 h HSP70 蛋白表达量降低, 但仍然高于室温组安静时和室温组运动后 24 h($P < 0.05$)。

表 1 不同条件下股四头肌 HSP70(灰度值)($\bar{x} \pm s$) 的比较

组别	安静	运动后即刻	运动后 3 h	运动后 24 h
室温组	312.8±58.2	366.4±90.5 ¹⁾	411.9±31.1 ²⁾	324.1±29.8
热预处理组	465.6±19.3 ²⁾	528.2±20.6 ³⁾	542.6±12.1 ³⁾⁴⁾	357.0±22.8 ⁵⁾

1)与热预处理组运动后即刻比较差异有显著性 $P < 0.05$; 2)与室温组安静时比较差异有显著性 $P < 0.05$; 3)与热预处理安静组比较差异有显著性 $P < 0.05$; 4)与室温组运动后 3 h 比较差异有显著性 $P < 0.05$; 5)与室温组安静时和室温组运动后 24 h 比较差异有显著性 $P < 0.05$

2.2 股四头肌 MDA 质量摩尔浓度的变化

表 2 显示, 室温组和热预处理组运动后即刻 MDA 质量摩尔浓度显著升高($P < 0.05$), 室温组运动后 3 h MDA 质量摩尔浓度降低, 但仍然显著高于室温组安静

时($P < 0.05$), 热预处理运动后 3 h 与室温运动后 3 h 比较 MDA 质量摩尔浓度显著降低($P < 0.05$), 运动后 24 h 两组 MDA 质量摩尔浓度都恢复到基础水平。

表 2 不同条件下股四头肌 MDA 质量摩尔浓度($\bar{x} \pm s$) 的比较

组别	安静	运动后即刻	运动后 3 h	运动后 24 h
室温组	2.41±0.19	4.94±0.68 ¹⁾	3.17±0.42 ¹⁾	2.46±0.43
热预处理组	2.56±0.18	3.90±0.64 ³⁾⁴⁾	2.56±0.42 ⁴⁾	2.26±0.30

1)与室温组安静时比较差异有显著性 $P < 0.05$; 2)与热预处理组安静时比较差异有显著性 $P < 0.05$; 3)与室温组运动后即刻比较差异有显著性 $P < 0.05$; 4)与室温组运动后 3 h 比较差异有显著性 $P < 0.05$

2.3 股四头肌 SOD 活性的变化

表 3 显示, 室温组运动后即刻 SOD 的活性明显高于基础值($P<0.05$), 3 h 后活性降低, 但活性显著高于基础水平($P<0.05$), 24 h 降到基础水平。热预处理组

运动后即刻 SOD 的活性显著升高($P<0.05$), 3 h 回降, 但显著高于基础水平($P<0.05$)。热预处理组运动后即刻和运动后 3 h SOD 活性分别明显高于室温组运动后即刻和运动后 3 h($P<0.05$)。

表 3 不同条件下股四头肌 SOD 活性($\bar{x} \pm s$)的变化

组别	安静	运动后即刻	运动后 3 h	运动后 24 h
室温组	87.54±5.66	102.16±6.63 ¹⁾	99.01±3.83 ¹⁾	86.35±3.17 ²⁾
热预处理组	91.96±5.54	112.24±6.48 ³⁾⁴⁾	106.38±3.2 ³⁾⁵⁾	94.49±4.58

1)与室温组安静时比较差异有显著性 $P<0.05$; 2)与热预处理组运动后 24 h 比较差异有显著性 $P<0.05$; 3)与热预处理组安静时比较差异有显著性 $P<0.05$; 4)与室温组运动后即刻比较差异有显著性 $P<0.05$; 5)与室温组运动后 3 h 比较差异有显著性 $P<0.05$ 。

3 讨论

3.1 急性运动和热处理后进行运动对大鼠股四头肌 HSP70 表达的影响

本实验观察到运动后即刻股四头肌 HSP70 表达量与基础值比较有上升的趋势, 但没有显著性的变化, 3 h 后 HSP70 表达量较安静时显著性上升, 到 24 h HSP70 表达量又回降(见表 1)。运动后即刻 HSP70 表达量较安静时有上升的趋势, 表明 HSP70 对运动应激具有非常高的敏感性, 在运动过程中细胞 HSP70mRNA 已经转录并有一部分已经翻译成蛋白。到 3 h 已经大量表达。24 h 后热休克蛋白恢复到基础水平, 可能是 HSP70 降解。但是运动导致 HSP70 表达的峰值水平在哪个时间段, 由于本实验只观察 3 个时间点, 还不能确定。Hernando 等^[15]研究发现大鼠单一负荷运动后骨骼肌 HSP70 在运动后恢复早期就达到峰值, 运动后 5~6 h 恢复到静息值。Klang 等^[16]发现, 许多细胞包括心肌细胞热休克蛋白在应激后 3~5 h 合成速率最大, 应激 8 h 合成停止。但是最近有研究表明人体进行急性运动后, HSP70 在运动后的 48 h 达到峰值^[17]。这些研究结果与本研究并不相同, 这可能是因为运动方式、运动强度、运动持续时间、生物物种及细胞类型不同造成的。关于运动诱导 HSP70 表达的确切机制还存在不同的观点, 有研究发现运动导致的体温升高^[18-19]、组织蛋白损伤^[20]、氧化应激损伤^[21]、运动中乳酸的堆积和能源耗竭^[22]等都可能是运动诱导 HSP70 表达的机制, 本研究认为运动过程中导致 HSP70 表达增加不可能是某一单一因素造成的, 而是多因素共同作用的结果。关于热预处理后进行运动对骨骼肌 HSP70 表达的影响的研究很少见, 本实验对此进行了初探, 观察运动和热预处理对 HSP70 表达是否具有累加效应。本实验中热预处理组运动后即刻和 3 h HSP70 表达量较预处理安静组明显升高, 可能是运动刺激又促进了 HSP70 的表达, 运动和热预处理对 HSP70 的表达具有累加效应。24 h 后 HSP70 表达量回降, 但是仍然高于室温组运动后 24

h。有研究报道大鼠经过热预处理 24 h 后在热预处理环境下运动, 淋巴细胞 HSP72 表达明显高于对照组, 这与本实验的研究结果类似。与室温组比较, 虽然室温组运动即刻 HSP70 表达量有上升的趋势, 但是没有显著性的差异, 而热预处理运动即刻与热预处理安静时比较, 已经有显著性的差异, 提示经过热预处理后的细胞当再次受到应激时更容易启动 HSPmRNA 的转录或者促进 HSPmRNA 的翻译, 迅速提高机体的耐受性。尽管 HSP70 对于增强机体的耐受性是必需的, 但是它在体内过度的表达和积累对机体是有毒性的^[23]。因此 HSP70 积累到一定程度后, 必须有一个调节机制, 阻止其合成, 加速其降解。因此到运动后 24 h, HSP70 又回降, 但是其水平仍然高于室温安静组, 可能有两方面原因, 一是 HSP70 还没有完全恢复到基础值, 二是通过运动和热预处理双重刺激后股四头肌 HSP70 的基础水平提高了, 使机体的基础耐受性水平也随之提高。本实验热预处理后 24 h 后股四头肌 HSP70 水平明显高于基础值, 但是急性运动恢复 24 h 后 HSP70 基本恢复到安静值, 热预处理后进行运动恢复 24 h 后虽然显著高于基础值, 但是又显著低于高温处理后 24 h HSP70 水平, 这种现象提示: (1)诱导机体 HSP70 的表达可能会有不同的信号转导通路, 应激源不同, 采用刺激的方式不同等可能激活不同的转导通路, 即 HSP70 的表达具有应激特异性, 有研究表明持续低氧暴露和运动训练会导致 HSP70 在骨骼肌纤维中的表达和分布不同, 存在应激特异性^[24]。同时 HSP70 表达量也不同。(2)预处理诱导 HSP70 表达可以提高机体的耐受能力, 增强机体对再一次应激的适应能力, 从而会导致 HSP70 在机体内的降解速率会不同。

3.2 热预处理及运动对自由基和抗氧化系统的影响

研究表明运动后即刻和 3 h, MDA 在股四头肌积聚(见表 2), 提示机体受到氧化应激损伤。而运动后即刻和 3 h, 股四头肌 SOD 的活性也升高(见表 3), 这种现象说明机体激活的抗氧化系统不能逆转运动产生的

氧自由基对股四头肌造成的损伤。大量研究已表明 HSP70 对处于应激状态下的机体具有保护作用, 因此本实验采用热预处理诱导 HSP70 的表达, 观察其对机体处于运动应激状态是否具有保护作用。本实验结果表明热预处理组大鼠安静时 SOD 活性较室温组有上升的趋势, 没有显著性差异。而运动后即刻、3 h 及 24 h SOD 活性都明显高于室温组。这些结果提示 HSP70 的高表达可能提高机体的抗氧化能力。目前认为 HSP70 增加机体抗氧化能力有 3 方面的原因: (1) HSP70 可抑制产生自由基的关键酶 NADPH 氧化酶, 通过反馈作用, 减少自由基的产生。(2) HSP70 可直接释放和增加内源性过氧化物酶如超氧化物歧化酶(SOD)水平。但 Selsby 等^[25]研究发现大鼠肢体固定后进行再负荷, 再负荷期间如果每隔 48 h 进行加热处理会导致硝基酪氨酸(nitrotyrosine)的含量低于不加热处理组, 但是 MnSOD、谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶的活性在两组之间没有明显区别, 而过氧化氢酶的活性反而降低, 因此氧化应激在加热组减轻并不是由于内源性抗氧化酶活性提高导致的。(3) 由于 HSP70 是重要的分子伴侣蛋白, 因此其分子伴侣作用可能是 SOD 活性维持较高水平的原因之一。为了证实 HSP70 的表达导致 SOD 活性升高对机体的保护作用, 本研究检测了股四头肌氧化应激标志物 MDA 的含量, 结果证实 HSP70 的表达对股四头肌确实起到了保护作用。与室温组比较, 热预处理运动后即刻、3 h MDA 升高的水平明显要低, 或者说运动后的消除速率明显加快。24 h 后基本都恢复都安静时水平, 但是热预处理组 MDA 含量较室温组略低。这些结果提示 HSP70 对于抵抗运动应激时机体的抗氧化损伤有积极的作用。

总之, 本实验发现热预处理后进行运动对股四头肌 HSP70 的表达具有累加效应。通过诱导 HSP70 的表达后能提高机体的抗氧化水平, 对维持内环境的平衡起到一定的作用, 从而对处于运动应激状态的机体起到一定的保护作用, 因此在进行竞技比赛或训练前后, 采用适当的方法(如桑拿浴^[26])诱导 HSP70 的表达, 对运动后机体疲劳的消除和机能的恢复可能有促进作用。

参考文献:

- [1] Hightower L E. Cultured animal cells exposed to amino acid analogues or puromycin rapidly synthesis several polypeptides [J]. *J Cell Physiol*, 1980, 102(3): 407.
- [2] Joshua T. Heat treatment reduces oxidative stress and protects muscle mass during immobilization[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 289: 134-139.
- [3] Scarim A L, Heitmeier M R, Corbett J A. Heat shock inhibits cytokine-induced nitric oxide synthase expression by rat and human islets [J]. *Endocrinology*, 1998, 139(12): 5050.
- [4] Mehlen P, Preville. Human HSP27, Prosophila HSP27 and human alpha β -crystallin exoexpression-mediated increase in glutathione is essential for the protective activity of these proteins against TNF alpha-induced cell death[J]. *EMBO J*, 1996, 15: 2696.
- [5] Cao Y, Ohwatari N, Matsumoto T, et al. TGF-beta1 mediates 70Kd heat shock protein induction due to ultraviolet irradiation in human skin fibroblasts[J]. *Pflugers-Arch*, 1999, 438(3): 239-242.
- [6] Ota A, Ikeda T, Xia X Y, et al. Hypoxic-ischemic tolerance induced by hyperthermic pretreatment in newborn rats[J]. *J Soc Gynecol Investing*, 2000, 7(2): 102-105.
- [7] Gabai V L, Meriin A B, Mosser D D, et al. HSP70 prevents activation of stress kinase, A novel pathway of cellular thermotolerance[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(29): 18033.
- [8] Zhou J J, Pei J M, Wang J Y, et al. Inducible HSP70 mediates delayed cardioprotection via U50488H pretreatment in rat ventricular myocytes[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 281: 40-47.
- [9] Bukau B, Walker G C. Cellular defects caused by deletion of the Escherichia coli dna K gene indicate roles for heat shock protein in normal metabolism[J]. *Bacteriol*, 1989, 171: 2337-2346.
- [10] Kusukawa N, Yura T. Heat shock protein gene of Escherichia coli: key protective roles against thermal stress[J]. *Genes Dev*, 1988, 2: 874-882.
- [11] Paek K H, Walker G C. Escherichia coli dnaK null mutants are inviable at high temperature[J]. *J Bacteriol*, 1987, 169: 283-290.
- [12] Skidmore R, Gutierrez J A, Guerriero V J, et al. HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature[J]. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, 1995, 268: R92-R97.
- [13] Finkel T, Holbrook N. Oxidative stress and biology of aging[J]. *Nature*, 2000, 408: 239-247.
- [14] 叶春. 热休克对急性运动大鼠骨骼肌中 MDA 及 SOD 的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2002, 21(3):

253-255.

- [15] Hernando R, Mansor. Muscle fibre stress in response to exercise:synthesis, accumulation and isform transitions of 70kD heat shock proteins[J]. *Eur J Biochem*, 1997, 243(1-2): 460-467.
- [16] Klang J, Tsokos G. Heat shock protein 70KD: molecularbiology[J]. *Bioche Mistry And Physiology Pharmacol Ther*, 1998(80): 183-201.
- [17] Morton J P, MacLaren D P, Cable N T, et al. Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise[J]. *J Appl Physiol*, 2006, 101(1): 176-182.
- [18] Staib J L, Tümer N, Powers S K. Increased temperature and protein oxidation lead to HSP72 mRNA and protein accumulation in the in vivo exercised rat heart[J]. *Exp Physiol*, 2009, 94(1): 71-80.
- [19] Yasuharu Oishi, Kouhachi Taniguchi, Hisahiro Matsumoto, et al. Muscle type-specific response of HSP60, HSP72, and HSC73 during recovery after elevation of muscle temperature[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92: 1097-1103.
- [20] Koh T J, Escobedo J. Cytoskeletal disruption and small heat shock proteintranslocation immediately after lengthening contractions[J]. *Am J PhysiolCell Physiol*, 2004, 286: C713-C722.
- [21] Khassaf M, McArdle A, Esanu C, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle[J]. *J Physiol*, 2003, 549: 645-652.
- [22] Febbraio M A, Koukoulas I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise[J]. *JAppl Physiol*, 2000, 89: 1055-1060.
- [23] Theodorakis N G, Drujan D, De Maio A. Thermotolerant cells show an attenuated expression of HSP70 after heat shock[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(17): 12081-12086.
- [24] Elena Tarricone. Cellular distribution of HSP70 expression in rat skeletal muscles. Effects of moderate exercise training and chronic hypoxia[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2008, 10: 670-673.
- [25] Selsby J T, Rother S, Tsuda S, et al. Intermittent hyperthermia enhances skeletal muscle regrowth and attenuates oxidative damage following reloading[J]. *Appl Physiol*, 2007, 102: 1702-1707.
- [26] 肖国强. 桑拿脱水和低氧刺激后运动对白细胞热休克蛋白 70 表达及有氧运动能力的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2007, 26(3): 331-335.

[编辑: 郑植友]