

TÍTULO: TERAPIA MEDIANTE SAUNA DE INFRARROJOS. BASES TEÓRICAS.

AUTORES

José Antonio Villegas García *
Jesús Arroyo Otero
Francisco Javier López Román
Ana Belén Martínez González
Antonio Luque Rubia

* Director

Cátedra de Fisiología de la Universidad Católica de Murcia
Campus de Los Jerónimos. Murcia

INTRODUCCIÓN

La sauna por infrarrojos consiste en la aplicación de una radiación del infrarrojo lejano (por encima de las 4 micras). Esta energía provoca en el organismo una reacción de respuesta celular múltiple en la que están implicadas unas proteínas encargadas de proporcionar ayuda en la síntesis de proteínas procurando que la estructura terciaria se realice sin errores ni plegamientos anormales (HSP: proteínas de estrés o del choque térmico).

La presencia de estas proteínas, generadas por un mecanismo controlado, permite a la célula protegerse mejor de las agresiones que pueden provocar un mal funcionamiento o incluso la muerte celular.

El mecanismo por el que durante exposiciones al calor de este tipo de sauna aumenta la expresión de las HSP parece que se puede explicar mediante la hormesis, teoría que trata de explicar el factor de estimulación que ejercen bajas dosis de elementos tóxicos o estresantes en la célula, protegiéndola de la inhibición que causan altas dosis de esos agentes destructores.

RESPUESTA CELULAR AL CALOR

La exposición al calor (HS (heat shock)), así como a otros agentes que rompen la homeostasis celular como el ejercicio físico, estrés oxidativo, exposición a radiaciones, absorción o inhalación de metales pesados, ingesta de etanol etc, induce la producción de las llamadas proteínas del choque térmico (HSP) (Verbeke P et al., 2001)¹.

La cascada de acciones comienza con la exposición al agente estresante (a través de fuentes físicas, químicas o biológicas). El contacto de la célula con proteínas desnaturalizadas por la acción de dichos agentes, conlleva una serie de eventos que empiezan activando señales de transducción, activación y traslocación nuclear de los llamados factores de transcripción del choque térmico (HSF). A partir de ahí se inicia la

transcripción genética y la traducción de HSP, lo que produce una serie de acciones fisiológicas que vamos a comentar (Rattan SI et al, 2004)².

Una reacción adecuada al HS provoca la respuesta celular con un aumento de la expresión de HSP y la adaptación de la célula al entorno hostil. Por el contrario, una respuesta insuficiente genera una vulnerabilidad celular que redundará en un desarrollo anormal y apoptosis (Söti C and Csermely P, 2003)³.

La activación de las HS induce la transcripción de HSF y el aumento subsiguiente de HSP preparando a la célula para soportar la rotura de la homeostasis.

En los vertebrados, hay varios HSF. Las HSF1 se expresa de modo general ante ligeras acciones estresantes. La HSF2 es una proteína de vida corta de especial importancia en la embriogénesis y espermatogénesis. La HSF3 es un regulador de la HSF1, se activa ante fuertes estímulos y experimenta interacciones con otros factores de transcripción relacionados con el desarrollo, crecimiento y apoptosis como c-Myc y p53. La HSF4, finalmente, enlaza el DNA incluso en células no estresadas y está preferentemente en células de músculo, cerebro y páncreas (Verbeke P et al., 2001)¹.

Ante un HS, las diferentes HSP de bajo peso, se fosforilan y forman oligómeros con actividad de chaperones, controlando la formación tridimensional de proteínas e incrementando los niveles de glutatión que actúa junto al coenzima Q mejorando la capacidad de tamponamiento celular y protegiendo a la membrana mitocondrial (Prévaille X et al, 1999)⁴.

Las HSP90 estabilizan las proteínas dañadas durante o tras el estrés, en particular las proteínas quinasas, calneurina, calmodulina, óxido nítrico sintasa, telomerasa, receptores esteroides, oncogenes y factores de transcripción (Verbeke P et al, 2001)¹.

Breve explicación de las HSP

Las HSP se describieron por primera vez en 1962 por Ritossa (Ritossa FM, 1962)⁵ en células de glándulas salivares de *Drosophila*, después de estar expuestas a 37°C durante 30 minutos y a continuación a su temperatura normal de 25°C, lo que producía un incremento en la síntesis de proteínas de peso molecular de 70 y 26 kDa (a estas proteínas se les denominó heat shock proteins).

Las proteínas de choque térmico o de estrés son componentes de un sistema necesario para el mantenimiento de la homeostasia proteica en todas las células. Su presencia se incrementa en respuesta a situaciones que ponen en peligro a la célula, tales como hipertermia, estrés mecánico, iónico, oxidativo etc.

Los niveles intracelulares incrementados de HSP confieren a las células tolerancia al estrés y pueden actuar como reguladores negativos de la síntesis de citocinas pro-inflamatorias, protegiendo de daños o de muerte a células próximas al lugar de inflamación (Hildebrandt B et al. 2002)⁶.

Las HSP realizan una serie de funciones principales como pueden ser: plegamiento de las proteínas (mediante los chaperones moleculares), participación en los mecanismos

de transducción de señales y regulación de la expresión génica, y protección de la célula en situaciones de estrés.

El plegamiento de proteínas y su ensamblaje no son procesos completamente espontáneos, sino que resultan facilitados por un grupo de otras proteínas llamadas chaperones moleculares, que se unen en forma transitoria a polipéptidos nacientes y a proteínas desplegadas o desensambladas. Colaboran en la biogénesis de proteínas de dos maneras:

- bloqueando interacciones proteína-proteína que conducirían a rutas de plegamiento incorrecto
- facilitando el plegamiento por medio del secuestro de intermediarios.

La función de las proteínas se lleva a cabo cuando se encuentran en forma soluble y bien plegadas. Las componen aminoácidos hidrofílicos (que se sitúan mayoritariamente en su superficie) e hidrofóbicos (que se sitúan en el interior). Las interacciones intramoleculares en las que son muy importantes estas características, son las que modulan el plegamiento de dichas proteínas.

Los chaperones moleculares interaccionan con polipéptidos parcial o incorrectamente plegados, facilitando rutas de plegamiento o aportando microentornos en los que pueda tener lugar el plegamiento. El ambiente celular se caracteriza por grupos hidrófilos (básicamente agua), proteínas plegadas de forma incompleta o desplegadas con las zonas hidrofóbicas expuestas al entorno y con tendencia a agregarse. Esta agregación es muy perjudicial para la célula y es lo que impiden los chaperones, cuya función es crear ambientes hidrófobos encapsulados que permiten el plegado adecuado de la proteína.

Cuando la síntesis proteica se da a velocidades elevadas, en condiciones limitadas de chaperones o a elevadas temperaturas, se puede exponer anormalmente las zonas hidrofóbicas al solvente, lo que puede generar depósitos proteicos en el interior celular formados por proteína insoluble e inactiva. En algunos casos, las moléculas proteicas se pueden disponer de manera ordenada formando las llamadas fibras de amiloide que en mamíferos están asociadas a diferentes enfermedades neurodegenerativas con incidencia creciente. En otras, las proteínas agregan de manera poco ordenada, formando precipitados más o menos amorfos denominados cuerpos de inclusión (Villaverde A and Carrio MM, 2003)⁷.

Recordemos que la secuencia de aminoácidos es la que determina la proteína, la cual, en el espacio adopta una estructura tridimensional de mínima energía si tiene tiempo y no hay interferencias en su conformación. En la célula, repleta de sustancias que interaccionan, y sometida a distintas reacciones químicas y procesos biológicos, la presencia de chaperones asegura la conformación correcta, perfeccionando el plegamiento de cada proteína de forma individual.

Las HSP están presentes en todas las células de todos los organismos vivos y su función es la misma desde las bacterias a los organismos complejos pluricelulares.

Las HSP70 (el número indica el peso molecular de la proteína, en este caso 70.000) y las HSP60 (con peso molecular 60.000, también llamadas chaperoninas) constituyen los grupos de chaperones moleculares mejor conocidos.

En humanos se ha comprobado que la exposición al calor incrementa los niveles de HSP72 en sangre arterial (Gonzalez B and Manso R, 2004)⁸. Además, hay estudios en los que se demuestra que, tras la exposición al calor, el aumento de la expresión de HSP72 se sigue de una disminución de la inflamación en la adventicia suprimiendo el engrosamiento arterial y el estrés oxidativo (Okada M et al, 2004)⁹.

Ahora bien, de todo lo expuesto anteriormente surge una aparente contradicción. Por un lado hemos descrito la importancia de tener altas concentraciones de HSP que actúen en caso de estrés, pero también se ha comprobado la presencia de concentraciones elevadas de estas proteínas en caso de patologías y envejecimiento celular. ¿Cómo se puede explicar que una alta concentración de HSP sea a la vez bueno y malo?

Lo que se sabe es que la aparición de respuesta positiva al choque térmico puede que se deba a un efecto citoprotector. Se ha comprobado que cuando aparecen una serie de enfermedades se induce una elevada expresión de HSP que parece disminuir el calcio intracelular y la expresión de linfocitos CD69 (Sharma M et al, 2003)¹⁰. Este aumento de las proteínas de estrés nos conducirán a una síntesis normal de proteínas, un cambio en las proteínas que no estén plegadas y una función orgánica normal, lo que se debe, sencillamente, a una adaptación de la célula a esta nueva situación. Cuando la situación genera tardíamente la presencia de HSP, podemos encontrarnos altas concentraciones de estas proteínas y, sin embargo, su acción regeneradora está colapsada.

Lo que se deja al terreno de la especulación es que este fenómeno forma parte de la revisión actualizada del antiguo concepto de HORMESIS.

El concepto de hormesis deriva del griego hormaein, que significa excitar. Se refiere a un concepto simple y práctico pero muy controvertido científicamente, como es el hecho de que dosis pequeñas de ciertas sustancias son beneficiosas, mientras que dosis más altas son tóxicas. Un ejemplo muy conocido lo proporcionan el alcohol y el tabaco.

La hormesis es un fenómeno de relación entre la dosis y la respuesta, caracterizada por estimulación a bajas dosis e inhibición con altas dosis. Ha sido frecuentemente observada en estudios adecuadamente diseñados, y es ampliamente generalizable como independiente de los agentes fisicoquímicos, el modelo biológico y el objetivo de evaluación (Calabrese EJ, 2002)¹¹.

A principios de 1940, Southam y su colega J. Erlich encontraron que mientras que altas concentraciones de extracto de corteza de roble inhibían el crecimiento de determinados hongos, dosis bajas lo estimulaban. Emplearon la palabra hormesis (simulando el concepto “hormona”, y describieron como hormesis esta acción de ciertos agentes tóxicos, publicando los resultados en 1943.(Emlen JM et al, 1998)¹².

En décadas siguientes este concepto fue desacreditado científicamente al apropiárselo la homeopatía para tratar de encontrar un argumento científico válido a su hipótesis.

Posteriormente, en 1980 Luckey publicó el primer artículo riguroso sobre la hormesis como adaptación de la célula a bajas dosis de radiación. En su publicación, revisó múltiples trabajos científicos en los que se documentaba que bajas dosis de radiación ejercían un efecto protector en la célula (Luckey TD 1980)¹³.

Luckey se enfrentó al prejuicio general que había causado la imprudente y ausente de rigor científico, exposición a rayos X que se produjo durante los años 1925-1930.

Efectivamente, aunque ya en 1902 se observaron los primeros signos de carcinogénesis inducida por la exposición a RX, la gente creía que las radiaciones ionizantes tenían numerosos efectos beneficiosos. De esta forma, se vendía agua mineral con radio 226 y 228, se ofrecía la curación de enfermedades permaneciendo durante horas en cuevas con radiación natural y hasta se vendían sujetadores con radio (Wolf S 1992)¹⁴.

Tras las explosiones nucleares de Hiroshima y Nagasaki, los estudios realizados en los supervivientes no dejaron lugar a dudas y se produjo el efecto contrario al anterior, es decir, todo lo relacionado con cualquier tipo de radiación se consideró peligroso a nivel popular.

Sin embargo, los estudios experimentales realizados en ratones sometidos a dosis de 1 cGy/día durante 5 días tenían una incidencia de linfoma inferior en un 16% a los ratones no preirradiados cuando eran sometidos a dosis de 2 Gy (Bhattacharjee D 1996)¹⁵. Los estudios epidemiológicos también demuestran menor incidencia de cáncer en sujetos irradiados con dosis bajas, como por ejemplo el estudio en 74.000 personas realizado en China por Wei (Wei L 1990)¹⁶.

¿Cómo se explica el fenómeno hermético?

Hay varias teorías, de las cuales las más importantes son:

1.- Bajas dosis de radiación producirían daños del DNA que obligarían a la célula a repararlo produciendo unas proteínas de efecto reparador. La justificación experimental se basa en el hecho de que un inhibidor de la síntesis proteica como la cicloheximida bloquea el efecto hermético (Wolf S, 1992)¹⁴

2.- Eliminación de radicales libres. En 1987, Feinendengen y colaboradores demostraron que bajas dosis de radiación causaban una inhibición temporal de la síntesis de DNA (hasta un máximo de 5 horas). Durante ese tiempo se podría producir antioxidantes celulares que protegieran posteriormente del daño oxidativo a la célula ante nuevas exposiciones (Feinendengen LE, 2005)¹⁷.

3.- Estimulación del sistema inmune. Mientras que altas dosis de radiación se sabe que son inmunosupresoras, Luckey y colaboradores, demostraron en distintos estudios que bajos niveles de radiación se comportaban estimulando la inmunidad (Luckey TD 1982)¹³, efecto que enlaza con la “teoría del daño” de Matzinger, en la que se propone que las células normales de todos los tejidos del organismo, cuando sufren un estrés envían una señal que ella denomina de “peligro” o “alarma” o “señal cero” que sirven para activar a las células presentadoras de antígenos (CPA), asumiendo entonces que estas células no son capaces per se de enviar señales coestimuladoras, sino que necesitan ser activadas por la “señal de peligro” (Matzinger P, 2002)¹⁸.

Pues bien, en las tres teorías intervienen las HSP

En la primera, ahora sabemos que las proteínas de las que se hablaba en el fenómeno hermético son las HSP.

En la segunda también, ya que se ha demostrado que las HSP mejoran los fenómenos de isquemia-reperusión (ictus, infartos etc) (Saito M et al, 2004)¹⁹ (Yang SH et al, 2005)²⁰, los más claros componentes de estrés oxidativo.

Finalmente, en la tercera es clara la relación ya que la HSP72 podría ser una señal de alarma inductora de respuestas inmunes de acuerdo con la "teoría del daño" de Matzinger

¿En qué patologías está demostrada la acción beneficiosa de un aumento de la expresión de HSP?

Uno de los factores más estudiados es la tolerancia cruzada que se produce en los modelos animales cuando se les somete a calor generado por esfuerzo físico y producen HSP. En este sentido, se ha observado que los animales sometidos a estrés térmico (que elevaban las HSP70), no sólo mejoraba la recuperación funcional postisquémica del corazón, sino que reducía el tamaño del infarto (Mitch WE and Goldberg AL, 1996)²¹.

En pacientes con arritmias ventriculares (Kihara T et al, 2004)²² y en pacientes con arteriosclerosis (Masuda A et al, 2004)²³, en anorexia nerviosa (Gutierrez E and Vazquez R, 2001)²⁴, enfermedad inflamatoria intestinal (Petrof EO et al, 2004)²⁵ y en los fenómenos de isquemia-reperusión (ictus, infartos etc) (Saito M et al, 2004)²⁶ (Yang SH et al, 2005)²⁷.

También actúan como agentes quelantes de metales pesados (Piano A et al, 2004)²⁸, cuestión que era conocida por los mineros de Almadén en la época del imperio romano, ya que se daban baños de vapor después de trabajar en la mina para evitar el efecto tóxico del mercurio.

Finalmente, se estudian sus acciones antitumorales con fundadas expectativas (Gullo CA and Teoh G, 2004)²⁹.

BIBLIOGRAFIA

1. Verbeke P, Fonager J, Clark BF, Rattan SI. Heat shock response and ageing: mechanisms and applications. *Cell Biol Int*. 2001;25(9):845-57.
2. Rattan SI, Gonzalez-Dosal R, Nielsen ER, Kraft DC, Weibel J, Kahns S. Slowing down aging from within: mechanistic aspects of anti-aging hormetic effects of mild heat stress on human cells. *Acta Biochim Pol*. 2004;51(2):481-92
3. Soti C, Csermely P. Aging and molecular chaperones. *Exp Gerontol*. 2003;38(10):1037-40
4. Preville X, Salvemini F, Giraud S, Chaufour S, Paul C, Stepien G, Ursini MV, Arrigo AP. Mammalian small stress proteins protect against oxidative stress through their ability to increase glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and by maintaining optimal cellular detoxifying machinery. *Exp Cell Res*. 1999;247(1):61-78
5. F.M. Ritossa. A new puffing pattern induced by a temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experimenta*. 1962;18:571-573.
6. Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, Felix R, Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2002;43(1):33-56.
7. Villaverde A, Carrio MM. Protein aggregation in recombinant bacteria: biological role of inclusion bodies. *Biotechnology Letters*. 2003; 25 (17):1385-1395.
8. Gonzalez B, Manso R. Induction, modification and accumulation of HSP70s in the rat liver after acute exercise: early and late responses. *J Physiol*. 2004;556(Pt 2):369-85.
9. Okada M, Hasebe N, Aizawa Y, Izawa K, Kawabe J, Kikuchi K. Thermal treatment attenuates neointimal thickening with enhanced expression of heat-shock protein 72 and suppression of oxidative stress. *Circulation*. 2004;109(14):1763-1768.

10. Sharma M, Ganguly NK, Chaturvedi G, Thingnam SK, Majumdar S, Suri RK. A possible role of HSP70 in mediating cardioprotection in patients undergoing CABG. *Mol Cell Biochem.* 2003;247(1-2):31-6.
11. Calabrese EJ, Baldwin LA. Defining hormesis. *Hum Exp Toxicol.* 2002;21(2):91-97.
12. Emlen JM, Freeman DC, Mills A, Graham JH. How organisms do the right thing: The attractor hypothesis. *Chaos.* 1998;8(3):717-726.
13. Luckey T. D., Physiological benefits from low levels of ionizing radiation, *Health Physics.* 1982;43:771-789.
14. Wolff S. Failla Memorial Lecture. Is radiation all bad? The search for adaptation. *Radiat Res.* 1992;131(2):117-23.
15. Bhattacharjee D. Role of radioadaptation on radiation-induced thymic lymphoma in mice. *Mutation Research.* 1996;358: 231-235.
16. Wei L. Epidemiological investigation of radiological effects in high background radiation areas of Yangjiang China, *J. Radiat Res.* 1990;31:119-136.
17. Feinendegen LE. Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis. *Br J Radiol.* 2005;78(925):3-7
18. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science.* 2002;296(5566):301-5
19. Saito M, Tominaga L, Nanba E, Kinoshita Y, Housi D, Miyagawa I, Satoh K. Expression of HSP 70 and its mRNAs during ischemia-reperfusion in the rat bladder. *Life Sci.* 2004;75(15):1879-86
20. Yang SH, Liu R, Wen Y, Perez E, Cutright J, Brun-Zinkernagel AM, Singh M, Day AL, Simpkins, Neuroendocrine mechanism for tolerance to cerebral ischemia-reperfusion injury in male rats. *J Neurobiol.* 2005;62(3):341-51
21. Mitch WE, Goldberg AL. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. *N Engl J Med.* 1996;335(25):1897-1905.
22. Kihara T, Biro S, Ikeda Y, Fukudome T, Shinsato T, Masuda A, Miyata M, Hamasaki S, Otsuji Y, Minagoe S, Akiba S, Tei C. Effects of repeated sauna treatment on ventricular arrhythmias in patients with chronic heart failure. *Circ J.* 2004;68(12):1146-1151.
23. Masuda A, Miyata M, Kihara T, Minagoe S, Tei C. Repeated sauna therapy reduces urinary 8-epi-prostaglandin F(2alpha). *Jpn Heart J.* 2004;45(2):297-303.
24. Gutierrez E, Vazquez R. Heat in the treatment of patients with anorexia nervosa. *Eat Weight Disord.* 2001;6(1):49-52.
25. Petrof EO, Ciancio MJ, Chang EB. Role and regulation of intestinal epithelial heat shock proteins in health and disease. *Chin J Dig Dis.* 2004;5(2):45-50.
26. Yang SH, Liu R, Wen Y, Perez E, Cutright J, Brun-Zinkernagel AM, Singh M, Day AL, Simpkins JW. Neuroendocrine mechanism for tolerance to cerebral ischemia-reperfusion injury in male rats. *J Neurobiol.* 2005;62(3):341-51.
27. Saito M, Tominaga L, Nanba E, Kinoshita Y, Housi D, Miyagawa I, Satoh K. Expression of HSP 70 and its mRNAs during ischemia-reperfusion in the rat bladder. *Life Sci.* 2004;75(15):1879-86.
28. Piano A, Valbonesi P, Fabbri E. Expression of cytoprotective proteins, heat shock protein 70 and metallothioneins, in tissues of *Ostrea edulis* exposed to heat and heavy metals. *Cell Stress Chaperones.* 2004;9(2):134-142.
29. Gullo CA, Teoh G. Heat shock proteins: to present or not, that is the question. *Immunol Lett.* 2004;94(1-2):1-10.