

	Página
ÍNDICE	1
RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN	4
1.1 Melanoma	4
1.1.1 Tipos de Melanoma	4
1.1.2 Tratamiento	6
1.2 Radioterapia	8
1.2.1 Radioterapia para el melanoma	8
1.3 Efectos biológicos de la radiación	9
1.3.1 Curva de sobrevivencia	11
1.4 Apoptosis o muerte celular programada	13
1.4.1 Características	13
1.4.2 Apoptosis versus Necrosis	14
1.4.3 Morfología	14
1.4.4 Vías de muerte celular por apoptosis	16
1.4.4.1 Fragmentación de PARP-1 en los mecanismos de muerte celular	17
1.5 Efecto de la radiación sobre la inducción de muerte celular en células de melanoma	19
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo general	20
2.2 Objetivos Específicos	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1 Líneas celulares	21
3.2 Mantenimiento de células en Cultivo	21
3.3 Ensayo clonogénico	22
3.4 Tratamiento de las líneas celulares de melanoma con Radiación gamma y Cisplatín	22

3.4.1 Tinción con Hoescht 33258	22
3.4.2 Western Blot con Anti PARP-1	23
3.4.2.1 Extracción y lisis de proteínas	23
3.4.2.2 Cuantificación de proteínas por Lowry	23
3.4.2.3 Electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE)	23
3.4.2.4 Transferencia y revelado	23
4. RESULTADOS	25
4.1 Caracterización de la radiosensibilidad intrínseca de líneas celulares de melanoma humano	25
4.2 Reconocimiento de apoptosis a partir de la morfología nuclear, <i>Tinción con Hoescht</i>	26
4.3 Evaluación por Western Blot del clivaje de PARP-1 por apoptosis y necrosis	29
5. DISCUSIÓN	33
6. REFERENCIAS	37