

## ÍNDICE

CAPÍTULO	PÁG
1. RESUMEN .....	6
2. INTRODUCCIÓN.....	7
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA .....	9
3.1. Epidemiología .....	9
3.2. Estrés Oxidativo .....	10
3.3. Célula beta pancreática .....	12
3.4. Hipertrofia y atrofia de la célula beta pancreática .....	13
3.5. Factores asociados a la reducción progresiva de la masa y función de la célula beta pancreática.....	13
3.5.1. Hiperglicemia/glucotoxicidad.....	16
3.5.2.Lipotoxicidad .....	17
3.6 Cultivo Celular .....	18
3.7 Extracto de propóleo.....	20
4. OBJETIVOS .....	20
4.1. Objetivo General .....	20
4.2. Objetivos Específicos .....	21
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	21
5.1. Cultivo Celular.....	21
5.2. Cambio de Medio y Lavado.....	21
5.3. Tripsinización de placas.....	22
5.4. Congelamiento de Viales Celulares.....	22
5.5. Descongelamiento de Viales Celulares.....	23
5.6. Curva de Calibración Celular.....	23
5.7. Viabilidad Celular.....	24
5.8 Preparación de extractos de propóleo.....	25
5.9. Protección antioxidante de extractos de propóleo.....	25
5.10. Análisis estadístico.....	26

6. RESULTADOS.....	27
7. DISCUSIÓN.....	54
8. CONCLUSIÓN.....	57
9. BIBLIOGRAFÍA .....	58

<b>TABLAS Y FIGURAS</b>	<b>Pág</b>
Tabla 1: Relación de cantidad de células – absorbancia por kit de MTT en células	28
Tabla 2: Viabilidad celular de MIN-6 frente a diferentes concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μM) por un tiempo de 24 horas utilizando el kit de MTT	30
Tabla 3: Viabilidad celular de BTC-6 frente a diferentes concentraciones de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μM) por un tiempo de 24 horas utilizando el kit de MTT	32
Tabla 4: Viabilidad celular de MIN-6 frente a diferentes concentraciones de t-BOOH (μM) por un tiempo de 24 horas utilizando el kit de MTT	34
Tabla 5: Viabilidad celular de BTC-6 frente a diferentes concentraciones de t-BOOH (μM) por un tiempo de 24 horas utilizando el kit de MTT	36
Figura 1: Volumen relativo de células beta en páncreas en autopsia de individuos no diabéticos (ND), con alteración de los niveles de glucosa en ayuno (Glu Alt Ayu) o con diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2).	12
Figura 2: Cultivo celular de MIN-6 en placa de 100 mm bajo condiciones de cultivo.	27
Figura 3: Curva de Calibración Celular determinada por Kit de MTT en células BTC-6.	29
Figura 4: Viabilidad Celular de MIN-6 frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	31
Figura 5: Viabilidad Celular de BTC-6 frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .	33
Figura 6: Viabilidad Celular de MIN-6 frente a t-BOOH.	35
Figura 7: Viabilidad Celular de BTC-6 frente a t-BOOH.	37
Figura 8: Efecto del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> sobre la viabilidad en el tiempo en células MIN-6 a una concentración de 50 μM.	38
Figura 9: Efecto del H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> sobre la viabilidad en el tiempo en células BTC-6 a una concentración de 50 μM.	38
Figura 10: Efecto del t-BOOH sobre la viabilidad en el tiempo en células MIN-6 a una concentración de 150 μM.	39
Figura 11: Efecto del t-BOOH sobre la viabilidad en el tiempo en células BTC-6 a una concentración de 150 μM.	40
Figura 12: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto 1 en células MIN-6 y BTC-6 frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por MTT.	41
Figura 13: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto 1 en células MIN-6 y BTC-6 frente a t-BOOH por MTT.	42
Figura 14: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto 2 en células MIN-6 y BTC-6 frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por MTT.	43

Figura 15: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto 2 en células MIN-6 y BTC-6 frente a t-BOOH por MTT.	44
Figura 16: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto comercial en células MIN-6 y BTC-6 frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por MTT.	45
Figura 17: Estudio del efecto protector antioxidante del extracto comercial en células MIN-6 y BTC-6 frente a t-BOOH por MTT.	46
Figura 18: Células MIN-6 incubadas solo con el vehículo (metanol 0,1%) por un tiempo de 18 horas.	47
Figura 19: Células MIN-6 incubadas con extracto 1 a una concentración de 10,3 µg/ml frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50 µM por un tiempo de 18 horas.	48
Figura 20: Células MIN-6 incubadas con extracto 1 a una concentración de 1,03 µg/ml frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50 µM por un tiempo de 18 horas.	48
Figura 21: Células MIN-6 incubadas con extracto 2 a una concentración de 11,2 µg/ml frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50 µM por un tiempo de 18 horas.	48
Figura 22: Células MIN-6 incubadas con extracto 1 a una concentración de 10,3 µg/ml frente a t-BOOH 150 µM por un tiempo de 18 horas.	49
Figura 23: Células MIN-6 incubadas con extracto 1 a una concentración de 1,03 µg/ml frente a t-BOOH 150 µM por un tiempo de 18 horas.	50
Figura 24: Células MIN-6 incubadas con extracto comercial a una concentración de 907,1 µg/ml frente a H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 50 µM por un tiempo de 18 horas.	50
Figura 25: Células MIN-6 incubadas con extracto comercial a una concentración de 90,7 µg/ml frente a t-BOOH 150 µM por un tiempo de 18 horas.	51
Figura 26: Células MIN-6 incubadas con extracto comercial a una concentración de 907,1 µg/ml frente a t-BOOH 150 µM por un tiempo de 18 horas	52
Figura 27: Células MIN-6 incubadas con extracto 1 a una concentración de 10,3 µg/ml por un tiempo de 18 horas.	52
Figura 28: Células MIN-6 incubadas con extracto 2 a una concentración de 11,3 µg/ml por un tiempo de 18 horas.	53
Figura 29: Células MIN-6 incubadas con extracto comercial a una concentración de 907,1 µg/ por un tiempo de 18 horas.	53