

ÍNDICE

	Página
1.- RESUMEN	1
2.- INTRODUCCIÓN	2
3.- MARCO TEORICO	3
3.1.- Senescencia celular	3
3.2. Senescencia replicativa	4
3.3. Senescencia por estrés oxidativo	5
3.4. Fenotipo senescente	8
3.5. Regulación de la senescencia	10
3.6. Marcadores de la senescencia	12
3.7 Inductor de envejecimiento celular: radiación ultravioleta	13
3.7.1 Efecto de la radiación ultravioleta en la piel	15
3.8 Polifenoles	18
4.- OBJETIVOS	20
5.- MATERIALES Y METODOS	21
5.1 Cultivo celular	21

5.2 Exposición de fibroblastos a radiación UV-A y UV-B	21
5.3.- Extracto de frutilla y orujo de uva	22
5.4.- Ensayo MTT	23
5.5.- Azul Tripan	24
5.7 Análisis estadístico	25
6.- RESULTADOS	26
6.1. Cultivo celular	26
6.2 Ensayo de viabilidad celular	28
6.2.1. Daño inducido por radiación UV-A	31
6.2.2. Daño inducido por radiación UV-B	32
6.1.3. Efecto protector del extracto de frutilla en fibroblastos expuestos a UV-B	33
6.1.4. Efecto protector de orujo de uva en fibroblastos expuestos a UV-B	35
6.3. Ensayo de viabilidad celular por Azul Tripan	38
6.3.1. Detección del efecto protector del extracto de frutilla en fibroblastos expuestos a UV-B por el método de viabilidad celular Azul Tripan	39
6.3.2. Detección del efecto protector del orujo de uva en fibroblastos expuestos a UV-B por el método de viabilidad celular Azul Tripan.	41

7.- DISCUSIÓN	45
8.- CONCLUSIÓN	49
9.- BIBLIOGRAFIA	50

INDICE DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1: Especies reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN)	6
Tabla 2. Distintos mecanismos de defensa antioxidante (enzimáticos, no enzimáticos y los preventivos)	7
Tabla 3. Tratamiento realizado a células incubadas con frutilla	23
Tabla 4. Tratamiento realizado a células incubadas con extracto de uva	23
Tabla 5. Tiempos de exposición a la radiación ultravioleta A expresados en J/m^2	30
Tabla 6. Tiempos de exposición a la radiación ultravioleta B expresados en J/m^2	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Gráfico de senescencia replicativa	3
Figura 2. Múltiples factores inducen senescencia	5
Figura 3. Fenotipo senescente inducido por múltiples estímulos	9
Figura 4. Diagrama de las dos vías de señalización en el fenómeno de senescencia celular	11
Figura 5. Estructura de la piel y penetración de la luz ultravioleta en la piel	15
Figura 6. Mecanismos de apoptosis inducido por UV	17
Figura 7. Estructura y sustituyentes de las antocianinas	19
Figura 8. Fotografía de microscopio óptico aumento de 40X de cultivo celular incubadas con extracto de frutilla y orujo de uva	26

Figura 9. Fotografía de microscopio óptico aumento de 40X en cultivo celular de fibroblastos expuestos a radiación UV-A	27
Figura 10. Fotografía de microscopio óptico aumento de 40X en cultivo celular de fibroblastos expuestos a radiación UV-B	28
Figura 11. Fotografía del ensayo de viabilidad MTT	29
Figura 12. Fotografía al microscopio óptico 40X, células con cristales de formazán	29
Figura 13. Reducción del porcentaje de viabilidad celular tras la exposición a la radiación UV-A	31
Figura 14. Reducción del porcentaje de viabilidad celular tras la exposición a la radiación UV-B	32
Figura 15. Porcentaje de viabilidad con extracto de frutilla por 1 hora por ensayo de MTT	34
Figura 16. Porcentaje de viabilidad con extracto de frutilla por 24 horas por ensayo de MTT	35

Figura 17. Porcentaje de viabilidad con extracto de orujo de uva por 1 hora por ensayo de MTT	37
Figura 18. Porcentaje de viabilidad con orujo de uva por 24 horas por ensayo de MTT	38
Figura 19. Fotografía de microscopio óptico aumento de 40X en ensayo de azul tripan	39
Figura 20. Porcentaje de viabilidad con extracto de frutilla por 1 hora por ensayo de Azul Tripan	40
Figura 21. Porcentaje de viabilidad con extracto de frutilla por 24 horas por ensayo de Azul Tripan	41
Figura 22. Porcentaje de viabilidad con extracto de orujo de uva por 1 hora por ensayo de Azul Tripan	43
Figura 23. Porcentaje de viabilidad con orujo de uva por 24 horas por ensayo de Azul Tripan	44