

Proteínas de estrés y enfermedades cardíacas

Miguel ÁLVAREZ LÓPEZ ¹, Elena ESPIGARES RODRÍGUEZ ², Aurora BUENO CAVANILLAS ², Miguel ESPIGARES GARCÍA ²

¹ Servicio de Cardiología. Unidad de Arritmias. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Avda. Fuerzas Armadas, 2. 18012 Granada.

² Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja. 18071 Granada. España. Correo-e: elespi@ugr.es

LAS PROTEÍNAS DE ESTRÉS

Las proteínas de estrés fueron descritas por primera vez en 1962 por Ritossa en células de las glándulas salivares de *Drosophila*, después de ser 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 con peso molecular de 70 y 26 kDa. Estas proteínas fueron llamadas *heat shock proteins* (Hsp).

Son proteínas presentes en todas las células que intervienen en la función de síntesis proteica, uniéndose a las proteínas nacientes para dirigir su plegamiento, lo que garantiza su estructura tridimensional y con ello su funcionamiento correcto. Además son capaces de unirse a péptidos y proteínas dañadas por diversos tipos de agresiones, facilitando su reparación o degradación. Cuando la célula se expone a circunstancias adversas se produce un rápido aumento en las concentraciones de Hsp. Son inducidas en respuesta a un amplio espectro de agresiones fisiológicas y ambientales: infección viral, inflamación, fiebre, exposición de las células a compuestos químicos, citotoxinas, anoxia, shock térmico, pH ácido, etc. Este es un mecanismo de defensa que permite a la célula adaptarse a condiciones anómalas y aumentar su capacidad de supervivencia (BRENNER y WAINBERG, 1999; KIANG y TSOKOS, 1998).

Los diferentes tipos de condiciones que dan lugar a una elevada expresión de genes de shock térmico pueden clasificarse en las 3 categorías que aparecen en la Tabla 1. En cada una de estas categorías, las condiciones indicadas están asociadas con la sobreexpresión de una o más proteínas de shock térmico, debido a que las células han sido sometidas a

cualquier tipo de estrés, lo que nos va a servir como indicador de la magnitud de la agresión (WELCH, 1993; NOLLEN y MORIMOTO, 2002^a). Se ha demostrado inducción mediante agentes tóxicos celulares tales como Cd²⁺, Zn²⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Cr₂O₇²⁻, tetraclorofenol, cloracetamida, arsenito sódico, y 1-cloro-2,4-dinitrobenceno a concentraciones subletales, teniendo interés esta respuesta por su aplicación como biotest de ecotoxicidad (MOLINA y cols., 2002; BIERKENS, 2000; ÖDBERG-FERRAGUT y cols., 1991).

Tabla 1. Diferentes condiciones que inducen la expresión de Hsp (KIANG y TSOKOS, 1998).

CONDICIONES FISIOLÓGICAS	CONDICIONES PATOLÓGICAS	CONDICIONES AMBIENTALES
Ciclo celular	Infección producida por virus, bacterias y parásitos	Shock térmico
Factores de crecimiento	Fiebre	Metales pesados
Diferenciación celular	Inflamación	Inhibidores metabólicos
Desarrollo tisular	Isquemia-reperfusion	Antibióticos
Estimulación hormonal	Autoinmunidad	Radiación

Hoy se sabe que los mecanismos que conducen a la apoptosis y a la respuesta frente al estrés están unidos. Las condiciones que inducen la respuesta al estrés pueden conducir a la apoptosis o necrosis, en función de la intensidad y duración del estrés. El balance entre las proteínas que inducen o inhiben la apoptosis determinará si esta se produce. Además, la exposición celular a un estrés de mediana intensidad, suficiente para inducir la expresión y acumulación de Hsp, protege frente a posteriores exposiciones a otros tipos de estrés letales por sí solos (JOLLY y MORIMOTO, 2000).

Se consideran diversas familias de proteínas de estrés (Tabla 2).

Tabla 2. Diferentes familias de proteínas de estrés. Localización y función celular (POCKLEY, 2003)		
FAMILIA	LOCALIZACIÓN	FUNCIÓN CELULAR
Hsp 100	Citoplasma	Replegamiento de proteínas. Termotolerancia
Hsp90	Citoplasma. Retículo endoplasmático.	Previene la agregación de péptidos replegados. Correcto ensamblaje y plegamiento de proteínas nuevamente sintetizadas. Mantenimiento del estado monomérico de HSF1 en condiciones normales.
Hsp70	Núcleo. Citoplasma. Mitocondria. Retículo endoplasmático.	Previene la agregación de péptidos desplegados. Disociación de oligómeros. Actividad ATPasa. Regulación de la actividad de HSF1. Represión de la transcripción de genes del shock térmico.
Hsp60	Mitocondria	Unión parcial a polipéptidos plegados. Correcto plegamiento. Ensamblaje de complejos multiméricos.
Hsp de bajo peso molecular	Citoplasma. Núcleo.	Impide agregación de proteínas. Protección frente a la polimerización.

FUNCIONES DE LAS PROTEÍNAS DE ESTRÉS

Aunque desde el comienzo, el shock térmico se ha asociado a causas ambientales, el mismo efecto provocan otros tipos de estrés tanto fisiopatológicos como bioquímicos, incluyendo la respuesta celular a la infección causada por agentes virales y bacterianos, exposición a metales pesados de transición, análogos de aminoácidos, pequeñas moléculas farmacológicamente activas y oxidantes. Común a todos estos tipos de estrés son los efectos asociados al plegamiento, translocación, ensamblaje y degradación de las proteínas. El estrés produce un incremento de proteínas no plegadas, así como un incremento del desplegamiento y formación de agregados de proteína, lo que induce una respuesta celular mediada por una síntesis elevada de chaperones moleculares y proteasas, cuyo objetivo será reparar el daño proteico (NOLLEN y MORIMOTO, 2002^b).

Varios estudios han demostrado que el plegamiento de proteínas y su ensamblaje no se produce de una manera espontánea sino que requiere la ayuda de una serie de proteínas que reciben el nombre de *chaperones moleculares*, también llamadas proteínas acompañantes o chaperoninas, que se unen a proteínas desplegadas o desensambladas; ligan y estabilizan proteínas en estadios intermedios de plegamiento, ensamblaje, translocación a través de membranas y degradación. De ellas podemos destacar que no tienen especificidad por el sustrato, como ocurre con los enzimas, y el estar muy distribuidas en el interior de la célula sin formar parte de un complejo, impiden la interacción proteína-proteína que facilita el plegamiento con la intervención de una gran cantidad de componentes.

Alrededor de 1980, algunos investigadores observaron la existencia de agentes desnaturizantes que daban lugar a la alteración de la conformación normal de las proteínas, provocando una respuesta al estrés, de tal forma que las antiestrés localizan a las proteínas alteradas y las devuelven a su conformación correcta (WELCH, 1993). Cuando existen proteínas desplegadas o mal plegadas, los chaperones se van a unir a ellas hasta que alcanzan un adecuado plegamiento, mediante la ayuda de energía adquirida del ATP, por último las proteínas se separarán de los chaperones moleculares (MADIGAN y cols., 1997^a; KIANG y TSOKOS, 1998; BROCHE VALLE y cols., 1999).

Otra de las funciones que realizan este tipo de proteínas de estrés es la participación en el transporte de las proteínas a través de la membrana de distintos compartimentos. El paso por ésta produce la parada de la transducción para que la cadena polipeptídica no sea muy larga, porque al plegarse puede producir la obstrucción del canal.

Los chaperones moleculares inducidos en respuesta al estrés son claves para la regulación de la

apoptosis y el crecimiento de la célula, lo cual tiene una gran importancia por su relación con el cáncer y la liberación de proteínas que pueden inducir respuesta inmunitaria (JOLLY y MORIMOTO, 2000; KUMAZAKI y cols., 1997; BRENNER y WAINBERG, 1999; BRENNER y WAINBERG, 2001).

Dentro de cada una de las familias de proteínas de estrés podemos destacar varias características de las funciones que realizan:

La familia Hsp70 va a estabilizar la estructura de las proteínas cuando existe una competencia entre el estado desplegado y el estado de ensamblaje durante un periodo largo de tiempo, además se unen a cadenas polipeptídicas durante la síntesis de proteínas.

Las Hsp60 mitocondriales forman un anillo oligomérico donde se produce el ensamblaje de la proteína para alcanzar su estado nativo.

Las Hsp90 tienen un papel como supresor en la regulación, mediante la unión a diferentes enzimas, factores de transcripción y receptores de hormonas esteroides (KIANG y TSOKOS, 1998). Estas proteínas están unidas a un receptor esteroídico; cuando en la célula entran este tipo de hormonas, las Hsp90 se separan del receptor y se unen a ellas; así forman un complejo que interacciona con el DNA, por lo que activará o reprimirá la expresión de genes. Es decir, las Hsp90 regulan la actividad biológica de los receptores de hormonas esteroides (WELCH, 1993). Los niveles de Hsp están relacionados con los niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual. Los estrógenos pueden provocar un aumento significativo de los niveles de Hsp70 y Hsp90 en las hembras de ratas pero no en los machos (KIANG y TSOKOS, 1998; HOLMBERG, 2000).

Por último, las Hsp27 impiden la agregación de proteínas y protegen frente a la polimerización (KIANG y TSOKOS, 1998).

Las proteínas de estrés pueden desencadenar una respuesta inmunológica como consecuencia de actividades intra y extracelulares. A nivel intracelular las Hsp actuando como chaperones se ligan a las proteínas sintetizadas en la célula. Significa que en cualquier momento las Hsp pueden encontrarse dentro de la célula unidas a un amplio rango de péptidos que representan un auténtico catálogo de las proteínas existentes en el interior de la célula. En dicho catálogo encontramos péptidos normales presentes en todas las células, y péptidos anómalos que se encontrarán sólo en células dañadas. Los estudios realizados sobre el tema sugieren que las Hsp toman estos péptidos anómalos (antígenos) y, directamente o a través de otros grupos de moléculas los trasladan al exterior de la superficie celular. Así los péptidos anómalos actúan como señales de alarma que alertan al sistema inmunológico que la célula está dañada. Por tanto, cuando se detectan fuera de la célula indican que esta ha sido agredida, o incluso que ha sido destruida, expulsando todo su contenido. Una vez que los complejos de Hsp y péptidos están

fuera de la célula son detectados por el sistema inmune a través de macrófagos y células dendríticas, denominadas *células presentadoras de antígenos* (en inglés *antigen-presenting cells*, APCs). Después de ser detectado, el complejo de Hsp entrará dentro de estas células a través del receptor CD91, y será transportado a los nódulos linfáticos, allí las APCs presentan en su superficie al péptido que estaba formando un complejo con las Hsp, que al ser antigénico pueden estimular una respuesta inmune (BINDER y cols., 2004; CAMPISI y cols., 2003; POCKLEY, 2003; WELCH, 1993; DE NAGEL y PIERCE, 1993).

Una respuesta inmunológica interesante es la que producen diversas infecciones por bacterias y parásitos, tal como ocurre en enfermedades como tuberculosis y lepra. Estos patógenos cuando entran en el organismo huésped están sometidos a mecanismos de defensa produciendo sus proteínas de estrés, que actúan como antígenos frente a los que el huésped produce una respuesta inmune. Dos son las razones que explican que las Hsp originen esta respuesta:

1. Los patógenos durante la fagocitosis en macrófagos encuentran un ambiente hostil, expresando Hsp que son procesadas, los péptidos derivados de estas proteínas se unen a MHC (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) de clase I ó II y son presentados al sistema inmune.
2. Las proteínas son altamente conservadas entre patógenos y huésped, lo que favorece la producción de una reacción cruzada entre las proteínas del huésped y del patógeno, las primeras actúan como antígenos (autoantígenos) y provocan enfermedades autoinmunes, tales como diabetes mellitus insulínica independiente (DMID), artritis reumatoide, esclerosis múltiple, etc. En un futuro podría ser que estas proteínas tengan un papel en el desarrollo de inmunoterapias para ciertas enfermedades autoinmunes, es decir, las enfermedades como la DMID y artritis reumatoide animal se podrían prevenir mediante la inmunización con Hsp60 (WELCH, 1993).

Hasta ahora hemos mencionado varias de las funciones más importantes de las proteínas de estrés, pero existen otras como la participación en los mecanismos de transducción de señales y regulación de la expresión génica; protección de la célula en situaciones de estrés, siendo una manera de adaptación por parte de ésta; y la activación de una serie de mecanismos metabólicos y proliferativos de la célula, debido a la aparición de diferentes estímulos (BROCHE VALLE y cols., 1999).

La inducción de las proteínas de estrés puede deberse a la aparición de alguna enfermedad inflamatoria, y en este caso se le atribuye un efecto citoprotector.

PROCESOS PATOLÓGICOS

Un análisis global de la bibliografía muestra que en los procesos patológicos infecciosos y no infecciosos se produce una respuesta al estrés. En todos estos procesos se detecta un aumento en la expresión de Hsp.

Aunque los niveles basales de Hsp70 van a estar influidos por varios factores, como la temperatura ambiente (BOSHOFY y cols., 2000), hay una sobreexpresión de estas proteínas cuando se comparan enfermos y población sana.

Se acepta que las Hsp en general, y Hsp70 en particular, son secretadas fuera de la célula, por lo que pueden ser detectadas en la sangre de individuos normales y pacientes con infecciones agudas (PANAYI y cols., 2004).

Todos los estudios realizados en población sana muestran mayores niveles basales de Hsp70 en mujeres frente a hombres. En un trabajo realizado en la Universidad de Sheffield (UK), se midieron mediante enzima-inmunoensayo los niveles de Hsp70 en 92 sueros de personas sanas donantes, 47 varones y 45 mujeres, con edades de 20-63 y 20-65 años respectivamente. Los valores medios obtenidos fueron 1131 ng/mL de Hsp70 en hombres y 2543 ng/mL en mujeres. Como podemos observar, las concentraciones en las mujeres son 2 veces mayores que en los hombres (POCKLEY y cols., 1998).

En los pacientes con lesiones traumáticas se ha demostrado un aumento en la expresión de Hsp. Por ejemplo, HASHIGUCHI y cols. (2001) realizaron un estudio comparando 2 grupos de personas, uno de voluntarios sanos y otro de personas que padecían algún traumatismo. Los resultados indican que los niveles de Hsp en los enfermos eran mucho más elevados que en los voluntarios sanos.

Se ha observado un aumento en la expresión de Hsp en tejidos neoplásicos del ovario, mama, endometrio y aparato digestivo. Algunos autores creen que este aumento de las proteínas puede estar relacionado con la elevación de la proliferación celular, desarrollo de metástasis y resistencia a drogas terapéuticas, mientras que otros autores piensan que este aumento hace que las células proliferadas empiecen a diferenciarse. Las células tumorales llegan a los ganglios linfáticos se encuentran con un ambiente inadecuado, de manera que se aumenta el número de Hsp en estas células mejorando así su supervivencia, se eleva el número de células malignas, que desde los ganglios se repartirían por todo el organismo, es decir, la sobreexpresión de las Hsp puede dar lugar a un empeoramiento de la enfermedad. Un mecanismo similar podría resultar ante la exposición a fármacos antineoplásicos, explicando el desarrollo de resistencias. Esto no sucede de una forma general, es decir, depende del tipo de cáncer y de las drogas que se administren, y quizás esté más relacionado con un tipo de Hsp determinada. En aplicación clínica, la

modulación de los niveles de expresión de Hsp nos puede ayudar a revertir la resistencia a drogas y controlar el crecimiento tumoral (CORONATO y cols., 1999).

RAMÍREZ y cols. (2001), determinaron Hsp70 en 35 tumores malignos de mama, y en 10 procesos proliferativos no malignos (adenoma de mama y mastopatía fibroquística). Los resultados mostraron la presencia de Hsp70 en todos los tumores y procesos proliferativos no malignos con niveles mayores de estas proteínas en tumores malignos frente a procesos no malignos. Otro hecho importante que se muestra en este trabajo es la localización de Hsp70. En los procesos no malignos, la localización de Hsp70 es citoplasmática, mientras que en todos los casos malignos es nuclear y citoplasmática, lo que hace pensar en la utilidad de las Hsp70 como marcador de pronóstico, ya que estas proteínas están presentes tanto en tumores malignos de mama, como en adenomas y enfermedades fibroquísticas, y sobre todo, por la específica localización nuclear de Hsp70 en los procesos malignos, mientras que en los procesos no malignos la localización es sólo citoplasmática.

El cáncer de mama sigue siendo una de las principales causas de muerte en la mujer, por lo que se han realizado numerosos estudios sobre Hsp en este tipo de tumor. Se ha observado que tras la administración de drogas se modifica la expresión de algunas Hsp, lo que sugiere que estas proteínas de estrés pueden servir como marcadores de respuesta a la quimioterapia. Se ha demostrado que pacientes cuyos tumores expresan elevados niveles de Hsp70 nuclear presentaban resistencia al tratamiento, y desarrollaban metástasis. Los mecanismos por los que se producen estas resistencias son desconocidos (CIOCCA y cols., 1992; OESTERREICH y cols., 1993; VARGAS-ROIG y CIOCCA, 2000).

Algunos autores también señalan que la expresión de Hsp70 en el cáncer nos da esperanzas para el desarrollo de terapias nuevas. La utilización actual de drogas como el tamoxifeno o inhibidores estrogénicos, en tratamientos muy prolongados, puede dar lugar a la aparición de resistencias. Se podría diseñar un nuevo tipo de terapia para estas enfermedades mediante tratamientos basados en drogas que inhiben de una forma específica la inducción de proteínas de shock térmico, que tendrían preferentemente como diana las células tumorales, por ejemplo en el cáncer de mama (RAMÍREZ y cols., 2001).

Las enfermedades pancreáticas también conducen a un aumento de los niveles de Hsp. En las pancreatitis agudas inducidas por arsenito sódico o arginina, se produce una sobreexpresión de Hsp70, en función de la dosis y del tiempo, que se mantiene elevada durante 24-48 horas (RAKONCZAY y cols., 2003). La preinducción de Hsp pancreática tiene un efecto protector, como han demostrado recientemente BHAGAT y cols. (2002), de tal forma que se pueden

considerar como un componente farmacológico para la protección del páncreas, haciendo que drogas no tóxicas activen la respuesta del shock térmico (RAKONCZAY y cols., 2003).

Entre los procesos patológicos infecciosos los trabajos realizados responden al mismo patrón de sobreexpresión de Hsp70. Entre estos procesos tiene especial interés la infección por VIH ya que a diferencia de la mayor parte de los procesos infecciosos se produce una disminución de las células blancas sanguíneas.

Diversos estudios realizados en los que se compara la expresión de Hsp70 en linfocitos de pacientes VIH+ frente a controles, demuestran que la capacidad de producción de Hsp70 en los pacientes fue 4.5 veces superior a la de los controles (AGNEW y cols., 2003; FÜST y cols., 2005).

No se conoce muy bien el papel que las proteínas de estrés juegan en el SIDA. Parece ser que las Hsp que pertenecen a la familia de 70 kDa, tienen un papel importante en el ciclo de vida de diferentes virus RNA y DNA, entre estos la replicación del virus VIH-1.

WAINBERG y cols. realizaron un estudio *in vitro* para determinar el impacto de la infección aguda por VIH-1 sobre la expresión intracelular de Hsp en líneas celulares linfocíticas de CD4⁺. Durante la fase inicial de infección no se detecta RNA genómico viral hasta 30 horas después de la infección, mientras que la transcripción del RNAm de Hsp70 aparece a partir de las 3–8 horas tras la infección. La transcripción es inhibida durante 24 horas, coincidiendo con la aparición del RNAm del genoma viral, y se reinicia de nuevo al final del ciclo de replicación viral, con la liberación de los viriones y muerte de las células CD4⁺ (WAINBERG y cols., 1997; IORDANSKIY y cols., 2004^a; IORDANSKIY y cols., 2004^b).

La asociación de proteínas de estrés con los componentes virales facilita su plegamiento, ensamblaje y morfogénesis, con un impacto directo y positivo en la velocidad de la producción viral e infectividad. Así ocurre con el plegamiento y ensamblaje de la proteína gp160 desde su estado nativo, proceso en el que interviene la proteína Hsp70 del retículo endoplasmático. Incluso parece que proteínas Hsp70 inducibles se incorporan específicamente en los viriones VIH-1. Este fenómeno significaría que la propia respuesta celular frente a la infección por VIH favorece el desarrollo de dicha infección, aunque los resultados proporcionados por diferentes autores son contradictorios (BARTZ y cols., 1994).

En un trabajo recientemente publicado (ESPIGARES y cols., 2006) se han incluido un total de 61 pacientes, de los que 25 sufrieron un fracaso virológico durante el periodo de estudio. Su distribución por sexo y edad es superponible a la distribución epidemiológica por sexo y edad de los 2437 casos diagnosticados en España en 2002, e igualmente en cuanto a la distribución de los

mecanismos de infección declarados (B.E.S., 2002; HERRUZO y cols., 2001; BLANCO y cols., 1996).

Los niveles de Hsp70 presentaban una gran variabilidad, aunque ésta no es un fenómeno aislado, sino que se encuentra igualmente en los resultados de otros investigadores que determinan Hsp70 en diferentes contextos. En un estudio realizado sobre 26 pacientes con lupus eritematoso sistémico, las concentraciones de Hsp70 mostraron una media de 239.4 ng/mL y una desviación estándar de 367.9 ng/mL (CEDERHOLM y cols., 2004); las concentraciones de Hsp70 en 47 varones y 45 mujeres sanos mostraron rangos de 0 – 13380 y 0 – 18550 ng/mL respectivamente (POCKLEY y cols., 1998); en un estudio realizado en 55 mujeres con preeclampsia, los niveles de Hsp70 en suero fueron de 2.82 ng/mL con una desviación estándar de 8.33 ng/mL (JIRECEK y cols., 2002).

En el citado estudio, los niveles de Hsp70 detectados oscilaron entre 0 y 14032 ng/mL. Los valores más elevados se alcanzan en el grupo de pacientes con fracaso virológico, mientras que los límites superiores en el resto fueron 343 ng/mL para los controles sanos, y de 154 a 906 ng/mL para los pacientes viroinmunológicamente estables. Los valores medios mostraron cifras casi 4 veces superiores en los pacientes con fracaso virológico frente al resto, si bien las diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas, debido a la gran variabilidad de los valores obtenidos. La concentración media de la proteína Hsp70 detectada fue unas dos veces superior en los pacientes, 145.4 ± 1069.5 ng/mL, que en los controles, 72.1 ± 97.2 ng/mL. Las diferencias no son estadísticamente significativas, y se deben a los pacientes con fracaso virológico, presentando los enfermos estables valores medios similares a los obtenidos en los controles.

Los autores no han encontrado diferencias significativas en los valores de Hsp70 en pacientes tratados o no con inhibidores de la proteasa, pero las diferencias son significativas cuando se estratifica en función de la utilización o no de inhibidores de la transcriptasa inversa, tanto para análogos de nucleósidos como para el tratamiento con no análogos.

El valor medio de recuento de CD4⁺ en la situación de fracaso virológico no resulta muy bajo en comparación con la situación de estabilidad. En la situación de fracaso virológico se obtiene un valor medio de 391.7 linfocitos CD4⁺/μL, mientras que cuando existen menos de 5000 copias/mL el valor medio obtenido ha sido 532.3 linfocitos CD4⁺/μL. Esto parece indicar que el recuento de CD4⁺, que pronostica adecuadamente la situación inmunológica, no es un buen indicador del fracaso virológico. Sin embargo, el cociente Hsp70/CD4⁺ muestra diferencias significativas, y se observa que este cociente es tanto mayor cuanto peor es el estado viroinmunológico, obteniéndose el mayor valor para el fracaso virológico.

Como conclusión, los autores señalan que existe una relación entre los niveles de Hsp70 y la situación viroinmunológica y categoría clínica de los pacientes, aunque las diferencias no alcancen a ser estadísticamente significativas, debido a la gran variabilidad. Cuanto peor es la situación del paciente, mayores son los niveles séricos de Hsp70, igual que cuando está sometido a tratamiento con antirretrovirales. La variable transformada Hsp70/CD4⁺ presenta una menor variabilidad, por lo que las diferencias estudiadas muestran un mayor grado de significación estadística, lo que indica la utilidad de esta variable. Por tanto, los niveles de Hsp70 y la variable transformada Hsp70/CD4⁺ pueden tener un gran valor diagnóstico, pronóstico y para el control terapéutico (ESPIGARES y cols., 2002).

ENFERMEDADES VASCULARES

La arteriosclerosis es un proceso multifactorial iniciado por la acumulación de macrófagos en distintas áreas de daño celular o endotelial seguido por la incorporación de gran cantidad de lípidos. Son muchos los factores endógenos y exógenos que determinan su aparición.

En la última década, aunque se ha considerado la gran importancia que la dieta tiene en la arteriosclerosis (ESPIGARES RODRÍGUEZ y RUIZ LÓPEZ, 2003), se ha prestado un gran interés a la relación entre enfermedades cardiovasculares e infecciones leves de carácter crónico. Citomegalovirus, herpesvirus, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae* y sepsis dentales han sido implicadas en la patogénesis de la arteriosclerosis, planteando la posibilidad de que la inmunestimulación asociada con la infección natural puede contribuir al riesgo cardiovascular. Es posible que la respuesta inmuno-específica a la inflamación pueda aumentar la respuesta frente a antígenos arteriales, y por lo tanto producir arteriosclerosis. Esto requiere la infección por un patógeno que elabore péptidos con regiones homólogas a las proteínas del huésped, como ocurre con las Hsp. Se han publicado trabajos que confirman lo expuesto. XU y cols. (1992) aporta las primeras evidencias de la relación entre la reacción inmuno-específica frente a Hsp65 y la formación del ateroma. Estos autores demostraron que conejos normocolesterolémicos inmunizados con Hsp65 o con *Mycobacterium tuberculosis* (bacteria rica en Hsp65) desarrollaban arteriosclerosis consumiendo una dieta normal. También encuentran un incremento en la expresión de Hsp60 dentro de las lesiones arterioscleróticas, y una respuesta humoral y celular a estos antígenos en personas con arteriosclerosis carotídea y coronaria.

Esto mismo ha sido demostrado más recientemente utilizando como modelo ratones LDL-RD (deficientes de receptores LDL), los cuales, con una dieta normal, desarrollaban una arteriosclerosis

tras la inmunización con Hsp65 o con *Mycobacterium tuberculosis* (AFEK y cols., 2000).

Estudios clínicos también han revelado asociaciones entre niveles plasmáticos de anticuerpos anti-Hsp y enfermedades cardiovasculares. Se han encontrado niveles de anticuerpos frente a Hsp65 de micobacterias significativamente elevados en sujetos con lesiones vasculares. También se han mostrado estos niveles aumentados como un factor de riesgo en la arteriosclerosis grave. Estos anticuerpos anti-Hsp presentan reacción cruzada con Hsp60 humana, Hsp65 de *C. pneumoniae*, y GroEL de *Escherichia coli*.

Por lo tanto, entre los factores exógenos es indudable el papel tan importante que representa la dieta, y muy especialmente el contenido en colesterol, cuya ingesta se considera como uno de los factores de riesgo más importante, y como consecuencia, uno de los factores incluidos en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. Las infecciones son otro factor exógeno en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Ambos factores exógenos, dieta e infecciones, están relacionados con la inducción de Hsp. Recientemente se han aportado numerosos datos relativos al papel del sistema autoinmune en la arteriosclerosis.

Un trabajo muy demostrativo, en el sentido anteriormente indicado, es el realizado por LAMB y FERNS (2002). Utilizan conejos como modelo animal, la mitad de los cuales son inmunizados con una dosis humana de BCG (vacuna atenuada de la tuberculosis) y una dosis de recuerdo a las 4 semanas. Todos los conejos, inmunizados y no inmunizados, son sometidos a una dieta con 1% de colesterol aproximadamente, individualizada para cada animal hasta conseguir unos niveles séricos de colesterol entre 20 – 30 mmol/L. La inmunización con BCG aumenta la arteriosclerosis aórtica, pero no se produce en ausencia de una dieta rica en colesterol. La inmunización con BCG también elicitó anticuerpos frente a A60 (principal complejo antigénico citoplasmático de *Mycobacterium bovis*) y Hsp60 humana. Aunque se ha descrito que las lesiones arterioscleróticas pueden ser inducidas en situación de normocolesterolemia mediante inmunización con micobacterias o Hsp60 humana, la respuesta es insuficiente a largo plazo para producir arteriosclerosis en ausencia de niveles de colesterol elevados. Estos autores también observan que la producción de anticuerpos anti-Hsp60 coincide con la aparición de vWF en el plasma (un marcador de alteración endotelial que aumenta rápidamente tras la alimentación con colesterol), lo que parece indicar que elevados niveles plasmáticos de colesterol, además de alterar el endotelio pueden también inducir la expresión de Hsp en éste, lo que origina una respuesta autoinmune que aumentaría la inflamación y consecuentemente la arteriosclerosis.

Hace algún tiempo se pensaba que la expresión de Hsp60 estaba restringida a las mitocondrias

intracelulares y por consiguiente incapaz de estimular una respuesta autoinmune. Actualmente se tienen evidencias de que Hsp60 pueden ser expresadas en la superficie endotelial o ser liberadas por células dañadas o muertas. La expresión de Hsp60 en la placa de ateroma ha sido correlacionada con la gravedad de la arteriosclerosis.

Los datos actualmente disponibles indican que cuando aparecen procesos patológicos vasculares se produce una elevada expresión de las proteínas de estrés.

Las proteínas Hsp60 y Hsp70 han sido las más ampliamente estudiadas en relación con la arteriosclerosis (MEHTA y cols., 2005). Se ha observado que las Hsp60 se localizan selectivamente en las lesiones arterioscleróticas y no en las regiones no arterioscleróticas de la pared arterial. En lesiones arterioscleróticas avanzadas hay una sobreexpresión de Hsp70, y además, aunque son intracelulares, se encuentran en el suero en forma soluble junto con anticuerpos anti-Hsp específicos, y existen algunos trabajos que sugieren la correlación entre los niveles de estos anticuerpos y la gravedad de la arteriosclerosis.

Se ha investigado la relación de Hsp con muchos factores de riesgo que se asocian con el desarrollo de la arteriosclerosis, pero también como marcadores independientes de la enfermedad. Por ejemplo, niveles elevados de Hsp60 se correlacionan con colesterol-LDL. Igualmente, se han comprobado niveles de anticuerpos anti-Hsp70 son significativamente más elevados en varones hipertensos que en los controles normotensos, y que los anticuerpos anti-Hsp70 pueden tener un efecto protector en los individuos hipertensos mediante la modificación de la progresión de la arteriosclerosis.

Las Hsp tienen un valor pronóstico significativo ya que predicen morbilidad y mortalidad debida a la arteriosclerosis: Se han encontrado niveles más elevados de anticuerpos anti-Hsp65 en hombres en los que posteriormente se produjeron episodios cardiovasculares que en lo que no ocurrieron.

Otra proteína de este grupo ampliamente estudiada es la hemoxigenasa-1, clasificada como Hsp32, que es un enzima esencial para la degradación del grupo hemo. Es inducida por una amplia variedad de condiciones de estrés y desempeña funciones antiaterogénicas en la pared arterial eliminando especies reactivas del oxígeno, reduciendo la quimiotaxis y adhesión de monocitos.

ISQUEMIA CARDIACA

Es la causa de muerte más frecuente en los países desarrollados y se han realizado numerosos estudios sobre Hsp y arteriosclerosis e isquemia coronaria.

En pacientes con coronariopatías, los niveles de anticuerpos frente a Hsp65 y Hsp60 están asociados significativamente a la gravedad de la enfermedad.

Los anticuerpos anti-Hsp65, aunque se encuentran elevados en pacientes con enfermedad coronaria, decaen de forma significativa después del infarto agudo de miocardio, probablemente porque el tejido cardíaco infartado libera Hsp a la circulación, y se unen a los anticuerpos anti-Hsp formando complejos antígeno-anticuerpo que son eliminados de la circulación posteriormente.

Una disminución en el título de anticuerpos anti-Hsp puede estar asociada a un resultado favorable, y puede servir como un marcador de pronóstico útil para la angioplastia coronaria. Los niveles de Hsp 60 y Hsp65 están asociados con las formas más graves de enfermedad de las arterias coronarias, mientras que otras Hsp pueden tener un efecto protector. Se ha descrito que niveles elevados de Hsp70 están asociados con un bajo riesgo de enfermedad de las arterias coronarias, lo que sugiere un papel más complejo de estas proteínas en la arteriosclerosis coronaria.

En conclusión, se puede afirmar que hay una creciente evidencia de que la arteriosclerosis puede ser un desorden inflamatorio e inmunológico. A causa de un alto grado de homología entre las Hsp humanas y microbianas, los anticuerpos frente a Hsp microbianas que se producen en respuesta a la infección presentan reacciones cruzadas con las Hsp de las células endoteliales estresadas por factores de riesgo clásicos para aterogénesis.

ARRITMIAS

Aunque existen numerosos estudios sobre Hsp en muchas enfermedades cardiovasculares, muy poco se conoce sobre los niveles y función de estas proteínas en los procesos patológicos de alteración del ritmo cardíaco.

Muchas de las arritmias cardíacas tienen una patología concreta: tejido muscular en el Síndrome de Wolf-Parkinson-White, zona de necrosis miocárdica en el taquicardia ventricular, mecanismo funcional en la taquicardia por reentrada intranodal y en la reentrada ventricular rama-rama, foco arritmogénico en la taquicardia auricular y taquicardia ventricular idiopática. En la fibrilación auricular (FA), la arritmia más frecuente en la práctica clínica (VÁZQUEZ y cols., 2006), el mecanismo no está plenamente establecido. Muchos son los trabajos que la relacionan con un fenómeno inflamatorio (AVILES y cols., 2003). Existen estudios en los que se ha demostrado un incremento de la expresión de Hsp en pacientes con FA crónica (SCHÄFLER y cols., 2002). También se ha demostrado una asociación entre la aparición de FA postoperatoria y el aumento de anticuerpos anti-Hsp 65 (MANDAL y cols. 2004).

Los pacientes con FA paroxística presentan una mayor expresión de Hsp que los pacientes con FA persistente o ritmo sinusal. Esto sugiere que una mayor expresión de Hsp puede prevenir la progresión

de la forma paroxística a la forma persistente (BRUNDEL y cols., 2006). Incluso se ha propuesto que la inducción de la respuesta de Hsp podría prevenir la aparición de FA (BRUNDEL y cols., 2006).

ABLACIÓN

Como consecuencia de la ablación térmica se produce un daño tisular que induce la expresión de Hsp. La síntesis de Hsp que sigue al daño por la ablación térmica puede facilitar la recuperación de las células dañadas, inhibir la apoptosis y limitar el daño.

En tratamientos de tumores mediante ablación térmica se ha observado que la expresión de Hsp70 se incrementa significativamente en las células adyacentes a las zonas coaguladas 12 horas después del tratamiento. El pico de respuesta ocurre a las 24 horas y era 6 veces mayor que en los tumores control, volviendo a los niveles normales una semana después de la terapia. En tejido hepático, la expresión de Hsp70 12 horas después de la aplicación del tratamiento se incrementa más de 200 veces comparada con los controles, volviendo a la situación inicial a las 72 horas (NIKFARJAM y cols., 2005).

No está estudiado el efecto de la ablación con catéter utilizando energía de radiofrecuencia sobre la expresión de Hsp. Los estudios que analizaron la expresión de Hsp en FA utilizaron la determinación celular de dichas proteínas, por lo que no pudieron determinar el efecto de la ablación quirúrgica sobre la expresión de las Hsp.

Actualmente la ablación con radiofrecuencia es el tratamiento de elección de la FA en aquellos pacientes en los que los fármacos antiarrítmicos (flecainida y amiodarona, fundamentalmente) no han conseguido frenar o disminuir los síntomas. Se han informado de porcentajes de ausencia de recurrencia superiores al 60%.

El tratamiento quirúrgico ha sido más eficaz con el procedimiento de Cox-Maze III, con tasa de curación a largo plazo del 90 %. No obstante, su uso queda reservado a aquellos pacientes a los que se les va a realizar cualquier otro tipo de cirugía cardíaca.

BIBLIOGRAFÍA

- AFEK, A.; GEORGE, J.; GILBURD, B.; RAUOVA, L.; GOLDBERG, I.; KOPOLOVIC, J.; HARATS, D. and SHOENFELD, Y. (2000): Immunization of low-density lipoprotein receptor deficient (LDL-RD) mice with heat shock protein 65 (HSP-65) promotes early atherosclerosis. *J. Autoimmunity*, **14**: 115-121.
- AGNEW, L. L.; KELLY, M.; HOWARD, J.; JEGANATHAN, S.; BATTERHAM, M.; FFRENCH, R. A.; GOLD, J. y WATSON, K. (2003): Altered lymphocyte heat shock protein 70 expression in patients with HIV disease. *AIDS*, **17**: 1985-1988.
- AVILES, R. J., MARTIN, D. O., APPERSON-HANSEN, C., HOUGHTALING, P. L., RAUTAHARJU, P., KRONMAL, R. A., TRACY, R. P., VAN WAGONER, D. R., PSATY, B. M., LAUER, M. S., CHUNG, M. K. (2003): Inflammation as a risk factor for atrial fibrillation. *Circulation*, **108**:3006-3010.
- BARTZ, S. R.; PAUZA, C. D.; IVANYI, J.; JINDAL, S.; WELCH, W. J. y MALKOVSKY, M. (1994): An hsp60 related protein is associated with purified HIV and SIV. *J. Med. Primatol.*, **23**: 151-154.
- B.E.S. (2002): Vigilancia epidemiológica del SIDA en España. Situación a 31 de diciembre de 2002. *Boletín Epidemiológico Semanal*, **10**: 269-272.
- BHAGAT, L.; SINGH, V. P.; SONG, A. M.; VAN ACKER, G. J. D.; AGRAWAL, S.; STEER, M. L. y SALUJA, A. K. (2002): Thermal stress-induced HSP70 mediates protection against intrapancreatic trypsinogen activation and acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology*, **122**: 156-165.
- BIERKENS, J. G. E. A. (2000): Applications and pitfalls of stress-proteins in biomonitoring. *Toxicology*, **153**: 61-72.
- BINDER, R. J.; VATNER, R. y SRIVASTAVA, P. (2004): The heat-shock protein receptors: some answers and more questions. *Tissue Antigens*, **64**: 442-451.
- BLANCO GÓNZALEZ, M. I.; GARCÍA LÓPEZ, J. A.; DAMAS FERNÁNDEZ, M. y CEREZO GALÁN, A. (1996): Perfil fármaco terapéutico en pacientes ingresados en la Unidad de Infecciosos del Hospital Universitario de Granada. *Farm. Hosp.*, **20**: 314-318.
- BOSHOF, T.; LOMBARD, F.; EISELEN, J. J.; BORNMAN, J. J.; BACHELET, M.; POLLA, B.S. y BORNMAN, L. (2000): Differential basal synthesis of Hsp70/Hsc70 contributes to interindividual variation in Hsp70/Hsc70 inducibility. *Cell. Mol. Life Sci.*, **57**:1317-1325.
- BRENNER, B. G. y WAINBERG M. A. (1999): Heat shock proteins: novel therapeutic strategies against human immunodeficiency virus type I infection. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, **7**: 80-90.
- BRENNER, B. G. y WAINBERG M. A. (2001): Heat shock protein-based therapeutic tools for HIV-infection?. *Expert Opin. Biol. Th.*, **1**: 67-77.
- BROCHE VALLE, F.; CÉSPEDES MIRANDA, E. M. y GARCÍA PIÑEIRO, J. C.(1999): Las proteínas de estrés en la biología molecular de la célula. *B.E.B.*, **18**: 98-107.
- BRUNDEL, B. J. J. M.; SHIROSHITA-TAKESHITA, A; QI, X. Y.; YEH, Y.; CHARTIER, D; VAN GELDER, I. C.; HENNING, R. H.; KAMPINGA, H. H. y NATTEL, S. (2006): Induction of heat shock response protects the heart against atrial fibrillation. *Circ. Res.*, **99**: 1394-1402.
- BRUNDEL, B. J. J. M., HENNING, R. H., KE, L., VAN GELDER, I. C., CRIJNS, H. J. G. M., KAMPINGA, H. H. (2006): Heat shock protein upregulation protects against pacing-induced myolysis in HL-1

- atrial myocytes and in human atrial fibrillation. *J Moll Cell Cardiol.*, **41**: 555-562
- CAMPISI, J.; LEEM, T. H. y FLESHNER, M. (2003): Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system. *Cell. Stress Chapero.*, **8**: 272-286.
- CEDERHOLM, A.; SVENUNGSSON, E.; STENDEL, D.; FEI, G.; POCKLEY, A. G.; NINIO, E. y FROSTEGÅRD, J. (2004): Platelet-activating factor-acetylhydrolase and other novel risk and protective factors for cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, **50**: 2869-2876.
- CIOCCA, D.R.; FUQUA, S.; LOCKLIM, S.; TOFT, D.O., WELCH, W.J. y MCGUIRE, W. L. (1992): Response of human breast-cancer cells to heat-shock and chemotherapeutic drugs. *Cancer Res.*, **52**: 3648-3654.
- CORONATO, S.; DI GIROLAMO, W.; SALAS, M.; SPINELLI, O. y LAGUENS, G. (1999): Biología de las proteínas del shock térmico. *Medicina*, **59**: 477-486.
- DE NAGEL, D. C. y PIERCE, S. K. (1993): Heat shock proteins in immune responses. *Crit. Rev. Immunol.*, **13**: 71-81.
- ESPIGARES, E.; BUENO, A.; HERNÁNDEZ, J.; GARCÍA, F.; LUNA, J. D.; ESPIGARES, M. y GÁLVEZ, R. (2006): Levels of Hsp70 in HIV+ patients in different viroimmunological states. *Journal of Medical Virology*, **78**: 318-323.
- ESPIGARES RODRÍGUEZ, E. y RUIZ LÓPEZ, M. D. (2003): Proteínas de estrés y nutrición. *Hig. Sanid. Ambient.* **3**: 36-44.
- FÜST, G.; BECK, Z.; BÁNHÉGYI, D.; KOCSIS, J.; BIRÓ, A. y PROHÁSZKA, Z. (2005): Antibodies against heat shock proteins and cholesterol in HIV infection. *Mol. Immunol.*, **42**: 79-85.
- HASHIGUCHI, N.; OGURA, H.; TANAKA, H.; KOH, T.; AOKI, M.; SHIOZAKI, T.; MATSUOKA, T.; SHIMAZU, T. y SUGIMOTO, H. (2001): Enhanced expression of heat shock proteins in leukocytes from trauma patients. *J. Trauma.*, **50**: 102-107.
- HERRUZO CABRERA, R.; SÁNCHEZ DE RIVERA, J. M. y CASTILLA CATALÁN, J. (2001): Epidemiología y prevención del SIDA. In GÁLVEZ VARGAS, R. y cols.: *Piédrola Gil, Medicina Preventiva y Salud Pública*. Pp: 555-564. 10ª ed. Masson. Barcelona.
- HOLMBERG, C. (2000): *Phosphorylation-mediated regulation of heat shock transcription factor 1*. Abo Akademi University. Abo, Finland.
- IORDANSKIY, S.; ZHAO, Y. Q.; DIMARZIO, P.; AGOSTINI, I.; DUBROVSKY, L. y BUKRINSKY, M. (2004^a): Heat-shock protein 70 exerts opposing effects on Vpr-dependent and Vpr-independent HIV-1 replication in macrophages. *Blood*, **104**: 1867-1872.
- IORDANSKIY, S.; ZHAO, Y. Q.; DUBROVSKY, L.; IORDANSKAYA, T.; CHEN, M. Z. LIANG, D. y BUKRINSKY, M. (2004^b): Heat-shock protein 70 protects cell cycle arrest and apoptosis induced by human immunodeficiency virus type 1 viral protein R. *J. Virol.*, **78**: 9697-9704.
- JIRECEK, S.; HOHLGASCHWANDTNER, M.; TEMPFER, C.; KNOFLER, M.; HUSSLEIN, P. y ZEISLER, H. (2002): Serum levels of heat shock protein 70 in patients with preeclampsia: A pilot-study. *Wiener Klinische Wochenschrift*, **114**: 730-732.
- JOLLY, C. y MORIMOTO, R. I. (2000): Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J. Natl. Cancer Inst.*, **92**: 1564-72.
- KIANG, J. G. y TSOKOS, G. C. (1998): Heat shock protein 70 kDa: Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology. *Pharmacol. Ther.*, **80**: 183-201.
- KUMAZAKI, T.; WADHWA, R.; KAUL, S.C. y MITSUI, Y. (1997): Expression of endothelin, fibronectin, and mortalin as aging and mortality markers. *Exp. Gerontol.*, **32**: 95-103.
- LAMB, D. J. and FERNS, G. A. A. (2002): The magnitude of the immune response to heat shock protein-65 following BCG immunisation is associated with the extent of experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*, **165**: 231-240.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M. y PARKER, J. (1997^a): Macromoléculas y genética molecular. In *Brock Biología de los Microorganismos*. Pp: 178-225. 8ª ed. Prentice Hall Iberia. Madrid.
- MANDAL, K., JAHANGIRI, M., MUKHIN, M., POLONIECKI, J., CAMM, A. J., XU, Q. (2004): Association of anti-heat shock protein 65 antibodies with development of postoperative atrial fibrillation. *Circulation.*, **110**: 2588-2590
- METHA, T. A.; GREENMAN, J.; ETELAIE, C.; NENKATASUBRAMANIAM, A.; CHETTER, I. C. y MCCOLLUM, P. T. (Heat shock proteins in vascular disease – A review. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, **29**: 395-402.
- MOLINA, A.; CARPEAUX, R.; MARTIAL, J. A. y MULLER, M. (2002): A transformed fish cell line expressing a green fluorescent protein-luciferase fusion gene responding to cellular stress. *Tox. In Vitro*, **16**: 201-207.
- MORIMOTO, R. I. (1999): Heat-shock response. In CREIGHTON, T. E.: *Encyclopedia of Molecular Biology*, Pp: 1088-1098. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- NIKFARJAM, M.; MURALIDHAARAN, V.; SU, K.; MALCONTENTI-WILSON, C. y CHRISTOPHI, C. (2005): Patterns of heat shock protein (HSP70) expresión and Kupffer cell activity following thermal ablation of liver and colorectal liver metastases. *Int. J. Hyperthermia*, **21**: 319-332.
- NOLLEN, E. A. y MORIMOTO, R. I. (2002^b): A heat shock response: cellular and molecular responses to stress, misfolded proteins, and diseases associated with protein aggregation. In *Wiley Encyclopedia of Molecular Medicine*, Pp: 1553-1563. John Wiley and Sons, Inc. New York.

- NOLLEN, E. A. y MORIMOTO, R. I. (2002^b): Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing "heat shock" proteins. *J. Cell. Sci.*, **115**: 2809-2816.
- ÖDBERG-FERRAGUT, C.; ESPIGARES, M. y DIVE, D. (1991): Stress protein synthesis, a potential toxicity marker in *Escherichia coli*. *Ecotox. Environ. Safe.*, **21**: 275-282.
- OESTERREICH, S.; WENG, C. N.; QIU, M.; HILSENBECK, S. G.; OSBORNE, C. K. y FUQUA, S. A. (1993): The small heat shock protein hsp27 is correlated with growth and drug resistance in human breast cancer cell lines. *Cancer. Res.*, **53**: 4443-4438.
- PANAYI, G. S.; CORRIGALL, V. M. y HENDERSON, B. (2004): Stress cytokines: pivotal proteins in immune regulatory networks. *Curr. Opin. Immunol.*, **16**: 531-534.
- POCKLEY, A. G. (2003): Heat shock proteins as regulators of the immune response. *Lancet*, **362**: 469-476.
- POCKLEY, A. G.; SHEPHERD, J. y CORTON, J. M. (1998): Detection of heat shock protein 70 (Hsp70) and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol. Invest.*, **27**: 367-377.
- RAKONCZAY, Z. JR; TAKÁCS, T. BOROS, I. y LONOVICS, J. (2003): Heat shock proteins and the pancreas. *J. Cell. Physiol.*, **195**: 383-391.
- RAMÍREZ, J. R.; ORTIZ, S.; VALENZUELA, M.; DURÁN, V.; CABELLO, G.; LOBATO, S.; BOTELLA, S. y BOTELLA, L. M. (2001): Expression and localization of Hsp70 y Hsp27 in human breast tumors. *Rev. Esp. Patol.*, **34(1)**: 9-17.
- SCHÄFLER, A. E., KIRMANOGLU, K., PECHER, P., HANNEKUN, A., SCHUMACHER, B. (2002): Overexpression of heat shock proteins 60/10 in myocardium of patients with chronic atrial fibrillation. *Ann Thorac Surg.*, **74**: 767-770
- VARGAS-ROIG, L. M. y CIOCCA, D. R. (2000): Resistencias a drogas en pacientes con cáncer de mama. *Ciencia al Día Internacional*, **3**: 1-6.
- VAZQUEZ, E., MUÑOZ, J., LOZANO, C., RAMIREZ, A., GUZMAN, M., TARABINI, A., FAJARDO, A., JIMENEZ, B., ARMENTEROS, J. B., PAGOLA, C. (2005): Análisis de la frecuencia de las arritmias cardíacas y de los trastornos de la conducción desde una perspectiva asistencial. *Rev Esp Cardiol.*, **58**: 657-665
- WAINBERG, Z.; OLIVEIRA, M.; LEMER, S.; TAO, Y. y BRENNER, B. G. (1997): Modulation of stress protein (hsp27 and hasp70) expression in CD4+ lymphocytic cells following acute infection with human immunodeficiency virus tipe-1. *Virology*, **233**: 364-373.
- WELCH, W. J. (1993): How cells respond to stress. *Sci. Am.*, **Mayo**: 34-41.
- XU, Q.; DIETRICH, H.; STEINER, H. J.; GOWN A. M.; SCHOEL, B.; MIKUZ, G.; KAUFMAN, S. H. E. and WICK G. (1992): Induction of arteriosclerosis in normocholesterolemic mice rabbits by immunization with heat shock protein 65. *Arterioscler. Thrombosis.*, **12**: 789-799.