



**Universidad Abierta
Interamericana**

**Universidad Abierta Interamericana
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Carrera de Medicina**

Estudio del rol del canal de potasio Kir6.2/K- ATP en el metabolismo lipídico

NOMBRE DEL ALUMNO: Ignacio A. Báez Rosés

NOMBRE DEL TUTOR: Dr. Prof. Ariel D. Quiroga

NOMBRE DEL CO-TUTOR: Dra. Mg. Marcela Agostini

PALABRAS CLAVES: Síndrome metabólico, lípidos hepáticos, dislipidemia

Correo electrónico del tutorando: ignaciobroses@gmail.com

FECHA DE PRESENTACIÓN: febrero de 2019

Índice

I. Agradecimientos	3
II. Lista de abreviaturas usadas en esta tesis	4
III. Resumen	6
IV. Introducción	7
- Definiciones	7
- Prevalencia	8
- La obesidad en la región latinoamericana y en argentina	11
- Causas de obesidad	12
- Consecuencias de la obesidad	14
- Tratamiento	15
- En busca de nuevos blancos terapéuticos	22
V. Problema	25
VI. Objetivos	26
VII. Materiales y métodos	27
VIII. Resultados	30
- Generalidades	30
- Objetivo específico 1	31
- Objetivo específico 2	32
- Objetivo específico 3	33
IX. Discusión	36
X. Conclusiones	43
XI. Referencias	44
XII. Anexos	50

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Abierta Interamericana, UAI. Así como a la Secretaria de Investigación de la UAI, al CAECHIS, y a los miembros del Bioterio. También quiero agradecer al CONICET, y especialmente al Dr. Ariel D. Quiroga por permitirnos realizar esta tesis y ayudarnos continuamente en la producción de esta tesis.

También agradezco a mi mamá y a María Fernanda por acompañarme a lo largo de la carrera.

LISTA DE ABREVIATURAS USADAS EN ESTA TESIS

- AACE: asociación americana de endocrinología clínica (del inglés, *American Association of Clinical Endocrinologis*)
- ACE: colegio americano de endocrinología (del inglés, *American College of Endocrinology*)
- ADP: Adenosín difosfato
- ANOVA: análisis de la variancia
- AgRP: péptido relacionado agouti
- AGT: ácidos grasos trans
- ASBS: Sociedad Americana de Cirugía Bariátrica
- ATP: adenosín trifosfato
- CART: transcripto regulado por cocaína y anfetamina
- CICUAL: comité institucional para el cuidado y uso de animales de laboratorio
- CL: colesterol libre
- EC: ésteres de colesterol
- FDA: Administración de Drogas y Alimentos (del inglés, *Food and Drug Administration*)
- FTO: gen asociado a la masas grasa y la obesidad (del inglés, *Fat Mass and Obesity-Associated*)
- GABA: ácido γ -aminobutírico
- GLP-1: péptido similar al glucagón tipo 1 (del inglés *glucagon-like peptide-1*)
- HFD: dieta rica en grasa (del inglés *high fat diet*)
- HSD de Tukey: diferencia honestamente significativa de Tukey
- IMAO/MAOI: inhibidores de la monoamino oxidasa
- IMC: índice de masa corporal
- ip: intraperitonealmente
- K-ATP: canales de potasio sensibles a ATP
- Kir6.2^{-/-} : kir6.2 knock-out

- LDH: lactato deshidrogenasa
- LpL: lipoproteína lipasa
- MC4R: receptor de melanocortina-4 (del inglés, *melanocortin-4 receptor*)
- MEN2: neoplasia endócrina múltiple 2
- NPY: neuropéptido Y
- Nrp1: neuropilin1
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- P-407: poloxámero-407
- PAHO: Organización Panamericana de la Salud (del inglés, *Pan-American Health Organization*)
- PHHI: hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia
- PIB: producto interno bruto
- PIP 2: 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol
- POMC: proopiomelanocortina, del inglés, pro-opiomelanocortin
- SE: error estándar (del inglés, *standard error*)
- SECO: Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad
- TG: triglicéridos
- UAI: Universidad Abierta Interamericana
- Vegfr1, también conocido como Flt1: receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular
- VLDL: lipoproteína de muy baja densidad (del inglés *very low density lipoprotein*)
- WNK: quinasas sin lisina (del inglés, *lysine deficient protein kinases*)
- WT: ratones salvajes (del inglés, *wild-type*)

RESUMEN

La obesidad es considerada uno de los más grandes factores de riesgo y causa de morbilidad y mortalidad en el mundo, y cada vez tiene una mayor incidencia a nivel mundial (en el 2016 el 39% de los adultos tenían sobrepeso y el 13% eran obesos). Teniendo en cuenta que la farmacoterapia no es el principal tratamiento para la obesidad, es importante tenerla en cuenta en pacientes que no hayan obtenido beneficios con otras intervenciones, por lo que el hallazgo de nuevos blancos moleculares que apunten a la obesidad y/o sus complicaciones, se ha convertido en una tarea en creciente auge. Los canales Kir6.2/ATP están asociados con la regulación de la ingesta de alimentos además de cumplir con otras múltiples funciones, de esto surge nuestro objetivo el cual es estudiar su rol en el metabolismo lipídico del ratón, para lo cual se usaron ratones de C57Bl/6 de tipo salvaje (animales control), y ratones Kir6.2^{-/-} (carentes de Kir6.2), alimentados con comida regular o con una dieta conteniendo un 60% de grasa.

Los ratones Kir6.2^{-/-} presentaron una leve hiperfagia con una acumulación menor de grasa visceral. Además, presentaron mayor velocidad de secreción de VLDL en ambas dietas y mayores niveles plasmáticos de β -hidroxibutirato, marcador de oxidación hepática. También presentan aumentada relación peso del hígado/peso corporal, en ambos regímenes dietarios, siendo más pronunciada en la dieta rica en grasa, esto sin observarse diferencias en los niveles de lípidos hepáticos entre los grupos, indicando que el aumento de masa es debido a un aumento de la celularidad. Conclusión: los animales Kir6.2^{-/-} estarían eliminando la grasa hepática a través de un aumento de su secreción, así como de su oxidación. **Nuestros hallazgos muestran que Kir6.2 jugaría un rol, probablemente indirecto, en el redireccionamiento del exceso de energía hacia el hígado, el tejido adiposo y el muscular.**

INTRODUCCIÓN

Definiciones

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede llegar a ser perjudicial para la salud. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador de la relación entre el peso y la estatura que se utiliza para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos, proporcionando la medida más útil para medir estos parámetros en la población, ya que su valor es el mismo para ambos sexos y para los adultos de todas las edades. Este índice se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su estatura en metros. Sin embargo, el IMC no tiene en cuenta la diferencia entre el tejido adiposo y el magro; ni tampoco distingue entre las diferentes formas de adiposidad.

En adultos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) define como sobrepeso a un IMC igual o superior a 25 y como obesidad al IMC igual o superior a 30, sin embargo, existen otras clasificaciones alrededor de estos dos términos. En la tabla 1 se muestra la clasificación completa según la OMS.

Tabla 1 - Clasificación del IMC según la OMS

Insuficiencia ponderal	Menor a 18.5
Intervalo normal	18.5 - 24.9
Sobrepeso	Mayor o igual a 25.0
Preobesidad	25.0 - 29.9
Obesidad	Mayor o igual a 30.0
Obesidad de clase I	30.0 - 34.9
Obesidad de clase II	35.0 - 39.9
Obesidad de clase III	Mayor o igual a 40.0

Como se muestra en la tabla 1, se considera **insuficiencia ponderal** aquella condición en donde el peso del individuo es inferior al que corresponde para su edad. La OMS y las sociedades científicas consideran que existe obesidad cuando el IMC es ≥ 30 kg/m². Los distintos grados de obesidad se clasificarán a mayor grado de IMC (**obesidad clase I, II y III**). Se

considera **obesidad mórbida** cuando el IMC es ≥ 40 kg/m². Actualmente, se consideran una categorías más para la obesidad mórbida que es cuando el IMC es ≥ 50 kg/m² (“**superobesidad mórbida**”), ya que desde el punto de vista quirúrgico tiene implicaciones a la hora de seleccionar la técnica más apropiada. La Sociedad Americana de Cirugía Bariátrica (ASBS) y la Sociedad Española de Cirugía de la Obesidad (SECO) incluyen una tercera categoría, la correspondiente a IMC ≥ 60 kg/m² (http://www.seco.org/Tipo-y-grados-de-obesidad_es_19_0_0_33_38.html).

Para los niños el cálculo es diferente, por estar ellos siempre en continuo crecimiento. Para ello se utilizan tablas relacionadas con el crecimiento con percentiles. De manera simple, en los menores de 5 años, el sobrepeso es el peso para la estatura con más de dos desviaciones típicas por encima de la mediana establecida en los patrones de crecimiento infantil de la OMS; mientras que la obesidad es el peso del niño con más de tres desviaciones típicas por encima de esta mediana. En el caso de los niños de 5 a 19 años, se definen como sobrepeso es el IMC para la edad con más de una desviación típica por encima de la mediana establecida en los patrones de crecimiento infantil de la OMS, y en la obesidad es mayor que dos desviaciones típicas por encima (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

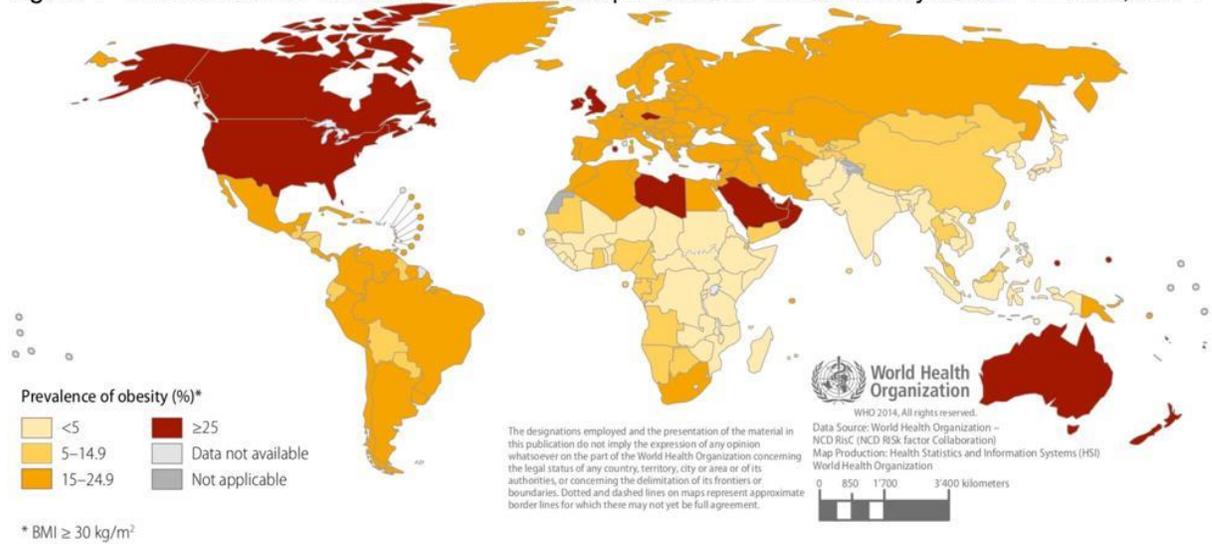
Prevalencia

Siendo considerados alguna vez como problemas de los países con altos ingresos, tanto el sobrepeso como la obesidad están cada vez más en continuo crecimiento en los países con bajos y medios ingresos, sobre todo en las áreas más urbanizadas. Según la OMS, la obesidad y el sobrepeso han alcanzado cifras de epidemia a nivel mundial (Gargallo Fernandez et al., 2012; Gargallo Fernandez Manuel et al., 2012; Popkin & Reardon, 2018; Salas-Salvado, Rubio, Barbany, Moreno, & Grupo Colaborativo de la, 2007; Smith & Smith, 2016). La prevalencia de obesidad, se triplicó entre 1980 y 2008 en todas las regiones del mundo, hasta el punto de que ahora hay unas 700 millones de personas consideradas obesas (Smith & Smith, 2016), que de acuerdo con las estimaciones de la OMS, causan cada año la muerte de 2,8 millones de personas y provocan un descenso de hasta 10 años en la esperanza de vida.

Según estimaciones recientes de la OMS a nivel mundial, en el 2016 el 39% de los adultos de 18 o más años tenían sobrepeso, lo que equivaldría a unas 1900 millones de personas, siendo un aproximado del 13% de la población adulta mundial obesos (650 millones). Se puede apreciar la prevalencia en hombres (Figura 1) y en mujeres (Figura 2) mayores de 18 años a nivel mundial

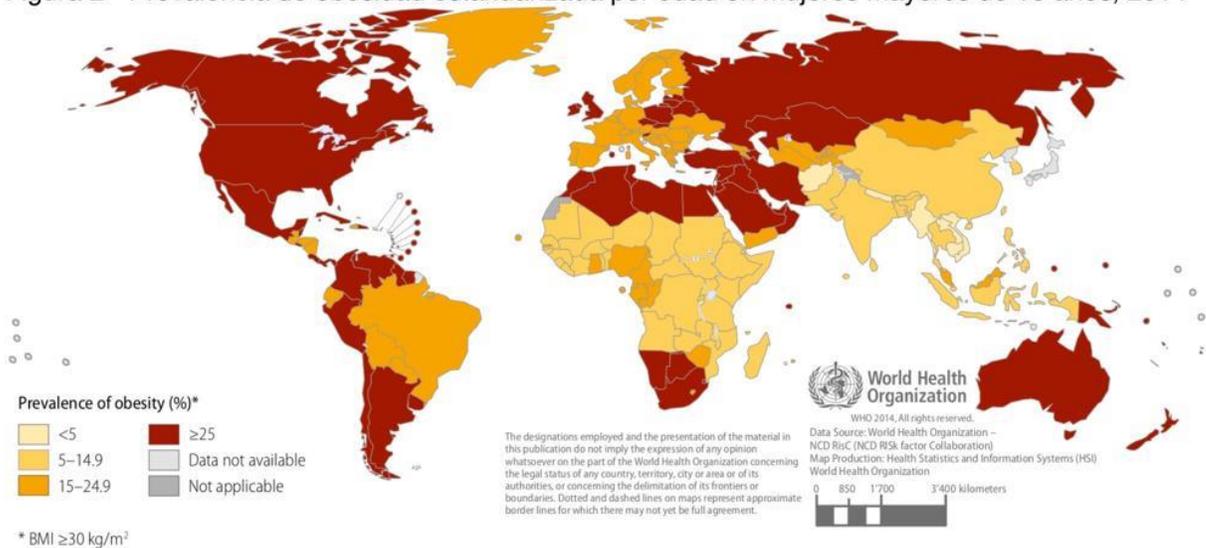
según la OMS en el año 2014 (http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/9789241564854_eng.pdf;jsessionid=C6FCAA2879FD5A152C1B0947B66180C5?sequence=1).

Figura 1 - Prevalencia de obesidad estandarizada por edad en hombres mayores de 18 años, 2014



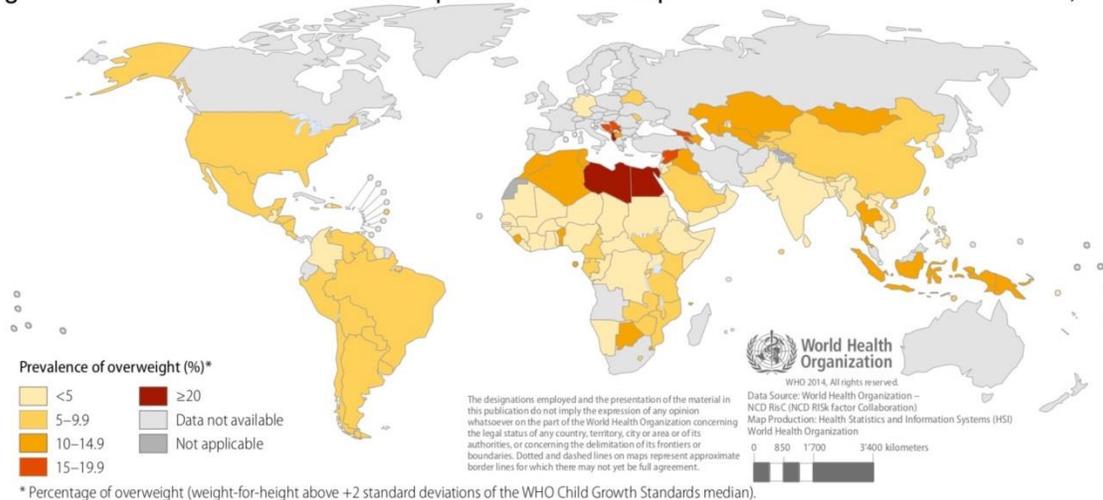
Fuente: OMS. (2014). Global status report on non-communicable diseases.

Figura 2 - Prevalencia de obesidad estandarizada por edad en mujeres mayores de 18 años, 2014



Fuente: OMS. (2014). Global status report on non-communicable diseases

Figura 3 - Prevalencia estandarizada por edad de sobrepeso en niños menores de 5 años, 2013



Fuente: OMS. (2014). Global status report on non-communicable diseases

En la figura 3 se expone la prevalencia de obesidad en los niños menores de 5 años, estandarizado por edad, según las estimaciones del año 2013. Unos 41 millones de niños menores de 5 años tenían sobrepeso o eran obesos hasta ese año (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>) (http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/9789241564854_eng.pdf;jsessionid=C6FCAA2879FD5A152C1B0947B66180C5?sequence=1).

Para dar unos ejemplos, la prevalencia de la obesidad fue de 36.5% (estimado bruto) en la población adulta de Estados Unidos durante 2011-2014, hallando en el rango etario de entre 40 y 59 años la mayor prevalencia (40.2%) (http://htuneup.com/diseases/d_overweight.pdf).

Pero otros países no están muy distantes de esa situación dado que la prevalencia de sobrepeso en la población adulta en España entre 25 y 64 años es del 39,3%, mientras que la prevalencia de obesidad general, fue del 21,6%, la cual va en aumento con la edad (Aranceta-Bartrina, Perez-Rodrigo, Alberdi-Aresti, Ramos-Carrera, & Lazaro-Masedo, 2016).

La obesidad en la región latinoamericana y en Argentina

En nuestra región según el informe del Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional en América Latina y el Caribe (Arbex, Rocha, Aizenberg, & Ciruzzi, 2014), cerca del 58% de los habitantes de la región vive con sobrepeso, es decir, 360 millones de personas.

Si tenemos en cuenta sólo a la Argentina, la prevalencia de sobrepeso fue de 37,1% con un aumento de la prevalencia a mayor edad.

Vinculándolo al nivel educativo, se observó que las personas con más bajo el nivel de instrucción de las personas la prevalencia aumenta con estudios primarios incompleto tuvieron una mayor prevalencia de sobrepeso (41,8%) que el grupo que completó el secundario o más (35,4%), sin observarse diferencias respecto a la prevalencia según ingreso total del hogar (http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000544cnt2015_09_04_encuesta_nacional_factores_riesgo.pdf). Todo esto significa que 6 de cada 10 adultos en Argentina tiene sobrepeso, como igual 3 de cada 10 niños, de los cuales ya un 6% tiene obesidad (http://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000001137cnt-2017-09_cuadernillo-obesidad.pdf).

Sin embargo, es importante recalcar que existen ciertos avances sobre alimentación saludable y el control de la obesidad en Argentina en los últimos años. Se ha promulgado la Ley Nacional de Trastornos Alimentarios 26396/2008 en la que se garantiza la cobertura de los tratamientos farmacológicos y quirúrgicos de la obesidad. En diciembre de 2014 entró en vigor la reforma del Código Alimentario que limita el componente de Ácidos Grasos Trans (AGT) en los alimentos, y también la ley de Reducción del Consumo de Sal, reglamentada en enero de 2017. El ministerio de salud en el 2014 publicó una guía de Práctica Clínica para la Detección y Tratamiento del Sobrepeso y la Obesidad en Adultos, y en el 2016 se publicaron las Guías Alimentarias para Población Argentina, que brinda la oportunidad de educar a la comunidad, equipos de salud y docentes sobre recomendaciones de hábitos alimentarios. También, se creó en el 2016 el Programa Nacional de Alimentación Saludable y Prevención de Obesidad por la Dirección de Promoción de la Salud y Control de enfermedades no transmisibles, a través de la Resolución 732/2016. Y por último en mayo 2017 el Presidente de la Nación estableció a través del decreto 330\2017 el “Día Nacional de Lucha Contra la Obesidad” el tercer miércoles del mes de octubre con el objetivo de impulsar este tema en la agenda pública, sensibilizar a la población y fortalecer las políticas públicas.

Pero no sólo Argentina es el único país latinoamericano que ha tomado iniciativa, la Organización Panamericana de la Salud (PAHO, del inglés, *Pan-American Health Organization*) ha lanzado un plan de acción para la prevención de la obesidad cuyo objetivo general es detener la epidemia de la obesidad en los niños y adolescentes, de manera de que no se registre aumento en las tasas de prevalencia actuales de los distintos países que la conforman. Para ello se requiere de un enfoque multisectorial que abarque todo del curso de vida, basado en el modelo socioeconómico y que este focalizado el transformar el ambiente obesogénico promoviendo un mayor consumo de alimentos nutritivos y aumento de la actividad física. Lo cual debería lograrse al ejecutarse políticas, leyes, reglamentos e intervenciones que tengan en cuenta las prioridades y el contexto de los Estados, dentro de una serie de líneas de acción estratégica como la promoción de la lactancia materna y la alimentación saludable, mejorando la nutrición y la actividad física en los establecimientos escolares; estableciendo distintas políticas fiscales y reglamentaciones en la materia de la publicidad, promoción y etiquetado de alimentos; además de la continua vigilancia, investigación y evaluación. Para lograr este objetivo la PAHO proporciona información basada en la evidencia para la formulación de políticas y reglamentaciones, guías regionales para los programas preescolares y escolares de alimentación y sobre los alimentos y las bebidas que se venden en los distintos establecimientos escolares y además apoyo a la adopción de indicadores relativos a la obesidad. A su vez se establecerán estas directrices, se creará y mantendrá una base de datos con cifras de nivel nacional sobre la prevalencia del sobrepeso y obesidad y se hará el seguimiento de las actividades (<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/Obesity-Plan-Of-Action-Child-Spa-2015.pdf>).

Causas de la obesidad

La obesidad y el sobrepeso son condiciones caracterizadas por la acumulación excesiva de grasa en el cuerpo como resultado de un consumo de energía de manera crónica y excesiva en comparación con el gasto de energía. Esto es el resultado de una combinación de causas de distintos factores que contribuyen, en la que se incluyen factores individuales como el comportamiento, el que a su vez incluye la dieta, la psiquis del individuo, tanto la actividad física como el sedentarismo, los medicamentos que consume, entre otros y la genética. Pero no hay solamente factores individuales, también hay otros factores que dependen de la sociedad en la que habita la persona, entre estos están incluidos la alimentación y la actividad física del entorno,

el nivel de educación y cómo se comercializan y promocionan los distintos productos alimenticios (<https://www.cdc.gov/obesity/adult/causes.html>). Con todo lo anteriormente dicho, y aun pudiendo afirmar que es una patología multifactorial, las principales causas del aumento del sobrepeso y la obesidad en la población, más allá de todos los factores previamente nombrados, son los cambios en la alimentación y los nuevos hábitos, este nuevo estilo de vida de la denominada sociedad de consumo (Goodarzi, 2018; Rausch et al., 2018).

En lo que le corresponde al comportamiento, la falta de actividad o sedentarismo provoca que no se consuman tantas calorías, por lo que es fácil que los individuos ingieran más calorías de las que usan para hacer ejercicio y para las actividades cotidianas. Agregándole a esto, hábitos alimentarios poco saludables, siendo que el consumo desmedido de los alimentos procesados industrialmente, las bebidas azucaradas, la comida rápida y los alimentos con grasa y sal están desplazando a las dietas tradicionales más nutritivas (o de las dietas llamadas tipo mediterráneas) el aumento de peso es inevitable ya que se consumen más calorías de las que degradan (<https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/obesity/symptoms-causes/syc-20375742>). Esto indica por un lado, que las dietas tradicionales han sido reemplazadas por otras con mayor contenido energético y por otro, que la inactividad física o sedentarismo es reconocido como un factor determinante cada vez más importante del desarrollo de la enfermedad (Popkin & Reardon, 2018; Saklayen, 2018).

En cuanto a los factores que dependen de la comunidad, tanto las personas como sus familias toman decisiones basadas en el entorno y en el lugar donde viven, por ejemplo una persona podría no elegir por ir en bicicleta al trabajo o hacia cualquier otro lado si no hay senderos seguros para las bicicletas o ciclovías. También, se ha demostrado que las probabilidades de que una persona se vuelva obesa aumentan un 57% si tuvieron un amigo que se volvió obeso. Si en cambio es un hermano el que se vuelve obeso, aumenta en un 40% dicha probabilidad, y si es el cónyuge aumenta en un 37% (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17652652>).

Con respecto a los genes, si bien los cambios genéticos en la población humana ocurren muy lentamente como para ser responsables de la epidemia, la variación en la forma en que las personas responden al medio ambiente, que promueve el sedentarismo y la ingesta de alimentos altos en calorías sugiere que los genes juegan un papel en el desarrollo de la obesidad. En raras ocasiones hay un patrón claro de obesidad heredada dentro de una familia debido a una variante específica en un solo gen. La mayor parte es resultado de interacciones complejas entre los genes

y los múltiples factores ambientales (<https://www.nhlbi.nih.gov/sites/default/files/media/docs/obesity-evidence-review.pdf>).

Sin embargo, entre los genes vinculados con la obesidad podemos destacar el gen asociado a la masa grasa y la obesidad (FTO, del inglés, *Fat Mass and Obesity-Associated*) y el receptor de melanocortina-4 (MC4R, del inglés, *melanocortin-4 receptor*) entre otros tantos. El polimorfismo rs9939609 del gen FTO se relaciona con un mayor IMC y perímetro de la cintura (Corella et al., 2012). De modo similar variaciones en el gen MC4R se relacionan con un comportamiento alimentario que favorece valores más elevados de masa grasa o IMC (Orkunoglu-Suer et al., 2011).

También entre los factores que pueden llevar al sobrepeso y a la obesidad, podemos encontrar algunas enfermedades como el síndrome de Cushing, el síndrome de ovario poliquístico, el hipotiroidismo, entre otros. Además algunas drogas también pueden conducir al aumento de peso, como el uso de los esteroides y algunos antidepresivos

Consecuencias de la obesidad

La obesidad afecta todos los órganos y sistemas del organismo con un factor patogénico común: la inflamación crónica de bajo grado, cuyas causas se deben principalmente a un gasto energético bajo en relación con las necesidades de calorías y donde se implican tanto factores genéticos como ambientales. Son tantas las consecuencias clínicas de la obesidad que la convierten en una de las causas prevenibles más importantes de morbilidad y mortalidad precoz que sólo un control moderado de ella sería capaz de salvar miles de vidas anualmente a nivel mundial. Ya que se ha demostrado que el sobrepeso y la obesidad, aumentan los riesgos de una gran variedad de afecciones entre las que podemos nombrar, la enfermedad coronaria, diabetes tipo 2, cáncer de endometrio, cáncer de mama y cáncer de colon; también la hipertensión arterial, dislipidemias y accidente cerebro vascular. Entre las complicaciones hepáticas conseguiríamos observar, la esteatosis hepática no alcohólica, esteatohepatitis y hasta cirrosis hepática. También es posible encontrar apnea del sueño, problemas respiratorios, artrosis, problemas ginecológicos entre los que podemos nombrar anormalidades menstruales, infertilidad y síndrome de ovario poliquístico; además de enfermedades venosas crónicas, periodontales, entre otras tantas complicaciones posibles debidas al aumento de la masa de grasa corporal (Bray, 2004; Hruby et

al., 2016; Kelsey, Zaepfel, Bjornstad, & Nadeau, 2014; Koliaki, Liatis, & Kokkinos, 2018; Lawrence & Kopelman, 2004; Suarez, 2018).

La obesidad además supone una enorme carga económica tanto sobre el individuo, como en las familias y las naciones. En 2014, el impacto económico global de la obesidad se estimó en US\$ 2,0 billones o el 2,8% del producto interno bruto (PIB) mundial (Dobbs et al., 2014). Más allá del gasto excesivo obvio en atención médica, también se imponen costos en forma de pérdida tanto de productividad como de crecimiento económico, siendo el resultado de días de trabajo perdidos, menor productividad, mortalidad y discapacidad permanente (Dee et al., 2014).

De esto se desprende que la obesidad es una amenaza importante para la salud pública nacional y mundial en términos de prevalencia, incidencia y carga económica, y por ello, es que ha adquirido alta relevancia la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos capaces de combatirla junto a sus complicaciones asociadas.

Tratamiento

En la actualidad hay una gran variedad de modalidades que son usadas para tratar el sobrepeso y la obesidad, entre las que podemos considerar distintos tipos de dietas, terapias de ejercicio físico, terapias del comportamiento, la farmacoterapia, cirugías y terapias combinadas, aunque todas estas requieran una gran dosis de voluntad por parte del paciente. Es por ello que surge la concepción de que la prevención a partir de la realización de cambios en el estilo de vida del paciente obeso es el mejor tratamiento posible contra la enfermedad.

Respecto de las dietas y terapias de comportamiento. Reducir calorías y practicar hábitos alimenticios más saludables es vital. Aunque se pueda perder peso rápido en dietas de cortos periodos, las dietas a largo tiempo más equilibradas son consideradas la forma más segura de perder peso permanentemente. Por lo que se deben evitar las dietas drásticas y no realísticas ya que no se podrán mantener por largos periodos de tiempo. Siendo lo ideal participar en un programa de por lo menos 6 meses, con una fase de mantenimiento de al menos un año para aumentar las probabilidades de éxito. Actualmente no hay una dieta que sea considerada la mejor, por lo que una buena dieta hay que elegirla individualmente para cada persona, en la cual la dieta se adapte a la persona y no viceversa (Heymsfield & Wadden, 2017). Todos estos cambios deben lograr reducir las calorías, que la persona se sienta satisfecha comiendo menos y

eligiendo opciones más saludables, restringiendo ciertos alimentos y realizando reemplazos alimentarios.

Aumentar el ejercicio es una parte primordial del tratamiento, ya que la mayoría de las personas que bajan de peso y logran mantenerlo durante más de un año practican ejercicio regularmente, cuyos efectos en la pérdida de peso incrementan si se hace junto con la dieta. Los programas de actividad física deben tener una duración de por lo menos de 3 meses, y deberían realizarse con una frecuencia de entre 3 y 7 días por semana según el nivel del individuo y durante un tiempo de 30 minutos por vez como mínimo. Aunque el tipo de ejercicio suele tender a ser aeróbico, puede introducirse también entrenamiento con sobrecargas resultando igualmente eficaz (<http://www.redalyc.org/pdf/3457/345732284009.pdf>).

Respecto de las cirugías. También hay ciertos casos en que se puede recurrir a la cirugía para bajar de peso. Esta limita la cantidad de comida que una persona puede ingerir, disminuye la absorción de alimentos y calorías, o ambas. Aunque la cirugía ofrece la mejor oportunidad de perder una mayor cantidad de peso, puede implicar graves riesgos. La cirugía puede considerarse si ya se han probado otros métodos para adelgazar que no han funcionado y si se cumplen ciertas condiciones como obesidad extrema o con IMC entre 35 y 39,9 pero que también presentan problemas de salud graves relacionado con el peso, o si asume el compromiso de hacer los cambios de estilo de vida necesarios para que funcione la cirugía. La cirugía no garantiza que se vaya a perder todo el exceso de peso ni que se mantenga a largo plazo. El éxito del adelgazamiento depende del compromiso del individuo para hacer cambios en su estilo de vida. Algunas de las cirugías para bajar de peso son: **Cirugía de bypass gástrico** (bypass gástrico en Y de Roux), donde se crea un pequeño saco en la parte superior del estómago. Luego se corta el intestino delgado a poca distancia por debajo de la parte principal del estómago y se lo conecta al nuevo saco. La comida pasa del saco a esta parte del intestino, omitiendo la mayor parte del estómago. **Cirugía laparoscópica** de banda gástrica ajustable, en donde, se separa el estómago en dos sacos con una banda. Al ajustar la banda se crea un pequeño canal entre los dos sacos que evita que la abertura se expanda. **Derivación biliopancreática** con cruce duodenal, acá el cirujano retira gran parte del estómago. Y por último la **manga gástrica**, en el cual se retira parte del estómago y se crea un reservorio más pequeño para la comida.

Durante un seguimiento promedio de 7 años, la mortalidad ajustada a largo plazo por cualquier causa en el grupo de cirugía disminuyó en un 40%, en comparación con la del grupo control. Asimismo, disminuyó en un 56% para la enfermedad arterial coronaria, en un 92% para la diabetes, y en un 60% para el cáncer. Sin embargo, las tasas de muerte no causadas por enfermedad, como los accidentes y el suicidio, fueron un 58% más altas en los grupos control (Adams et al., 2007).

Otros tratamientos invasivos del estilo incluyen el bloqueo del nervio vago que consiste en implantar un dispositivo por debajo de la piel del abdomen que envía impulsos eléctricos intermitentes al nervio vago abdominal, que indica al cerebro cuándo el estómago se siente vacío o lleno. Siendo aprobada por la FDA para su uso en adultos que no han podido bajar de peso con un programa de adelgazamiento y que tienen un IMC entre 35 y 45 y al menos un trastorno relacionado con la obesidad (Ikramuddin et al., 2014).

Respecto de la farmacoterapia. El colegio americano de endocrinología (ACE, del inglés, *American College of Endocrinology*) y la asociación americana de endocrinología clínica (AACE, del inglés, *American Association of Clinical Endocrinologists*) recomiendan la farmacoterapia en el tratamiento del sobrepeso y la obesidad cuando hay un fracaso en la terapia de estilo de vida, en la cual se continua con un aumento de peso progresivo; o no habiendo logrado una mejoría clínica en las complicaciones relacionadas con el peso en la terapia de estilo de vida. También se recomienda en pacientes con sobrepeso u obesidad que están experimentando una recuperación de peso después de un éxito inicial sólo con la terapia de estilo de vida. También se recomienda en algunos pacientes con complicaciones relacionadas (cardiovasculares, diabetes, entre otras) iniciar la medicación conjuntamente con la terapia de estilo de vida, de este modo se espera lograr una pérdida de peso suficiente para mejorar la complicación y lograr así una prevención terciaria (<https://www.aace.com/files/guidelines/ObesityAlgorithm.pdf>).

Teniendo en cuenta que la farmacoterapia no es la piedra angular del tratamiento del sobrepeso y de la obesidad, hay que valorarla y colocarla como una herramienta terapéutica importante para aquellos pacientes que no hayan obtenido beneficios con las intervenciones de estilo de vida o que no puedan mantener la pérdida de peso inicial durante largos períodos; por lo

que el hallazgo de nuevos blancos moleculares para contrarrestar el desarrollo de obesidad y/o de sus complicaciones asociadas, se ha convertido en una tarea en creciente auge.

Las terapias farmacológicas dirigidas a la obesidad utilizadas en el pasado se han considerado poco confiables y la realidad es que estamos de nuevo en el principio, ya que la posibilidad de obtener un fármaco ideal, efectivo y seguro a largo plazo aún está fuera de nuestro alcance. Aunque con los nuevos conocimientos sobre la fisiopatología y los mecanismos implicados en la ingesta de alimentos y del peso, ayudará al desarrollo de terapias que podrían estar disponibles en el futuro cercano (<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6927.pdf>). Ya que, en la actualidad hay varios medicamentos prometedores en ensayos clínicos que inducen la pérdida de peso por mecanismos distintos, cada vez es más probable de que sea tratada con una combinación de medicamentos similar a otras enfermedades crónicas como por ejemplo la hipertensión arterial o la diabetes (Kumar & Aronne, 2000; Shettar, Patel, & Kidambi, 2017).

Cabe destacar además que, estas nuevas y potenciales terapias son seguidas de cerca por todo el mundo, especialmente por los medios de comunicación que están a la espera del fármaco con el que se pueda lograr “comer sin engordar” generando gran expectativa en la sociedad. Una investigación en ratones mostró que la prevención de la absorción de grasas por delación genética de las proteínas Neuropilin1 (Nrp1) y del receptor 1 del factor de crecimiento endotelial vascular (Vegfr1, también conocido como Flt1), hace que los ratones sean resistentes a la obesidad inducida por la dieta (Zhang et al., 2018). Este estudio se publicó en el año 2018 y fue celebrado en cientos de portales de noticias, ya que el “comer sin engordar” parece estar cada vez más al alcance de la mano.

En la actualidad sólo existen seis medicamentos aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, del inglés, *Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos: **orlistat** (James, Avenell, Broom, & Whitehead, 1997; Van Gaal, Broom, Enzi, & Toplak, 1998) que es un inhibidor de larga acción de lipasas gastrointestinales. Actuando en el estómago y el intestino delgado mediante la formación de enlace covalente con el sitio activo de las lipasas gástrica y pancreática (<https://www.vademecum.es/principios-activos-orlistat-a08ab01>), **lorcaserina** (L. Aronne et al., 2014; Fidler et al., 2011), reduce el consumo de alimentos y promueve la saciedad por activación selectiva de los receptores 5-HT sobre las neuronas anorexigénicas pro-opiomelanocortina del hipotálamo(<https://www.vademecum.es/principios-activos-lorcaserina-a08aa11>), **fentermina** (Apovian et al., 2015; Weintraub et al., 1992), estimulante central e

isómero de la meta-anfetamina que actúa estimulando las neuronas para que liberen catecolaminas, entre los que están la dopamina, la epinefrina y la norepinefrina, su actividad de supresión del apetito se debe a su acción sobre el SNC (<https://www.vademecum.es/principios-activos-fentermina-A08AA01>), **fentermina/topiramato** de liberación prolongada (L. J. Aronne et al., 2013), el topiramato actúa bloqueando los canales de sodio estado-dependientes en las neuronas y potencia la actividad del GABA (<https://www.vademecum.es/principios-activos-topiramato-N03AX11>), **naltrexona/bupropión** de liberación sostenida (Davies et al., 2016). La naltrexona es un antagonista de los receptores opioides μ y el bupropión es un inhibidor débil de la receptación neuronal de la dopamina y la norepinefrina. Ambas drogas actúan afectando a el núcleo arcuato del hipotálamo y el sistema dopaminérgico mesolímbico de recompensa (<https://www.vademecum.es/principios-activos-bupropion+y+naltrexona-a08aa62>), y **liraglutida** 3 mg (Davies et al., 2016; Davies et al., 2015) la cual es un análogo del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1, del inglés *glucagon-like peptide-1*) que se une al receptor GLP-1 y lo activa, potenciando la secreción de insulina (<https://www.vademecum.es/principios-activos-liraglutida-A10BJ02>).

En la tabla 2 se muestra la lista con los fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento del sobrepeso y la obesidad a largo plazo con sus posibles efectos secundarios y con sus respectivas contraindicaciones.

Tabla 2 - Medicamentos a largo plazo aprobados por la FDA para la pérdida de peso

Nombre de la medicación	Efectos secundarios	Contraindicaciones
Orlistat	Esteatorrea Urgencia fecal Incontinencia Flatulencia Manchas aceitosas Movimientos intestinales frecuentes Dolor abdominal Dolor de cabeza	Embarazo y lactancia Síndrome de malabsorción crónica Colestasis Nefrolitiasis por oxalato

Tabla 2 - Medicamentos a largo plazo aprobados por la FDA para la pérdida de peso

Nombre de la medicación	Efectos secundarios	Contraindicaciones
Lorcaserina	Dolor de cabeza Náuseas Mareos Fatiga Xerostomía Ojo seco Estreñimiento Dolor de espalda Nasofaringitis Hiperprolactinemia	Embarazo y lactancia Síndrome serotoninérgico o síndrome neuroléptico maligno
Fentermina/Topiramato	Dolor de cabeza Parestesia Insomnio Disminución de bicarbonato Xerostomía Estreñimiento Nasofaringitis Ansiedad Depresión Deterioro cognitivo (concentración y memoria) Mareos Náuseas Disgeusia	Embarazo y lactancia (teratogenicidad por topiramato) Hipertiroidismo Glaucoma de ángulo cerrado agudo Uso concomitante de MAOI (dentro de los 14 días)

Tabla 2 - Medicamentos a largo plazo aprobados por la FDA para la pérdida de peso

Nombre de la medicación	Efectos secundarios	Contraindicaciones
Naltrexona/Bupropion	Náuseas Dolor de cabeza Insomnio Vómitos Estreñimiento Diarrea Mareos Ansiedad Xerostomía	Embarazo y lactancia Hipertensión no controlada Trastorno de convulsiones Anorexia nerviosa Bulimia nerviosa Depresión severa Retirada de fármacos o alcohol IMAO concomitante (dentro de los 14 días) Uso crónico de opiáceos
Liraglutida 3mg	Náuseas Vómitos Diarrea Estreñimiento Dolor de cabeza Dispepsia Aumento de la frecuencia cardíaca	Embarazo y lactancia Antecedentes personales o familiares de cáncer de tiroides medular o MEN2 Pancreatitis Enfermedad de la vesícula biliar aguda

Aunque luego de los ensayos clínicos la administración de estos medicamentos arrojó valores estadísticos favorables sobre la pérdida de peso, el valor promedio real en los pacientes tratados fue de tan solo de 3-7% de pérdida de peso desde el inicio de la terapia (Srivastava & Apovian, 2018). Orlistat, lorcaserin, fentermina/topiramato y liraglutida, cada uno logró al menos 5% de pérdida de peso en 52 semanas, siendo con fentermina/topiramato y liraglutida, con las cuales se logran mayores probabilidades de lograr al menos el 5% de pérdida de peso (Khera et al., 2016).

Como se indicó anteriormente, los medicamentos aprobados a largo tiempo para el tratamiento de la obesidad, cuando son usados junto a cambios del estilo de vida llevan a una mayor pérdida de peso y a una mayor probabilidad de lograr una pérdida de peso clínicamente significativa de un año en comparación con placebos. Sin embargo cuando los pacientes no responden con una pérdida de peso de por lo menos el 5%, se podría suspender la medicación

para disminuir la exposición al riesgo de efectos adversos y disminuir el costo del tratamiento ya que hay muy pocas probabilidades de beneficio a largo plazo (Yanovski & Yanovski, 2014).

En busca de nuevos blancos terapéuticos para combatir la obesidad

Durante los últimos años se han reportado numerosas moléculas como posibles mediadores de la obesidad y/o sus complicaciones asociadas, y se ha especulado ampliamente sobre el posible desarrollo de fármacos que los modulen (Bhat & Sharma, 2017; Coleman & Mashek, 2011; Lehner, Lian, & Quiroga, 2012; Martinussen, Bojsen-Moller, Svane, Dejgaard, & Madsbad, 2017; Quiroga & Lehner, 2012). Sin embargo, la búsqueda sigue en curso debido a las bajas eficiencias de respuesta o, principalmente, a los efectos secundarios asociados al uso de tales drogas, ya que con los fármacos disponibles hay limitaciones tanto por la eficacia como por la tolerabilidad (Sweeting, Hocking, & Markovic, 2015).

Por ello, los canales de potasio sensibles a ATP (K-ATP) han comenzado a llamar la atención de los investigadores, debido a que se comprobó que están involucrados en el metabolismo corporal (Tinker, Aziz, Li, & Specterman, 2018).

Los canales de potasio sensibles a ATP (K-ATP) son heterooctámeros compuestos por 4 subunidades proteicas Kir6.x (6.1 o 6.2) que forman el poro y 4 subunidades sulfonilurea (SUR1 o SUR2), reguladas por las concentraciones intracelulares de ATP y ADP. Además de acoplar al metabolismo con el potencial de membrana celular, los canales Kir6.2/K-ATP pueden regular muchas actividades celulares actuando como sensores metabólicos, sabiendo que los canales Kir6.2/SUR1 en las células beta del páncreas y en el hipotálamo son esenciales en la secreción de insulina producida por la glucosa y por la hipoglicemia inducida por el glucagón, mientras los canales Kir6.2/SUR2 están involucrados en la toma de glucosa por parte del músculo esquelético. Además, en el cerebro también están asociados a la protección contra la hipoxia, además de sensar la glucosa en el núcleo ventromedial del hipotálamo (Miki et al., 2001) en el sistema cardiovascular se relacionan con el tono vascular (Quayle, Nelson, & Standen, 1997), revelando que los canales Kir6.2/K-ATP son sensores metabólicos en cambios metabólicos agudos especialmente en respuesta a situaciones de estrés metabólico celular tales como hiperglicemia o hipoglicemia, isquemia e hipoxia (Minami, Miki, Kadowaki, & Seino, 2004).

Regulando el estado de apertura del canal (abierto o cerrado), es posible afectar el potencial de membrana celular y por lo tanto su respuesta. Se ha visto que las mutaciones resultantes de la

pérdida de los canales KATP en las células beta del páncreas identificadas como SUR1 and KIR6.2 llevan a hiperinsulinemia familiar (Babenko, Aguilar-Bryan, & Bryan, 1998).

Bloqueadores de los canales celulares Kir6.2/K-ATP (por ejemplo, repaglinida, tolbutamida y glibenclamida) estimulan la liberación de insulina y se usan en tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Los abridores de canales Kir6.2/K-ATP (por ejemplo, diazóxido, pinacidil y cromakalim) en cambio, han sido evaluados como fármacos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, asma e incontinencia urinaria y han sido objeto de varias revisiones (Hansen, 2006). El tratamiento experimental con compuestos que reducen la liberación de insulina (por ejemplo, diazóxido) parece promover la pérdida de peso en algunos grupos de pacientes (Alemzadeh, Jacobs, & Pitukcheewanont, 1996). También ha sido demostrado que tratamientos con diazóxido reducen la ingesta de alimentos y el aumento de peso en varios diferentes estudios preclínicos (Alemzadeh et al., 1996; Ohta, Nelson, Nelson, Meglasson, & Erecinska, 1993). Al tratar individuos hiperinsulinémicos y obesos con diazóxido y bajo una dieta restringida durante diez semanas, se observó una pérdida de peso muy significativa (Hansen, 2006).

Recientemente, ha habido una acumulación de evidencia de que los canales Kir6.2/K-ATP están asociados con la regulación de la ingesta de alimentos, viéndose en cerebros de ratas obesas diabéticas una disminución de Kir6.2/K-ATP (Gyte, Pritchard, Jones, Brennan, & White, 2007).

El mecanismo por el cual la hiperinsulinemia podría iniciar o potenciar el desarrollo de obesidad ha sido investigado en estudios preclínicos. En ratas genéticamente obesas de la línea Zucker se vio que la hipersecreción de insulina precede a la obesidad y demuestra ser un factor patogénico clave para el desarrollo de obesidad (Rohner-Jeanrenaud & Jeanrenaud, 1985). Por ello, cuando ratas Zucker obesas se trataron con diazóxido durante 4 semanas, se observó una reducción en la ingesta de alimentos y una disminución del peso corporal, mejorando notoriamente la sensibilidad a la insulina (Alemzadeh, Langley, Upchurch, Smith, & Slonim, 1998).

Ha sido demostrado que las quinasas sin lisina (WNK, del inglés, *lysine deficient protein kinases*) regulan varios transportadores de iones en diversos tejidos. WNK1 y WNK4 en células neuronales que expresan proopiomelanocortina (POMC, del inglés, Pro-opiomelanocortin) en ratones transgénicos que sobre expresan WNK1 (WNK1 TG) disminuyen el apetito a través de la degradación de Kir6.2. Por otro lado, el aumento de peso después de las 20 semanas de edad se

retrasó en los ratones TG WNK1 resultado de la ingesta reducida de alimentos. La expresión de WNK1 y POMC fue mayor en las neuronas que expresan POMC en el hipotálamo de los ratones WNK1 TG que en los ratones salvajes (WT, del inglés, *wild-type*). En el hipotálamo se vio que las neuronas que expresaban POMC eran más pequeñas en ratones WNK1 TG que en ratones WT. Además, la expresión de Kir6.2 se redujo significativamente en ratones TG WNK1. La sobreexpresión y la caída de WNK4 demostraron que WNK4 regula la expresión de proteína Kir6.2. Por lo que, la ganancia de peso reducida dependiente de la edad de los ratones TG WNK1 parece estar relacionada con la expresión disminuida de Kir6.2 a través de la estabilidad proteica regulada por WNK1 y WNK4 de Kir6.2 (Chung, Han, Heo, Lee, & Kim, 2018).

Todo esto en su conjunto indica que los canales Kir6.2/K-ATP cumplen un rol en la producción y liberación de insulina, lo que conlleva a un sobrepeso marcado. Sin embargo el mecanismo por el cual dichos canales participarían en el desarrollo de la obesidad no ha sido demostrado aún. Para ello, en el bioterio de la Universidad Abierta Interamericana contamos con una herramienta excepcional que a la fecha representa el mejor modelo existente para este tipo de estudio: el ratón genéticamente modificado carente de proteína, el ratón Kir6.2/K-ATP *knockout*, el cual carece de la proteína en todos los tejidos del organismo.

PROBLEMA

En base a lo expuesto, y conociendo que Kir6.2/ATP es un canal iónico que se encuentra en las membranas celulares que cumple múltiples funciones, surgen las siguientes preguntas: ¿cumple Kir6.2/ATP algún rol en el metabolismo lipídico? De ser así ¿ese rol es directo o indirecto? En los últimos años ha sido demostrado que el canal Kir6.2/ATP afecta la función pancreática ¿afecta de algún modo también la función del hígado?

Conocer las respuestas a estos interrogantes abrirá nuevos caminos para entender la funcionalidad hepática y poder así comprender su fisiopatología. Sobre todo, estos estudios sientan las bases moleculares para el desarrollo de nuevos blancos terapéuticos que eviten el desarrollo de obesidad y/o de sus complicaciones asociadas.

OBJETIVOS

De lo expuesto, surge el objetivo de esta tesis que es estudiar el rol de la proteína Kir6.2/K-ATP en el metabolismo lipídico del ratón. Específicamente, nos focalizaremos en:

- 1) Evaluar los niveles plasmáticos de lípidos en ratones previamente y después de una dieta rica en grasas
- 2) Evaluar los niveles de lípidos en hígados de ratones previamente y después de una dieta rica en grasas
- 3) Evaluar la capacidad secretoria hepática de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, del inglés *very low density lipoprotein*)

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo completo de esta tesis, utilizamos ratones de la cepa C57Bl/6 de tipo salvaje (WT, del inglés *wild-type*) de 60 días de edad, los cuales fueron utilizados como animales control, y ratones Kir6.2^{-/-}, los cuales fueron utilizados para evaluar el rol de la proteína Kir6.2 en el metabolismo lipídico. Los animales fueron mantenidos en el bioterio de la Universidad Abierta Interamericana (UAI). Se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 hs y fueron alimentados con comida regular para ratones (chow) o una dieta especial conteniendo un 60% de grasa (HFD, del inglés *high fat diet*). Todos los protocolos experimentales fueron realizados según el Protocolo para el cuidado y uso de animales de laboratorio aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la UAI.

Preparación de la dieta rica en grasas, HFD: las dietas regulares presentan un 5% de grasa, por lo que se suplementó la dieta regular con grasa bovina comercial de modo de alcanzar un 60% de grasa. Para ello, se pulverizó 1 Kg de dieta regular y se adicionó con un 55% de grasa bovina comercial a temperatura ambiente. Una vez mezcladas profusamente, se formaron trozos de mezcla de 20 cm de largo que a su vez se cortaron y almacenaron en trozos de aproximadamente 3 cm² cada uno. Éstos fueron almacenados a temperatura -20°C y se retiraron del *freezer* 30 minutos antes de ser administrada a los ratones. Los animales recibieron esta comida *ad libitum*, junto con agua. Cada animal ingirió aproximadamente 15 g de HFD por semana.

El peso de los animales y el consumo de alimento se registraron semanalmente durante los 60 días que duró la ingesta rica en grasas.

Antes del comienzo de la HFD, los animales se ayunaron durante toda la noche y luego se extrajo sangre de la cola, se preparó plasma y se almacenó a -20°C hasta su utilización para la realización de las determinaciones bioquímicas.

Finalizada la HFD, los animales fueron anestesiados y el método de eutanasia elegido para nuestros posteriores experimentos fue por exceso de anestesia y posterior apertura de la caja torácica.

Los animales se anestesiaron con dosis de ketamina, 100 mg/kg y xilacina, 3 mg/kg. Luego se abrió el abdomen y se extrajo el mayor volumen de sangre posible por punción cardiaca (con estos procedimientos se alcanza el punto final del animal).

Cabe destacar que para evitar el sufrimiento de los animales se observó a los mismos tres veces por semana. Se evaluó movilidad, comportamiento y peso corporal. No se observó ninguna alteración en estos parámetros, de haberlo hecho, se hubiera sometido al animal a eutanasia como se describió previamente.

Una vez alcanzado el punto final, se extrajo el hígado y se guardó un trozo a -20°C para estudios bioquímicos y otro trozo se guardó en formol al 10% para los estudios histológicos.

Determinaciones bioquímicas: se trabajó con plasma y/o con homogenados hepáticos al 20%.

-en plasma se determinaron los valores de concentración de triglicéridos (TG), ésteres de colesterol (EC) y colesterol libre (CL) utilizando *kits* comerciales disponibles (Weiner lab, Rosario, Arg). También se midieron los valores plasmáticos de ácidos grasos libres (AGL) y de cuerpos cetónicos (3-hidroxibutirato) como medida de la lipólisis general y oxidación hepática de ácidos grasos, respectivamente, utilizando *kits* comerciales disponibles (Weiner lab, Rosario, Arg).

La determinación plasmática de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) se realizó como medida de daño hepático, mediante el uso de *kit* comercial (Weiner lab, Rosario, Arg).

-en tejido hepático de animales ayunados se midieron las concentraciones de los principales lípidos hepáticos (TG, EC, CL y AGL). Estas determinaciones se realizaron luego de la extracción de lípidos por el método de (Bligh & Dyer, 1959); los lípidos se cuantificaron usando *kits* comerciales (Weiner lab, Rosario, Arg).

Evaluación de la secreción de lipoproteína hepática de muy baja densidad, VLDL: en la mayoría de los procesos de esteatosis hepática, la secreción de la lipoproteína VLDL disminuye, por ende los lípidos se acumulan en el hepatocito. Por tal motivo, medimos la secreción hepática de VLDL en los ratones descritos previamente. Para ello, se inyectó intraperitonealmente (ip) poloxámero-407 (P-407) (un detergente que inhibe la actividad de lipoproteína lipasa (LpL), produciendo así una acumulación en plasma de las lipoproteínas) y luego se determinaron las concentraciones de TG a tiempo 0, 1, 2 y 3 h posteriores a la inyección de P-407. Utilizando animales ayunados (en donde VLDL es la única lipoproteína rica en TG en plasma), el aumento

en la concentración de TG en el tiempo es directamente proporcional a la velocidad de su secreción desde el hígado (Millar, Cromley, McCoy, Rader, & Billheimer, 2005).

Preparación de homogenados hepáticos al 20%: los homogenados se prepararon pesando 0,5 g de tejido hepático seguido del agregado de 950 μ L de *buffer* de homogeneización (250 mM sacarosa, 20 mM Tris, 5 mM EDTA, pH 7,4) conteniendo inhibidores de proteasas. La mezcla se disgregó mediante el uso de un homogeneizador de pie. Luego se centrifugó a 500 rpm y el sobrenadante se sonicó y se determinó la concentración de proteínas del mismo mediante el método de Lowry (Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, 1951).

El plan de trabajo se llevó a cabo dentro del convenio existente entre la Universidad Abierta Interamericana y el CONICET (expediente N° 5698/17). La mayor parte del trabajo se llevó a cabo en el bioterio de la UAI, sin embargo, algunas determinaciones bioquímicas se llevaron a cabo en el Instituto de Fisiología Experimental perteneciente al CONICET.

El estudio se enmarcó dentro de un proyecto del investigador Ariel D. Quiroga y correspondió en un 100% a investigación básica.

Análisis estadísticos: en cada caso se aplicaron los estudios estadísticos adecuados. Cada grupo de animales contó con un $n > 7$. Los resultados se expresaron como valor de la media \pm SE. La significancia de las diferencias halladas se puso a prueba mediante un test ANOVA de una vía. Cuando al realizar la prueba ANOVA obtuvimos una significancia baja (menor a 0,05) utilizamos una prueba post-hoc, (teniendo en cuenta que para aplicar este tipo de test las diferencias entre grupos deberán ser grandes). La prueba de la Diferencia Honestamente Significativa de Tukey (HSD de Tukey) fue nuestra primera opción, que nos permitió comparar cada grupo con todos los demás.

RESULTADOS

Generalidades

Antes, durante y después de la dieta rica en grasa, así como durante los procedimientos experimentales, los animales no mostraron ningún signo de sufrimiento y su comportamiento fue el esperado (movimientos y limpieza corporal normales, ingesta de agua y alimento normales). Antes y al finalizar el tratamiento de dieta rica en grasa se realizó la determinación de la actividad plasmática de la enzima LDH, cuyos valores elevados respecto de un control indican cierto grado de daño tisular hepático. No se observaron cambios en la actividad plasmática de LDH en ninguno de los grupos HFD, comparado con sus respectivos grupos antes de la dieta (*wild-type* chow: 127.3 ± 15.7 U/L; *kir6.2^{-/-}* chow: 128.1 ± 17.7 U/L; *wild-type* HFD: 143.3 ± 17.3 U/L; *kir6.2^{-/-}* HFD: 149.7 ± 16.9 U/L).

Durante todo el tratamiento se evaluó la evolución del peso corporal mediante la medición del mismo una vez a la semana. Como se muestra en la figura 4, los animales control sometidos a una dieta rica en grasa, aumentaron de peso de acuerdo a los parámetros esperados (Alekseev et al., 2010), sin embargo, los animales *Kir6.2^{-/-}* no aumentaron de peso en la misma medida. Al final del tratamiento los animales carentes de la proteína *Kir6.2* pesaron aproximadamente un 20% menos que los animales control. Estos resultados están en concordancia con estudios previos en donde demostraron que los animales carentes de esta proteína se mostraron resistentes al aumento de peso al ser expuestos a una dieta rica en grasas, tal como se observó en los animales control (Alekseev et al., 2010).

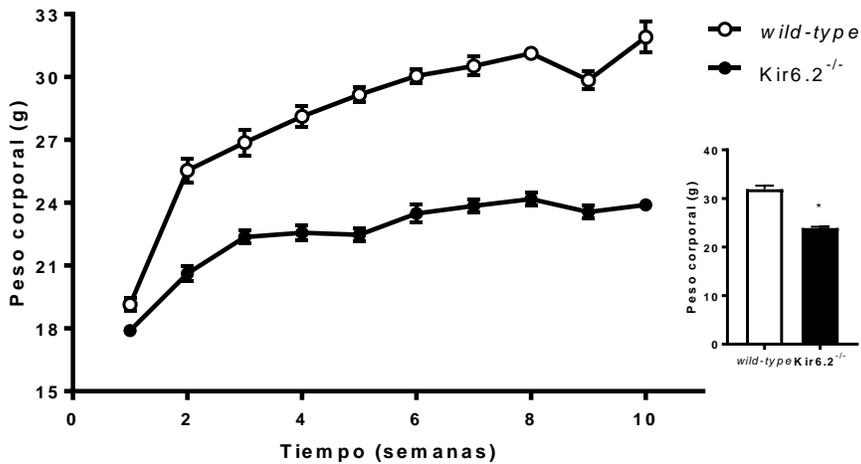


Figura 4. Evolución del peso corporal. Los ratones fueron pesados y sometidos a una dieta rica en grasa por 10 semanas. Los pesos corporales fueron monitoreados semanalmente. En el inserto se observa la diferencia de peso corporal al final del estudio.

Objetivo específico 1: *Evaluar los niveles plasmáticos de lípidos en ratones previamente y después de una dieta rica en grasas.*

Tanto antes de comenzar la dieta rica en grasa, como luego de las 10 semanas que duró la misma, los animales fueron ayunados durante 12 h. Luego se extrajo sangre con heparina y se preparó el plasma por centrifugación. Finalmente se midieron los niveles plasmáticos de TG, EC, CL y AGL. Tal como se ve en la figura 5A, antes de la dieta rica en grasa, los animales Kir6.2^{-/-} mostraron valores de TG levemente elevados respecto de los animales control. Asimismo, se observó una tendencia a presentar valores más elevados de ácidos grasos libres (Figura 5B), sin embargo esta diferencia no fue significativa. No se vieron diferencias en las concentraciones plasmáticas de ningún otro lípido en estudio bajo esta condición. Luego de la dieta rica en grasa, los animales control mostraron un aumento en los niveles plasmáticos de lípidos de aproximadamente un 15% respecto del estado previo al inicio de la dieta (Figura 5C). Los animales Kir6.2^{-/-} mostraron una diferencia mucho más acentuada y significativa en las concentraciones plasmáticas de TG, así como también de EC, sin cambios significativos en las concentraciones de colesterol libre. La concentración plasmática de ácidos grasos libres fue un 18% más elevada en los animales Kir6.2^{-/-} que en los animales control bajo este régimen de dieta (Figura 5D).

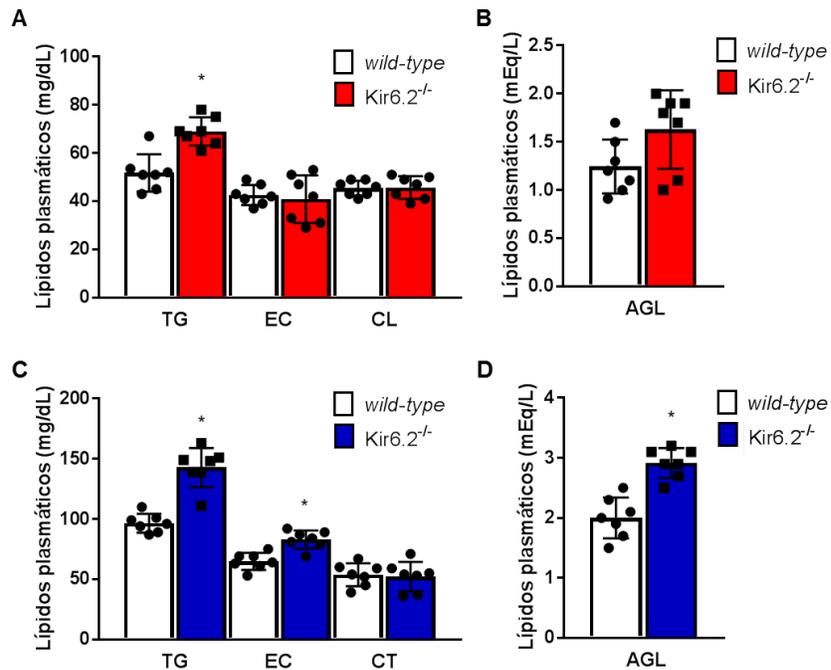


Figura 5. Concentraciones plasmáticas de lípidos. Los ratones fueron ayunados durante 12 h antes y después de ser sometidos a una dieta rica en grasa por 10 semanas. Luego del ayuno, se extrajo sangre de la cola y se preparó plasma. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de TG, EC, CL y AGL mediante el uso de *kits* comerciales. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. * $p < 0.05$.

Objetivo específico 2: *Evaluar los niveles de lípidos en hígados de ratones previamente y después de una dieta rica en grasas*

Antes de la dieta rica en grasas, no se observaron diferencias significativas en los niveles hepáticos de TG, EC y colesterol libre entre ambos grupos en estudio. Asimismo, luego de las 10 semanas de dieta rica en grasa, los niveles hepáticos de estos lípidos no se vieron marcadamente alterados entre los dos grupos en estudio. Los resultados de estos estudios se muestran en la figura 6 (A y B).

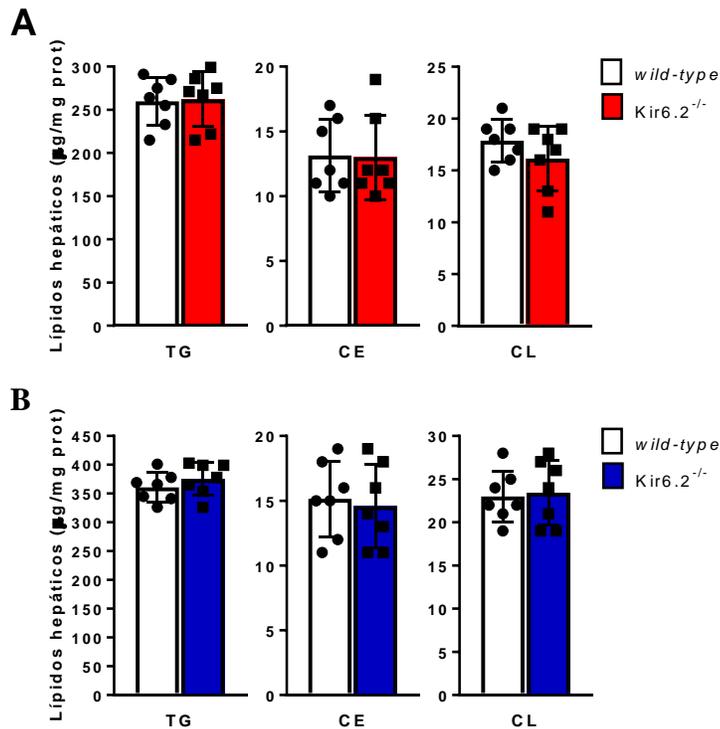


Figura 6. Concentraciones hepáticas de lípidos. Luego de 10 semanas de una dieta rica en grasa, los ratones fueron ayunados durante 12 h. Luego sufrieron eutanasia bajo exceso de anestesia seguida de apertura torácica y se extrajeron los hígados. Se realizaron homogenizados al 20% en *buffer* de homogeneización (ver Materiales y Métodos). Luego se determinaron las concentraciones hepáticas de TG, EC y CL mediante el uso de *kits* comerciales, previa extracción de los mismos con una mezcla de cloroformo/metanol (2:1).

Objetivo específico 3: Evaluar la capacidad secretoria hepática de VLDL

En la mayoría de los procesos de esteatosis hepática, la secreción de la lipoproteína VLDL disminuye, por ende los lípidos se acumulan en el hepatocito. Por tal motivo, mediremos la secreción hepática de VLDL en ratas con preneoplasia hepática. Para ello, se inyectó P-407, un detergente que inhibe la actividad de lipoproteína lipasa (LpL), produciendo así una acumulación en plasma de las lipoproteínas, y luego se determinaron las concentraciones de TG a tiempo 0, 1, 2 y 3 h posteriores a la inyección del detergente. Utilizando animales ayunados (en donde VLDL es la única lipoproteína rica en TG en plasma), el aumento en la concentración de TG en el tiempo es directamente proporcional a la velocidad de su secreción desde el hígado (Millar et al., 2005).

Los resultados de este test se muestran en la figura 7. Antes de comenzar con la dieta rica en grasas, medimos la secreción de VLDL y encontramos que los animales Kir6.2^{-/-} presentaron una secreción hepática de lipoproteína levemente aumentada respecto de los animales control (Figura 7A). Dicha brecha se incrementó enormemente luego de transcurridas las 10 semanas de dieta rica en grasa, donde los animales Kir6.2^{-/-} mostraron un aumento en la secreción de VLDL respecto de los animales control en más de un 20% hacia la 3 h en estudio (Figura 7B).

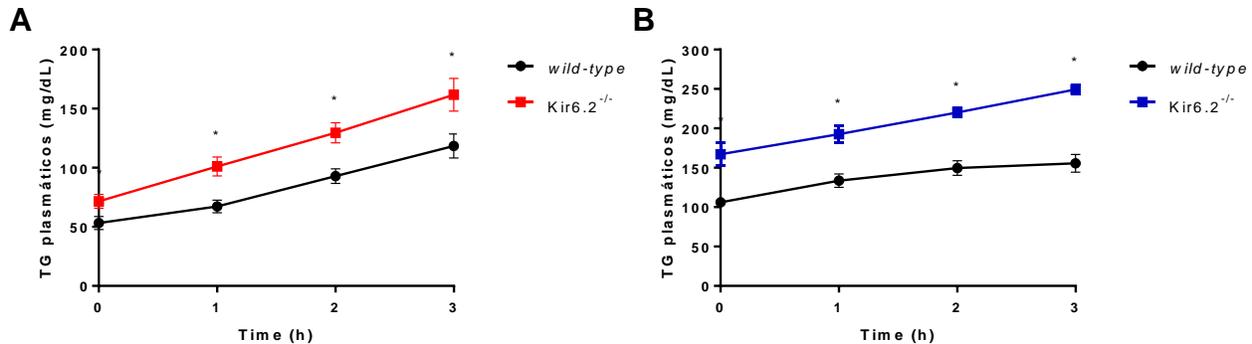


Figura 7. Secreción hepática de VLDL. Antes y después de ser sometidos a la dieta rica en grasa, los ratones de ambos genotipos fueron ayunados durante 12 h. Luego, se extrajo sangre y fueron inyectados inmediatamente con el detergente P-407 que inhibe la actividad de lipoproteína lipasa (LpL), produciendo así una acumulación en plasma de las lipoproteínas. Finalmente, se determinaron las concentraciones de TG a tiempo 0, 1, 2 y 3 h posteriores a la inyección del detergente. Utilizando animales ayunados (en donde VLDL es la única lipoproteína rica en TG en plasma), el aumento en la concentración de TG en el tiempo es directamente proporcional a la velocidad de su secreción desde el hígado. Las diferencias se calculan no solo en base a los valores de TG, sino que también teniendo en cuenta la pendiente de cada curva.

Finalmente, dados los resultados hasta el momento y para tratar de entender parcialmente el mecanismo de lo que está sucediendo en estos animales, medimos la concentración plasmática de cuerpos cetónicos. Como se observa en la figura 8A, los animales Kir6.2^{-/-} presentaron concentraciones plasmáticas de cuerpos cetónicos elevadas, respecto de los animales control antes de las intervenciones dietarias. Luego de las 10 semanas de dieta rica en grasa, ambos grupos presentaron valores de concentración plasmática de cuerpos cetónicos elevados respecto de los mismos antes de comenzar esta dieta, sin embargo, los animales Kir6.2^{-/-} presentaron un 30% más de cuerpos cetónicos en plasma que los animales control bajo el mismo régimen dietario (Figura 8B).

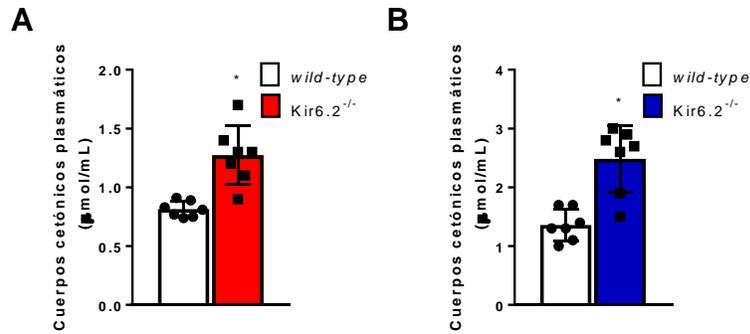


Figura 8. Concentraciones plasmáticas de cuerpos cetónicos. Los ratones fueron ayunados durante 12 h antes y después de ser sometidos a una dieta rica en grasa por 10 semanas. Luego del ayuno, se extrajo sangre de la cola y se preparó plasma. Se determinó la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato) mediante el uso de un *kit* comercial. Los resultados se expresan como la media \pm error estándar. * $p < 0.05$.

Finalmente, realizamos la medición del peso del hígado de los ratones, y lo graficamos en función del peso corporal. Este parámetro nos brinda una idea del estado global del hígado (si hay acumulación intracelular de productos metabólicos como lípidos o hidratos de carbono o si hay proliferación celular).

La figura 9A muestra la relación peso del hígado/peso corporal para los animales bajo una dieta chow, mientras que la figura 9B muestra el mismo parámetro para animales sometidos a la dieta rica en grasas. Como se puede observar, en ambos regímenes dietarios, los animales carentes de Kir6.2 presentan un índice mayor que sus respectivos animales control, siendo más notorio en los animales sometidos a la dieta rica en grasa.

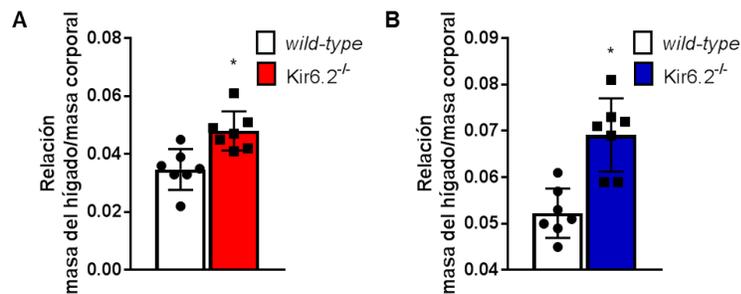


Figura 9. Relación peso corporal/peso del hígado. Los ratones fueron ayunados durante 12 h antes de ser sacrificados y los hígados cuidadosamente extraídos. El peso del hígado se monitoreó inmediatamente después del sacrificio. * $p < 0.05$.

DISCUSIÓN

La obesidad es una condición caracterizada por la acumulación excesiva de grasa en el cuerpo como resultado de un exceso crónico de ingesta de energía en comparación con el gasto energético.

La obesidad es uno de los mayores flagelos que azota a la humanidad moderna dado que ha alcanzado proporciones epidémicas descabelladamente altas a nivel mundial, y cada año mueren más de 3 millones de personas a causa de las complicaciones relacionadas a la obesidad o al sobrepeso. Es una pandemia que no solo afecta a los adultos sino también a los niños: en el año 2016 alrededor de 40 millones de niños presentaban obesidad o sobrepeso de acuerdo a los estándares nombrados previamente (<https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>). Hoy en día los gobiernos de los países considerados del “primer mundo” invierten cantidades descomunales de dinero en la investigación de las causas de la obesidad porque el estilo de vida sedentario y de excesos de la llamada comida “chatarra”, ha llevado a estas cifras alarmantes de obesidad y sobrepeso y el cambio de estilo de vida de los individuos, que sería la mejor cura, es prácticamente inconcebible en tales países.

La homeostasis del peso corporal se mantiene a través del equilibrio entre el gasto de energía y el consumo energético, y ambos procesos están controlados en el hipotálamo - el centro para la regulación del peso corporal. Varias señales mecánicas y hormonales del intestino y del tejido adiposo, como distensión intestinal, leptina, insulina, péptido 1 similar al glucagón, colecistoquinina, grelina, entre otros, estimulan genes como el de la proopiomelanocortina (POMC; precursor de la hormona estimulante de los melanocitos), y el del transcripto regulado por cocaína y anfetamina (CART) en el hipotálamo. Así como también la producción de neuropéptido Y (NPY) y del péptido relacionado agouti (AgRP).

Tanto POMC como CART son péptidos anorexigénicos típicos, mientras que NPY y AgRP son orexigénicos (Flier, 2004; Schwartz, Woods, Porte, Seeley, & Baskin, 2000). Cuando se elevan las concentraciones de algún péptido anorexigénico, se activa a su vez el receptor de melanocortina 3/4 en el núcleo paraventricular del hipotálamo. De este modo, se activa la saciedad y la termogénesis (Scarpace, Matheny, & Tumer, 2001). Por el contrario, si las concentraciones de péptidos orexigénicos aumentan, se activa el receptor Y1/5 en el núcleo

paraventricular del hipotálamo, y se induce la sensación de hambre, y detiene la termogénesis (Scarpace et al., 2001).

Además de las señales mecánicas y hormonales que ingresan al hipotálamo, las neuronas hipotalámicas también son capaces de detectar directamente señales nutricionales en la sangre, como la hiperglucemia y la hiperlipidemia, y activa los procesos reguladores del balance energético en el hipotálamo (Obici & Rossetti, 2003). Subgrupos especializados de neuronas hipotalámicas son capaces de detectar los cambios en los niveles de glucosa en sangre (Burdakov, Luckman, & Verkhatsky, 2005; Levin, Routh, Kang, Sanders, & Dunn-Meynell, 2004). Se cree que neuronas sensibles a glucosa emplean la misma estrategia de detección de glucosa utilizada por las células β del páncreas, en donde luego de un aumento de la concentración de glucosa intracelular (a su vez debida a un aumento de la concentración de glucosa plasmática), lleva a un aumento del ATP citosólico derivado del metabolismo de la glucosa ingresada. Esto conduce al cierre de los canales de potasio sensibles a ATP, causando despolarización de la membrana con influjo de Ca^{2+} , liberación de insulina y aumento de la excitabilidad celular (Schuit, Huypens, Heimberg, & Pipeleers, 2001). El estrés metabólico como la hipoxia, la isquemia o hipoglicemia conducen al agotamiento intracelular de ATP y a la activación de los canales de potasio dependientes de ATP, resultando en hiperpolarización de la membrana, seguida de una disminución de la excitabilidad. Estos canales se expresan no sólo en las células β pancreáticas, sino también en otros órganos como el músculo cardíaco y las neuronas del hipotálamo y del tronco cerebral (Miki et al., 2001; Parton et al., 2007). Cuando los niveles de ATP neuronal se agotan, los canales de potasio dependientes de ATP se activan y esto lleva a una hiperpolarización de la membrana neuronal, que a su vez conlleva a una reducción de la excitabilidad neuronal y, como se espera, a una reducción en el consumo de ATP.

En un trabajo muy interesante, se demostró que los canales de potasio dependientes de ATP, Kir6.2 están asociados con la regulación de la ingesta de alimentos y que la expresión de Kir6.2 se reduce en el hipotálamo dorsomedial y ventromedial de ratas obesas y diabéticas Zucker (Gyte et al., 2007). Sin embargo, todavía no se sabe cómo la actividad del canal de potasio dependiente de ATP está asociada a la regulación de la ingesta de alimentos.

Los canales de potasio sensibles a ATP (canales KATP) 1 son una combinación única de un canal de potasio (ya sea KIR6.1 o KIR6.2) y un receptor de sulfonilurea (SUR1 o SUR2), miembros estos últimos de la superfamilia ATPasa (Aguilar-Bryan et al., 1995; Babenko,

Aguilar-Bryan, et al., 1998; Babenko, Gonzalez, Aguilar-Bryan, & Bryan, 1998). Estos canales responden a cambios en el balance ATP/ADP y pueden acoplar el metabolismo a la actividad eléctrica de la membrana plasmática celular. Se encuentran altamente expresados en las células β del páncreas y la secreción de insulina estimulada por glucosa debido a que mantienen un potencial de membrana bajo que favorece el intercambio.

En los humanos, mutaciones en el gen KIR6.2 causan una forma recesiva de hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia (PHHI). Esta enfermedad se caracteriza por una excesiva secreción de insulina a pesar de una hipoglucemia grave (Huopio, Shyng, Otonkoski, & Nichols, 2002; Huopio, Vauhkonen, et al., 2002; Miki et al., 1997). Sorprendentemente, dos estudios de laboratorios independientes que involucran ratones para evaluar el rol de Kir6.2 demostraron resultados diametralmente diferentes. La sobreexpresión dirigida de un dominante negativo de la una subunidad del canal KIR6.2 en las células β , redujo, como se esperaba, la actividad del canal. El efecto en los animales fue que se obtuvieron ratones hipoglucémicos al nacer pero que paulatinamente fueron cambiando su metabolismo hasta convertirse en hierglicémicos independientemente de las células β pancreáticas (Miki et al., 1997). Por otro lado, los animales Kir6.2^{-/-} carecen completamente del canal de potasio en las células β pancreáticas, sin embargo presentan un fenotipo mucho menos severo que el anteriormente descrito (Miki et al., 1998).

Los animales KIR6.2^{-/-} presentaron niveles de glucosa casual en sangre y bajos respecto de los animales control, mostrando una leve intolerancia a la glucosa cuando se desafiaron con glucosa. Estos animales presentan la particularidad de liberar pequeñas cantidades de insulina en respuesta a la glucosa. Se cree que la hipersensibilidad a la insulina sería secundaria a la pérdida de los canales en el músculo esquelético, dado que el canal falta a nivel global.

Ningún trabajo publicado hasta la fecha, estudió el rol de estos canales en el metabolismo lipídico. Creemos que para poder entender el rol de estos canales en la regulación de la ingesta y del metabolismo en general, primero hay que aventurarse en el estudio de los mecanismos globales y generales sobre el rol de estos canales en el metabolismo. Se sabe que la actividad de estos canales es absolutamente dependiente de la provisión del fosfolípido aniónico 4,5-bifosfato de fosfatidilinositol (PIP2) para su correcta actividad (Baukrowitz et al., 1998).

Nuestro estudio, vincula el rol de estos canales con el metabolismo lipídico, y hace que nuestros resultados sean desde muchos puntos de vista muy interesantes, dado que por primera vez vemos alteraciones en metabolismo lipídico en animales carentes de la proteína Kir6.2.

Nuestros hallazgos muestran que Kir6.2 jugaría un rol, probablemente indirecto, en el redireccionamiento del exceso de energía hacia el hígado, el tejido adiposo y el muscular: luego de la dieta rica en grasa los animales control (*wild-type*) aumentan de peso de acuerdo a lo esperado (Alekseev et al., 2010; Park et al., 2011), sin embargo, hacia el final de la dieta rica en grasa, los animales carentes de la proteína Kir6.2 aumentaron de peso un 25% menos que los control. Tal como ha sido demostrado previamente (Park et al., 2011), los animales carentes de la proteína Kir6.2 resultan refractarios al aumento de peso. En ese trabajo, los autores relataron que los ratones Kir6.2^{-/-} mostraron una respuesta hipotalámica casi nula luego de una sobrecarga de glucosa. Llamativamente, también observaron un aumento de la expresión de NPY, gen asociado a la hiperfagia, y a su vez, observaron una menor masa grasa visceral, junto con resistencia a la inducción de la obesidad debido a una dieta rica en grasa. Los autores no pudieron explicar completamente las disparidades observadas por ellos entre la hiperfagia observada por parte de los animales carentes de Kir6.2 y la menor masa grasa visceral acumulada, dado que la ausencia de la misma en los animales Kir6.2^{-/-} la grasa no se acumula en el tejido adiposo, así como tampoco en el hígado.

En nuestro estudio, la dieta no tuvo ningún efecto en daño hepático entre los grupos control y Kir6.2^{-/-}, sin embargo, pudimos observar una tendencia a mayor liberación de enzimas hepáticas, marcadores del daño hepático, en todos los animales bajo la dieta rica en grasas comparada con los animales bajo dieta regular.

El análisis de los lípidos plasmáticos arrojó resultados muy interesantes, en donde observamos que bajo una dieta regular, los animales carentes de la proteína Kir6.2 no mostraron grandes diferencias en los niveles plasmáticos de los lípidos más comunes. Sin embargo, los animales Kir6.2^{-/-} presentaron niveles levemente aumentados de TG en plasma respecto de los animales control después de un ayuno de 12 hs. Luego de la dieta rica en grasa, los animales Kir6.2^{-/-} presentaron niveles de TG y EC aumentados respecto de los animales *wild-type*. Asimismo, los

niveles plasmáticos de AGL se encontraron significativamente elevados respecto de los animales control en la misma dieta.

Esto nos llevó a estudiar los niveles de lípidos en tejido hepático, dado que pensamos que si los lípidos no se acumulaban en el tejido adiposo, deberían estar acumulándose en el tejido hepático, quizás llevando a un estado de enfermedad hepática grasa no alcohólica. Sorprendentemente, no vimos diferencias en los niveles de lípidos hepáticos entre los grupos, dentro de cada dieta. Entonces ¿dónde está la energía? Los animales presentan mayor ingesta calórica pero no acumulan esa energía consumida en ningún órgano bajo estudio. Esto nos condujo a medir la actividad hepática de secreción de la lipoproteína VLDL. Interesantemente, encontramos que los animales carentes de la proteína Kir6.2 presentaron mayor velocidad de secreción de VLDL tanto bajo dieta regular como dieta rica en grasas. Este resultado explica en parte por qué los animales Kir6.2^{-/-} no acumulan grasas en el hígado, dado que este órgano estaría recibiendo altas cantidades de grasa (aumento de AGL), la estaría esterificando para formar lípidos neutros y/o fosfolípidos y luego la empaquetaría en partículas de VLDL para ser secretadas a la sangre. Esto, también explicaría las diferencias en los niveles de TG y CE entre ambos genotipos sometidos a dieta rica en grasa.

En conjunto, estos resultados también nos darían una idea de porqué estos animales no acumulan grasa en el tejido adiposo, dado que los mismos estarían sometidos a una alta tasa de lipólisis que lleva a “consumir” el tejido graso y a aumentar, como consecuencia, los niveles plasmáticos de AGL. Esto lleva a que el hígado reciba mayor aferencia de AGL y por ende aumente aún más su capacidad secretoria de VLDL. Sin embargo, esto no puede explicar la falta de acumulación de grasas en un 100%, dado que la capacidad secretoria hepática es conocida por ser dependiente de sustrato, es decir, llega a una saturación con el tiempo.

Entonces, nos preguntamos nuevamente, ¿qué está pasando con el manejo energético en estos animales? Por ello decidimos medir los niveles plasmáticos del compuesto natural β -hidroxibutirato. β -hidroxibutirato es un intermediario producido por la oxidación incompleta de ácidos grasos en el hígado. Los valores arrojados por nuestros estudios mostraron que bajo ambos regímenes dietarios, los animales Kir6.2^{-/-} presentaron valores de este compuesto significativamente mayores que sus respectivos controles. Es interesante comentar que en

algunos animales, el valor de concentración plasmática de β -hidroxibutirato fue de más del doble que en su respectivo animal control. Este resultado nos indica que los animales carentes de la proteína Kir6.2 no sólo secretan más lípidos desde el hígado al plasma, sino que también oxidan más lípidos, para eliminarlos y mitigar así la lipotoxicidad.

Por ello, finalmente decidimos medir la relación peso del hígado/peso corporal y observamos que los animales Kir6.2^{-/-} presentan una relación peso del hígado/peso corporal aumentada respecto de los animales control bajo ambos regímenes dietarios, siendo la diferencia más pronunciada en los animales sometidos a la dieta rica en grasa. Esto nos indicaría, y corroboraría, que los animales carentes de Kir6.2 presentan hígados de mayor peso que sus respectivos controles en función de su peso corporal. Si hay mayor peso hepático, sin grandes cambios en el contenido lipídico, esto significa que los hígados de los animales carentes de Kir6.2 presentan mayor masa debido a un aumento en la cantidad de células. Esto tiene sentido si se considera globalmente con los resultados explicados previamente. Debido a la alta afluencia de lípidos, y debido a la alta toxicidad de los mismos, el hígado pone en marcha toda su maquinaria detoxificadora mediante tres mecanismos posibles en este escenario: aumenta la secreción de VLDL (lo que implica que debe estar aumentada la función esterificadora del mismo), aumenta la oxidación de AGL (estos son los detergentes biológicos más dañinos para las células del organismo) y el hígado activa su maquinaria biosintética para producir nuevas membranas (que deberá evaluarse mediante la determinación de algún marcador de proliferación). De esta forma, se mantienen niveles celulares bajos de lípidos y la célula mantiene su metabolismo de manera más o menos constante.

En resumen, aunque los ratones Kir6.2^{-/-} mostraron una leve hiperfagia respecto de los animales control, la masa grasa visceral fue marcadamente menor, y por ende se mostraron resistentes a la inducción de obesidad debido a una dieta rica en grasa. Por otro lado estos animales mostraron un alto índice de actividad metabólica hepática, posiblemente para llevar a cabo tareas de detoxificación de las especies lipídicas provenientes de la dieta. Estudios realizados por Alekseev et al (Alekseev et al., 2010) mostraron que la modificación genética de la función del canal potasio dependiente de ATP da como resultado un fenotipo magro también que es resistente a la obesidad inducida por la dieta. En este estudio, los autores demostraron un aumento en el gasto energético en músculos cardíaco y esquelético en los ratones carentes de la proteína Kir6.2, sin embargo no centraron ninguno de sus estudios en el hígado y el a

importancia que este órgano puede presentar para depurar la toxicidad inducida por lípidos provenientes de la dieta.

Nuestros resultados resaltan la importancia que presenta el hígado para manejar el metabolismo lipídico global.

CONCLUSIONES

Es evidente que falta mucho por recorrer para tener la imagen completa sobre el rol que los canales de potasio dependientes de ATP juegan en el manejo del metabolismo lipídico. En la Universidad Abierta Interamericana contamos con la mejor herramienta para realizar este tipo de estudios que es el ratón carente de la proteína Kir6.2.

Estos estudios preliminares nos abren las puertas para seguir estudiando el rol de los mismos en el metabolismo lipídico dado que es evidente que, respecto de los animales control, los ratones Kir6.2^{-/-} presentan hígados muy activos metabólicamente y que su maquinaria de defensa trabaja al 100% para reducir los niveles intracelulares de lípidos potencialmente dañinos.

Resta mucho por realizar y quedan muchas preguntas por responder. Por ejemplo ¿cómo se van instalando en el tiempo estas adaptaciones en el animal carente de la proteína Kir6.2? ¿Es realmente un rol fisiológico el que cumple Kir6.2 en el metabolismo lipídico o los resultados observados son simplemente una adaptación a la injuria producida por la dieta rica en grasa?

Estamos convencidos de que estamos en el camino correcto para lograr elucidar el rol que cumple el canal de potasio dependiente de ATP en la regulación del metabolismo lipídico.

Esto nos acercará a la posibilidad de crear nuevos fármacos que modulen la actividad de Kir6.2 y tratar así la obesidad.

REFERENCIAS

- Adams, T. D., Gress, R. E., Smith, S. C., Halverson, R. C., Simper, S. C., Rosamond, W. D., . . . Hunt, S. C. (2007). Long-term mortality after gastric bypass surgery. *N Engl J Med*, *357*(8), 753-761. doi: 10.1056/NEJMoa066603
- Aguilar-Bryan, L., Nichols, C. G., Wechsler, S. W., Clement, J. P. t., Boyd, A. E., 3rd, Gonzalez, G., . . . Nelson, D. A. (1995). Cloning of the beta cell high-affinity sulfonylurea receptor: a regulator of insulin secretion. *Science*, *268*(5209), 423-426.
- Alekseev, A. E., Reyes, S., Yamada, S., Hodgson-Zingman, D. M., Sattiraju, S., Zhu, Z., . . . Zingman, L. V. (2010). Sarcolemmal ATP-sensitive K(+) channels control energy expenditure determining body weight. *Cell Metab*, *11*(1), 58-69. doi: 10.1016/j.cmet.2009.11.009
- Alemzadeh, R., Jacobs, W., & Pitukcheewanont, P. (1996). Antiobesity effect of diazoxide in obese Zucker rats. *Metabolism*, *45*(3), 334-341.
- Alemzadeh, R., Langley, G., Upchurch, L., Smith, P., & Slonim, A. E. (1998). Beneficial effect of diazoxide in obese hyperinsulinemic adults. *J Clin Endocrinol Metab*, *83*(6), 1911-1915. doi: 10.1210/jcem.83.6.4852
- Apovian, C. M., Aronne, L. J., Bessesen, D. H., McDonnell, M. E., Murad, M. H., Pagotto, U., . . . Endocrine, S. (2015). Pharmacological management of obesity: an endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, *100*(2), 342-362. doi: 10.1210/jc.2014-3415
- Aranceta-Bartrina, J., Perez-Rodrigo, C., Alberdi-Aresti, G., Ramos-Carrera, N., & Lazaro-Masedo, S. (2016). Prevalence of General Obesity and Abdominal Obesity in the Spanish Adult Population (Aged 25-64 Years) 2014-2015: The ENPE Study. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, *69*(6), 579-587. doi: 10.1016/j.rec.2016.02.009
- Arbex, A. K., Rocha, D. R., Aizenberg, M., & Ciruzzi, M. S. (2014). Obesity epidemic in Brazil and Argentina: a public health concern. *J Health Popul Nutr*, *32*(2), 327-334.
- Aronne, L., Shanahan, W., Fain, R., Glicklich, A., Soliman, W., Li, Y., & Smith, S. (2014). Safety and efficacy of lorcaserin: a combined analysis of the BLOOM and BLOSSOM trials. *Postgrad Med*, *126*(6), 7-18. doi: 10.3810/pgm.2014.10.2817
- Aronne, L. J., Wadden, T. A., Peterson, C., Winslow, D., Odeh, S., & Gadde, K. M. (2013). Evaluation of phentermine and topiramate versus phentermine/topiramate extended-release in obese adults. *Obesity (Silver Spring)*, *21*(11), 2163-2171. doi: 10.1002/oby.20584
- Babenko, A. P., Aguilar-Bryan, L., & Bryan, J. (1998). A view of sur/KIR6.X, KATP channels. *Annu Rev Physiol*, *60*, 667-687. doi: 10.1146/annurev.physiol.60.1.667
- Babenko, A. P., Gonzalez, G., Aguilar-Bryan, L., & Bryan, J. (1998). Reconstituted human cardiac KATP channels: functional identity with the native channels from the sarcolemma of human ventricular cells. *Circ Res*, *83*(11), 1132-1143.
- Baukrowitz, T., Schulte, U., Oliver, D., Herlitz, S., Krauter, T., Tucker, S. J., . . . Fakler, B. (1998). PIP2 and PIP as determinants for ATP inhibition of KATP channels. *Science*, *282*(5391), 1141-1144.

- Bhat, S. P., & Sharma, A. (2017). Current Drug Targets in Obesity Pharmacotherapy - A Review. *Curr Drug Targets*, 18(8), 983-993. doi: 10.2174/1389450118666170227153940
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, 37(8), 911-917. doi: 10.1139/o59-099
- Bray, G. A. (2004). Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(6), 2583-2589. doi: 10.1210/jc.2004-0535
- Burdakov, D., Luckman, S. M., & Verkhatsky, A. (2005). Glucose-sensing neurons of the hypothalamus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 360(1464), 2227-2235. doi: 10.1098/rstb.2005.1763
- Chung, W. Y., Han, J. W., Heo, W., Lee, M. G., & Kim, J. Y. (2018). Overexpression of WNK1 in POMC-expressing neurons reduces weigh gain via WNK4-mediated degradation of Kir6.2. *Mol Cell Biochem*, 447(1-2), 165-174. doi: 10.1007/s11010-018-3301-4
- Coleman, R. A., & Mashek, D. G. (2011). Mammalian triacylglycerol metabolism: synthesis, lipolysis, and signaling. *Chem Rev*, 111(10), 6359-6386. doi: 10.1021/cr100404w
- Corella, D., Ortega-Azorin, C., Sorli, J. V., Covas, M. I., Carrasco, P., Salas-Salvado, J., . . . Estruch, R. (2012). Statistical and biological gene-lifestyle interactions of MC4R and FTO with diet and physical activity on obesity: new effects on alcohol consumption. *PLoS One*, 7(12), e52344. doi: 10.1371/journal.pone.0052344
- Davies, M. J., Bain, S. C., Atkin, S. L., Rossing, P., Scott, D., Shamkhalova, M. S., . . . Umpierrez, G. E. (2016). Efficacy and Safety of Liraglutide Versus Placebo as Add-on to Glucose-Lowering Therapy in Patients With Type 2 Diabetes and Moderate Renal Impairment (LIRA-RENAL): A Randomized Clinical Trial. *Diabetes Care*, 39(2), 222-230. doi: 10.2337/dc14-2883
- Davies, M. J., Bergenstal, R., Bode, B., Kushner, R. F., Lewin, A., Skjoth, T. V., . . . Group, N. N. S. (2015). Efficacy of Liraglutide for Weight Loss Among Patients With Type 2 Diabetes: The SCALE Diabetes Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 314(7), 687-699. doi: 10.1001/jama.2015.9676
- Dee, A., Kearns, K., O'Neill, C., Sharp, L., Staines, A., O'Dwyer, V., . . . Perry, I. J. (2014). The direct and indirect costs of both overweight and obesity: a systematic review. *BMC Res Notes*, 7, 242. doi: 10.1186/1756-0500-7-242
- Dobbs, R. W., Hugar, L. A., Revenig, L. M., Al-Qassab, S., Petros, J. A., Ritenour, C. W., . . . Canter, D. J. (2014). Incidence and clinical characteristics of lower urinary tract symptoms as a presenting symptom for patients with newly diagnosed bladder cancer. *Int Braz J Urol*, 40(2), 198-203. doi: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2014.02.09
- Fidler, M. C., Sanchez, M., Raether, B., Weissman, N. J., Smith, S. R., Shanahan, W. R., . . . Group, B. C. T. (2011). A one-year randomized trial of lorcaserin for weight loss in obese and overweight adults: the BLOSSOM trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 96(10), 3067-3077. doi: 10.1210/jc.2011-1256
- Flier, J. S. (2004). Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*, 116(2), 337-350.
- Gargallo Fernandez, M., Marset, J. B., Lesmes, I. B., Izquierdo, J. Q., Sala, X. F., Salas-Salvado, J., & Grupo de Consenso, F.-S. (2012). [FESNAD-SEEDO

- consensus summary: evidence-based nutritional recommendations for the prevention and treatment of overweight and obesity in adults]. *Endocrinol Nutr*, 59(7), 429-437. doi: 10.1016/j.endonu.2012.05.004
- Gargallo Fernandez Manuel, M., Breton Lesmes, I., Basulto Maset, J., Quiles Izquierdo, J., Formiguera Sala, X., Salas-Salvado, J., & group, F.-S. c. (2012). Evidence-based nutritional recommendations for the prevention and treatment of overweight and obesity in adults (FESNAD-SEEDO consensus document). The role of diet in obesity treatment (III/III). *Nutr Hosp*, 27(3), 833-864. doi: 10.3305/nh.2012.27.3.5680
- Goodarzi, M. O. (2018). Genetics of obesity: what genetic association studies have taught us about the biology of obesity and its complications. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 6(3), 223-236. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30200-0
- Gyte, A., Pritchard, L. E., Jones, H. B., Brennand, J. C., & White, A. (2007). Reduced expression of the KATP channel subunit, Kir6.2, is associated with decreased expression of neuropeptide Y and agouti-related protein in the hypothalami of Zucker diabetic fatty rats. *J Neuroendocrinol*, 19(12), 941-951. doi: 10.1111/j.1365-2826.2007.01607.x
- Hansen, J. B. (2006). Towards selective Kir6.2/SUR1 potassium channel openers, medicinal chemistry and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem*, 13(4), 361-376.
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. *N Engl J Med*, 376(15), 1492. doi: 10.1056/NEJMc1701944
- Hruby, A., Manson, J. E., Qi, L., Malik, V. S., Rimm, E. B., Sun, Q., . . . Hu, F. B. (2016). Determinants and Consequences of Obesity. *Am J Public Health*, 106(9), 1656-1662. doi: 10.2105/AJPH.2016.303326
- Huopio, H., Shyng, S. L., Otonkoski, T., & Nichols, C. G. (2002). K(ATP) channels and insulin secretion disorders. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 283(2), E207-216. doi: 10.1152/ajpendo.00047.2002
- Huopio, H., Vauhkonen, I., Komulainen, J., Niskanen, L., Otonkoski, T., & Laakso, M. (2002). Carriers of an inactivating beta-cell ATP-sensitive K(+) channel mutation have normal glucose tolerance and insulin sensitivity and appropriate insulin secretion. *Diabetes Care*, 25(1), 101-106.
- Ikramuddin, S., Blackstone, R. P., Brancatisano, A., Toouli, J., Shah, S. N., Wolfe, B. M., . . . Billington, C. J. (2014). Effect of reversible intermittent intra-abdominal vagal nerve blockade on morbid obesity: the ReCharge randomized clinical trial. *JAMA*, 312(9), 915-922. doi: 10.1001/jama.2014.10540
- James, W. P., Avenell, A., Broom, J., & Whitehead, J. (1997). A one-year trial to assess the value of orlistat in the management of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 21 Suppl 3, S24-30.
- Kelsey, M. M., Zaepfel, A., Bjornstad, P., & Nadeau, K. J. (2014). Age-related consequences of childhood obesity. *Gerontology*, 60(3), 222-228. doi: 10.1159/000356023
- Khera, R., Murad, M. H., Chandar, A. K., Dulai, P. S., Wang, Z., Prokop, L. J., . . . Singh, S. (2016). Association of Pharmacological Treatments for Obesity With

- Weight Loss and Adverse Events: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*, 315(22), 2424-2434. doi: 10.1001/jama.2016.7602
- Koliaki, C., Liatis, S., & Kokkinos, A. (2018). Obesity and cardiovascular disease: revisiting an old relationship. *Metabolism*. doi: 10.1016/j.metabol.2018.10.011
- Kumar, R. B., & Aronne, L. J. (2000). Pharmacologic Treatment of Obesity. In L. J. De Groot, G. Chrousos, K. Dungan, K. R. Feingold, A. Grossman, J. M. Hershman, C. Koch, M. Korbonits, R. McLachlan, M. New, J. Purnell, R. Rebar, F. Singer & A. Vinik (Eds.), *Endotext*. South Dartmouth (MA).
- Lawrence, V. J., & Kopelman, P. G. (2004). Medical consequences of obesity. *Clin Dermatol*, 22(4), 296-302. doi: 10.1016/j.clindermatol.2004.01.012
- Lehner, R., Lian, J., & Quiroga, A. D. (2012). Lumenal lipid metabolism: implications for lipoprotein assembly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(5), 1087-1093. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241497
- Levin, B. E., Routh, V. H., Kang, L., Sanders, N. M., & Dunn-Meynell, A. A. (2004). Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes*, 53(10), 2521-2528.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275.
- Martinussen, C., Bojsen-Moller, K. N., Svane, M. S., Dejgaard, T. F., & Madsbad, S. (2017). Emerging drugs for the treatment of obesity. *Expert Opin Emerg Drugs*, 22(1), 87-99. doi: 10.1080/14728214.2017.1269744
- Miki, T., Liss, B., Minami, K., Shiuchi, T., Saraya, A., Kashima, Y., . . . Seino, S. (2001). ATP-sensitive K⁺ channels in the hypothalamus are essential for the maintenance of glucose homeostasis. *Nat Neurosci*, 4(5), 507-512. doi: 10.1038/87455
- Miki, T., Nagashima, K., Tashiro, F., Kotake, K., Yoshitomi, H., Tamamoto, A., . . . Seino, S. (1998). Defective insulin secretion and enhanced insulin action in KATP channel-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(18), 10402-10406.
- Miki, T., Tashiro, F., Iwanaga, T., Nagashima, K., Yoshitomi, H., Aihara, H., . . . Seino, S. (1997). Abnormalities of pancreatic islets by targeted expression of a dominant-negative KATP channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94(22), 11969-11973.
- Millar, J. S., Cromley, D. A., McCoy, M. G., Rader, D. J., & Billheimer, J. T. (2005). Determining hepatic triglyceride production in mice: comparison of poloxamer 407 with Triton WR-1339. *J Lipid Res*, 46(9), 2023-2028. doi: 10.1194/jlr.D500019-JLR200
- Minami, K., Miki, T., Kadowaki, T., & Seino, S. (2004). Roles of ATP-sensitive K⁺ channels as metabolic sensors: studies of Kir6.x null mice. *Diabetes*, 53 Suppl 3, S176-180.
- Obici, S., & Rossetti, L. (2003). Minireview: nutrient sensing and the regulation of insulin action and energy balance. *Endocrinology*, 144(12), 5172-5178. doi: 10.1210/en.2003-0999
- Ohta, M., Nelson, J., Nelson, D., Meglasson, M. D., & Erecinska, M. (1993). Effect of Ca⁺⁺ channel blockers on energy level and stimulated insulin secretion in isolated rat islets of Langerhans. *J Pharmacol Exp Ther*, 264(1), 35-40. 7
- OMS (2014) <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/148114/978>

9241564854eng.pdf; jsessionid=C6FCAA2879FD5A152C1B0947B66180C5?
sequence=1

- Orkunoglu-Suer, F. E., Harmon, B. T., Gordish-Dressman, H., Clarkson, P. M., Thompson, P. D., Angelopoulos, T. J., . . . Devaney, J. M. (2011). MC4R variant is associated with BMI but not response to resistance training in young females. *Obesity (Silver Spring)*, *19*(3), 662-666. doi: 10.1038/oby.2010.180
- Park, Y. B., Choi, Y. J., Park, S. Y., Kim, J. Y., Kim, S. H., Song, D. K., . . . Kim, Y. W. (2011). ATP-Sensitive Potassium Channel-Deficient Mice Show Hyperphagia but Are Resistant to Obesity. *Diabetes Metab J*, *35*(3), 219-225. doi: 10.4093/dmj.2011.35.3.219
- Parton, L. E., Ye, C. P., Coppari, R., Enriori, P. J., Choi, B., Zhang, C. Y., . . . Lowell, B. B. (2007). Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity. *Nature*, *449*(7159), 228-232. doi: 10.1038/nature06098
- Popkin, B. M., & Reardon, T. (2018). Obesity and the food system transformation in Latin America. *Obes Rev*, *19*(8), 1028-1064. doi: 10.1111/obr.12694
- Quayle, J. M., Nelson, M. T., & Standen, N. B. (1997). ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle. *Physiol Rev*, *77*(4), 1165-1232. doi: 10.1152/physrev.1997.77.4.1165
- Quiroga, A. D., & Lehner, R. (2012). Liver triacylglycerol lipases. *Biochim Biophys Acta*, *1821*(5), 762-769. doi: 10.1016/j.bbaliip.2011.09.007
- Rausch, J. C., Lavine, J. E., Chalasani, N., Guo, X., Kwon, S., Schwimmer, J. B., . . . Network, N. C. R. (2018). Genetic Variants Associated With Obesity and Insulin Resistance in Hispanic Boys With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, *66*(5), 789-796. doi: 10.1097/MPG.0000000000001926
- Rohner-Jeanrenaud, F., & Jeanrenaud, B. (1985). A role for the vagus nerve in the etiology and maintenance of the hyperinsulinemia of genetically obese fa/fa rats. *Int J Obes*, *9 Suppl 1*, 71-75.
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Curr Hypertens Rep*, *20*(2), 12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
- Salas-Salvado, J., Rubio, M. A., Barbany, M., Moreno, B., & Grupo Colaborativo de la S. (2007). [SEEDO 2007 Consensus for the evaluation of overweight and obesity and the establishment of therapeutic intervention criteria]. *Med Clin (Barc)*, *128*(5), 184-196; quiz 181 p following 200.
- Scarpace, P. J., Matheny, M., & Tumer, N. (2001). Hypothalamic leptin resistance is associated with impaired leptin signal transduction in aged obese rats. *Neuroscience*, *104*(4), 1111-1117.
- Schuit, F. C., Huypens, P., Heimberg, H., & Pipeleers, D. G. (2001). Glucose sensing in pancreatic beta-cells: a model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus. *Diabetes*, *50*(1), 1-11.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, *404*(6778), 661-671. doi: 10.1038/35007534
- Shettar, V., Patel, S., & Kidambi, S. (2017). Epidemiology of Obesity and Pharmacologic Treatment Options. *Nutr Clin Pract*, *32*(4), 441-462. doi: 10.1177/0884533617713189

- Smith, K. B., & Smith, M. S. (2016). Obesity Statistics. *Prim Care*, 43(1), 121-135, ix. doi: 10.1016/j.pop.2015.10.001
- Srivastava, G., & Apovian, C. M. (2018). Current pharmacotherapy for obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 14(1), 12-24. doi: 10.1038/nrendo.2017.122
- Suarez, A. L. (2018). Burden of cancer attributable to obesity, type 2 diabetes and associated risk factors. *Metabolism*. doi: 10.1016/j.metabol.2018.10.013
- Sweeting, A. N., Hocking, S. L., & Markovic, T. P. (2015). Pharmacotherapy for the treatment of obesity. *Mol Cell Endocrinol*, 418 Pt 2, 173-183. doi: 10.1016/j.mce.2015.09.005
- Tinker, A., Aziz, Q., Li, Y., & Specterman, M. (2018). ATP-Sensitive Potassium Channels and Their Physiological and Pathophysiological Roles. *Compr Physiol*, 8(4), 1463-1511. doi: 10.1002/cphy.c170048
- Van Gaal, L. F., Broom, J. I., Enzi, G., & Toplak, H. (1998). Efficacy and tolerability of orlistat in the treatment of obesity: a 6-month dose-ranging study. Orlistat Dose-Ranging Study Group. *Eur J Clin Pharmacol*, 54(2), 125-132.
- Weintraub, M., Sundaesan, P. R., Schuster, B., Ginsberg, G., Madan, M., Balder, A., . . . Byrne, L. (1992). Long-term weight control study. II (weeks 34 to 104). An open-label study of continuous fenfluramine plus phentermine versus targeted intermittent medication as adjuncts to behavior modification, caloric restriction, and exercise. *Clin Pharmacol Ther*, 51(5), 595-601.
- Yanovski, S. Z., & Yanovski, J. A. (2014). Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA*, 311(1), 74-86. doi: 10.1001/jama.2013.281361
- Zhang, F., Zarkada, G., Han, J., Li, J., Dubrac, A., Ola, R., . . . Eichmann, A. (2018). Lacteal junction zippering protects against diet-induced obesity. *Science*, 361(6402), 599-603. doi: 10.1126/science.aap9331

ANEXOS



Ignacio Alejandro Báez Rosés

+54 3413 630786

Ignaciobroses@gmail.com

Colón 2360 3° 1 - Rosario - Santa Fe - Argentina

Rosario, 7 de Mayo de 2019

Dra. Marcela Agostini

Directora del Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud - CAECHIS

Presente

Mi nombre es Ignacio Alejandro Báez Rosés, D.N.I. 37.797.329, soy alumno de 6° año de la Universidad Abierta Interamericana y estoy desarrollando el trabajo final de carrera titulado "Estudio del rol del canal de potasio Kir6.2/K-ATP en el metabolismo lipídico". Solicito a través de esta nota autorización para poder usar las instalaciones y el equipamiento del bioterio para completar mi trabajo de investigación. Le saludo cordialmente.

Ignacio A. Báez Rosés



Ignacio Alejandro Báez Rosés

+54 3413-630786

Ignaciobroses@gmail.com

Colón 2360 3° 1- Rosario - Santa Fe - Argentina

Rosario, 7 de Mayo de 2019

Dr. Guillermo Weisburd

Director de carrera de Medicina

Universidad Abierta Interamericana

Por el presente me dirijo a usted para comunicarle que el Dra. Marcela Agostini acepta ser mi cotutora de mi trabajo final, titulado "Estudio del rol del canal de potasio Kir6.2/K-ATP en el metabolismo lipídico" y se compromete a guiarme y acompañarme en todo el proceso.
Le saludo cordialmente.

Dra. Marcela Agostini

Ignacio A. Báez Rosés



Ignacio Alejandro Báez Rosés

+54 3413 630786

Ignaciobroses@gmail.com

Colón 2360 3° 1- Rosario - Santa Fe - Argentina

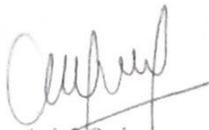
Rosario, 7 de Mayo de 2019

Dr. Guillermo Weisburd

Director de carrera de Medicina

Universidad Abierta Interamericana

Por el presente me dirijo a usted para comunicarle que el Dr. Ariel Quiroga acepta ser mi tutor de mi trabajo final, titulado "Estudio del rol del canal de potasio Kir6.2/ K-ATP en el metabolismo lipídico" y se compromete a guiarme y acompañarme en todo el proceso.
Le saludo cordialmente.



Dr. Ariel Quiroga



Ignacio A. Báez Rosés