

## Etiopatogenia de la aterosclerosis: de la importancia de la genética a la utilidad de la proteómica

A. López-Farré, P.J. Mateos-Cáceres, C. Macaya

### Introducción

La inflamación desempeña un papel fundamental en la patogenia de la aterosclerosis y de sus complicaciones, hasta el punto de considerarse hoy en día una auténtica 'enfermedad inflamatoria' [1,2]. Múltiples estudios han demostrado que la aterosclerosis es una enfermedad crónica [3], en la que están implicadas de forma muy directa células inflamatorias (células T, monocitos y macrófagos), proteínas inflamatorias (citocinas, quimiocinas) y la respuesta inflamatoria de las células vasculares (moléculas de adhesión liberadas por células endoteliales, etc.) [4,5].

Las citocinas liberadas por las células inflamatorias activadas tienen el potencial de activar el endotelio y transformar sus propiedades antiadhesivas y anticoagulantes en propiedades adhesivas y procoagulantes, desempeñando así un papel importante en el desarrollo de los procesos trombóticos. La rotura de la placa de ateroma promueve la liberación de diferentes factores proinflamatorios, como son la in-

terleucina-6 (IL-6), la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); por las células endoteliales y leucocitos activados localmente estimula la producción de reactantes de fase aguda en el ámbito sistémico, como la proteína C reactiva (PCR), lo que convierte a la reacción inflamatoria de local a sistémica

La PCR es un marcador inflamatorio producido por el hígado y las células musculares lisas, que aumenta rápidamente su concentración sistémica ante una situación inflamatoria (Fig. 1). En este sentido, Gaspardone et al observaron un rápido aumento en los niveles de PCR tras la implantación de un *stent* en pacientes con angina estable, enfermedad de un vaso y niveles basales de PCR normales. Además, descubrieron cómo el riesgo de sufrir un evento coronario en el seguimiento a un año aumentaba de forma significativa en aquellos pacientes que tenían elevación persistente de PCR durante un período de 72 horas o más tras el procedimiento [6]. L'Allier et al también han observado que, después de una angioplastia, la elevación de otros marcadores inflamatorios, como el ligando de CD40 (CD40L), un mes después del procedimiento, es capaz de predecir el riesgo de sufrir un proceso de reestenosis [7], lo que refuerza la importancia del proceso inflamatorio en la evolución del paciente.

Sin embargo, todavía hoy no se conocen bien los mecanismos desencadenantes de la inflamación asociada a la patología trombótica. Es interesante recor-

*Aceptado tras revisión externa: 16.03.07.*

*Unidad de Investigación Cardiovascular. Servicio de Cardiología. Instituto Cardiovascular. Hospital Clínico San Carlos. Madrid, España.*

*Correspondencia: Dr. Antonio López Farré. Unidad de Investigación Cardiovascular. Servicio de Cardiología. Instituto Cardiovascular. Hospital Clínico San Carlos. Profesor Martín Lagos, s/n. E-28040 Madrid. E-mail: lcarimv.hcsc@salud.madrid.org*

*Agradecimientos. A Begoña Larrea, por su labor editorial del manuscrito.*

© 2007, ANGIOLOGÍA

dar, en primer lugar, que al romperse la placa de ateroma, en el lugar de formación del trombo, no sólo hay plaquetas, sino que estudios histológicos han demostrado la presencia de células inflamatorias como linfocitos y monocitos. Parece claro que los linfocitos y monocitos tienen una relación directa con la reacción inflamatoria, pero es menos conocido si las plaquetas tienen también una implicación directa en el proceso de la reacción inflamatoria, además del trombótico.



**Figura 1.** La inflamación que ocurre en la pared vascular localmente se transmite en el ámbito sistémico a través de factores proinflamatorios como la proteína C reactiva, que se genera en el hígado.

## Plaquetas e inflamación

La plaqueta es una célula compleja y todavía no muy bien conocida. Hasta hace no muchos años se consideraba que la plaqueta era una célula que generaba algunos factores potenciadores de su propia activación, como la histamina, el difosfato de adenosina (ADP), el tromboxano A<sub>2</sub> o el ácido araquidónico, o bien almacenaba en su interior factores relacionados con el crecimiento celular, como es el factor de crecimiento derivado de las plaquetas [8,9]. No obstante, la plaqueta contiene también factores relacionados directamente con la inflamación, como son las interleucinas, la quimocina RANTES (*regulated upon activated normal T expressed and secreted*), la gelatinasa B (MMP-9) o el CD40L [10]. Por lo tanto, la plaqueta se podría considerar una célula que potencialmente tiene una actividad proinflamatoria propia, por contener agentes en su interior relacionados con la actividad inflamatoria.

Cuando las plaquetas se activan, el fenómeno común que ocurre en dicho proceso, sea cual fuere su agente inductor, es la activación del receptor del fibrinógeno, la glicoproteína IIb/IIIa (GPIIb/IIIa). Como resultado de la activación de las plaquetas, se unen moléculas de fibrinógeno diméricas a los re-

ceptores GPIIb/IIIa activados de la superficie plaquetaria; de esta forma, se unen entre sí dos plaquetas, que después interaccionarán con más plaquetas por medio de un efecto de ‘bola de nieve’, produciéndose un agregado plaquetario.

Nuestro grupo demostró recientemente que la administración de tirofiban, un inhibidor específico de los receptores GPIIb/IIIa, reduce la respuesta inflamatoria en miocardio y células mononucleadas de cobaya en un modelo de daño miocárdico semejante a la angina inestable [11]. Una observación interesante de este estudio fue que el tirofiban redujo la traslocación al núcleo de un factor de transcripción –moléculas que estimulan la expresión de genes–; en concreto, el Sp-1, que está implicado en la estimulación, entre otros, de los genes asociados al proceso inflamatorio. En este sentido, Gawaz et al también demostraron que las plaquetas activadas favorecen la expresión de moléculas de adhesión relacionadas con la respuesta inflamatoria en células endoteliales en cultivo, activando la traslocación al núcleo de la célula endotelial del factor de transcripción NF-κB, otro factor asociado a la estimulación de genes asociados a la respuesta inflamatoria [12].

La pregunta que entonces surge es: ¿cualquier tratamiento antiplaquetario puede producir una reducción en la respuesta inflamatoria? Probablemente, sí. Esto se debe a que también en estudios de nuestro grupo se ha observado que el clopidogrel, fármaco que inhibe un tipo de receptor del ADP en las plaquetas, el receptor P2Y [12], reduce la respuesta inflamatoria en la arteria coronaria de conejos [13]. Además, los pacientes que toman habitualmente aspirina, cuando sufren un síndrome coronario agudo, tienen niveles circulantes de factores proinflamatorios menores que los observados en pacientes que no toman dicho fármaco de forma habitual [14]. Con relación a esto, una observación clínica interesante es que los pacientes que toman frecuentemente aspirina, cuando sufren un síndrome coronario agudo, es más probable que tengan una angina inestable que un infarto agudo de miocardio. Esto apoyaría la hipótesis de que una menor respuesta inflamatoria se asociaría con una manifestación clínica de menor gravedad. Otro dato importante que apoyaría la implicación directa en el proceso inflamatorio es la observación que demuestra que si se logra una inhibición mayor o igual al 80% de la actividad plaquetaria, se reducen los niveles circulantes de CD40L; pero, sin embargo, si la inhibición de las plaquetas es sólo parcial, en torno al 20-50%, lo que se consigue es el efecto opuesto, una potenciación de la formación de estos marcadores proinflamatorios; ello apoyaría la idea de que la plaqueta participa de forma directa en el proceso inflamatorio [15].

Es importante también conocer que, aunque los tratamientos antiplaquetarios están actualmente estandarizados, no todos los pacientes responden de la misma manera, ni en ellos se consigue igual grado de inhibición de la actividad plaquetaria. Como ejemplo, existen datos que demuestran que la eficacia de los inhibidores GPIIb/IIIa para reducir la respuesta inflamatoria puede depender del tipo de polimorfismo genético del paciente, por los genes que expresan los diferentes factores proinflamatorios [16].

Por ello, poco a poco ha comenzado el interés por la posible relación entre la carga genética individual y la susceptibilidad para sufrir una determinada enfermedad o incluso una diferente respuesta ante un mismo tratamiento farmacológico.

### Genética de la enfermedad vascular

En los años noventa comenzó el interés por la posible implicación de los factores genéticos en el desarrollo de diversas patologías. De hecho, se llevaron a cabo complejos estudios familiares con el fin de identificar posibles regiones en el genoma relacionadas con la patogenia de la enfermedad vascular.

En el campo de las enfermedades de origen vascular, cada vez son más los estudios genéticos que buscan la asociación entre la genética y el desarrollo de problemas de origen vascular. Es importante recordar que nuestros genes están contenidos en el ADN de los cromosomas y que en el hombre existen 23 pares de cromosomas. Una vez que el gen se expresa, dará lugar a un ARN mensajero, que se traducirá en proteína.

En este sentido, y a modo de ejemplo, se ha observado una clara asociación entre diversos polimorfismos de los receptores del factor transformante- $\beta$  del crecimiento (TGF- $\beta$ ) y la posibilidad de sufrir una disección o rotura aórtica [17]. Sin embargo, todavía son escasos los estudios genéticos que analizan la incidencia de determinados polimorfismos genéticos sobre la función de grandes arterias o vasos. En esta misma dirección, distintos autores han descrito cómo la presencia de diferentes polimorfismos en los genes que codifican los distintos componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona están implicados en las variaciones del grosor de las arterias, como la femoral o la carótida, asociándolos con alteraciones funcionales [18]. Se ha descrito también cómo este tipo de polimorfismos puede contribuir al posterior desarrollo e incidencia de la hiper-

tensión arterial [19]. En esta misma línea de trabajo, se han realizado estudios poblacionales en los que se ha observado una asociación entre el riesgo de sufrir enfermedades macrovasculares y variaciones en el gen que codifica la expresión de la enzima glutatión peroxidasa-1 [20]. Estos estudios han demostrado cómo polimorfismos en este gen están asociados con el aumento del grosor de la carótida en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

Desde el punto de vista de las patologías vasculares y la genética, donde más comienza a utilizarse esta tecnología es en el síndrome de Marfan, un síndrome genético que implica al sistema cardiovascular, ocular y esquelético. La complicación del síndrome de Marfan es un progresivo aumento o extensión de la pared de la aorta torácica ascendente, lo que terminaría en una disección aguda de la aorta y la formación del aneurisma. Estudios recientes han comenzado a asociar genes que pueden predisponer a individuos al aneurisma aórtico y a la disección [21]. Se han identificado algunos *locus* (secuencia de nucleótidos en el ADN) que se asocian de forma autosómica dominante a la incidencia de la patología [22]. También, actualmente se considera que al menos un 15% de pacientes con aneurismas aórticos tienen antecedentes familiares de haber sufrido estas patologías. Además de diferentes *locus* asociados a la incidencia del síndrome de Marfan, también se han identificado algunos genes como posibles candidatos a involucrarse en su génesis. Uno de los genes estudiados es el gen que codificó la expresión de fibrilina-1 [23]. Datos objetivados en animales de experimentación han sugerido que un déficit en el contenido de fibrilina-1 en los mioblastos produce un aumento de la activación del TGF- $\beta$ , lo que induce alteraciones estructurales en diferentes tejidos, incluida la aorta [23].

No obstante, aunque es clara la importancia que tiene la genética en la patología vascular, no puede explicar por sí sola la incidencia de la enfermedad. De hecho, el que se identifique un gen en un pacien-

te no significa que ese gen se exprese y forme proteínas en él. Sin embargo, si una proteína se expresa, ésta tiene una función en el órgano o en el tejido en donde se haya expresado.

### Proteínas, proteómica y enfermedad vascular

La genómica y, por tanto, los genes se consideran estáticos, ya que el contenido genético no varía con el tiempo en un sujeto. Sin embargo, las proteínas son dinámicas, ya que una vez expresadas pueden ser modificadas en su funcionalidad por factores ambientales o farmacológicos. Todos estos cambios llevan consigo modificaciones estructurales de las proteínas, que en definitiva pueden afectar a su función [24,25].

La proteómica o técnica de electroforesis bidimensional (2DE) es uno de los métodos de separación proteica más potente y útil que existen hoy en día. Es una tecnología relativamente reciente, que comenzó a emplearse a finales de los años setenta únicamente como herramienta analítica para la separación y caracterización proteica [26]. El término 'proteómica' se acuñó en 1995 para describir la caracterización del conjunto de todas las proteínas presentes en una célula, fluido o tejido, en un momento dado [27,28]. Esta tecnología ha ido evolucionando a lo largo de los años, convirtiéndose poco a poco en una herramienta útil que va a dar respuesta a muchos de los interrogantes que surgen constantemente tanto en investigación básica como clínica. Se desarrolló considerablemente durante los años noventa coincidiendo con el comienzo de la era de la espectrometría de masas, técnica de apoyo fundamental para el estudio proteómico. La proteómica ofrece una gran ventaja con respecto a las técnicas convencionales para determinar biomarcadores proteicos, ya que permite la identificación del conjunto de todas las proteínas presentes en una muestra (proteoma) en un único paso metodológico o experimen-



**Figura 2.** La proteómica se basa en la separación de proteínas en geles bidimensionales (separación por punto isoeléctrico y peso molecular). La proteómica nos permite también identificar isoformas de una proteína (aparecen en el gel formando una especie de rosario de puntos). Una vez desarrollados los geles, las diferentes proteínas se pueden identificar mediante bases de datos de libre acceso en Internet y por espectrometría de masas. La espectrometría de masas rompe las proteínas en péptidos y el espectro peptídico puede buscarse su homología también en grandes bases de datos, disponibles en Internet, para identificar la proteína en cuestión.

tal. Además, también detecta la existencia de distintas isoformas de una misma proteína y analiza las posibles variaciones en su expresión, algo que, hasta el momento, con el resto de técnicas convencionales empleadas para el análisis e identificación de proteínas era imposible (Fig. 2).

La proteómica intenta llegar a comprender mejor los mecanismos metabólicos, vías de señalización y regulación implicados en la biología celular que puedan ayudar a entender los mecanismos por los que se desarrolla cualquier enfermedad y predecir, en cierto modo, cómo su función puede variar por la utilización tanto de fármacos como de manipulaciones genéticas (Fig. 3). En definitiva, se trata de una técnica cuyos objetivos podrían ser identificar nuevos marcadores diagnósticos y pronósticos, así como reconocer marcadores de respuesta farmacológica que nos señalen cuál va a ser la respuesta del paciente ante un tratamiento determinado (Fig. 3).

En el área de la patología vascular se está comenzando a emplear la proteómica. La mayor parte de los estudios proteómicos realizados hasta ahora se han centrado fundamentalmente en el estudio de patologías como el cáncer o enfermedades autoinmunes, donde se han llevado a cabo los primeros intentos para aplicar la proteómica con propósitos tanto diagnósti-

cos como pronósticos. Casi no hay trabajos empleando la proteómica en el área de las patologías vasculares, y la mayor parte de los estudios existentes son meramente descriptivos, que han permitido la creación de bases de datos que en un futuro ayudarán a caracterizar los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de estas enfermedades. Desde el punto de vista general de la enfermedad cardiovascular, nuestro grupo publicó recientemente un trabajo donde demostró cómo la expresión de diferentes isoformas de la apoli-

poproteína A<sub>1</sub> (Apo-A1) está reducida en el plasma de pacientes con infarto agudo de miocardio respecto a pacientes con angina inestable, mostrando una posible asociación de la diferente expresión de las isoformas de esta proteína con la manifestación clínica del síndrome coronario agudo [29].

Experimentalmente se han venido desarrollando estudios para descubrir el proteoma de elementos celulares, como la plaqueta. Otros investigadores intentan buscar cambios que ocurren en las vías de señalización celular ante diferentes situaciones. Como ejemplo, Molero et al han identificado recientemente toda una serie de cambios en la expresión proteica inducida por estrógenos en células de músculo liso vascular, que confirman que los estrógenos pueden modular un amplio intervalo de vías de señalización en este tipo de células [30].

### Farmacoproteómica y farmacogenómica

Como hemos comentado anteriormente, existe una elevada variabilidad de respuesta ante un mismo tratamiento en función del genoma de cada individuo y, en consecuencia, del proteoma. Tanto la proteómica como la genómica, sin duda alguna, constituyen dos

herramientas tecnológicas de elección para el estudio tanto del modo de acción farmacológica, como para estudios de toxicidad y respuesta farmacológica. El estudio de la respuesta farmacológica asociada a los genes y a las proteínas que expresa un individuo se ha llamado farmacogenética y farmacoproteómica.

Algunos de los trabajos realizados hasta el momento sobre farmacogenética y farmacoproteómica se han centrado fundamentalmente en el estudio de fármacos antihipertensivos [31], en la búsqueda de nuevos antígenos cancerígenos [32] y fármacos hipolipemiantes. En este campo, un análisis reciente del proteoma plasmático de pacientes con hipercolesterolemia moderada, antes y después de tratamiento hipolipemiante, ha demostrado cómo este tratamiento reduce la expresión de la isoforma 1 del fibrinógeno gamma y aumenta la expresión de la isoforma 2 de la haptoglobina y la apolipoproteína-AIV [33]. Muchos de estos cambios en la expresión de proteínas circulantes fueron independientes del efecto hipolipemiante del fármaco, lo que apoya la existencia de efectos pleiotrópicos de este tipo de fármacos y probablemente a través de la proteómica se pueda deducir la

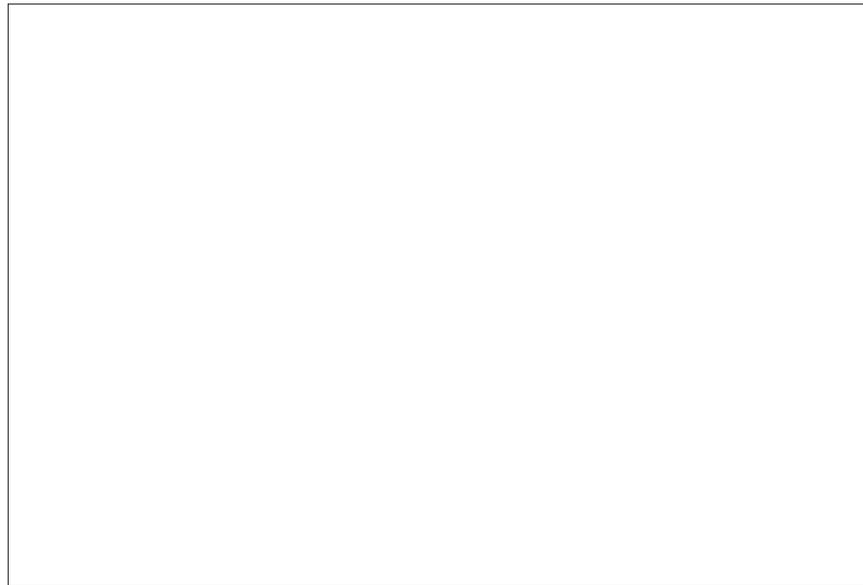


Figura 3. Utilidad de la proteómica en biomedicina.

existencia de este tipo de mecanismos no estrictamente dependientes de su efecto clase.

En resumen, la ciencia avanza y con ella, o mejor dicho, por delante de ella, es necesario que avancen las herramientas tecnológicas que nos permitan profundizar más en el conocimiento de los mecanismos moleculares involucrados en la génesis de las patologías vasculares, y que nos ayudan a predecir la evolución del paciente y también a elegir el mejor tratamiento. Entre estas nuevas herramientas tecnológicas, seguro que ocupan un lugar importante la genómica, para el estudio de los genes, y la proteómica, para identificar biomarcadores proteicos.

## Bibliografía

1. Wagner DD. New links between inflammation and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1321-4.
2. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-74.
3. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233-41.
4. Emeson EE, Robertson AL Jr. T lymphocytes in aortic and coronary intimas: their potential role in atherogenesis. *Am J Pathol* 1988; 130: 369-76.
5. Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK. Regional accumulations of T cells, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis* 1986; 6: 131-8.
6. Gaspardone A, Versaci F. Coronary stenting and inflammation. *Am J Cardiol* 2005; 96: 65-70.
7. L'Allier PL, Tardif JC, Gregoire J, Joyal M, Lesperance J, Fortier A, et al. Sustained elevation of serum CD40 ligand levels one month after coronary angioplasty predicts angiographic restenosis. *Can J Cardiol* 2005; 21: 495-500.

8. Pepper DS. Macromolecules released from platelet storage organelles. *Thromb Haemost* 1980; 42: 1667.
9. Ashby B, Daniel J, Smith B. Mechanisms of platelet activation and inhibition. *Hematol Oncol Clin N Am* 1990; 4: 1-25.
10. Tan KT, Watson SP, Lip GY. The endothelium and platelets in cardiovascular disease: potential targets for therapeutic intervention. *Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents* 2004; 2: 169-78.
11. Molero L, Farré J, García-Méndez A, Jiménez Mateos-Cáceres P, Carrasco-Martín C, Millas I, et al. Endothelin-1 induced proinflammatory markers in the myocardium and leukocytes of guinea-pigs: role of glycoprotein IIb/IIIa receptors. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 109-18.
12. Gawaz M, Page S, Massberg S, Nothdurfter C, Weber M, Fisher C, et al. Transient platelet interaction induces MCP-1 production by endothelial cells via I kappa B kinase complex activation. *Thromb Haemost* 2002; 88: 307-14.
13. Molero L, López-Farré A, Mateos-Cáceres PJ, Fernández-Sánchez R, Luisa-Maestro M, Silva J, et al. Effect of clopidogrel on the expression of inflammatory markers in rabbit ischemic coronary artery. *Br J Pharmacol* 2005; 146: 419-24.
14. Mateos-Cáceres PJ, García-Méndez A, Farré J, Sánchez de Miguel L, Gómez J, De Andrés R, et al. Prior aspirin use in unstable angina patients with modified plasma inflammatory markers and endothelial nitric oxide synthase in neutrophils. *Eur J Clin Invest* 2002; 32: 895-900.
15. Nannizzi-Alaimo L, Alves VL, Phillips DR. Inhibitory effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists and aspirin on the release of soluble CD40 ligand during platelet stimulation. *Circulation* 2003; 107: 1123-8.
16. Weber AA, Meila D, Jacobs C, Weber S, Kelm M, Strauer BE, et al. Low incidence of paradoxical platelet activation by glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Thromb Res* 2002; 106: 25-9.
17. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, Callewaert BL, Thomas GH, Pannu H, et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006; 355: 788-98.
18. Balkestein EJ, Staessen JA, Wang JG, Van der Heijden-Spek JJ, Van Bortel LM, Barlassina C, et al. Carotid and femoral artery stiffness in relation to three candidate genes in a white population. *Hypertension* 2001; 38: 1190-7.
19. Staessen JA, Wang JG, Brand E, Barlassina C, Birkenhager WH, Herrmann SM, et al. Effects of three candidate genes on prevalence and incidence of hypertension in a Caucasian population. *J Hypertension* 2001; 19: 1349-58.
20. Hamanishi T, Furuta H, Kato H, Doi A, Tamai M, Shimomura H, et al. Functional variants in the glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene are associated with increased intima-media thickness of carotid arteries and risk of macrovascular diseases in Japanese type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2004; 53: 2455-60.
21. Wassef M, Upchurch GR, Kuivaniemi H, Thompson RW. Challenges and opportunities in abdominal aortic aneurysm research. *J Vasc Surg* 2007; 45: 192-8.
22. Guo D, Hasham S, Kuang SQ, Vaughan CJ, Boerwinkle E, Chen H, et al. Familial thoracic aortic aneurysms and dissections: genetic heterogeneity with a major locus mapping to 5q13-14. *Circulation* 2001; 103: 2461-8.
23. Neptune ER, Frischmeyer PA, Arking DE, Myers L, Bunton TE, Gayraud B, et al. Dysregulation of TGF-beta activation contributes to pathogenesis in Marfan syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 407-11.
24. Anderson L, Seilhamer J. A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver. *Electrophoresis* 1997; 18: 533-7.
25. Gygi SP, Rochon Y, Franz A, Aebersold R. Correlation between protein and mRNA abundance in yeast. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1720-30.
26. Celis JE, Bravo R. Two-dimensional gel electrophoresis of proteins. In Celis JE, Bravo R, eds. Orlando: Academic Press; 1984. p. 478.
27. Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, Yan JX, Gooley AA, Wilkins MR, et al. Progress with gene-product mapping of the Mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis* 1995; 16: 1090-4.
28. Anderson NG, Anderson NL. Twenty years of two-dimensional electrophoresis: past, present and future. *Electrophoresis* 1996; 17: 443-53.
29. Mateos-Cáceres PJ, García-Méndez A, López-Farré A, Macaya C, Núñez A, Gómez J, et al. Proteomic analysis of plasma from patients during an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1578-83.
30. Molero L, García-Méndez A, Alonso-Organ S, Carrasco C, Macaya C, López-Farré A. Proteomic approach to identify changes in protein expression modified by 17β-oestradiol in bovine vascular smooth muscle cells. *Clin Sci* 2005; 109: 457-63.
31. Marteau JB, Zaiou M, Siest G, Visvikis-Siest S. Genetic determinants of blood pressure regulation. *J Hypertens* 2005; 23: 2127-43.
32. Stebbing J, Srivastava P. Heat shock protein-receptor-based pharmacogenomics: the search for new cancer antigens. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 117-20.
33. Alonso-Organ S, Moreno L, Macaya C, Rico L, Mateos-Cáceres PJ, Sacristán D, et al. Proteomic study of plasma from moderate hypercholesterolemic patients. *J Proteome Res* 2006; 5: 2301-8.