



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

Informe final publicable de proyecto

Rol de mitocondria en la secreción de vesículas extracelulares por células senescentes

Código de proyecto ANII: FCE_3_2022_1_172339

Fecha de cierre de proyecto: 01/02/2026

MARTÍNEZ CAZARRÉ, Jennyfer (Responsable Técnico - Científico)

FAGÚNDEZ FERRÓN, Pablo Martin (Investigador)

GOÑI, María Magdalena (Investigador)

GRÜNWARD, Guillermo (Investigador)

QUIJANO HERRERA, Celia Lía (Investigador)

TARALLO CHAIBÚN, María Doménica (Investigador)

TOSAR ROVIRA, Juan Pablo (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE MEDICINA (Institución Proponente) \\ UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE MEDICINA

Resumen del proyecto

Las células pueden entrar en un estado llamado senescencia celular, en el cual dejan de dividirse, pero continúan activas metabólicamente y liberan diversas señales hacia su entorno. Entre estas señales se encuentran las vesículas extracelulares, que permiten a las células comunicarse entre sí al transportar proteínas, lípidos, ADN y ARN.

El objetivo de este proyecto fue estudiar la relación entre las mitocondrias y la secreción de vesículas extracelulares en células de melanoma senescentes tras la quimioterapia. Las mitocondrias son organelos celulares responsables de la producción de energía y también participan en múltiples procesos celulares.

Para ello se aislaron y caracterizaron vesículas extracelulares provenientes de cultivos celulares y se analizó su contenido. Los resultados indican que las células senescentes liberan una mayor cantidad de vesículas extracelulares que las células no senescentes. Además, se encontraron evidencias de la presencia de algunos componentes de origen mitocondrial dentro de estas vesículas.

Estos hallazgos contribuyen a comprender mejor cómo se comunican las células senescentes con su entorno y sugieren que las mitocondrias podrían participar en la generación o el contenido de las vesículas extracelulares. Este conocimiento podría ser relevante para futuras investigaciones en biología celular, envejecimiento y cáncer.

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Metabolismo celular

Palabras clave: Senescencia celular / Mitocondria / Vesículas extracelulares /

Antecedentes, problema de investigación, objetivos y justificación.

La senescencia celular es un proceso biológico en el cual las células pierden la capacidad de dividirse como respuesta a distintos tipos de estrés que dañan el ADN, como los tratamientos quimioterapéuticos (Ajoobady et al., 2025). Aunque inicialmente se consideraba un mecanismo protector frente al cáncer, hoy se sabe que las células senescentes pueden influir en su entorno mediante la secreción de múltiples factores (Lopes-Paciencia et al., 2019).

Entre estos factores se encuentran las vesículas extracelulares, pequeñas estructuras rodeadas por membrana que transportan biomoléculas y participan en la comunicación entre células (Misawa et al., 2020). En los últimos años se ha observado que las células senescentes suelen liberar más vesículas extracelulares que las células no senescentes (Oh et al., 2022).

Por otro lado, la mitocondria cumple un rol central en el metabolismo celular y en la regulación de múltiples procesos celulares (Martínez et al., 2020). Previamente, el grupo de investigación identificó que el silenciamiento de las mitofusinas 1 y 2, proteínas de dinámica mitocondrial, afectaba la secreción de las células senescentes (Martínez et al., 2019; Tarallo et al., 2024). Sin embargo, aún se conoce poco sobre cómo las mitocondrias pueden influir en la formación o el contenido de las vesículas extracelulares, especialmente en el contexto de la senescencia.

En este contexto, el proyecto se propuso investigar el rol de las mitocondrias en la secreción de vesículas extracelulares en células de melanoma, utilizando modelos celulares de senescencia celular por el tratamiento con un agente quimioterapéutico.

Los objetivos específicos incluyeron:

- Aislar y caracterizar vesículas extracelulares provenientes de células de melanoma senescentes y no senescentes.
- Analizar si cambios en la función o dinámica mitocondrial influyen en la secreción de vesículas extracelulares.
- Evaluar si las vesículas extracelulares contienen componentes de origen mitocondrial.

Comprender estos procesos puede aportar información relevante sobre los mecanismos de comunicación celular de las células senescentes en el contexto del tratamiento del melanoma y como estos procesos pueden incluir en la respuesta a tratamiento.

Metodología/Diseño del estudio

El estudio se realizó utilizando cultivos celulares de melanoma de ratón y la senescencia celular fue inducida mediante tratamiento con temozolomida, un fármaco quimioterapéutico.

A partir de los medios de cultivo condicionados por estas células se aislaron vesículas extracelulares utilizando técnicas de separación por cromatografía de exclusión molecular. Posteriormente, estas vesículas fueron caracterizadas mediante diferentes métodos experimentales que permitieron: determinar el número y tamaño de las partículas presentes, detectar marcadores moleculares característicos de vesículas extracelulares y analizar el contenido proteico y genético de las vesículas.

Además, se realizaron experimentos dirigidos a evaluar el papel de la dinámica mitocondrial, mediante la reducción experimental de la expresión de proteínas involucradas en la fusión de las mitocondrias, las mitofusinas 1 y 2.

Finalmente, se llevaron a cabo análisis bioquímicos y ensayos funcionales para investigar la posible presencia de componentes mitocondriales dentro de las vesículas extracelulares.

Resultados, análisis y discusión

Los resultados obtenidos muestran que las células de melanoma senescentes liberan una mayor cantidad de vesículas extracelulares en comparación con las células no senescentes. Las vesículas aisladas presentan características consistentes con poblaciones descritas previamente en la literatura (Welsh et al., 2024), tanto en tamaño como en la presencia de marcadores moleculares típicos.

El análisis del contenido de las vesículas permitió detectar algunos componentes asociados a mitocondrias, lo que sugiere que estos organelos

podrían contribuir al material transportado por las vesículas extracelulares. Asimismo, se observó un aumento en la presencia de ADN mitocondrial en las vesículas derivadas de células senescentes.

Por otro lado, los experimentos dirigidos a modificar la dinámica mitocondrial mediante la reducción de proteínas específicas mostraron que estos cambios no alteran significativamente la cantidad total de vesículas liberadas, aunque podrían afectar algunos aspectos de su composición molecular. Esto abre nuevas preguntas sobre el papel selectivo que podrían tener las mitocondrias en la biogénesis o el contenido de estas vesículas.

Los análisis funcionales realizados sugieren que, aunque las vesículas pueden contener componentes mitocondriales, no se observó evidencia clara de actividad respiratoria mitocondrial funcional en las fracciones analizadas.

En conjunto, estos resultados apoyan la idea de que las células senescentes modifican su comunicación con el entorno mediante cambios en la secreción y el tipo de vesículas extracelulares, y que las mitocondrias podrían desempeñar un papel en este proceso.

Los resultados obtenidos en el marco de este proyecto, contribuyen al avance del conocimiento básico en el estudio de las vesículas extracelulares y la senescencia celular, especialmente en el contexto del cáncer; lo que a largo plazo puede favorecer el desarrollo de nuevas estrategias de identificación o terapéuticas basadas en el estudio de las vesículas extracelulares y su contenido.

Conclusiones y recomendaciones

Este proyecto permitió avanzar en la comprensión de la relación entre la secreción de vesículas extracelulares y la mitocondria en células de melanoma senescentes por la quimioterapia.

Nuestros resultados muestran que las células senescentes presentan un aumento en la secreción de vesículas extracelulares. Además, estas vesículas contienen componentes de origen mitocondrial, incluyendo ADN mitocondrial. En conjunto, estos hallazgos sugieren que las mitocondrias podrían participar en procesos relacionados con la generación o el contenido de vesículas extracelulares durante la senescencia celular.

Como líneas futuras de investigación, se propone profundizar en el estudio de los mecanismos moleculares que regulan la incorporación de componentes mitocondriales en vesículas extracelulares secretadas por células senescentes, analizar con mayor precisión el contenido de estas vesículas y explorar el posible rol funcional de estas vesículas en la comunicación celular dentro del microambiente tumoral.

Productos derivados del proyecto

Tipo de producto	Título	Autores	Identificadores	URI en repositorio de Silo	Estado
Tesis de grado/monografías	Metodologías para la obtención de vesículas extracelulares a partir de células senescentes	Magdalena Goñi	https://hdl.handle.net/20.500.11968/7085	https://hdl.handle.net/20.500.11968/7085	Finalizado
Tesis de grado/monografías	Vesículas extracelulares de células de melanoma senescentes: búsqueda de componentes mitocondriales y efecto del silenciamiento de la mitofusina 1	Guillermo Grünwaldt de Souza	https://hdl.handle.net/20.500.12008/53949	https://hdl.handle.net/20.500.12008/53949	Finalizado

Referencias bibliográficas

- Ajoolabady, A., Pratico, D., Bahijri, S., Tuomilehto, J., Uversky, V.N., Ren, J., 2025. Hallmarks of cellular senescence: biology, mechanisms, regulations. *Exp. Mol. Med.* 57, 1482–1491. <https://doi.org/10.1038/s12276-025-01480-7>
- Lopes-Paciencia, S., Saint-Germain, E., Rowell, M.-C., Ruiz, A.F., Kalegari, P., Ferbeyre, G., 2019. The senescence-associated secretory phenotype and its regulation. *Cytokine* 117, 15–22.
- Martínez, J., Marmisolle, I., Tarallo, D., Quijano, C., 2020. Mitochondrial Bioenergetics and Dynamics in Secretion Processes. *Front. Endocrinol.* 11, 319. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00319>
- Martínez, J., Tarallo, D., Martínez-Palma, L., Victoria, S., Bresque, M., Rodríguez-Bottero, S., Marmisolle, I., Escande, C., Cassina, P., Casanova, G., Bollati-Fogolin, M., Agorio, C., Moreno, M., Quijano, C., 2019. Mitofusins modulate the increase in mitochondrial length, bioenergetics and secretory phenotype in therapy-induced senescent melanoma cells. *Biochem. J.* BCI20190405.
- Misawa, T., Tanaka, Y., Okada, R., Takahashi, A., 2020. Biology of extracellular vesicles secreted from senescent cells as senescence-associated secretory phenotype factors. *Geriatr. Gerontol. Int.* 20, 539–546.
- Oh, C., Koh, D., Jeon, H.B., Kim, K.M., 2022. The Role of Extracellular Vesicles in Senescence. *Mol. Cells* 45, 603–609. <https://doi.org/10.14348/molcells.2022.0056>
- Tarallo, D., Martínez, J., Leyva, A., Mónaco, A., Perroni, C., Tassano, M., Gambini, J.P., Cappetta, M., Durán, R., Moreno, M., 2024. Mitofusin 1 silencing decreases the senescent associated secretory phenotype, promotes immune cell recruitment and delays melanoma tumor growth after chemotherapy. *Sci. Rep.* 14, 909.
- Welsh, J.A., Goberdhan, D.C.I., O'Driscoll, L., Buzas, E.I., Blenkiron, C., Bussolati, B., Cai, H., Di Vizio, D., Driedonks, T.A.P., Erdbrügger, U., 2024. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J. Extracell. Vesicles* 13, e12404.

Licenciamiento

Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional. (CC BY-NC-ND)

