

## Red cardiovascular HERACLES

Jaume Marrugat<sup>a</sup>, José R. López-López<sup>b</sup>, Magdalena Heras<sup>c</sup>, Juan Tamargo<sup>d</sup>, Miguel Valverde<sup>e</sup> (todos con igual participación en la elaboración de este documento), y los investigadores de la red HERACLES (Hipertensión Esencial: Red de Análisis de Canales iónicos de la musculatura lisa arterial y su Explotación terapéutica Sistemática)

<sup>a</sup>Instituto Municipal de Investigación Médica (IMIM-Hospital del Mar). Barcelona. España.

<sup>b</sup>Instituto de Biología y Genética Molecular. Universidad de Valladolid y CSIC. Valladolid. España.

<sup>c</sup>Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer. Barcelona. España.

<sup>d</sup>Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

<sup>e</sup>Universidad Pompeu Fabra. Barcelona. España.

Todos son miembros del Comité Ejecutivo de la Red HERACLES.

En 2002, un grupo de investigadores en electrofisiología celular, cardiología, genética de poblaciones, epidemiología, proteómica, biología molecular, bioinformática y estadística decidió afrontar el reto de analizar los mecanismos y la genética de la hipertensión arterial (HTA). Se identificaron mecanismos relacionados con la regulación de la función de la musculatura lisa arterial por canales iónicos. La Red HERACLES (Hipertensión Esencial: Red de Análisis de Canales iónicos de la musculatura lisa arterial y su Explotación terapéutica Sistemática) fue calificada con mención Excelente en la evaluación de 2005, y se ha consolidado con la incorporación de nuevos grupos en la convocatoria 2007. Las actividades de la red se enmarcan en la transferencia de conocimiento del *bedside-to-bench*, así como su inversa, *bench-to-bedside*.

Los objetivos actuales de la red son: *a)* estudio de canales de K<sup>+</sup> dependientes de Ca<sup>2+</sup>, canales catiónicos TRP y canales de Cl<sup>-</sup> dependientes de Ca<sup>2+</sup> que participan en la fisiología vascular; *b)* estudio de los mapas de expresión proteínica en plasma y tejido cardiovascular y su relevancia en el tratamiento farmacológico; *c)* estudios del efecto de los flavonoides en el transporte iónico y la respuesta al estrés oxidativo, y *d)* identificación de marcadores biológicos de riesgo, pronóstico y respuesta al tratamiento en fenotipos de HTA extremos.

Nuestro proyecto incluye un conjunto de líneas de investigación coordinadas con programas horizontales basados en plataformas centrales, que las sirven. La red ha publicado más de 60 manuscritos (disponibles en: <http://www.redheracles.net>) y ha recibido financiación para más de 90 proyectos en convocatorias competitivas nacionales y 6 internacionales, y un Biobanco ADN.

**Palabras clave:** Hipertensión. Multidisciplinario. Canales iónicos. Músculo liso arterial.

Correspondencia: Dr. J. Marrugat.

IMIM-Hospital del Mar-PRBB.

Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona. España.

Correo electrónico: [jmarrugat@imim.es](mailto:jmarrugat@imim.es)

### The HERACLES Cardiovascular Network

In 2002, a group of researchers in the fields of cell electrophysiology, cardiology, population genetics, epidemiology, proteomics, molecular biology, bioinformatics and statistics decided to take up the challenge of investigating the mechanisms and genetics of arterial hypertension (AH). Mechanisms related to ion channel regulation of arterial smooth muscle function were identified. The HERACLES (Hipertensión Esencial: Red de Análisis de Canales iónicos de la musculatura lisa arterial y su Explotación terapéutica Sistemática) network was honored with a distinguished mention in the 2005 evaluation, and was strengthened by the incorporation of new research groups in 2007. The work of the HERACLES network is characterized as much by the transfer of knowledge «from bedside to bench» as by its converse: «from bench to bedside».

The current objectives of the HERACLES network are: *a)* to study the Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels, the transient receptor potential (TRP) cation channels, and the Ca<sup>2+</sup>-dependent Cl<sup>-</sup> channels that are involved in vascular physiology; *b)* to study protein expression maps in plasma and cardiovascular tissue and their significance for drug treatment; *c)* to study the effect of flavonoids on ion transport and responses to oxidative stress, and *d)* to identify biomarkers of risk, prognosis, and treatment responses in extreme AH phenotypes.

Our project includes a number of lines of research coordinated within cross-sectional programs based on centralized facilities, which are used by them. The HERACLES network has published more than 60 articles (available from: <http://www.redheracles.net>), funding has been received for more than 90 projects in competitive submissions to Spanish and six international bodies, and there is a DNA Biobank.

**Key words:** Hypertension. Multidisciplinary. Ion channels. Arterial smooth muscle.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

## INTRODUCCIÓN

En la primera convocatoria de REDES del Fondo de Investigación Sanitaria en 2002, un grupo de investigadores interesados en el estudio de la enfermedad cardiovascular desde diferentes ámbitos de disciplina científica decidió afrontar el reto de investigar conjuntamente la hipertensión arterial (HTA), una de las enfermedades crónicas con mayor morbimortalidad, de fácil diagnóstico clínico y, a pesar de ello, escurridiza desde el punto de vista tanto etiopatogénico como de manejo terapéutico y de sus repercusiones cardiovasculares como la enfermedad coronaria y la cerebrovascular.

Para ello se utilizó un abordaje con vocación multidisciplinaria (fisiopatología, cardiología, genética de poblaciones, epidemiología, proteómica, biología molecular, bioinformática y estadística) que permitió estudiar los mecanismos de hipertensión esencial y daño vascular menos conocidos relacionados con la regulación de la función de la musculatura lisa arterial por canales iónicos.

Nació así la Red HERACLES (Hipertensión Esencial: Red de Análisis de Canales iónicos de la musculatura Lisa arterial y su Explotación terapéutica Sistemática), que fue financiada como red de grupos en la anterior y primera convocatoria de redes del Fondo de Investigación Sanitaria (G03/045) y calificada con mención Excelente en la evaluación de diciembre 2005. La Red HERACLES ha recibido de nuevo financiación en la segunda convocatoria oficial de REDES, consolidándose en esta nueva etapa de desarrollo con la incorporación de nuevos grupos y el establecimiento de nuevos objetivos de trabajo aún más ambiciosos.

## ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

### Importancia sociosanitaria de la hipertensión arterial y la cardiopatía isquémica

En España, las enfermedades cardiovasculares causaron el 33,3% de todas las defunciones en el año 2004, lo que representa la primera causa de mortalidad en mujeres (38%) y la segunda en varones (29%)<sup>1</sup>. La cardiopatía isquémica es la primera causa específica de mortalidad en varones y la segunda causa en mujeres, tras los accidentes cerebrovasculares<sup>1</sup>. A pesar de que la incidencia de estas enfermedades parece estable, el envejecimiento de la población y el descenso en su letalidad están originando un aumento de su prevalencia y de la carga sanitaria<sup>2</sup>.

La HTA afecta aproximadamente al 30% de la población de 25 a 74 años, pero aumenta considerablemente con la edad<sup>3</sup>. La HTA es un factor de riesgo cardiovascular que aumenta la mortalidad por insuficiencia cardíaca, cardiopatía coronaria y accidente cerebrovascular, entre otros<sup>4</sup>. En España en

2005, alrededor de un 75% del total de hipertensos (presión arterial [PA]  $\geq$  140/90 mmHg) conocen su condición (HTA conocida) y, de éstos, alrededor del 50% recibe tratamiento farmacológico (HTA tratada). Sin embargo, es significativo que más del 60% de los pacientes hipertensos tratados no tienen sus cifras de PA controladas (por debajo de 140/90 mmHg)<sup>5,6</sup>.

Uno de los grupos que integran la red posee, con más de 20.000 muestras de ADN de población sana y de pacientes con cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y otras cardiovasculares, el mayor biobanco de España acreditado por el Banco Nacional de ADN. Esto facilita el estudio rápido de la prevalencia y el impacto de cualquier variante genética de los canales iónicos de la célula muscular lisa en estudios de casos y controles. A la vez el *know-how* de otros grupos en electrofisiología celular permite transferencia bidireccional de información entre grupos que facilita comprobar si las variantes genéticas detectadas en estudios de *genome-wide scan association* tienen algún cambio en su función en cultivo celular.

### Fisiopatología multifactorial de la hipertensión arterial esencial

Apenas un 10% de las formas de HTA tiene una causa conocida y el 90% restante se engloba dentro del término HTA esencial<sup>5</sup>. En consecuencia, la investigación sobre las causas determinantes de la HTA es una necesidad a la vez que un reto que se hace incluso más patente con el esperanzador avance de la genómica, la proteómica, la farmacogenómica y la farmacoproteómica, ya que el manejo de la HTA esencial (el 90% de los hipertensos) sería probablemente más efectivo si se conociera los mecanismos y las dianas terapéuticas a escala molecular.

A pesar de que numerosas mutaciones genéticas aparecen implicadas en algunos tipos de hipertensión asociadas a anomalías en la biodisponibilidad de mineralocorticoides, esto no es tan evidente en la inmensa mayoría de los pacientes con hipertensión esencial. En estos casos, es muy posible que las alteraciones genéticas asociadas a la hipertensión determinen cambios sutiles que incidan negativamente en elementos clave del control de la resistencia arterial. Por supuesto, a estos factores genéticos hay que añadir la influencia de factores ambientales. Como factores genéticos (hereditarios y constitucionales) —y, por tanto, no modificables— relacionados con la HTA, cabe destacar: la historia familiar de HTA, la edad (que es el predictor más importante de la PA en los países desarrollados), el sexo masculino (más patente sobre todo hasta los 45 años) y la raza negra. Los factores ambientales, la ingesta de sal, los factores nutricionales, la obesidad, el consumo de alcohol, etc., son modificables.

## Los canales de iones y el control del tono vascular

El control de las resistencias periféricas depende directamente del diámetro de los vasos, principalmente de las arterias pequeñas y de las arteriolas. La dinámica de la regulación del diámetro de los vasos se gobierna por el aparato contráctil de la fibra muscular lisa que forma la pared vascular. La contracción del músculo liso está controlada por aumentos en la concentración del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular.

Los canales de  $\text{K}^+$  del tipo MaxiK y  $\text{K}_v$ , así como otros más recientemente descritos, como los del tipo TRP, se encargan en gran medida del control del tono vascular. Éste es el fundamento por el cual la detección de posibles mutaciones en los genes que codifican estas proteínas puede tener una gran trascendencia en la comprensión de la fisiopatología molecular de la HTA esencial y consiguientemente en la de la cardiopatía isquémica y la enfermedad cerebrovascular. Este nuevo abordaje supone una visión distinta de la que tradicionalmente se mantenía, en la que el estudio de la función renal y los mecanismos asociados eran una prioridad casi exclusiva en la investigación de las causas de la HTA. Resultados de la propia red corroboran esta sospecha al demostrarse que una variante de la subunidad beta del canal MaxiK que presenta una ganancia de función resulta protectora de HTA diastólica a escala poblacional<sup>7</sup>.

## Interacción entre el endotelio y el músculo liso vascular

La disfunción endotelial se inicia por la falta de respuesta vasodilatadora a través del sistema del óxido nítrico (NO)<sup>8</sup> que se genera en el endotelio mediante la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa endotelial (NOSe). Este NO es la causa de la vasorelajación dependiente del endotelio. El NO ejerce su acción vasodilatadora mediante la estimulación de la guanilato-ciclasa soluble expresada en las células del músculo liso vascular subyacente al endotelio. La actividad de la guanilato-ciclasa soluble va a generar guanosinmonofosfato (GMP) cíclico, el cual estimulará una serie de respuestas intracelulares cuyo resultado final será la apertura de los canales de  $\text{K}^+$  dependientes de calcio y, por tanto, la relajación de la célula muscular<sup>9</sup>. También se ha demostrado una activación directa del NO en los canales de  $\text{K}^+$  dependientes del calcio en el músculo liso vascular que fue independiente del sistema del GMP cíclico<sup>10</sup>. Varios grupos de la Red HERACLES abordan estas vías, cuyas disfunciones parecen candidatas a explicar parte de la HTA esencial.

## Modulación de la funcionalidad endotelial y el tono vascular por los estrógenos

Es indudable que los estrógenos tienen una influencia clara en la función endotelial y el tono vas-

cular. Las diferencias existentes entre varones y mujeres en la morbilidad y mortalidad relacionadas con enfermedades cardiovasculares se han atribuido principalmente a las diferencias en las cantidades de hormonas sexuales entre ambos sexos<sup>11</sup>. Está bien documentado que la menopausia y la consecuente supresión estrogénica incrementan el riesgo de enfermedad cardiovascular en la mujer; sin embargo, el impacto de la terapia de reemplazo hormonal en la enfermedad vascular no está tan claro<sup>12</sup>. La terapia sustitutiva no modifica la incidencia de cardiopatía isquémica en las mujeres posmenopáusicas, pero incrementa claramente el riesgo de ictus isquémico<sup>13</sup> y de deterioro cognitivo<sup>14</sup>.

## ESTRUCTURA/ORGANIGRAMA. ÓRGANOS DE DIRECCIÓN DE LA RED HERACLES

La estructura de coordinación pretende hacer todas las actividades de la red operativas y ágiles. Los componentes de esta estructura son: un Coordinador de la Red, que es el interlocutor habitual con la Subdirección General de Redes, un Comité Ejecutivo de cuatro investigadores más el Coordinador, escogido por elección entre los responsables de cada Grupo participante, y un Consejo Científico-Técnico constituido por uno o dos representantes de cada Grupo constitutivo de la Red entre quienes se halla forzosamente el investigador principal. La red nombró en su momento un Consejo Científico Externo constituido por cinco investigadores de reconocido prestigio internacional, de los que tres son extranjeros (sus miembros aparecen al final de la lista de investigadores de HERACLES). La estructura de Coordinación de la Red está descrita en la figura 1. El proyecto de investigación de la red está concebido como un conjunto de líneas de investigación relacionadas y coordinadas, dirigidas por un coordinador de línea. Cada grupo aporta su área de conocimiento, su experiencia y medios, parte de los cuales pone a disposición de la red para conseguir los fines del proyecto (tabla 1). Una serie de programas horizontales basados en las estructuras y plataformas centrales disponibles presta servicio a las distintas líneas de investigación coordinada.

## OBJETIVOS

La configuración de la Red HERACLES en su segunda etapa se ha diseñado con el objetivo de potenciar, por una parte, la presencia de grupos cuya principal área de investigación se centra en los canales de iones del entorno cardiovascular, y por otra, la del grupo de epidemiología cardiovascular y de genética de poblaciones con el mayor biobanco de España. Contamos con la presencia de nuevos grupos de investigación básica en el área de la regulación endógena y farmacológica de la función vascular y de nuevos

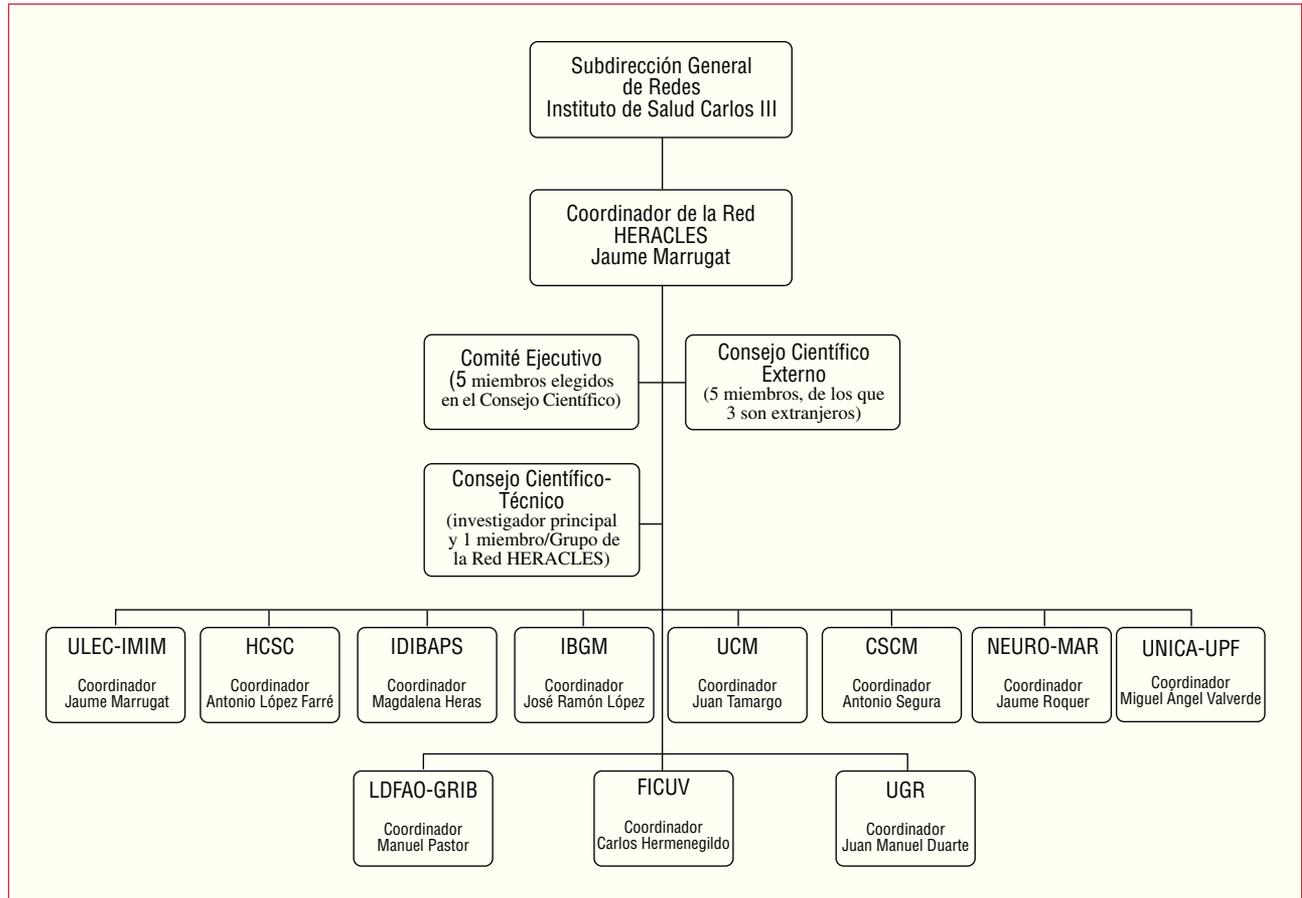


Fig. 1. Estructura de coordinación de la Red HERACLES. Abreviaturas en tabla 1.

grupos clínicos, lo que facilita la transferencia de conocimiento del *bedside-to-bench* y su inversa, *bench-to-bedside*.

El objetivo científico central de la red es el estudio genético y funcional de diferentes moléculas clave en el control del tono vascular y en situaciones directamente relacionadas con la HTA: respuesta del

miocardio a situaciones isquémicas e hipertensivas, las arritmias cardíacas y el accidente cerebrovascular.

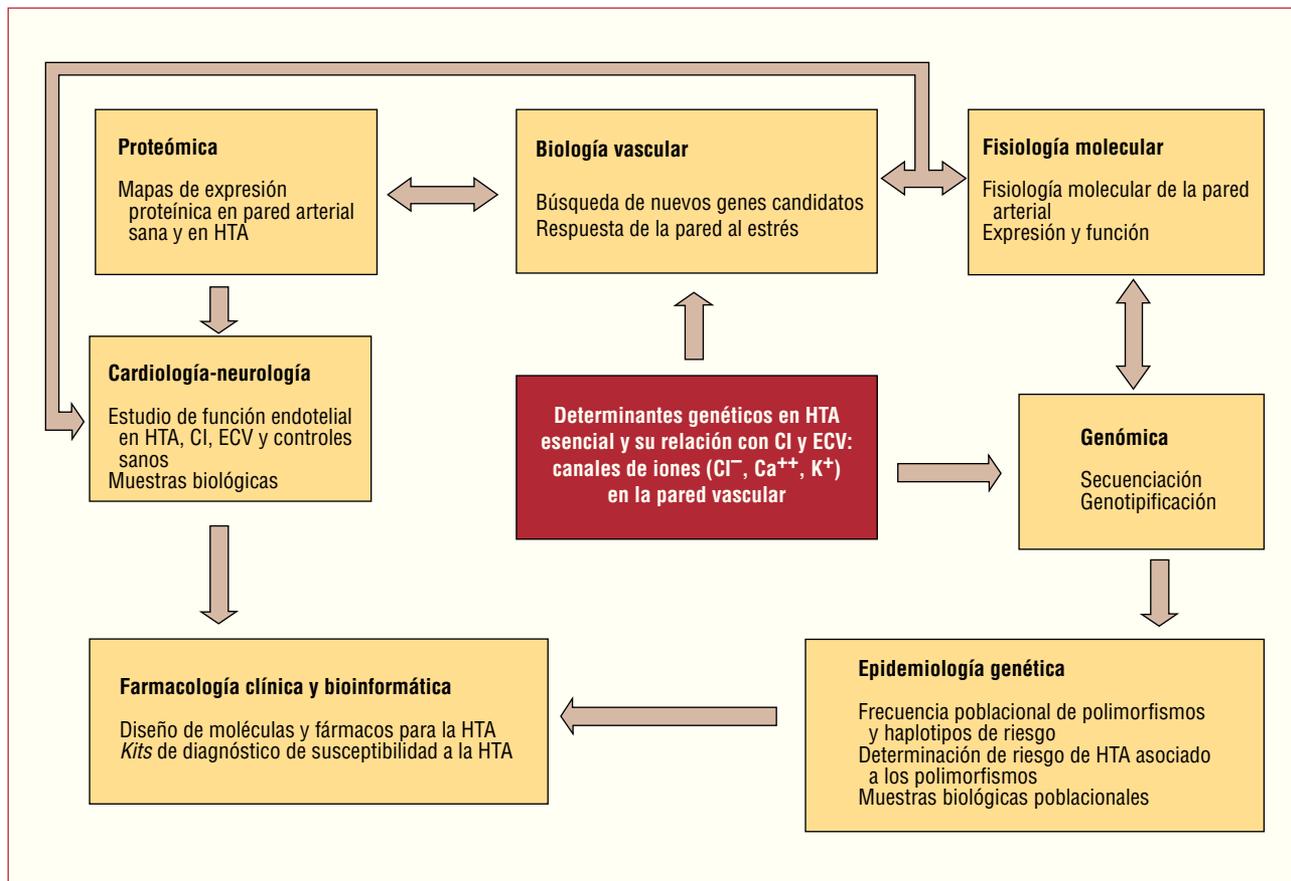
El objetivo central se ha desglosado en cuatro tipos de acciones estratégicas:

1. El estudio de tres grandes familias de canales de iones, cuya participación en la fisiología vascular ya se

**TABLA 1. Relación de grupos participantes y sus investigadores principales en la Red HERACLES en 2007**

Grupo y comunidad autónoma	Acronimo	Investigador principal
Unitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, Cataluña	ULEC-IMIM	Jaume Marrugat
Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos, Madrid	HCSC	Antonio López-Farré
Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona, Cataluña	HCP-IDIBAPS	Magdalena Heras
Instituto de Biología y Genética Molecular, Universidad de Valladolid y CSIC, Valladolid, Castilla y León	IBGM-UVA	José Ramón López
Universidad Complutense, Madrid	UCM	Juan L. Tamargo
Servicio de Neurología, Hospital del Mar, Barcelona, Cataluña	NEURO-MAR	Jaume Roquer
Unidad de Canalopatías-Universidad Pompeu Fabra, Barcelona, Cataluña	UNICA-UPF	Miguel Ángel Valverde
Laboratorio de Diseño de Fármacos Asistido por Ordenador-Unitat de Recerca en Informàtica Biomèdica, Cataluña	GRIB	Manuel Pastor
Fundación Investigación del Clínico y Universidad de Valencia, Valencia	FICUV	Carlos Hermenegildo
Universidad de Granada, Andalucía	UGR	Juan Manuel Duarte
Instituto de Ciencias de la Salud de Castilla-La Mancha, Talavera de la Reina, Castilla-La Mancha	ICSCM*	Antonio Segura

\*Grupo Clínico Asociado.



**Fig. 2.** Interacciones que se desprenden de la acción colaborativa, multidisciplinaria y coordinada de la Red HERACLES en torno a su tema central en los mecanismos de la hipertensión arterial esencial. CI: cardiopatía isquémica; ECV: enfermedades cardiovasculares; HTA: hipertensión arterial.

ha demostrado, bien por alguno de los grupos integrantes de esta red, bien por otros investigadores.

- Canales de  $K^+$  dependientes de  $Ca^{2+}$  (KCNN) y dependientes de voltaje (Kv), ambos muy importantes en la hiperpolarización del potencial de membrana y, por tanto, en la disminución de la excitabilidad y el tono del músculo liso arterial.

- Canales catiónicos TRP. Los canales del tipo TRP han adquirido recientemente gran protagonismo en el control del  $Ca^{2+}$  intracelular, y es de especial interés para este proyecto su implicación en la fisiología del endotelio (donde estarían implicados en la liberación de factores relajantes) y del músculo liso vascular (donde se implicarían en la contracción y la proliferación).

- Canales de  $Cl^-$  dependientes de  $Ca^{2+}$ . Estos canales participan en la despolarización (y consiguiente contracción) del músculo liso en respuesta a diferentes agonistas. A diferencia de los otros canales, cuyas bases moleculares están bien caracterizadas, tan sólo se conoce dos candidatos, el ClCa y las bestrofinas, que aparentemente contribuyen a la arquitectura molecular de estos canales.

2. Estudio de los mapas de expresión proteínica en plasma y tejido cardiovascular, tanto en individuos sanos

como en pacientes con diferentes afecciones cardiovasculares, y su relevancia en el tratamiento farmacológico.

3. Estudios del efecto y mecanismos de acción de sustancias orgánicas (flavonoides) en las dianas vasculares implicadas en el transporte iónico y la respuesta al estrés oxidativo.

4. Identificación de los fenotipos clínicos extremos y búsqueda de marcadores biológicos de riesgo, pronóstico y respuesta al tratamiento.

En la figura 2 se esquematizan las interacciones que se desprenden de la acción colaborativa, multidisciplinaria y coordinada de la Red HERACLES en torno a su tema central en los mecanismos de la HTA esencial.

Para optimizar los recursos materiales y humanos disponibles y hacer operativas las acciones de la red, se ha diseñado un conjunto de programas horizontales necesarios para dar servicio a todos los grupos de la red y alcanzar los objetivos generales de este plan estratégico, que se desprenden de las principales líneas de investigación. Huelga decir que estos objetivos generales se van concretando en proyectos específicos en los que participan los grupos implicados en la línea y para los que se va solicitando financiación a los organismos que convocan ayudas para investiga-

ción autonómicos, españoles, europeos e internacionales en general.

## RESULTADOS

Originalmente, en 2003, la Red HERACLES era de grupos, por lo que iba asociada a un proyecto de investigación y la producción científica en la que se reconoce la contribución de la financiación de la red es importante. Desde su inicio, la actividad de la red ha conducido a la publicación de más de 60 trabajos en revistas internacionales de alto impacto<sup>6,7,14-70</sup> (que se puede consultar en <http://www.redheracles.net>), la financiación de más de 90 proyectos competitivos nacionales (de los que destaca uno de los concedidos a la red para el Biobanco ADN por el Banco Nacional de ADN) y la participación en 6 internacionales.

### Canales iónicos

En la primera fase de la existencia de la red se trabajó con éxito en el estudio genético y funcional de las dos subunidades que forman el canal de potasio MaxiK<sup>+</sup>. El proyecto permitió establecer que una característica genética de dicho canal se asociaba a menor probabilidad de tener hipertensión<sup>7</sup>. También ha estado relacionada con el funcionamiento de los canales en la membrana del músculo liso arterial la aportación de nuestra red a la caracterización del fenotipo contráctil y proliferante del músculo liso arterial y el papel que los canales de potasio Kv desempeñan en dicho proceso<sup>16</sup>.

Mediante análisis genético en una población representativa de casi 4.000 individuos de la provincia de Girona, se identificó un polimorfismo genético, presente en el 20% de las personas estudiadas, que conlleva un cambio en la secuencia de la subunidad  $\beta_1$  humana (KCNMB1) del canal MaxiK<sup>+</sup> (de ácido glutámico a lisina en la posición 65, E65K), el cual está asociado a un menor riesgo de padecer hipertensión diastólica moderada y severa en la población estudiada. Nuestro análisis funcional demuestra que el polimorfismo E65K supone un aumento en la sensibilidad al Ca<sup>2+</sup> y al voltaje del canal MaxiK<sup>+</sup> (ganancia de función) que favorecería el estado de relajación arterial y explicaría así el efecto protector contra la hipertensión diastólica moderada-severa<sup>7</sup>. Un estudio posterior demostró la modulación por edad y sexo sobre el efecto protector del polimorfismo E65K contra la hipertensión diastólica: nuestros resultados indican que la asociación del polimorfismo E65K con un menor riesgo de hipertensión diastólica moderada-severa sólo se observa en mujeres de edades avanzadas (posiblemente menopáusicas). No obstante, estudios funcionales demuestran que este dimorfismo sexual asociado a la edad del efecto protector contra la hipertensión que ofrece la mutación E65K es independiente de la modu-

lación aguda por estrógenos de la actividad del canal MaxiK<sup>+</sup>, tanto de forma directa (por la unión de estrógenos al canal) como indirecta (vía fosforilación del canal por proteincinasa dependiente de GMP cíclico). Además, el seguimiento clínico durante 5 años de parte de la población estudiada indica también un claro efecto protector del polimorfismo E65K contra enfermedades cardiovasculares (infarto de miocardio y accidente cerebrovascular)<sup>16</sup>. En la actualidad, nuestro estudio se ha continuado con la caracterización de nuevas variantes genéticas identificadas en el gen *KCNMA1* (que codifica la subunidad alfa del canal MaxiK<sup>+</sup>) y su asociación con las enfermedades cardiovasculares.

Otro punto especialmente interesante en el contexto de la fisiología del músculo liso vascular es la caracterización del patrón de expresión de los Kv en células musculares lisas de arteria uterina humana tanto en el ARN mensajero como en las proteínas y su contribución funcional a la excitabilidad celular mediante estudios electrofisiológicos y farmacológicos. Los resultados indican la existencia de un cambio importante tanto en el perfil de expresión de los Kv como en las propiedades electrofisiológicas de las células en respuesta al cambio fenotípico. De forma llamativa, la desdiferenciación se asocia con un aumento en la expresión y la contribución funcional del Kv3.4. Además, el bloqueo en la expresión de este canal lleva a una disminución de la velocidad de proliferación celular. Estos resultados indican que el Kv3.4 puede ser un factor involucrado en la proliferación del músculo liso vascular, y por tanto puede ser una diana terapéutica para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la hiperplasia intimal como la arteriosclerosis, la HTA y la reestenosis tras angioplastia<sup>17</sup>.

### Disfunción endotelial

Se han realizado estudios de citotoxicidad mediada por estrés oxidativo con péptido betaamiloide (PBA) y peróxido de hidrógeno en distintos tipos celulares de la vasculatura humana. La toxicidad inducida por ambos tóxicos en el endotelio vascular fue completamente revertida en presencia de un análogo soluble de la vitamina E. Dicha toxicidad se revirtió con betaestradiol en miocitos vasculares y neuronas, pero no en el endotelio. La falta de protección del endotelio parece deberse al aumento en la producción de NO y la consecuente nitrotirosinación de proteínas celulares en presencia de estradiol y una situación prooxidante.

El estudio MERCED (MENopausia y Raloxifeno en la Cardiopatía isquémica: Efecto en la Disfunción endotelial) es un ensayo clínico en fase IV, multicéntrico y nacional, con el objetivo de analizar el efecto del tratamiento con raloxifeno en la función endotelial en la circulación periférica y los marcadores biológicos de inflamación y riesgo trombotico. La administración de

raloxifeno no indujo ningún efecto significativo en la vasodilatación dependiente del endotelio y la independiente. En cuanto a los marcadores de trombosis, el raloxifeno originó cambios en la cantidad de fibrinógeno, la generación de trombina y la fibrinólisis. Asimismo, se ha observado cambios en la cantidad de CD40. En las mujeres con el alelo K del polimorfismo E65 del gen *KCNMB1*, se observó un incremento de la actividad fibrinolítica. En general, el tratamiento con raloxifeno cambia el perfil de riesgo trombótico en una población de mujeres posmenopáusicas con enfermedad coronaria de alto riesgo.

### Proteómica

Otra gran área de investigación de la Red HERACLES consistió en el desarrollo del mapa proteómico en pacientes durante el síndrome coronario, así como estudiar el efecto de los estrógenos en el mapa proteómico del endotelio y el músculo liso vascular expuestos a situaciones de estrés oxidativo<sup>17,18</sup>.

### Patentes

Cabe destacar aquí que, fruto del trabajo de la red, se depositó la primera patente mundial relacionada con un posible *kit* diagnóstico relacionado con los hallazgos de la publicación sobre el polimorfismo del gen *KCNMB1*<sup>7</sup>, «Método y *kit* para la detección del riesgo de padecer hipertensión» (solicitud de patente presentada el 29 de marzo de 2004; instancia n.º 200400883). Se trata de un método de pronóstico o diagnóstico de la hipertensión esencial en humanos, que comprende la detección de la presencia o la ausencia del polimorfismo en el gen *KCNMB1*. Se proporcionan métodos, compuestos y *kits* para el diagnóstico y el pronóstico de la hipertensión esencial en humanos.

### REFLEXIONES FINALES

Sigue sin conocerse la identidad de variantes genéticas potencialmente implicadas en el desarrollo de la HTA esencial. Esto es especialmente importante, puesto que la comprensión de los mecanismos moleculares de la hipertensión puede proporcionar, además de una ayuda inestimable en el diagnóstico precoz de una enfermedad que afecta a más del 30% de la población adulta, nuevas herramientas farmacológicas más específicas. Dichas aproximaciones irán en línea de favorecer la instauración de tratamientos antihipertensivos individualizados que contribuyan a la reducción del riesgo de morbimortalidad por enfermedad cardiovascular.

En cualquier caso, el estudio de genes candidatos y de *genome-wide scan association* relacionados con los mecanismos propuestos en la Red HERACLES es una de las principales aproximaciones al estudio de los factores que determinan una PA anormalmente alta.

Desde hace algunos años, la atención se ha centrado primordialmente en los *loci* encargados del control del ion Na<sup>+</sup>. Más recientemente, nuevos datos funcionales sobre el angiotensinógeno han añadido ciertas evidencias al papel de la aldosterona y de los canales de sodio en la regulación de la PA. Todos ellos han representado mínimos avances en la explicación de la hipertensión esencial, causa de buena parte de la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares.

El estudio de los genes que operan en la pared de las arterias que condicionan la resistencia periférica y, en última instancia, el tono vascular es el principal objetivo de la propuesta de creación de esta red de grupos. El punto de partida operativo es que existe suficiente documentación que involucra a unos canales iónicos, los canales MaxiK<sup>+</sup>, en una función reguladora del tono vasomotor de gran importancia. La inclusión en el presente proyecto del estudio molecular de otros canales iónicos implicados en el tono vascular, así como del posible papel de factores genéticos relacionados con la expresión de receptores estrogénicos, amplía considerablemente el número de potenciales candidatos a participar en la patogenia de la hipertensión esencial. En este sentido, la caracterización de posibles variantes genéticas que modifiquen el buen funcionamiento de estos canales puede suponer un avance importante en el conocimiento de las bases moleculares de la fisiopatología de la hipertensión. Sin olvidar que se trata de moléculas muy susceptibles a su interacción con estrógenos y, posiblemente, con factores farmacológicos y ambientales, lo que amplía sustancialmente el ámbito de su interés.

La proteómica es otra área importante que nos ayuda a avanzar en el conocimiento de los mecanismos moleculares implicados en la génesis y el desarrollo de afecciones tales como la HTA, la isquemia miocárdica y la fibrilación auricular o incluso para conocer cómo se modifica el proteoma en una población según sus factores de riesgo cardiovascular o sus hábitos de vida.

Dentro de esta área, también es importante destacar la farmacoproteómica, con la que podemos identificar modificaciones en el mapa de expresión proteínica del plasma o de diferentes células al tratar farmacológicamente a los pacientes. Esto nos ayuda, por ejemplo, a conocer mecanismos pleiotrópicos de los fármacos. Un ejemplo de ello es un trabajo realizado en colaboración por tres grupos de la red en el que identificaron modificaciones en el proteoma del plasma de pacientes con hipercolesterolemia moderada tras el tratamiento con una estatina<sup>19</sup>. También la farmacoproteómica nos ayuda a identificar biomarcadores de mejor o peor respuesta farmacológica. Como ejemplo, este mismo año dentro de la red se ha identificado un biomarcador de respuesta a la inhibición de la actividad plaquetaria por la aspirina en pacientes con isquemia miocárdica establecida<sup>21</sup>.

En la Red HERACLES, la generación de nuevo conocimiento se potenciará con la posibilidad de aplica-

ción con el desarrollo de métodos de cribado genético y nuevos fármacos hipotensores en colaboración con empresas del sector farmacéutico. La asociación entre la empresa y el mundo académico en el ámbito de la farmacología y el diseño de nuevos fármacos son una prioridad en los países desarrollados que desean mantener la competitividad de sus economías. Esta asociación promueve la investigación traslacional creando un clima favorable para que las empresas se incorporen a la cultura de la innovación tecnológica que incrementa su competitividad. Esto permitirá rentabilizar el esfuerzo de los investigadores involucrados en áreas de investigación aplicada mediante patentes.

En resumen, la Red Cardiovascular HERACLES de Grupos cumple ampliamente los criterios necesarios para el abordaje multidisciplinario de un problema de salud tan complejo e importante como la HTA esencial: cardiólogos, neurólogos, biólogos vasculares, fisiólogos moleculares, epidemiólogos, bioquímicos y genetistas, entre otros, trabajan coordinadamente para identificar los genes y las proteínas relacionados con los canales iónicos. El objetivo consiste en desarrollar nuevas estrategias farmacológicas en pacientes con HTA y enfermedades que se derivan de ella, como la cardiopatía isquémica y las enfermedades cerebrovasculares. Además, las líneas de la farmacogenómica y la proteogenómica permitirán identificar el tratamiento hipotensor selectivo más eficaz y con menos efectos adversos que mejor se adapte a las características genéticas de cada paciente.

## INVESTIGADORES Y MIEMBROS DE LA RED HERACLES

*Unitat de Lípids i Epidemiologia Cardiovascular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica-Hospital del Mar, Barcelona:* Jaume Marrugat (Coordinador de la Red, IP), Mariano Sentí, Marta Tomás. Contratados por la Red: Gavin Lucas, Susanna Tello, Anna Blasco. Colaboradores de la Red: Yolanda Ferrer, Roberto Elo-sua, Oscar Bielsa, Octavio Arango.

*Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos, Madrid:* Antonio López-Farré (IP), Rosa Ana Hernández, Fernando Alfonso, Luis A. Rico, Antonio Fernández, María Marqués, Juan J. González, Luis Azcona, Petra J. Mateos-Cáceres. Contratados por la Red: Sergio Alonso, M. Teresa Pérez de Prada.

*Hospital Clínic-Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, Barcelona:* Magdalena Heras (IP), Xavier Bosch, Amadeu Betriu, José L. Pomar, Mercè Roqué, Marta Sitges, Ana P. Dantas. Contratados por la Red: Noemi Bellido, Laura Novença, María A. Eliana. Colaboradores de la Red: Montserrat Rigol, Núria Solanes.

*Instituto de Biología y Genética Molecular, Universidad de Valladolid y CSIC, Valladolid:* José R. López (IP), M. Teresa Pérez, Pilar Cid. Contratados por la

Red: Eduardo M. Velado, Esperanza Alonso. Colaboradores de la Red: Olaia Colinas, Alejandro Moreno.

*Universidad Complutense de Madrid:* Juan L. Tamargo (IP), Eva Delpón, Ricardo Caballero. Contratados por la Red: Ariadna Ferret, Adriana Barana, Irene Amorós. Colaboradores de la Red: Lucía Núñez, Ricardo Gómez, Miguel Vaquero, Francisco Pérez Vizcaíno, Ángel Cogolludo.

*Servicio de Neurología, Hospital del Mar, Barcelona:* Jaume Roquer (IP), Ana Rodríguez, Meritxell Gomis, Ángel J. Ois, José E. Martínez, Jordi Jiménez. Contratados por la Red: Elisa Cuadrado, Eva García-Ramallo. Colaboradores de la Red: Gemma Romeral.

*Unidad de Canalopatías, Universidad Pompeu Fabra, Barcelona:* Miguel A. Valverde (IP), Francisco J. Muñoz y José M. Fernández-Fernández. Contratados por la Red: Francisca Rubio y César Fandós.

*Laboratorio de Diseño de Fármacos Asistido por Ordenador, Unitat de Recerca en Informàtica Biomèdica, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona:* Manuel Pastor (IP), Ismael Zamora, Nuria B. Centeno. Contratados por la Red: Jana Selent.

*Fundación Investigación del Clínico de Valencia y Universidad de Valencia:* Carlos Hermenegildo (IP), Juan J. Tarín, Elena Monsalve. Contratados por la Red: Susanna Novella, Begoña Pineda. Colaboradores de la Red: Pilar J. Oviedo, Andrés Laguna, Agua Sobrino.

*Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada:* Juan M. Duarte (IP), Milagros Galisteo, Rosario Jiménez. Contratados por la Red: Manuel Sánchez, María J. Zarzuelo. Colaboradores de la Red: Miguel Romero, Rocío López-Sepúlveda.

*Instituto de Ciencias de la Salud de Castilla-La Mancha, Talavera de la Reina (Grupo Clínico Asociado):* Antonio Segura (IP), José M. García.

## Investigadores del comité evaluador externo

Dr. Ginés Sanz, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona-IDIBAPS y Centro Nacional de Investigación Cardiovascular, Barcelona, España.

Dr. Eduardo Marban (editor de *Circulation Research*), The Johns Hopkins University, Baltimore, Estados Unidos.

Dr. Christopher J. O'Donnell, Framingham Heart Study, National Institutes of Health, Boston, Estados Unidos.

Dr. Francisco Sánchez-Madrid, Centro Nacional de Investigación Cardiovascular, Madrid, España.

Dra. Silvia G. Priori, Universidad de Milán, Centro Fisiología Clínica e Ipertensione, Milán, Italia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística (INE). Disponible en: <http://www.ine.es> [citado 11 Jul 2007].

2. Marrugat J, Elosua R, Martí E. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España: estimación del número de casos y de las tendencias entre 1997 y 2005. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:337-46.
3. Medrano MJ, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodríguez M. Factores de riesgo cardiovascular en la población española: metaanálisis de estudios transversales. *Med Clin (Barc)*. 2005;124:606-12.
4. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, et al. National Heart, Lung, and Blood Institute, Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure and National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72.
5. Marín R, De la Sierra A, Armario P, Campo C, Banegas JR, Gorostidi M; Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LEHLA). 2005 Spanish Guidelines in diagnosis and treatment of arterial hypertension. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:24-34.
6. Grau M, Subirana I, Elosua R, Solanas P, Ramos R, Masía R, et al, on behalf of the REGICOR Investigators. Trends in cardiovascular risk factor prevalence (1995-2000-2005) in Northeastern Spain. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14:653-9.
7. Fernández-Fernández JM, Tomás M, Vázquez-Gómez E, Orio P, Latorre R, Sentí M, et al. Gain-of-function mutation in the KCNMB1 potassium channel subunit is associated with low prevalence of diastolic hypertension. *J Clin Invest*. 2004;113:1032-9.
8. López-Farré A, Caramelo C, Esteban A, Alberola ML, Montón M, Millás I, et al. Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions. Role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation*. 1995;91:2080-8.
9. Hobbs AJ, Iguarro LJ. Nitric oxide-cyclic GMP signal transduction system. *Methods Enzymol*. 1996;268:134-48.
10. Jeong SY, Ha TS, Park CS, Uhm DY, Chung S. Nitric oxide directly activates large conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels. *Mol Cells*. 2001;12:97-102.
11. Mendelsohn ME, Karas RH. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 1999;340:1801-11.
12. Grady D, Hulley S. Hormones to prevent coronary disease in women: when are observational studies adequate evidence? *Ann Intern Med*. 2000;133:999-1001.
13. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, Black H, et al. Women's Health Initiative Steering Committee. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2004;291:1701-12.
14. Espeland MA, Rapp SR, Shumaker SA, Brunner R, Manson JE, Sherwin BB, et al; Women's Health Initiative Memory Study. Conjugated equine estrogens and global cognitive function in postmenopausal women: Women's Health Initiative Memory Study. *JAMA*. 2004;291:2959-68.
15. Sentí M, Fernández-Fernández JM, Tomás M, Vázquez E, Elosua R, Marrugat J, et al. Association of a mutation in the KCNMB1 potassium channel subunit gene with protection against diastolic hypertension, stroke and coronary heart disease. *Circ Res*. 2005;97:1360-5.
16. Miguel-Velado E, Moreno-Domínguez A, Colinas O, Ciudad P, Heras M, Pérez-García MT, et al. Contribution of Kv channels to phenotypic remodeling of human uterine artery smooth muscle cells. *Circ Res*. 2005;97:1280-7.
17. Matéos-Cáceres PJ, García-Méndez A, López-Farré A, Macaya C, Nuñez A, Gómez J, et al. Proteomic analysis of plasma from patients during an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1578-83.
18. Molero L, García-Méndez A, Alonso-Organza S, Carrasco C, Macaya C, López-Farré A. Proteomic approach to identify changes in protein expression modified by 17  $\beta$ -estradiol in bovine vascular smooth muscle cells. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109:457-63.
19. Alonso-Organza S, Moreno L, Macaya C, Rico L, Jimenez Mateos-Cáceres P, Sacristán D, et al. Proteomic study of plasma from moderate hypercholesterolemic patients. *J Proteome Res*. 2006;5:2301-8.
20. López-Farré A, Mateos-Cáceres PJ, Sacristán D, Azcona L, Bernardo E, Perez de Prada T, et al. Relationship between vitamin D binding protein and aspirin resistance in coronary ischaemic patients: a proteomic study. *J Proteome Res*. 2007;6:2481-7.
21. Roquer J, Rodríguez-Campello A, Gomis M, Ois A, Martínez-Rodríguez JE, Munteis E, et al. Comparison of the impact of atrial fibrillation on the risk of early death after stroke in women versus men. *J Neurol*. 2006;253:1484-9.
22. Manresa JM, Zamora A, Tomas M, Senti M, Fito M, Covas MI, et al. Relationship of classical and non-classical risk factors with genetic variants relevant to coronary heart disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2006;13:738-44.
23. Nunez L, Vaquero M, Gomez R, Caballero R, Mateos-Caceres P, Macaya C, et al. Nitric oxide blocks hKv1.5 channels by S-nitrosylation and by a cyclic GMP-dependent mechanism. *Cardiovasc Res*. 2006;72:80-9.
24. Munoz MA, Rohlfis I, Masuet S, Rebato C, Cabanero M, Marrugat J; ICAR Study Group. Analysis of inequalities in secondary prevention of coronary heart disease in a universal coverage health care system. *Eur J Public Health*. 2006;16:361-7.
25. Martínez-Rodríguez JE, Munteis E, Roquer J. Periodic hyperthermia and abnormal circadian temperature rhythm in a patient with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2006;12:515-7.
26. Segura-Bruna N, Rodríguez-Campello A, Puente V, Roquer J. Valproate-induced hyperammonemic encephalopathy. *Acta Neurol Scand*. 2006;114:1-7.
27. Munteis E, Andreu M, Tellez MJ, Mon D, Ois A, Roquer J. Anorectal dysfunction in multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2006;12:215-8.
28. Molero L, Carrasco C, Marques M, Vaziri ND, Mateos-Cáceres PJ, Casado S, et al. Involvement of endothelin and endothelin-1 in lead-induced smooth muscle cell dysfunction in rats. *Kidney Int*. 2006;69:685-90.
29. Martí-Fabregas J, Cocho D, Martí-Vilalta JL, Gich I, Belvis R, Bravo Y, et al. Aspirin or anticoagulants in stenosis of the middle cerebral artery: A randomized trial. *Cerebrovasc Dis*. 2006;22:162-9.
30. Sala J, Rohlfis I, García MM, Masía R, Marrugat J. Impacto de la actividad frente a los síntomas en la mortalidad temprana por infarto de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2005;58:1396-402.
31. Roquer J, Rodríguez Campello A, Gomis M, Ois A, Munteis E, Bohm P. Serum lipid levels and in-hospital mortality in patients with intracerebral hemorrhage. *Neurology*. 2005;65:1198-202.
32. Sitges M, Leivas A, Heras M, Ferrer E, Roque M, Viles D, et al. Short-term transdermal estradiol enhances nitric oxide synthase III and estrogen receptor mRNA expression in arteries of women with coronary artery disease. *Int J Cardiol*. 2005;105:74-9.
33. Molero L, Lopez-Farre A, Mateos-Caceres PJ, Fernandez-Sanchez 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.
34. Kaab S, Miguel-Velado E, Lopez-Lopez JR, Perez-Garcia MT. Down regulation of Kv3.4 channels by chronic hypoxia increases acute oxygen sensitivity in rabbit carotid body. *J Physiol*. 2005;566:395-408.
35. Ganfornina MD, Perez-Garcia MT, Gutierrez G, Miguel-Velado E, Lopez-Lopez JR, Marin A, et al. Comparative gene expression profile of mouse carotid body and adrenal medulla under physiological hypoxia. *J Physiol*. 2005;566:491-503.
36. Carrasco-Martin C, Alonso-Organza S, De la Pinta JC, Marques M, Macaya C, Barrientos A, et al. Endothelial hypoxic preconditioning in rat hypoxic isolated aortic segments. *Exp Physiol*. 2005;90:557-69.
37. Roquer J, Rodríguez Campello A, Gomis M, Ois A, Puente V, Munteis E. Previous antiplatelet therapy is an independent predictor of 30-day mortality after spontaneous supratentorial intracerebral hemorrhage. *J Neurol*. 2005;252:412-6.
38. Escribano-Burgos M, Lopez-Farre A, Gonzalez MM, Macaya C, Garcia-Mendez A, Mateos-Caceres PJ, et al. Effect of C-reactive

- protein on Pcgamma receptor II in cultured bovine endothelial cells. *Clin Sci (Lond)*. 2005;108:85-91.
39. Munoz MA, Manresa JM, Espinasa J, Marrugat J. Association of time elapsed since the last coronary event with health services utilization. *Eur J Epidemiol*. 2005;20:221-7.
  40. Arniges M, Vazquez E, Fernandez-Fernandez JM, Valverde MA. Swelling-activated Ca<sup>2+</sup> entry via TRPV4 channel is defective in cystic fibrosis airway epithelia. *J Biol Chem*. 2004;279:54062-8.
  41. Perez-Garcia MT, Colinas O, Miguel-Velado E, Moreno-Dominguez A, Lopez-Lopez JR. Characterization of the Kv channels of mouse carotid body chemoreceptor cells and their role in oxygen sensing. *J Physiol*. 2004;557:457-71.
  42. Tomas M, Latorre G, Senti M, Marrugat J. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la arteriosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57:557-69.
  43. Manresa JM, Tomas M, Ribes E, Pi-Figueras M, Aguilera A, Senti M, et al. Polimorfismo 192 del gen de la paraoxonasa 1, actividad física y lipoproteínas de alta densidad en la mujer. *Med Clin (Barc)*. 2004;122:126-9.
  44. Elosua R, Vega G, Rohlfis I, Aldasoro E, Navarro C, Cabades A, et al; on behalf of the IBERICA investigators. Smoking and myocardial infarction case-fatality: hospital and population approach. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007;14:561-7.
  45. Comin E, Solanas P, Cabezas C, Subirana I, Ramos R, Gene-Badia J, et al. Rendimiento de la estimación del riesgo cardiovascular en España mediante la utilización de distintas funciones. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:693-702.
  46. Munoz MA, Vila J, Cabanero M, Rebato C, Subirana I, Sala J, et al; ICAR (Intervencion en la Comunidad de Alto Riesgo cardiovascular) investigators. Efficacy of an intensive prevention program in coronary patients in primary care, a randomised clinical trial. *Int J Cardiol*. 2007;118:312-20.
  47. Marrugat J, Arboix A, Garcia-Eroles L, Salas T, Vila J, Castell C, et al. Estimación de la incidencia poblacional y la mortalidad de la enfermedad cerebrovascular establecida isquémica y hemorrágica en 2002. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:573-80.
  48. Gil M, Martí H, Elosua R, Grau M, Sala J, Masia R, et al. Análisis de la tendencia en la letalidad, incidencia y mortalidad por infarto de miocardio en Girona entre 1990 y 1999. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:349-56.
  49. Marrugat J, Subirana I, Comin E, Cabezas C, Vila J, Elosua R, et al; VERIFICA Investigators. Validity of an adaptation of the Framingham cardiovascular risk function: the VERIFICA Study. *J Epidemiol Community Health*. 2007;61:40-7.
  50. Ortega A, Perez de Prada MT, Mateos-Caceres PJ, Ramos Mozo P, Gonzalez-Armengol JJ, Gonzalez Del Castillo JM, et al. Effect of parathyroid-hormone-related protein on human platelet activation. *Clin Sci (Lond)*. 2007;113:319-27.
  51. Lopez-Farre AJ, Mateos-Caceres PJ, Sacristan D, Azcona L, Bernardo E, De Prada TP, et al. Relationship between vitamin D binding protein and aspirin resistance in coronary ischemic patients: a proteomic study. *J Proteome Res*. 2007;6:2481-7.
  52. Vaquero M, Caballero R, Gomez R, Nunez L, Tamargo J, Delpon E. Effects of atorvastatin and simvastatin on atrial plateau currents. *J Mol Cell Cardiol*. 2007;42:931-45.
  53. Tamargo J, Caballero R, Gomez R, Nunez L, Vaquero M, Delpon E. Lipid-lowering therapy with statins, a new approach to antiarrhythmic therapy. *Pharmacol Ther*. 2007;114:107-26.
  54. Ois A, Cuadrado-Godia E, Jimenez-Conde J, Gomis M, Rodriguez-Campello A, Martinez-Rodriguez JE, et al. Early arterial study in the prediction of mortality after acute ischemic stroke. *Stroke*. 2007;38:2085-9.
  55. Martinez-Rodriguez JE, Cadavid D, Wolansky LJ, Pliner L, Cook SD. Cladribine in aggressive forms of multiple sclerosis. *Eur J Neurol*. 2007;14:686-9.
  56. Jimenez-Conde J, Ois A, Rodriguez-Campello A, Gomis M, Roquer J. Does sleep protect against ischemic stroke? less frequent ischemic strokes but more severe ones. *J Neurol*. 2007;254:782-8.
  57. Roquer J, Ois A, Rodriguez-Campello A, Gomis M, Munteis E, Jimenez-Conde J, et al. Atherosclerotic burden and early mortality in acute ischemic stroke. *Arch Neurol*. 2007;64:699-704.
  58. Martí-Fabregas J, Bravo Y, Cocho D, Martí-Vilalta JL, Diaz-Manera J, San Roman L, et al. Frequency and predictors of symptomatic intracerebral hemorrhage in patients with ischemic stroke treated with recombinant tissue plasminogen activator outside clinical trials. *Cerebrovasc Dis*. 2007;23:85-90.
  59. Porta S, Serra S, Huch M, Valverde MA, Llorens F, Estivill X, et al. RCAN1 (DSCR1) increases neuronal susceptibility to oxidative stress: a potential pathogenic process in neurodegeneration. *Hum Mol Genet*. 2007;16:1039-50.
  60. Coma M, Guix FX, Ill-Raga G, Uribealago I, Alameda F, Valverde MA, et al. Oxidative stress triggers the amyloidogenic pathway in human vascular smooth muscle cells. *Neurobiol Aging*. 2007; PMID: 17306421 [Epub ahead of print].
  61. Sanchez M, Lodi F, Vera R, Villar IC, Cogolludo A, Jimenez R, et al. Quercetin and isorhamnetin prevent endothelial dysfunction, superoxide production, and overexpression of p47phox induced by angiotensin II in rat aorta. *J Nutr*. 2007;137:910-5.
  62. Jimenez R, Lopez-Sepulveda R, Kadmiri M, Romero M, Vera R, Sanchez M, et al. Polyphenols restore endothelial function in DOCA-salt hypertension: role of endothelin-1 and NADPH oxidase. *Free Radic Biol Med*. 2007;43:462-73.
  63. Galisteo M, Duarte J, Zarzuelo A. Effects of dietary fibers on disturbances clustered in the metabolic syndrome. *J Nutr Biochem*. 2007;doi:10.1016/j.jnutbio.2007.02.009
  64. Vera R, Jimenez R, Lodi F, Sanchez M, Galisteo M, Zarzuelo A, et al. Genistein restores caveolin-1 and AT-1 receptor expression and vascular function in large vessels of ovariectomized hypertensive rats. *Menopause*. 2007;14:1-7.
  65. Lopez-Lopez JR, Perez-Garcia MT. Oxygen sensitive Kv channels in the carotid body. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007;157:65-74.
  66. Vaquero M, Gómez R, Núñez L, Caballero R, Delpón E, Barana A, et al. Ivabradina, un bloqueador selectivo de la corriente If. Aspectos farmacológicos y tolerabilidad. *Rev Esp Cardiol*. 2007; 7 Supl:D32-45.
  67. Bragulat E, López B, Miró O, Coll-Vinent B, Jiménez S, Aparicio MJ, et al. Análisis de la actividad de una unidad estructural de dolor torácico en un servicio de urgencias hospitalario. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:276-84.
  68. Roquer J, Ois A, Rodríguez-Campello A, Gomis M, Munteis E, Jiménez-Conde J, et al. Clustering of vascular risk factors and in-hospital death after acute ischemic stroke. *J Neurol* [en prensa].
  69. Ois A, Gomis M, Cuadrado-Godia E, Jiménez-Conde J, Rodríguez-Campello A, Bruguera J, et al. Heart failure in acute ischemic stroke. *J Neurol* [en prensa].
  70. Ois A, Munteis E, Martínez-Rodríguez JE, Gomis M, Rodríguez-Campello A, Jimenez-Conde J, et al. Steno-occlusive arterial disease and early neurological deterioration in acute ischemic stroke. *Cerebrovasc Dis* [en prensa].