

Índice

Índice	6
Índice de Figuras	8
Abreviaturas	10
Resumen	12
Abstract	13
1.- Marco Teórico	14
1.1. Hipertrofia cardiaca	14
1.2. Vías de señalización en hipertrofia patológica	16
1.3. Mitocondrias y corazón	17
1.4. Mitocondrias en la hipertrofia cardiaca	18
1.5. Proteína Miro	19
1.6. Hipótesis	22
1.7. Objetivo general	22
1.8. Objetivos específicos	23
2.- Materiales y Métodos	24
2.1. Grupos experimentales	24
2.2. Cultivo de cardiomiocitos ventriculares de rata neonata	24
2.3. Estimulación con fenilefrina	25
2.4. Silenciamiento de Miro1 con siRNA	25
2.5. Sobre-expresión de Miro1 utilizando un adenovirus	26
2.6. Preparación de lisados celulares	26
2.7. Cuantificación de proteínas	26
2.8. Electroforesis	27
2.9. Westerns Blot	27
2.10. Extracción de ARN total	28
2.11. Cuantificación de ARN	28
2.12. Análisis por Real time PCR (RT-qPCR)	28

2.13. Evaluación de la muerte celular por liberación de lactato deshidrogenasa	29
2.14. Evaluación del área celular	29
2.15. Análisis estadístico	30
3.- Resultados.....	31
3.1. Área celular.....	31
3.2. Muerte celular.....	31
3.3. Marcadores hipertróficos.....	32
3.4. Contenido de Miro1	33
3.5. Silenciamiento Miro1	34
3.6. Muerte celular en cardiomiocitos <i>knock down</i> para Miro1	35
3.7. Área celular en cardiomiocitos <i>knock down</i> para Miro1	35
3.8. Marcadores hipertróficos en cardiomiocitos <i>knock down</i> para Miro1	36
3.9. Sobre-expresión de Miro	38
3.10. Muerte celular en cardiomiocitos con Miro1 sobre-expresada	39
3.11. Área celular en cardiomiocitos con Miro1 sobre-expresada	40
3.12. Marcadores hipertróficos en cardiomiocitos con Miro1 sobre-expresada.....	41
4.- Discusión	42
5.- Conclusión	50
6.- Referencias.....	51

Índice de Figuras

Figura 1: Activación de la vía Gαq en la hipertrofia patológica	16
Figura 2: Representación de dominios de la proteína Miro.....	19
Figura 3: Modelos de detención mitocondrial dependiente de Ca ²⁺	20
Figura 4: Efecto de fenilefrina sobre el área celular de cardiomiocitos de rata neonata.....	31
Figura 5: Liberación de lactato deshidrogenasa de cardiomiocitos tratados con fenilefrina.	32
Figura 6: Efecto de Fenilefrina 50 μM en los niveles de ARNm de A.-βMHC (cadena pesada de la miosina tipo β), B.- ANP (péptido natriurético auricular) y C.- BNP (péptido natriurético tipo B) en cardiomiocitos de rata neonata.....	32
Figura 7: A.-Contenido relativo de Miro1 y B.-Niveles de ARNm de Miro1 en cardiomiocitos de rata neonata tratados con fenilefrina.....	33
Figura 8: A.- Contenido relativo de Miro1 utilizando una secuencia de ARN interferente específico a diferentes tiempos de transfección. B.- Western blot representativo del contenido de Miro1 silenciado por 48 horas bajo estimulación con Fenilefrina.....	34
Figura 9: Liberación de lactato deshidrogenasa de cardiomiocitos controles (C) con secuencia no relacionada (unr) y con cardiomiocitos con Miro1 silenciado (siMiro1) en condición control y estimulados con Fenilefrina.	35
Figura 10: Efecto del silenciamiento de Miro1 en el área celular en cardiomiocitos de rata neonata.....	36
Figura 11: Efecto de Fenilefrina en los niveles de ARNm de A.-β-MHC (cadena pesada de la miosina tipo β), B.-BNP (péptido natriurético tipo B), y C.-ANP (péptido natriurético auricular). en cardiomiocitos silenciados para Miro1.	37
Figura 12: A.- Contenido de Miro1 a distintos MOI (multiplicidad de infección). B.- cuantificación del western blot de Miro1 para los distintos MOI.	38
Figura 13: Porcentaje de liberación lactato deshidrogenasa a distintos MOI.....	39

Figura 14: Liberación de lactato deshidrogenasa de cardiomiocitos de ratas neonatas con sobreexpresión de Miro en condiciones control y estimulados con Fenilefrina.....39

Figura 15: Efecto de la sobre expresión de Miro1 en el área celular de cardiomiocitos de rata neonata.....40

Figura 16: Efecto de fenilefrina en los niveles de ARNm de A: β -MHC (cadena pesada de la miosina tipo β), B: BNP (péptido natriurético tipo B), y C: ANP (péptido natriurético auricular). en cardiomiocitos con sobreexpresión de Miro1.41