

## RESUMEN

El óxido nítrico ( $\text{*NO}$ ) es un mensajero biológico sumamente importante y versátil, involucrado en la neurotransmisión, el mantenimiento de la homeostasis vascular y en los mecanismos primarios de la defensa inmune. Es un radical libre producido *in vivo* por un grupo de enzimas llamada Óxido Nítrico Sintetas (NOS). Los efectos del  $\text{*NO}$  están mediados por reacciones directas con hemoproteínas o mediante especies reactivas derivadas de reacciones del  $\text{*NO}$  con oxígeno, superóxido y metales. La nitrosación de tioles proteicos es una modificación dependiente de  $\text{*NO}$  que ha tomado un gran protagonismo últimamente, ya que estaría implicada en mecanismos de señalización celular. A pesar de haberse encontrado más de 100 proteínas con cisteínas modificadas por S-nitrosación, aún es necesario establecer cuáles son los mecanismos por los que se forman y descomponen estos compuestos *in vivo*. Para esto es necesario contar con una técnica de identificación y caracterización de S-nitrosotioles (RSNO) eficiente. Se han desarrollado varios métodos para la cuantificación y determinación de RSNO de bajo peso molecular y proteicos, entre ellos encontramos el método de Saville, la quimioluminiscencia y el biotin switch. El biotin switch es el método de referencia para la identificación de proteínas S-nitrosadas, pero sufre de baja reproducibilidad en los resultados. Esta técnica se basa en la reducción del RSNO con ascorbato, dejando los tioles libres para la unión con un reactivo biotinilado, marcando específicamente los tioles que se encontraban nitrosados. La eficiencia del ascorbato como agente reductor ha mostrado ser variable y dependiente de la muestra biológica a analizar, y se ha identificado como el punto débil de la técnica de biotin switch. Por esta razón nos planteamos estudiar metodologías alternativas para la denitrosación de RSNO. En este trabajo se ensayó en primer lugar la capacidad de halógenos, pseudohalógenos, y una variedad de organomercuriales, de denitrosar RSNO de bajo peso molecular (S-nitrosoglutatión) y proteicos (S-nitrosoalbúmina y S-nitrosotiorredoxina). Demostramos que el yoduro tiene una capacidad denitrosante significativa, destacándose dentro de los halógenos ensayados. Por otro lado se vio que los organomercuriales efectivamente reaccionan con RSNO, provocando la denitrosación y uniéndose a los tioles. En función de los resultados obtenidos se evalúa la utilidad de estos organomercuriales como potenciales herramientas para el desarrollo de una nueva técnica de descomposición e identificación específica de S-nitrosotioles.