

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	7
ÍNDICE DE IMÁGENES .....	8
1. RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN .....	11
2.1. CÉLULAS TUMORALES Y PLAQUETAS .....	12
2.2. SENESCENCIA CELULAR .....	14
2.3. VÍAS DE SEÑALIZACIÓN QUE ACTIVAN LA SENESCENCIA CELULAR .....	14
2.4. MORFOLOGÍA Y ACTIVIDAD DE BETA-GALACTOSIDASA DE LAS CÉLULAS SENESCENTES.....	16
2.5. MECANISMOS EFECTORES DE LA SENESCENCIA: FENOTIPO SECRETOR ASOCIADO A SENESCENCIA (SASP).....	17
2.6. PAI-1, UN EJEMPLO DE CÓMO LA SENESCENCIA CELULAR PODRÍA MODIFICAR LA FUNCIÓN HEMOSTÁTICA.....	19
3. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	21
4. OBJETIVO GENERAL Y ESPECÍFICOS .....	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	22
5.1. CULTIVO CELULAR.....	22
5.1.1. CONGELACIÓN DE CÉLULAS .....	22
5.1.2. DESCONGELACIÓN DE CÉLULAS.....	22
5.1.3. TRIPSINIZACIÓN.....	23
5.1.4. INDUCCIÓN DE SENESCENCIA .....	23
5.1.5. ACTIVIDAD DE BETA-GALACTOSIDASA ASOCIADA A SENESCENCIA .....	24
5.1.6. GENERACIÓN DE MEDIO CONDICIONADO PRODUCIDO POR CÉLULAS SENESCENTES.....	25
5.1.7. EXTRACCIÓN DE PROTEÍNAS .....	25
5.1.8. CONTEO CELULAR.....	26
5.1.9. CUANTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS INTRACELULARES Y PROTEÍNAS PRESENTES EN EL MEDIO DE CULTIVO .....	26
5.1.10. ENSAYOS DE AGREGACIÓN PLAQUETARIA .....	26
5.2. EXTRACCIÓN DE ARN TOTAL .....	28

5.2.1. CONFIRMACIÓN DE LA INTEGRIDAD DEL ARN .....	29
5.2.2. CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ARN TOTAL.....	29
5.2.3. TRATAMIENTO DE ARN TOTAL CON DNASA .....	29
5.2.4. GENERACIÓN DE ADN COMPLEMENTARIO .....	30
5.2.5. DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE LOS PARTIDORES (PRIMERS) PARA PCR CUANTITATIVO EN TIEMPO REAL (RT-QPCR) ...	30
5.2.6. PCR CUANTITATIVO EN TIEMPO REAL (RT-QPCR).....	32
5.3. ARREGLOS DE CITOQUINAS (CYTOKINE ARRAYS).....	33
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	34
7. RESULTADOS.....	35
7.1. ENSAYO DE BETA-GALACTOSIDASA PARA LA DETERMINACIÓN DE SENESCENCIA CELULAR EN CÉLULAS MECF10A Y AGS .....	35
7.2. EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO CONDICIONADO DE CÉLULAS MAMARIAS MCF10A SOBRE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA .....	36
7.3. EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO CONDICIONADO DE CÉLULAS GÁTRICAS AGS SOBRE LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA .....	38
7.4. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS AL SASP MEDIANTE PCR CUANTITATIVO EN TIEMPO REAL (RT-QPCR) .....	39
7.5. ARREGLOS DE CITOQUINAS (CYTOKINE ARRAYS).....	41
8. DISCUSIÓN .....	44
9. PROYECCIONES FUTURAS .....	47
10. CONCLUSIONES .....	48
11. ANEXOS.....	49
11.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	49
11.2 REQUERIMIENTOS DE ETICA, BIOSEGURIDAD Y OTROS.....	55
11.3 TABLA DE PROTEÍNAS ANALIZADAS MEDIANTE EL ARREGLO DE CITOQUINAS.....	58
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60

## ÍNDICE DE TABLAS

5.2.5. TABLA I PARTIDORES DISEÑADOS PARA EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN DE GENES.....	31
11.3. TABLA DE PROTEÍNAS ANALIZADAS MEDIANTE EL ARREGLO DE CITOQUINAS.....	58

## ÍNDICE DE IMÁGENES

2.3. FIGURA 1. VÍA DE P53 Y PRB EN SENESCENCIA.....	15
5.1.4. FIGURA 2. MODELO DE SENESCENCIA IN VITRO .....	24
7.1. FIGURA 3. ENSAYO DE BETA-GALACTOSIDASA.....	35
7.2. FIGURA 4. EFECTO DE MEDIO CONDICIONADO POR CELULAS SENESCENTES MCF10A EN LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA.....	37
7.3 FIGURA 5. EFECTO DE MEDIO CONDICIONADO POR CELULAS SENESCENTES AGS EN LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA.....	38
7.4 FIGURA 6. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS AL SASP (MCF10A) MEDIANTE PCR CUANTITATIVO EN TIEMPO REAL .....	40
7.4 FIGURA 7. ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE GENES ASOCIADOS AL SASP (AGS) MEDIANTE PCR CUANTITATIVO EN TIEMPO REAL.....	41
7.5 FIGURA 8. ARREGLO DE CITOQUINA MCF10A.....	42
7.5 FIGURA 9. ARREGLO DE CITOQUINA AGS.....	43