

ÍNDICE

1. Resumen.....	6
2. Introducción	7
3. Revisión bibliográfica	9
3.1 Característica patológica de la deficiencia de distrofina	9
3.2 Autofagia.....	13
3.2.1 Tipos de autofagia.....	16
3.2.2 Flujo autofágico	18
3.2.3 Vías transduccionales que regulan la autofagia	21
3.2.4 Desregulación de la autofagia en DMD	25
3.2.5 Funciones de la autofagia en el corazón.....	26
3.2.6 Enfermedades cardiovasculares y fármacos moduladores de la autofagia	29
3.3 Modelo animal.....	34
3.4 Western blot	35
4. Objetivos	45
5. Materiales y métodos	46
5.1 Cohorte de ratones en estudio.....	46
5.1.1 Preparación de las muestras	47
5.1.2 Determinación de proteínas.....	48
5.2 Western blot	48
5.2.1 Preparación de la muestra	48
5.2.2 Electroforesis en gel “SDS-PAGE”	49
5.2.3 Transferencia gel-membrana en medio húmedo	49
5.2.4 Bloqueo de la membrana.....	50
5.2.5 Hibridación del anticuerpo	50

5.2.5 Revelado.....	51
5.3 Análisis estadísticos.....	51
6 Resultados	52
6.2 Determinación de proteínas	53
6.3 Western blot.....	54
6.3.1 Estandarización del método	54
6.3.2 Determinación de GAPDH.....	55
6.3.3 Determinación de LC3B.....	57
6.3.4 Determinación de p62	58
7 Discusión.....	59
8 Conclusión.....	64
9 Bibliografía	65

Índice de figuras

Figura 1: Gen y estructura de la proteína distrofina.....	10
Figura 2: Diagrama esquemático del DGC	12
Figura 3: Distrofia muscular de Duchenne y patogénesis.....	13
Figura 4: Diferencias celulares entre apoptosis, autofagia y necrosis.....	14
Figura 5: Funciones de la autofagia en las diferentes partes del cuerpo humano.....	15
Figura 6: Tipos de autofagia.....	17
Figura 7: Etapas de formación del autofagosoma	20
Figura 8: Vías transduccionales que regulan la autofagia.....	24
Figura 9: Etapas de Western blot	44
Figura 10: Curva de calibración de determinación de proteínas.....	53
Figura 11: Estandarización Western blot GAPDH.....	54
Figura 12: Estandarización Western blot Beclin-1.....	54
Figura 13: Niveles de GAPDH control v/s <i>mdx</i>	55
Figura 15: Niveles de Beclin-1 control v/s <i>mdx</i>	56
Figura 16: Niveles de LC3B I Y II control v/s <i>mdx</i>	57
Figura 17: Niveles de p62 control v/s <i>mdx</i>	58

Índice de tablas

Tabla 1: Rol de la autofagia en enfermedades cardiovasculares	30
Tabla 2: Drogas que modulan la autofagia en el sistema cardiovascular.....	32
Tabla 3: Comparación de ratones control con ratones <i>mdx</i>	52
Tabla 4: Curva de calibración	53