

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	14
1. Metabolitos derivados del oxígeno.	14
1.1. Mecanismo de formación de los MADO	
1.2. Antioxidantes celulares	
2. Contracción celular.	26
2.1. Inositol 1, 4,5 trifosfato	
2.2. Receptor de IP ₃ .	
2.2.1. Estructura	
2.2.2. Mecanismo de activación	
2.2.3. Regulación	
3. Relajación celular.	38
2.1. Guanilato ciclasa soluble	
3.2. Proteína quinasa dependiente de GMPc	
4. Radicales libres y contracción/relajación.	44
MATERIALES Y MÉTODOS	47
1. Materiales.	47
1.1. Material biológico	
1.1.1. Animales de experimentación	
1.1.2. Células	
1.2. Reactivos e instrumentos	
1.2.1. Reactivos generales	
1.2.2. Soluciones y medios de cultivo	
1.2.3. Material de laboratorio y equipos	
2. Métodos in vitro.	50
2.1. Obtención, caracterización y cultivos de CML	
2.1.1. Obtención de CML	
2.1.2. Caracterización de CML	
2.1.3. Mantenimiento y propagación del cultivo celular	
2.2. Extracción, separación e identificación de las proteínas	
2.2.1. Extracción y determinación de las concentraciones de proteínas	
2.2.2. Separación e identificación de proteínas	
2.3. Determinación de los niveles del IP ₃ R ubiquitinizado	
2.4. Análisis del ARNm de los IP ₃ Rs	
2.4.1. Extracción de ARNm	
2.4.2. RT-PCR	
2.5. Cuantificación de la salida de calcio inducida por IP ₃	

2.6. Ensayos de contracción celular	
2.7. Producción celular de GMPc	
2.7.1. Extracción de nucleótidos	
2.7.2. Determinación de los niveles de GMPc	
2.8. Ensayos de transfección y análisis de la actividad del promotor de la GCs	
3. Métodos <i>in vivo</i>.	65
3.1. Mediciones de las tensiones arteriales	
3.2. Extracción de proteínas a partir del tejido cardiaco	
3.3. Análisis bioquímico de la orina y el plasma	
4. Análisis estadístico.	67
OBJETIVOS	69
RESULTADOS	73
1. Efecto del peróxido de hidrógeno sobre el mecanismo de contracción inducido por el inositol 1, 4,5 trifosfato.	73
2. Efecto del peróxido de hidrógeno sobre el mecanismo de relajación inducido por el óxido nítrico.	85
3. Papel del peróxido de hidrógeno en la hipertensión inducida por el L-NAME.	94
DISCUSIÓN	102
RESUMEN DE RESULTADOS	114
CONCLUSIONES	116
BIBLIOGRAFÍA	118