

INDICE

	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Revisión bibliográfica	3
3.1 Generalidades de la diabetes	3
3.2 Clasificación de la diabetes	3
3.3 Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)	5
3.4 Epidemiología en Chile DMT2	6
3.5 Especies Reactivas del Oxígeno (ROS)	8
3.5.1 NOX-2	9
3.5.2 NOX-4	11
3.6 Cardiomiopatía diabética	12
4. Hipótesis y Objetivos	15
4.1 Hipótesis	15
4.2 Objetivo general	15
4.2.1 Objetivos específicos	15
5. Metodología	16
5.1 Cohorte de ratas en estudio	16
5.2 Materiales y equipos	19
5.2.1 Materiales	19
5.2.2 Equipos utilizados	19

5.3 Genes PCR-real time	20
5.4 Métodos	21
5.4.1 Aislamiento de ARNm y proteínas por Triazol	21
5.4.2 Transcripción de ARNm a ADNc	24
5.4.3 qPCR (Método Taqman)	26
5.5 Análisis estadístico	29
6. Resultados	30
7. Discusión	49
8. Conclusiones	54
9. Bibliografía	55

INDICE DE TABLAS

TABLAS	Página
Tabla N°1. Primers tratados.	20
Tabla N°2. Información de los amplicones (<i>Primers</i>) utilizados.	20
Tabla N°3. Protocolo de trabajo de la RT- PCR	24
Tabla N°4. Calculo de las diluciones del ARNm necesario para la RT-PCR	25
Tabla N°5. Temperaturas programadas en el termociclador para la RT-PCR	26
Tabla N°6. Protocolo de trabajo de la RT- PCR	28
Tabla N°7. Temperaturas programadas en el termociclador para la RT-PCR	28
Tabla N°8. Registro de peso en gramos de cada rata en estudio desde el día 1 al 12.	30
Tabla N°9. Registro de peso en gramos de cada rata en estudio desde el día 14 al 26.	31
Tabla N°10. Informe de glicemias evaluadas durante la experimentación	32
Tabla N°11. Promedio de CTs de los genes en estudio	38
Tabla N°12. Determinación Δ CT de los genes en estudio.	39
Tabla N°13. Evaluación de la razón de cambio (fold change)	41
Tabla N°14. Determinación estadística de la variabilidad del gen NOX-2.	42
Tabla N°15. Determinación estadística de la variabilidad del gen NOX-4.	44
Tabla N°16. Grado de significancia para la transformación de NOX-2	48
Tabla N°17. Grado de significancia para la transformación de NOX-4	48

INDICE DE FIGURAS

FIGURAS	Página
Fig.1. Variables vinculadas en la DMT2	6
Fig.2. Estructura de activación de las subunidades NOX	9
Fig.3. Activación secuencial de NOX-2	11
Fig.4. Mecanismo de acción de las ROS en la miocardiopatía diabética	14
Fig.5. Aislamiento del ARN por medio del Trizol	22
Fig.6. Fundamento del método Taqman	27
Fig.7. ARNm extraído revelado en agar de agarosa al 4%	51
GRAFICAS	
Gráfica N°1. Gráfica en escala lineal de amplificación entre GAPDH vs NOX-2, en ratas diabéticas sin ejercicio (S) tratadas con aloxano.	34
Gráfica N°2. Gráfica en escala lineal de amplificación entre GAPDH vs NOX-4, en ratas diabéticas sin ejercicio (S) tratadas con aloxano.	35
Gráfica N°3. Gráfica en escala lineal de amplificación entre GAPDH vs NOX-2, en ratas diabéticas sometidas a ejercicio físico (E) tratadas con aloxano.	36
Gráfica N°4. Gráfica en escala lineal de amplificación entre GAPDH vs NOX-4, en ratas diabéticas sometidas a ejercicio físico (E) tratadas con aloxano.	37
Gráfica N°5. Gráfica de dispersión comparando la expresión de ARNm de NOX-2, entre ratas control y ratas diabéticas sin ejercicio físico (S).	43
Gráfica N°6. Gráfica de dispersión comparando la expresión de ARNm de NOX-4, entre ratas control y ratas diabéticas sin ejercicio físico (S).	45
Gráfica N°7. Gráfica de barras comparativa de la expresión (Normalizada) de ARNm entre NOX-2 y NOX-4, entre ratas control y ratas diabéticas sin ejercicio físico (S). * ($p \leq 0,05$ vs Control)	46

Gráfica N°8. Gráfica de barras comparativa de la expresión (Normalizada) de NOX-2, entre ratas control (C), ratas diabéticas sin ejercicio físico (S) y roedores diabéticos en ejercicio físico (E). * (p≤0,05 vs Control) **47**

Gráfica N°9. Gráfica de barras comparativa de la expresión (Normalizada) de NOX-4, entre ratas control (C), ratas diabéticas sin ejercicio físico (S) y roedores diabéticos en ejercicio físico (E). * (p≤0,05 vs Control) **47**