



UAI

**Universidad Abierta
Interamericana**

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

Análisis del rol del canal de potasio Kir6.2/K-ATP en el metabolismo glucídico

NOMBRE DE LA ALUMNA: Florencia Canale Vagliente

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

NOMBRE DE LA CO-TUTORA: Dra. Mg. Marcela Agostini

PALABRAS CLAVES: síndrome metabólico, regulación de la glicemia, dislipidemia

Correo electrónico del tutorando: flocanale@hotmail.com

FECHA DE PRESENTACIÓN: febrero de 2019

INDICE

Agradecimientos	página 4
Resumen	página 5
Abreviaturas	página 6
Introducción	página 7
- Obesidad en Argentina	página 9
- Causas de la obesidad	página 10
- Nuevos protagonistas en la etiopatogenia de la obesidad	página 10
- Consecuencias de la obesidad	página 10
- Visión adipocéntrica del síndrome metabólico	página 13
- Obesidad e hipertensión	página 14
- Obesidad y cáncer	página 14
- Obesidad y enfermedad psiquiátrica	página 14
- Obesidad y enfermedad metabólica	página 15
- Obesidad y osteoartrosis	página 15
- Obesidad y metabolismo de los hidratos de carbono	página 15
- Blancos terapéuticos para combatir la obesidad	página 17
- Los canales de potasio sensibles a ATP (K-ATP)	página 19
Problema	página 21
Objetivos	página 22
Materiales y métodos	página 23
Resultados	página 27
Discusión	página 34
Conclusiones	página 39
Referencias	página 40

Anexo I

página 47

Anexo II

página 48

Anexo III

página 49

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Abierta Interamericana, a los miembros de la Secretaría de Investigación y del Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud – CAECHIS. Asimismo, agradezco a los miembros del bioterio de UAI y al CONICET por permitirnos trabajar en el Instituto de Fisiología Experimental (IFISE) (por convenio UAI-CONICET, expediente N° 5698/17). Agradezco finalmente a mi familia y amigos, muy en especial a Francisco Heit.

RESUMEN

El síndrome metabólico se define por la asociación de patologías comunes que incluyen la obesidad abdominal, la hiperglucemia, entre otras. Tanto la diabetes como la obesidad fueron reconocidas como epidemia por la Organización Mundial de la Salud. Nuestro objetivo fue estudiar el rol de la proteína Kir6.2/K-ATP en el metabolismo glucídico del ratón alimentado con una dieta rica en grasas (HFD) durante 10 semanas. Luego de la HFD, los ratones control mantuvieron una glicemia normal, con un marcado incremento compensador de la concentración de insulina plasmática. En marcado contraste, los animales Kir6.2^{-/-} ya se mostraron levemente intolerantes a la glucosa bajo un régimen dietario normal, y al cabo de 10 semanas de HFD se volvieron levemente más intolerantes a la glucosa. Luego de la HFD, los animales carentes de Kir6.2 mantuvieron esa sensibilidad, aparentemente inalterada. Por lo que podemos explicar que la intolerancia a la glucosa que presentan los animales Kir6.2^{-/-} puede deberse a una capacidad secretoria reducida. Los resultados demuestran que los animales Kir6.2^{-/-} presentan niveles de insulina inalterables con la dieta. La vía de señalización de la insulina en el hígado también se mostró inalterada en estos animales. También, observamos a marcada caída en los niveles de glucógeno hepático en los animales Kir6.2^{-/-}. Estos resultados están en línea con resultados previos en donde demuestran que estos animales son muy sensibles al agotamiento, debido a la falta de reservas energéticas. Estos resultados representan los primeros pasos en la investigación del rol que cumple Kir6.2 en el metabolismo de manera global. Es importante destacar que abrir nuevos caminos para entender la funcionalidad hepática y comprender así su fisiopatología, redundará en el aumento de posibilidades para el desarrollo de nuevos blancos terapéuticos que eviten el desarrollo de obesidad, la diabetes y de sus complicaciones asociadas.

ABREVIATURAS

OMS: Organización Mundial de la salud

CONICET: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

UAI: Universidad Abierta Interamericana

IMC: Índice de Masa Corporal

MM: Masa Magra

PC: Pliegue Cutáneo

EMSE: Encuesta Mundial de Salud Escolar

ENFR: Encuesta Mundial de Factores de Riesgo

SME: Síndrome

SM: Síndrome Metabólico

SAHS: Síndrome de Apneas Hipopneas del Sueño

HTA: Hipertensión Arterial.

EHNA: Enfermedad Hepática no Alcohólica

PCOS: Polycystic Ovary Syndrome

ATP: Adenosin Trifosfato

K- ATP: Canal de potasio sensible a ATP

Kir6.2/K-ATP: Canal de potasio sensible a ATP Kir6.2

WT: Wild Type

HFD: High Fat Diet

CICUAL: Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio

LDH: Lactato deshidrogenasa

AST: Aspartato aminotransferasa

ALT: Alanina aminotransferasa

IRS-1-IRS4: Proteína Sustrato de Receptores de Insulina.

INTRODUCCIÓN

La obesidad es una condición caracterizada 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 (Wang & Beydoun, 2007). La obesidad se define como un aumento del peso corporal debido a su exceso de grasa que hace peligrar seriamente la salud. Es por lo tanto una enfermedad metabólica multifactorial, influido por elementos sociales, fisiológicos, metabólicos, moleculares y genéticos. La obesidad es una enfermedad con repercusiones negativas para la salud y existe una asociación clara y directa entre el grado de obesidad y la morbimortalidad. De hecho, está vinculada al 60% de las defunciones debidas a enfermedades no contagiosas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que un individuo es obeso cuando el índice de su masa corporal (IMC, cociente entre el peso y la estatura de un individuo al cuadrado) es igual o superior a 30 kg/m^2 (Seidell & Halberstadt, 2015). También se considera signo de obesidad un perímetro abdominal en hombres mayor o igual a 102 cm y en mujeres mayor o igual a 88 cm.

Según la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad, la misma es una enfermedad crónica que se caracteriza por un aumento de la masa grasa. Si el porcentaje normal de grasa (MG) corporal oscila entre el 12% y 20% en los hombres y entre el 20% y 30% en las mujeres, hablamos de obesidad cuando este porcentaje supera el 25% en los hombres y el 33% en las mujeres. (https://www.seedo.es/images/site/POSICIONAMIENTO_SEEDO2016_VC.pdf).

La OMS ha propuesto una clasificación del grado de obesidad utilizando el índice ponderal como criterio:

- Normopeso: $\text{IMC } 18,5 - 24,9 \text{ Kg/m}^2$
- Sobrepeso: $\text{IMC } 25 - 29 \text{ Kg/m}^2$:
- Obesidad grado I con $\text{IMC } 30-34 \text{ Kg/m}^2$
- Obesidad grado II con $\text{IMC } 35-39,9$ Obesidad grado I con $\text{IMC } 30-34 \text{ Kg/m}^2$
- Obesidad grado III con $\text{IMC } \geq 40$ Obesidad grado I con $\text{IMC } 30-34 \text{ Kg/m}^2$

Posteriormente, en el año 2007 la SEEDO además de la clasificación anterior añadió:

- Obesidad de tipo IV (extrema) con $\text{IMC } > 50$

(<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.)

(https://www.seedo.es/images/site/POSICIONAMIENTO_SEEDO2016_VC.pdf)

Aunque el IMC no es un excelente indicador de adiposidad especialmente en individuos musculados como deportistas, así como en ancianos, es el índice utilizado por la mayoría de estudios epidemiológicos y el recomendado por diversas sociedades médicas y organizaciones de salud internacionales para el uso clínico, dadas su reproducibilidad, facilidad de utilización y capacidad de reflejar la adiposidad en la mayoría de la población.

Cuando se emplea el IMC en la práctica clínica debemos ser conscientes de sus limitaciones. Así, el IMC no informa de la distribución de la grasa corporal, no diferencia entre masa magra (MM) y MG, no se relaciona de forma lineal con el porcentaje de grasa corporal y es un mal indicador pronóstico de las comorbilidades de la obesidad en sujetos de baja estatura. Tampoco es un buen indicador pronóstico en sujetos de edad avanzada. De la misma manera, su exactitud diagnóstica varía en diferentes razas y etnias. Además, no existe un acuerdo unánime sobre la importancia clínica de estas diferencias interraciales y tampoco, sobre los puntos de corte que se deberían adoptar en función de la raza o la etnia. (Carmienke et al., 2013; Consultation, 2004).

Debido a las anteriores limitaciones, el IMC tampoco es válido para el diagnóstico de obesidad en algunas situaciones, como pueden ser pacientes con retención hidrosalina y gestantes. Es por todo lo anterior que, para refinar el diagnóstico de la obesidad y del riesgo asociado, se han estudiado otras medidas antropométricas como el pliegue cutáneo (PC), el índice cintura-cadera y el índice cintura-estatura. De ellos, la más utilizada es el PC.

El PC es la segunda medición obligatoria en la práctica clínica cuando evaluamos a un sujeto obeso, así como en todo su seguimiento. Este perímetro permite estimar la obesidad visceral y el riesgo cardiometabólico, por lo que debe recogerse en la historia clínica. Se determina con una cinta métrica flexible, milimetrada, con el sujeto en bipedestación, sin ropa y en estado relajado. Aparentemente es una determinación sencilla, pero en la práctica requiere un buen adiestramiento por parte del explorador.

Las tasas de obesidad, como mínimo, se han triplicado desde 1980 en algunas partes de América del Norte, Europa del Este, Oriente Medio, las Islas del Pacífico, Australia y China.

La región latinoamericana no está ajena a esta tendencia y el aumento en las cifras de obesidad se ha hecho más evidente a medida que los países mejoran su ingreso económico. La evolución de la obesidad ha sido observada en países como Chile, México, Brasil, Argentina, Perú, Colombia, Guatemala y Bolivia (Jimenez-Cruz & Bacardi-Gascon, 2015; Kain et al., 2014; Popkin & Reardon, 2018; Pratt, Charvel Orozco, Hernandez-Avila, Reis, & Sarmiento, 2014). En Brasil, por ejemplo, estudios nacionales realizados en los años 1974-1975 y 1989 indicaron un aumento en las prevalencias de obesidad de 2% a 5% y de 7% a 12%, en hombres y mujeres, respectivamente (Diniz Mde et al., 2016; Pinto, Griep, Rotenberg, Almeida, et al., 2018; Pinto, Griep, Rotenberg, da Conceicao Chagas Almeida, et al., 2018).

Los estudios realizados en Chile también apuntan un aumento alarmante en las cifras de obesidad. Los datos nacionales, utilizando como indicador el IMC, muestran un aumento en las prevalencias que pasaron de 6% en 1987 a 18% en el 2000 (Castriota et al., 2018; Vio, Albala, & Kain, 2008).

En el año 2008, 1.500 millones de adultos tenían exceso de peso. Dentro de este grupo, más de 200 millones de hombres y cerca de 300 millones de mujeres eran obesos, por lo cual la OMS ha declarado a la obesidad y al sobrepeso con el carácter de epidemia mundial (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

Obesidad en Argentina

Según datos de 2010 de la Base de Datos Global sobre Crecimiento Infantil y Malnutrición de la OMS, Argentina presenta el mayor porcentaje de obesidad infantil en niños y niñas menores de cinco años en la región de América Latina con un 7,3% de prevalencia (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).

La prevalencia de sobrepeso en estudiantes de 13 a 15 años, según lo relevado por la Encuesta Mundial de Salud Escolar (EMSE) en 2012 (Silberman et al., 2017), fue de 22,7% mientras que la de prevalencia de obesidad fue de 5,9%, sin cambios con respecto a la encuesta anterior. Esto significa que un 28,6% de los estudiantes evidenció, al momento del relevamiento, exceso de peso. Tanto el exceso de peso como la obesidad fueron mayores en varones (35,9% y 8,3% respectivamente) que en mujeres (21,8% y 3,6% respectivamente).

En relación con otros países de la región es posible notar que, luego de Chile, Argentina es el país con uno de los niveles más altos de obesidad y de exceso de peso; asimismo se encuentra tercero en el consumo de bebidas azucaradas entre estudiantes, luego de Uruguay y Chile. Es posible observar también que ningún país de los analizados tiene menos de 20% de prevalencia de exceso de peso, lo cual demuestra el carácter regional y global de los problemas de peso corporal.

Con relación a la población de 18 años y más, y de acuerdo a datos de la 3era Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (ENFR) 2013, la prevalencia de exceso de peso fue de 57,9%, mientras que en 2009 el valor había sido de 53,5% y de 49,1% en 2005. Este indicador se compone de un 37,1% de personas con sobrepeso y un 20,8% de personas con obesidad.

A continuación se muestran los resultados para ambos indicadores de manera diferenciada. La prevalencia de sobrepeso se ubicó en 37,1%. No evidenció diferencias con respecto a la edición 2009 pero sí respecto de la edición 2005 (34,4%). El valor fue mayor entre varones (43,3%) que entre mujeres (31,3%) y entre los de mayor edad (con un máximo de 42,6% en el grupo de 65 años y más) con respecto al grupo de 18 a 24 años (25,4%).

Causas de la obesidad

Diversos autores coinciden en que la patogenia de la obesidad es de carácter multifactorial ya que en ella participan factores biológicos, de comportamiento, culturales, sociales, medioambientales y económicos que establecen una red de interacción múltiple y compleja.

El acto de alimentarse en los individuos cumple una función biológica vital como también una función social esencial.

Es el resultado de la interacción de diversos factores condicionantes: a) biológicos, que responden a las necesidades y capacidades del organismo; b) ecológicos-demográficos, que son aquellos factores que refieren a la cantidad y la calidad de los alimentos que se pueden producir; c) tecnológicos-económicos, aquellos que refieren a los circuitos de producción y distribución de los alimentos; d) sociopolíticos, aquellos que condicionan el acceso a los alimentos según clases, sectores o grupos sociales; y e) culturales: aquellos sistemas de representaciones sociales que determinan con quién, cómo y qué se debe comer según sectores, edades, géneros (Bennett, Probst, & Pumkam, 2011; Levine, 2011; Santos, 2013).

Nuevos protagonistas en la etiopatogenia de la obesidad

La obesidad es una enfermedad en la cual confluyen distintos factores genéticos y ambientales, entre los factores ambientales relacionados con la epidemia mundial de obesidad, destacan la mayor disponibilidad de alimentos y el aumento progresivo en la conducta sedentaria. (Environmental contributions to the obesity epidemic Science, 280 (1998), pp. 1371-1374). La teoría de los genes ahorradores (*“Thrifty genes”*) establece que durante la evolución del ser humano se fueron seleccionando, en forma natural, ciertas variantes genéticas que permitían lograr un mayor almacenamiento de energía en el tejido adiposo y un bajo gasto energético ante condiciones de vida caracterizadas por la escasez o dificultad en la obtención de los alimentos y/o exposición a largos periodos de hambruna (When some fine old genes meet a “new” environment World Rev Nut Diet, 84 (1999), pp. 1-18).

Esta carga genética enfrentada a un estilo de vida sedentario y alta ingesta de calorías constituye el principal factor de riesgo de obesidad.

- Cronodisrupción: circunstancias como el desfase horario, cambios del ciclo sueño-vigilia, la privación de sueño, o el desorden en la alimentación se asocian al desarrollo de obesidad (Garaulet & Gomez-Abellan, 2013).
- Epigenética y programación fetal: tanto la desnutrición como la sobrealimentación y la salud metabólica de la madre, incluso en periodo preconcepcional, se asocian con el desarrollo de obesidad (Ozanne, 2015).
- Enfermedad psiquiátrica: depresión mayor, esquizofrenia y trastorno bipolar se asocian con una mayor prevalencia de obesidad visceral respecto a la población general, hecho que se desarrolla de forma independiente al tratamiento.
- Disruptores endocrinos: Bisfenol A, ftalatos, pesticidas e insecticidas tienen potencial para alterar funciones hormonales, favorecer el desarrollo de diabetes y promover la obesidad.
- Estrés: existe una asociación significativa entre eventos de estrés incontrolado y estrés crónico con el aumento de grasa corporal e IMC (Sinha & Jastreboff, 2013).
- Microbiota intestinal: el predominio de firmicutes sobre bacteroidetes, así como la escasa diversidad de la microbiota, se asocia con la obesidad (Moran & Shanahan, 2014).

- Patrón alimentario: asociación entre obesidad y la elevada ingesta de azúcares refinados, un exceso de grasas (>35% de las calorías diarias) y un consumo insuficiente de frutas y verduras (Singh et al., 2015).
- Ambiente obesogénico: la suma de influencias que el entorno (dispersión urbana, industria alimentaria), las oportunidades (disponibilidad de comida con alta densidad energética) y condiciones de vida (practicar actividad física) ejercen sobre la promoción de la obesidad (Mackenbach et al., 2014).

En Argentina, como en el resto de los países de la región, el desarrollo de la industria de los alimentos favoreció la segmentación del mercado de acuerdo con el nivel de ingresos, ofreciendo productos masivos, de baja calidad y con mayor contenido en grasa y azúcares, a la vez que siguió ofertando alimentos artesanales y de alta calidad para los sectores de ingresos altos.

La oferta de productos agroindustriales ricos en carbohidratos refinados y grasas saturadas no beneficia la salud de la población ya que producen un mayor aporte calórico que el requerido, a expensas de calorías pobres nutricionalmente. Estos condicionantes de la dieta junto con el desarrollo de hábitos poco saludables producto de la creciente urbanización (como una baja o nula actividad física), factores genéticos, y aspectos socio-ambientales (como la ausencia de instalaciones deportivas y de recreación en espacios públicos, entre otros) influyen y condicionan la presencia y el grado del sobrepeso y/o de la obesidad (Silberman et al., 2017).

Cabe señalar la gran influencia del marketing para generar necesidades y hábitos de consumo en las sociedades actuales tan mediatizadas, como producto del aumento de las redes de comunicación y del desarrollo de tecnologías cada vez más complejas, efectivas y baratas. A través de las publicidades se crean representaciones generalmente asociadas a una imagen ideal que moldea los comportamientos de las personas (de Sereday et al., 2004).

Una gran problemática de las sociedades actuales es que los mensajes que las publicidades reflejan, generalmente no se corresponden con las recomendaciones elaboradas desde la salud pública. Si bien la ingesta de productos ultraprocesados en pequeñas cantidades no es dañino para la salud, su sabor intensificado (a través de sal, azúcares libres, grasas y otros aditivos) y las estrategias de marketing agresivas y sostenidas, hacen que el consumo modesto sea improbable (Cullin & Fernandez, 2017).

Consecuencias de la obesidad

La obesidad es considerada como un factor de riesgo para el desarrollo de patologías tales como: enfermedad cardiovascular, diabetes tipo 2, diversos tipos de cáncer, problemas respiratorios y artritis (D'Adamo & Caprio, 2011; Kim & Caprio, 2011). En función de los distintos grados de asociación con estas y otras condiciones, actualmente la obesidad puede considerarse no sólo como un factor de riesgo cardiovascular sino también como una enfermedad severa, particularmente en su forma mórbida y en algunos casos especiales de asociación con otras enfermedades.

Por otra parte, se sabe que la obesidad genera una carga socioeconómica y de enfermedad muy alta, que compromete tanto la salud de la población como las finanzas públicas y privadas actuales y futuras. En este sentido, existen diversas estimaciones provenientes de países desarrollados, pero muy pocas de Latinoamérica en general, y de la Argentina en particular, que permitan determinar el impacto de la obesidad en términos epidemiológicos y socioeconómicos (Garrett, Brasure, Schmitz, Schultz, & Huber, 2004).

Visión adipocéntrica del síndrome metabólico (SM)

No es hasta que se supera la capacidad del tejido adiposo para almacenar grasa y expandirse, cuando la obesidad produce modificaciones morfológicas y funcionales en el adipocito. En ese momento, el acúmulo de grasa ectópica en órganos distintos al tejido adiposo (tales como el hígado, el músculo, la célula beta pancreática o el miocardio) producirá un efecto tóxico, desarrollando la llamada lipotoxicidad periférica. Este tejido adiposo ectópico y disfuncional será el responsable de la aparición de la resistencia a la insulina y del estado crónico de inflamación sistémica de bajo grado, con un perfil predominante de citoquinas proinflamatorias (como leptina, resistina, IL-6 y TNF α), acompañado de la elevación de ácidos grasos libres, y la disminución en la secreción y actividad de adiponectina. El SM se define por la asociación de patologías comunes que incluyen la obesidad abdominal, la hipertensión arterial, la dislipemia aterogénica y la hiperglucemia. Considerada la resistencia a la insulina como nexo de unión entre ellas, también se ha sugerido la inclusión dentro de esta definición de patologías como el hígado graso, el síndrome de apneas hipopneas del sueño (SAHS), e incluso patologías psiquiátricas y hasta algunas formas específicas de cáncer. La alta prevalencia de esta asociación sugiere que estas patologías aparentemente diversas, comparten algunos mecanismos etiopatogénicos comunes, que podrían explicarse desde

una visión adipocéntrica del SM. Identificar los mecanismos tempranos que estresan los sistemas homeostáticos, las adaptaciones alostáticas precoces y la vulnerabilidad de los órganos afectados que condicionan diferentes fenotipos dentro del espectro del SM, proporcionará la base para un diagnóstico y un tratamiento individualizados (Rhee, Vela, & Chung, 2016).

Obesidad e HTA

El estudio Framingham demostró que el 79% de la hipertensión arterial HTA en varones y el 65% en mujeres fue el resultado directo del exceso de peso. Más allá de la insulinoresistencia y la hiperinsulinemia, la aparición de HTA en la obesidad se relaciona también con otros mecanismos diferentes, como el incremento de la actividad del sistema nervioso simpático, la producción de angiotensinógeno por parte del tejido adiposo visceral, y el incremento de actividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La prevalencia de HTA en individuos obesos es del 25 al 40%, más alta que la de la población general, siendo el riesgo de HTA 5 veces mayor. Según se desprende de los datos del estudio NHANES-III, sabemos también que la prevalencia de hipertensión arterial ajustada por la edad se incrementa progresivamente con el IMC. De forma similar, en el estudio INTERSALT se observó que un exceso de 10 kg de peso suponía un incremento de 3 mm de Hg en la presión arterial sistólica y de 2,3 mm en la diastólica. Estas diferencias en presión arterial suponen un incremento del 12% en el riesgo de enfermedad coronaria y del 24% en el riesgo de ictus (Segula, 2014).

Obesidad y cáncer

Por otro lado, se conoce que la obesidad es una de las principales causas prevenibles de cáncer, por lo que una de las medidas más efectivas para reducir el riesgo de cáncer es evitar el sobrepeso y la obesidad. Numerosos estudios prospectivos han demostrado una asociación clara entre la obesidad y los cánceres de colon y recto, de mama en mujeres postmenopáusicas, de endometrio, riñón, esófago y páncreas (Godoy et al., 2015).

Obesidad y enfermedad psiquiátrica

En un estudio epidemiológico transversal, con una muestra de 9.125 adultos representativa de la población americana, realizado mediante entrevista personal y obteniendo una tasa de respuesta del 70.9%, se observó como la obesidad se asociaba

con un 25% más de posibilidades de trastornos del estado de ánimo y ansiedad, aunque factores sociales y culturales juegan un importante papel y pueden moderar o mediar esta asociación (Simon et al., 2006). Por su parte, un estudio longitudinal a 8 años realizado en población infantil entre 9 y 16 años, asocia únicamente la obesidad crónica con la presencia de psicopatología (Mustillo et al., 2003).

Obesidad y enfermedades metabólicas

La enfermedad hepática no alcohólica por depósito de grasa (EHNA) comprende un espectro de trastornos del hígado desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis y cirrosis. En todos ellos la lipotoxicidad hepatocelular es el factor patogénico fundamental, y la obesidad está claramente implicada en la progresión de la enfermedad. La prevalencia de EHNA entre las personas con obesidad es del 76%, y en pacientes con obesidad mórbida, de casi el 100%. La pérdida de peso mantenida en el tiempo es la mejor estrategia terapéutica para revertir la EHNA. En este sentido, tras un año de consejo dietético intensivo, se objetivó una mejoría histológica asociada a la mayor pérdida de peso en 9 de 15 pacientes con biopsia previa de esteatohepatitis no alcohólica (Huang et al., 2005).

Obesidad y osteoartritis

Conjuntamente con la edad, la obesidad es el factor más claramente implicado en el desarrollo de la artrosis, tanto de cadera como de rodilla, pero también en articulaciones que no son de carga como las manos. Esta asociación se observa tanto en varones como en mujeres. Sobre el cartílago articular no solo influye el efecto negativo directo del exceso de peso, sino también la acción lesiva directa de las citoquinas provenientes del tejido adiposo (Berenbaum, Eymard, & Houard, 2013).

Asimismo, el desarrollo de alteraciones ginecológicas está altamente relacionado con la obesidad. El síndrome de ovario poliquístico (PCOS) es el trastorno endocrino más frecuente en mujeres en edad reproductiva (Yildiz, Knochenhauer, & Azziz, 2008). Se mantiene como la causa más frecuente de infertilidad, y afecta entre el 4 y el 8 % de las mujeres premenopáusicas y hasta el 28 % de las féminas obesas o con sobrepeso antes de la menopausia (Thomann et al., 2008).

Obesidad y metabolismo de hidratos de carbono

La obesidad es responsable del 44% de la carga de diabetes tipo 2, constituyendo, por tanto, el principal factor de riesgo modificable de esta enfermedad. Además, en los sujetos con diabetes tipo 2, la prevalencia de obesidad (según IMC) y obesidad abdominal (según PC) es prácticamente el doble que en la población general. Así, según los datos del estudio Di@bet.es, la prevalencia de obesidad y de obesidad abdominal en los españoles con diabetes conocida alcanza el 50% y el 68%, respectivamente (Soriguer et al., 2012). Se ha establecido un paralelismo entre el incremento de obesidad y el de diabetes tipo 2 en los últimos 40 años. En el Nurses Health Study, que incluyó a 114.281 enfermeras de Estados Unidos con un seguimiento de 14 años, el riesgo más bajo de diabetes se asoció a un IMC inferior a 22 kg/m², incrementándose gradualmente con el aumento de IMC. De manera que el riesgo relativo de diabetes ajustado por la edad se incrementó 40 veces en mujeres con un IMC entre 31 y 32,9 kg/m², y hasta 93,2 veces en mujeres con un IMC superior o igual a 35 kg/m². De forma similar, en el Health Professionals Follow-up Study, el riesgo más bajo se asoció con un IMC menor a 24 kg/m², y el riesgo relativo de diabetes con un IMC superior o igual a 35 kg/m² fue 42 veces superior (Chan, Rimm, Colditz, Stampfer, & Willett, 1994).

La asociación fisiopatológica entre la obesidad y la diabetes mellitus tipo II surge cuando la obesidad visceral genera un estado de hiperinsulinemia e hiperglicemia, tanto en estado de alimentación como en ayuno. Los adipocitos de la grasa visceral tienen incrementada la actividad del receptor b-3-adrenérgico, por lo que la lipólisis dependiente de catecolaminas se estimula, liberando cantidades elevadas de ácidos grasos libres (AGL) a la circulación, además los adipocitos de pacientes obesos producen TNF- α , citocina que incrementa la lipólisis de tejido adiposo y músculo, liberando más AGL a la circulación generando resistencia a insulina periférica y hepática (McGarry, Dobbins, & Stein, 1998) lo que se trata de compensar con un incremento en la secreción de insulina dependiente de glucosa. La mayoría de los obesos cursan con niveles elevados de AGL y esta disponibilidad de AGL en sangre produce un aumento intramuscular de acetil-CoA y citrato. El exceso de acetil-CoA la oxidación de la glucosa, mientras el citrato inhibe a la fosfofructocinasa-1 y por tanto la glucólisis, propiciando con esto la hiperglicemia al inhibir la incorporación y utilización de glucosa (Randle, Garland, Hales, & Newsholme, 1963). Otro mecanismo involucrado en la hiperglicemia inducido por AGL, es una actividad disminuida de la glucógeno sintetasa y un aumento en la concentración de la glucosa 6-fosfato que llevan a

hiérglicemia (Long & Pekala, 1996). Los mecanismos moleculares para estos fenómenos no están establecidos pero se cree tienen que ver con la acumulación de los metabolitos de la vía de la glucosamina y con la interferencia de los AGL en la transcripción y haciendo más susceptible de degradación el RNAm de GLUT4 (Kelley, Mokan, Simoneau, & Mandarino, 1993). Los AGL además inducen la gluconeogénesis hepática, a través de la elevación de ATP y NADH, y con la activación de la piruvato decarboxilasa por el acetyl-CoA proveniente de la oxidación de las grasas, contribuyendo a la hiperglucemia (Krotkiewski, Bjorntorp, Sjostrom, & Smith, 1983).

En busca de nuevos blancos terapéuticos para combatir la obesidad

No hay medicamentos aprobados para la pérdida de peso que promuevan la termogénesis a largo plazo. Estos medicamentos promueven la pérdida de peso a través de los efectos sobre el apetito, el aumento de la saciedad y la disminución del apetito, tal vez al ayudar a resistir las señales de los alimentos o al reducir la absorción calórica. Las drogas pueden amplificar la adherencia al cambio de comportamiento y pueden mejorar el funcionamiento físico de tal manera que el aumento de la actividad física es más fácil en aquellos que no pueden hacer ejercicio inicialmente. Los pacientes que tienen un historial de no poder perder y mantener el peso con éxito y que cumplen con las indicaciones de la etiqueta son candidatos para medicamentos para bajar de peso (Sumithran et al., 2011).

Los medicamentos para perder peso refuerzan las estrategias de comportamiento para crear un balance energético negativo. La mayoría de los medicamentos para bajar de peso afectan el apetito y, como resultado, promueven la adherencia a la dieta. La medicación que bloquea la absorción de grasa refuerza la evitación de alimentos con alto contenido de grasa (de alta densidad energética), además de promover la malabsorción de calorías de grasa. Los medicamentos actúan para amplificar el efecto de los cambios de comportamiento para consumir menos calorías. No "funcionan solos". Para obtener la máxima eficacia, los medicamentos contra la obesidad se deben usar como complementos de la terapia de cambio de estilo de vida y, en algunos casos, la pérdida de peso es limitada sin un cambio en el estilo de vida. Independientemente del tratamiento conductual inicial, el efecto del fármaco será estático (Wadden, Berkowitz, Sarwer, Prus-Wisniewski, & Steinberg, 2001).

Actualmente existen seis medicamentos aprobados por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, del inglés, *Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos:

orlistat (Van Gaal, Broom, Enzi, & Toplak, 1998) (James, Avenell, Broom, & Whitehead, 1997), fentermina (Apovian et al., 2015; Weintraub et al., 1992), fentermina/topiramato de liberación prolongada (L. J. Aronne et al., 2013), lorcaserin (L. Aronne et al., 2014; Fidler et al., 2011), naltrexona/bupropión de liberación sostenida (Davies et al., 2016), y liraglutida 3 mg (Davies et al., 2016; Davies et al., 2015; Wadden et al., 2015). 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).

El tratamiento farmacológico en la obesidad debe indicarse en los pacientes con IMC >30 kg/m² o >27 kg/m² en asociación a comorbilidades mayores, y cuando no se han alcanzado los objetivos de pérdida de peso >5 % al cabo de 3-6 meses de un programa estructurado de cambios en el estilo de vida. Es importante recordar que la indicación debe hacerse en sujetos “motivados para perder peso”, remarcando la importancia de la participación activa del paciente en el control de su enfermedad, y que el fármaco debe incrementar la adherencia del paciente a la dieta hipocalórica y cambios de vida y conductuales (Yanovski & Yanovski, 2014). Del mismo modo, se recomienda suspender la medicación si transcurridos 3 meses no se alcanza una pérdida de peso >5 %.

La principal limitación para el empleo de los fármacos en la obesidad es que no serán susceptibles de financiación por el sistema público, lo que reducirá su accesibilidad a los estratos socioeconómicos más desfavorables, que es dónde la prevalencia de obesidad es más elevada. Los efectos secundarios de ambos fármacos son transitorios y no suponen una causa principal de abandono del tratamiento (Yanovski & Yanovski, 2014).

Aun teniendo en cuenta que la farmacoterapia no es la piedra angular del tratamiento de la obesidad, hay que valorarla y reivindicarla como una herramienta terapéutica valiosa para aquellos pacientes que no hayan sido beneficiados con las intervenciones de estilo de vida o que presenten dificultades para 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. Aunque todos estos medicamentos y otros han demostrado ser efectivos como tratamiento complementario, ninguno ha demostrado ser efectivo por sí solo (Jensen et al., 2014).

Al respecto, en 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 modulen dichos mediadores (Bhat & Sharma, 2017; Coleman & Mashek, 2011; Gluchowski, Becuwe, Walther, & Farese, 2017; Lehner, Lian, & Quiroga, 2012; Martinussen, Bojsen-Moller, Svane, Dejgaard, & Madsbad, 2017; Quiroga & Lehner, 2012; Valsamakis, Konstantakou, & Mastorakos, 2017; Yang & Nickels, 2015). Sin embargo, la búsqueda sigue debido a las bajas eficiencias de respuesta o, principalmente, a los efectos secundarios asociados al uso de tales drogas.

Los canales de potasio sensibles a ATP (K-ATP)

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. La regulación de la secreción de insulina desde las células β pancreáticas depende críticamente de las actividades de sus canales iónicos de la membrana plasmática. Los canales de K^+ sensibles al ATP están presentes en muchas células y regulan una variedad de funciones celulares mediante el acoplamiento del metabolismo celular con el potencial de membrana. La actividad de los canales (K-ATP) en las células beta pancreáticas está regulada por cambios en las concentraciones de ATP y ADP (relación ATP/ADP) causadas por el metabolismo de la glucosa. Por lo tanto, los canales (K-ATP) son los sensores ATP y ADP en la regulación de la secreción de insulina inducida por la glucosa. Los canales (K-ATP) también son el objetivo de las sulfonilureas, que se usan ampliamente en el tratamiento de la diabetes tipo 2. La clonación molecular de las dos subunidades del canal de células beta pancreáticas K (ATP), Kir6.2 (un miembro del canal K^+ rectificador hacia adentro) y SUR1 (un receptor para sulfonilureas), ha proporcionado una gran comprensión de su estructura y función. Las subunidades Kir6.2 forman el poro permeable a los iones K^+ y confieren principalmente inhibición de los canales por ATP, mientras que las subunidades SUR1 confieren activación de los canales mediante los abridores de canales MgADP y K^+ , tales como diazóxido, así como la inhibición por sulfonilureas. Las subunidades SUR1 también mejoran la sensibilidad de los canales al ATP (Seino, Iwanaga, Nagashima, & Miki, 2000).

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, especialmente en respuesta a situaciones de estrés metabólico celular tales como hiper o hipoglicemia, isquemia e hipoxia.

Regulando el estado de apertura del canal (abierto o cerrado), es posible afectar el potencial de membrana celular y por lo tanto su respuesta. Compuestos 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. Compuestos 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 y urinaria incontinencia y han sido objeto de varias revisiones (Hansen, 2006). El tratamiento experimental con compuestos que reducen la liberación de insulina (por ejemplo, diazóxido) parecen promover la pérdida de peso en algunos grupos de pacientes (Alemzadeh, Langley, Upchurch, Smith, & Slonim, 1998). También ha sido demostrado que tratamientos con diazóxido reducen la ingesta de alimentos y el aumento de peso en varios diferentes estudios preclínicos (Alemzadeh, Jacobs, & Pitukcheewanont, 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).

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 et al., 1996). 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 y/o en la diabetes tipo 2 no ha sido demostrado aún.

PROBLEMA

En base a lo expuesto, y conociendo que Kir6.2/ATP es un canal iónico presente en las membranas celulares que cumple múltiples funciones, surgen las siguientes preguntas: dado que el canal Kir6.2/ATP es importante en la liberación de insulina, ¿cumple Kir6.2/ATP algún rol en el metabolismo glucídico más allá de la liberación de insulina? De ser así, ¿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 metabólica del hígado desde el punto de vista de los hidratos de carbono?

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

- 1) Evaluar los niveles plasmáticos basales de glucosa en ratones previamente y después de una dieta rica en grasas
- 2) Evaluar los niveles hepáticos de glucógeno en ratones previamente y después de una dieta rica en grasas, antes y después de un ayuno de 12 hs
- 3) Evaluar la capacidad de respuesta a un estímulo oral de glucosa en ratones previamente y después de una dieta rica en grasa

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 las 10 semanas 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 cardíaca (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 trabajará con plasma y/o con homogenados hepáticos al 20%.

-en plasma se determinaron los valores de glucosa e insulina utilizando kits comerciales disponibles.

Las determinaciones plasmáticas de las enzimas lactato deshidrogenasa (LDH), aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) se realizaron como medida de daño hepático. Para ello se utilizaron kits comerciales disponibles (Weiner lab, Rosario, Arg).

-en tejido hepático de animales ayunados se midieron los valores de glucógeno mediante el método descrito por van de Vies (Van Der Vies, 1954). Brevemente, se tomarán trozos de hígado fresco y se realizará un homogenado, del cual se extraerán las proteínas mediante el uso de ácido tricloroacético. El glucógeno soluble se determinará espectrofotométricamente a 650 nm mediante reacción con I₂.

Determinación del contenido de glucógeno hepático mediante tinción histológica: partimos de muestras que han sido previamente fijadas e incluidas en parafina. Estas muestras hepáticas cortaron en secciones de unas 8 µm y fueron adheridas a portaobjetos recubiertos con gelatina. Una vez deshidratada la muestra, los cortes se incubaron con ácido peryódico al 0.5 % durante 5 min. Luego los cortes se lavaron con agua seguido de una incubación por 30 minutos con el Reactivo de Schiff (Solt, Medline, & Farber, 1977).

Prueba de tolerancia a la glucosa (PTG): esta prueba se realizó antes y después del inicio y finalización de la HFD, respectivamente. Los ratones fueron ayunados toda la noche. La concentración de glucosa se midió antes y a los 15, 30, 60, y 120 minutos después de la administración oral de glucosa (2 g/Kg de peso corporal) (Quiroga et al., 2012).

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).

Electroforesis e inmunotransferencia: la presencia y niveles de las diferentes proteínas en estudio se evaluaron por electroforesis seguida de inmunotransferencia (Quiroga et al., 2007). En todos los casos donde se utilizó esta técnica, las corridas electroforéticas se realizaron en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturalizantes (SDS-PAGE) con una concentración de poliacrilamida de 10% (p/v) en los geles de separación.

Las muestras fueron disueltas en solución amortiguadora de muestra (Tris-HCl 1M, SDS 10% (v/v), azul de bromofenol 0,005% (p/v), glicerol 10% (v/v); pH=6,8), a la que se le agregó ditiotreitól hasta llegar a una concentración de 10% (v/v) en solución amortiguadora.

Se sembraron cantidades iguales de proteínas (30 μ g por muestra) y los geles se sometieron a electroforesis a un voltaje de 110 V durante 15 min, luego el voltaje se elevó a 150 V hasta completar la corrida. Los geles se prepararon y corrieron utilizando un equipo comercial (Mini-PROTEAN 3 Cell; Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Posteriormente a la corrida electroforética, se realizó la transferencia de las proteínas a membranas de polivinildifluoruro (PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA, USA). La transferencia se realizó durante 70 min a 4°C a un amperaje constante de 0,3 A que se corresponde con un voltaje variable de entre 80 y 110 V, utilizando un equipo comercial (Mini Trans-Blot Cell; Bio-Rad). Una vez finalizada la transferencia, las membranas se bloquearon durante 1 hora en solución amortiguadora de lavado (PBS - Tween 20 0,3% (v/v)) conteniendo 10% (p/v) de leche baja en grasa, a temperatura ambiente. Finalizada la etapa de bloqueo de las membranas, las mismas se lavaron con solución amortiguadora y se incubaron toda la noche a 4°C con una solución de anticuerpo primario correspondiente a la proteína que se estaba cuantificando. Para ello, se utilizó una dilución del anticuerpo (anti p-AKT o anti

AKT) en solución amortiguadora de lavado con azida 0,02% (p/v) y albúmina 3% (p/v).

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

Los animales fueron monitoreados diariamente durante todo el proceso experimental para descartar signos de sufrimiento animal. Tanto antes como durante y después de la dieta rica en grasa, los animales no mostraron ningún signo de sufrimiento y su comportamiento fue acorde con lo esperado (Poole & Morgan, 1975). Lo mismo se evaluó durante los procedimientos experimentales, no hallándose ninguna alteración visible de sufrimiento animal.

Evolución del peso corporal

Se espera que luego de una dieta rica en grasa los ratones *wild-type* (control) aumenten, en promedio, alrededor de 1.5 gramos por semana (este crecimiento no es lineal dado que generalmente los ratones muestran un gran incremento de peso las 2 primeras semanas luego de la dieta rica en grasa y luego los aumentos se estabilizan) (Langford et al., 2010; Park et al., 2011).

Nuestros animales control aumentaron de peso como se esperaba. Sin embargo, los animales *Kir6.2^{-/-}* no reflejaron el mismo índice de aumento que los ratones control (Figura 1). Este resultado está en línea con publicaciones previas en donde demostraron que los ratones *Kir6.2^{-/-}* son resistentes al aumento de peso luego de una dieta rica en grasa (Park et al., 2011).

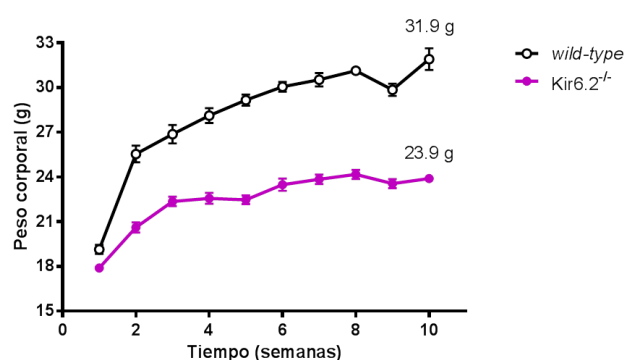


Figura 1. Evolución del peso corporal. Los ratones fueron pesados y sometidos a una dieta rica en grasa por 10 semanas. Los pesos corporales fueron monitoreados semanalmente. En el inserto se observa la diferencia de peso corporal al final del estudio.

Determinación del daño hepático

Antes y al finalizar el tratamiento de dieta rica en grasa se realizó la determinación de las actividades plasmáticas de las enzimas LDH, ALT y AST, cuyos valores elevados respecto de un control indican cierto grado de daño tisular hepático. No se observaron

cambios en la actividad plasmática de ninguna de estas enzimas entre los distintos genotipos, sin embargo, cabe destacar que la actividad de todas las enzimas fue levemente más elevada en todos los animales después de la dieta rica en grasa (Figura 2).

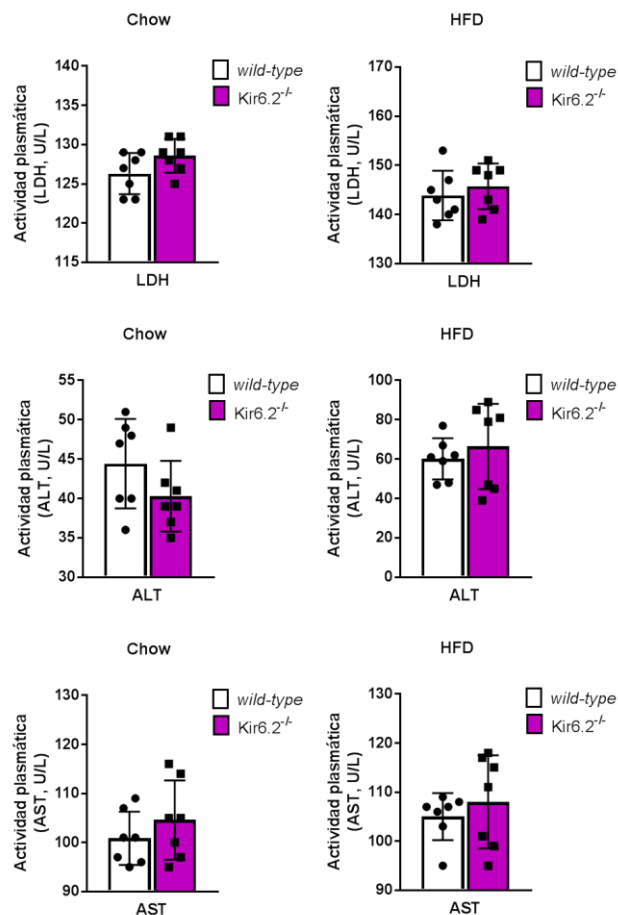


Figura 2. Marcadores plasmáticos de daño hepático. Los ratones fueron ayunados durante 12 h, luego se recogió sangre, se preparó plasma y los niveles de actividad de LDH, ALT y AST se midieron utilizando kits comerciales.

Concentración basal de glucosa plasmática

Tal como muestra la figura 3, la concentración plasmática de glucosa basal de los animales Kir6.2^{-/-} fue significativamente menor respecto de los animales control antes y después de la dieta rica en grasa. Sin embargo, la dieta no tuvo ningún efecto en los niveles basales de glucosa plasmática dado que las diferencias observadas entre los genotipos antes de la dieta rica en grasa, se mantuvieron hasta finalizado el tratamiento.

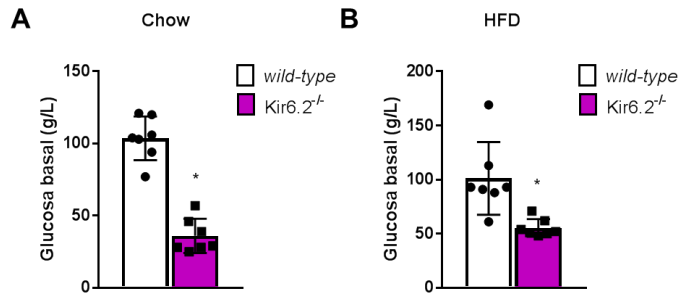


Figura 3. Niveles basales de glucosa plasmática. Los ratones fueron ayunados durante 12 h, luego se midió la concentración de glucosa mediante la utilización del medidor FreeStyle Optium (Abbott Laboratories Argentina S.A.)

Niveles basales de insulina

Dadas estas características presentes en los animales Kir6.2^{-/-} decidimos medir los niveles de insulina plasmática en las mismas muestras de sangre utilizadas para medir los niveles plasmáticos de glucosa. La figura 4 muestra los resultados. Como puede observarse, los niveles de insulina se encontraron levemente disminuidos en los animales Kir6.2^{-/-} respecto de los animales *wild-type* bajo la dieta chow (Figura 4A). Por otro lado, la dieta rica en grasa indujo un aumento de casi el triple en la concentración plasmática de insulina los animales control (Figura 4B y 4A). Sin embargo, no se vio efecto alguno de la dieta sobre los niveles de insulina en los animales Kir6.2^{-/-}. Este fenómeno llevó a que la diferencia en los valores de insulina entre ambos genotipos sea considerablemente mayor bajo este régimen dietario.

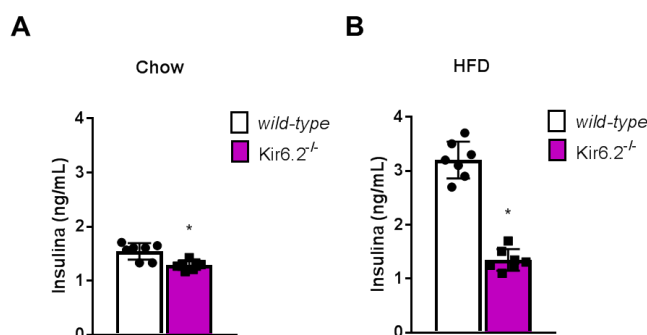


Figura 4. Niveles basales de insulina plasmática. Los ratones fueron ayunados durante 12 h, luego se midió la concentración de insulina en plasma mediante la utilización de un kit de ELISA (Milipore-Sigma, Darmstadt, Alemania).

Prueba de tolerancia oral a la glucosa

Los resultados anteriores nos condujeron a la realización de la prueba de tolerancia oral a la glucosa. Esta prueba es una de los procedimientos más utilizados tanto en animales de experimentación como en humanos para determinar cuán sensible es un individuo a una sobrecarga de glucosa, o dicho de otra manera, ayuda a determinar cómo un organismo regula los niveles altos de glucosa luego de una sobrecarga forzada. Esta prueba se puede usar como prueba de detección para la diabetes de tipo 2.

Para la realización de esta prueba los animales deben ayunarse durante un determinado tiempo y luego ser sometidos a una sobrecarga oral de glucosa concentrada. Las concentraciones de glucosa se miden antes y a distintos tiempos después del bolo de glucosa. Los resultados obtenidos en nuestra experiencia se muestran en la figura 5. Los animales control, sometidos a una dieta regular chow, mostraron la típica curva de utilización de la glucosa, con un pico máximo a los 15 minutos de administrada la glucosa, con una rápida caída hacia los 30 minutos, alcanzando los valores basales antes de las 2 horas (Figura 5A).

Los animales Kir6.2^{-/-} sin embargo, mostraron una curva de depuración plasmática de glucosa muy alterada con respecto a los animales control bajo la dieta regular. La curva de los animales Kir6.2^{-/-} presenta un pico más retrasado que el de los animales control (30 min) y la depuración total se alcanza hacia las dos horas luego de administrada la glucosa, sin embargo en este punto, los valores de glucosa fueron inferiores a los valores de partida (Figura 5A). La forma de visualizar estos cambios de manera global y certera, es a través del análisis del área bajo la curva, dado que las curvas pueden parecer diferentes por la disposición de los puntos luego de realizado el análisis estadístico, sin embargo, cada animal por separado puede presentar curvas muy variadas, que llevadas al conjunto no muestran (o si) cambios. En la figura 5B puede verse que efectivamente los animales presentan diferencias en la depuración de la glucosa administrada por vía oral.

Interesantemente, la dieta rica en grasas tuvo los efectos esperados sobre los animales control, llevándolos a una depuración más lenta de la glucosa plasmática (figura 5C). Notar que la curva de los animales control es muy similar a la curva de los animales Kir6.2^{-/-} bajo la dieta chow. Sin embargo, la dieta pareció no tener efectos sobre la velocidad de depuración de la glucosa plasmática en los animales Kir6.2^{-/-} (Figura 5C). El análisis del área bajo la curva mostró cómo los animales control se acercaban al modo de depurar la glucosa plasmática de los animales Kir6.2^{-/-} (Figura 5D).

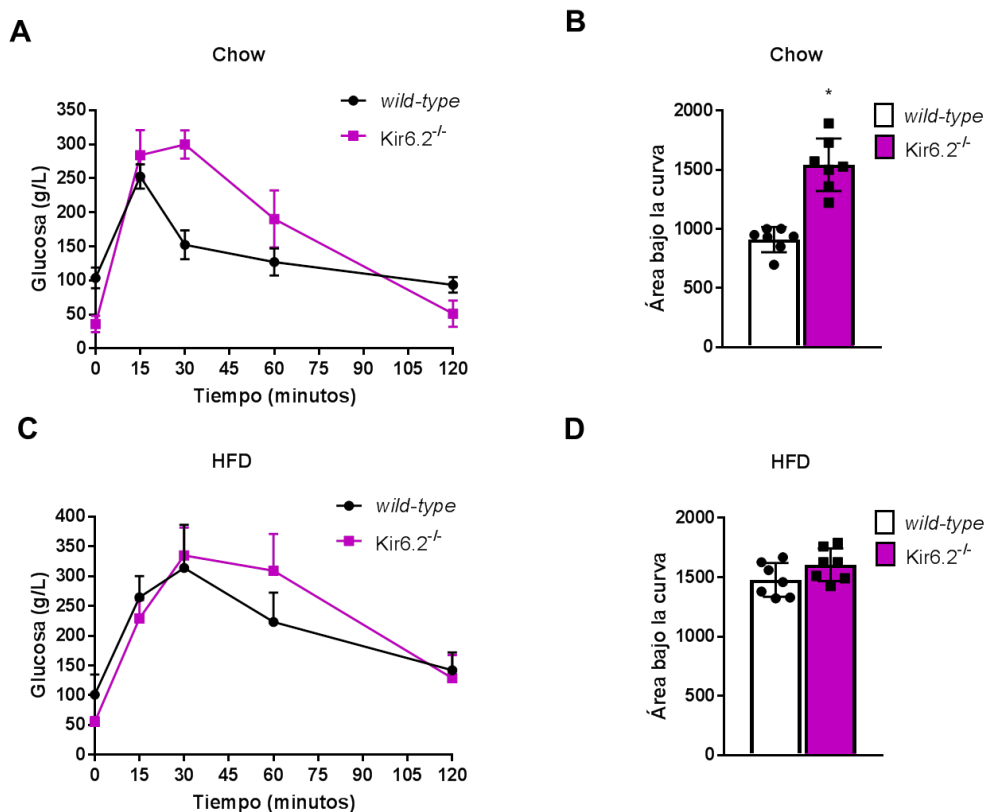


Figura 5. Niveles basales de insulina plasmática. Los ratones se mantuvieron en ayunas durante 12 h y se midieron los niveles de glucosa. Luego se administró una solución de glucosa por sonda gástrica de 2 g glucosa/g peso corporal y se midieron los niveles de glucosa en plasma en diferentes momentos.

Vía de señalización de AKT

Dados estos resultados, nos pareció interesante indagar en el estado de activación de la vía de señalización más común de la insulina en el hígado: la vía de señalización de AKT. Como se muestra en la figura 6, no se vieron diferencias en los niveles basales de activación de AKT hepático (fosforilación de AKT). Sin embargo, la dieta rica en grasa, indujo un gran aumento de la activación de dicha proteína llevando probablemente a la

transcripción de numerosos genes implicados en la utilización de la glucosa a nivel hepático. Interesantemente, no se vio ningún efecto de la dieta sobre la activación de AKT en los animales *Kir6.2^{-/-}*. La figura 6B muestra la cuantificación de las bandas observadas en la inmunotransferencia.

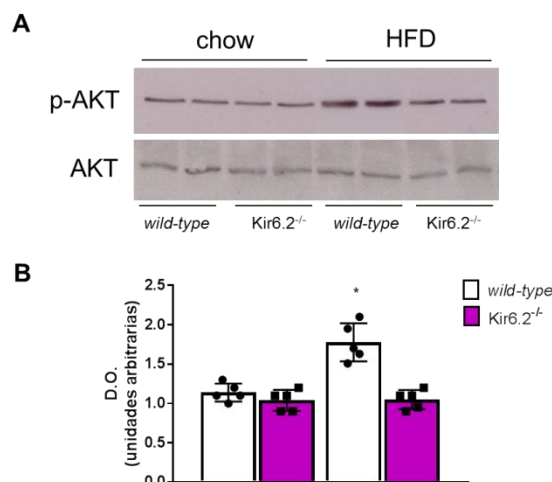


Figura 6. Evaluación del estado de la vía de señalización de AKT. Finalizada la dieta, ratones ayunados por 12 h se sacrificaron y los hígados fueron removidos cuidadosa y rápidamente. Una parte fue utilizada para histología y otra parte fue mantenida a -20 °C para la realización de homogenados al 20% y posterior determinación de los niveles proteicos de AKT y p-AKT mediante la técnica de electroforesis seguida de inmunotransferencia.

Determinación del contenido de glucógeno hepático

El resultado anterior, nos indican que en los animales *Kir6.2^{-/-}* no habría una regulación de la utilización de glucosa por parte del hígado, mientras que en los animales control sí (como se explicó anteriormente, si AKT se activa induce transcripción de genes para regular los niveles plasmáticos de glucosa. Por tal motivo, decidimos medir los niveles hepáticos de glucógeno, que es el primer nivel de utilización de glucosa. La figura 7 muestra el contenido hepático de glucógeno determinado por la técnica de PAS. En los paneles A y B puede observarse la diferencia en el contenido de glucógeno entre los animales de los diferentes genotipos. Claramente los animales *Kir6.2^{-/-}* acumulan menores cantidades de glucógeno que los animales control. Los paneles C y D muestran las diferencias luego de la dieta rica en grasa. Como puede observarse, los animales control acumulan grandes cantidades de glucógeno en lo hepatocitos, mientras que los animales *Kir6.2^{-/-}* se manifiestan resistentes a la acumulación de glucógeno. Este resultado está en línea con los niveles de insulina plasmática observados.

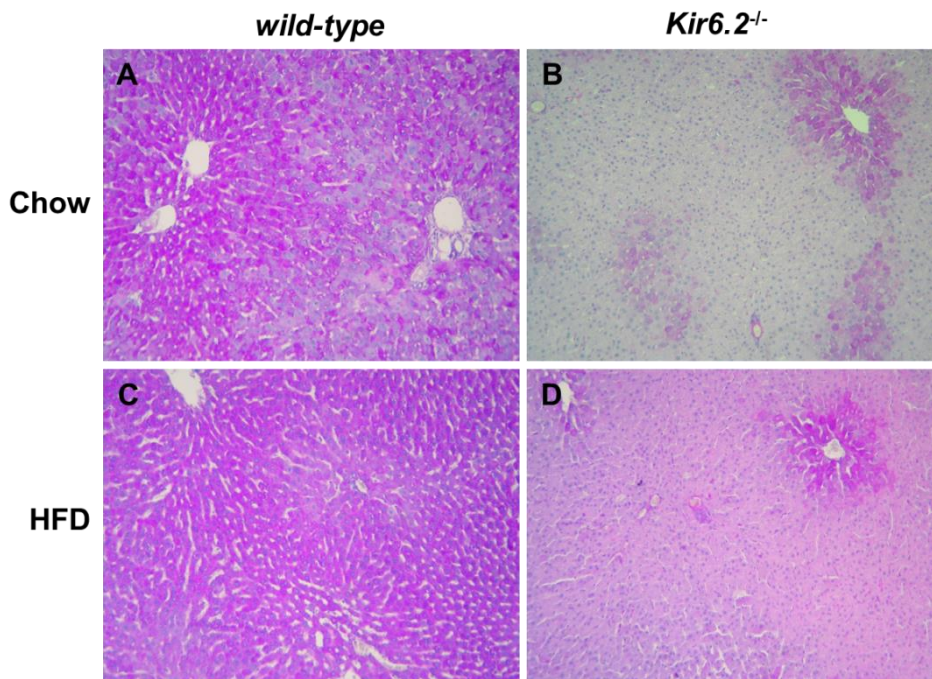


Figura 7. Determinación del contenido hepático de glucógeno. Finalizada la dieta, ratones ayunados por 12 h se sacrificaron y los hígados fueron removidos cuidadosa y rápidamente. Una parte fue utilizada para histología y otra parte fue mantenida a -20 °C para técnicas bioquímicas. La tinción de PAS permite ver acumulaciones celulares de glucógeno.

La figura 8 muestra la cuantificación del contenido de glucógeno hepático mediante una técnica bioquímica. Como se observa, la determinación bioquímica de glucógeno hepático coincide perfectamente con la determinación histológica.

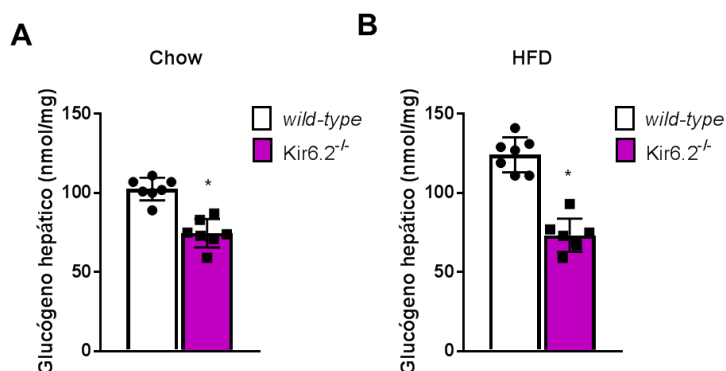


Figura 8. Determinación del contenido hepático de glucógeno. Finalizada la dieta, ratones ayunados por 12 h se sacrificaron y los hígados fueron removidos cuidadosa y rápidamente. Una parte fue utilizada para histología y otra parte fue mantenida a -20 °C para técnicas bioquímicas. La determinación del contenido celular hepático de glucógeno se determinó mediante colorimetría.

DISCUSION

Tanto la diabetes como la obesidad fueron recientemente reconocidas como epidemia por la Organización Mundial de la Salud debido a su creciente incidencia. Paradójicamente y en retroalimentación la obesidad es considerada el factor ambiental más importante involucrado no sólo en la etiopatogenia del tipo de diabetes más frecuente en todo el mundo: la diabetes tipo 2, sino también en el desarrollo de sus complicaciones. La creciente evidencia científica apunta también al papel de la obesidad y sobrepeso en el desarrollo de la diabetes tipo 1.

El sobrepeso y la obesidad están muy correlacionados con la diabetes tipo 2. La obesidad es la responsable más importante en el desarrollo de la resistencia a la insulina, que aparece como un componente temprano en la enfermedad, y es manifestado principalmente por hiperinsulinemia (D'Adamo & Caprio, 2011; Kim & Caprio, 2011; Reinehr, 2013). La resistencia a la insulina es más frecuente en niños obesos con alto peso, altura y circunferencia de la cintura. El desarrollo de obesidad está altamente relacionada con el desarrollo temprano de la adiposidad en los niños menores de 3 años, lo cual ha sido demostrado que conduce a un aumento de la masa corporal durante la adolescencia (Pulgaron & Delamater, 2014). La obesidad combinada con una deficiencia plasmática de insulina conduce indefectiblemente al desarrollo de la diabetes tipo 2 (D'Adamo & Caprio, 2011; Pulgaron & Delamater, 2014).

En 2002, una encuesta mundial organizada por la OMS demostró una prevalencia de 21.5% de diabetes tipo 2 y un 54,8% de obesidad. La misma encuesta realizada en 2013 reveló una prevalencia de diabetes tipo 2 del 45,8% (Lin et al., 2017). Se estima que en 2030 552 millones de personas en el mundo podrían sufrir diabetes tipo 2 (Colosia, Palencia, & Khan, 2013). Todos estos valores están íntimamente relacionados con la obesidad.

Interesantemente, un estudio a nivel mundial de la enfermedad en 2010 destacó que la mortalidad de las personas con diabetes (todos los tipos) aumentó entre 1990 y 2010 de 16.3 a 19.5 por 100.000 pacientes (Lin et al., 2017). En personas con diabetes tipo 2, el aumento de peso corporal se asoció con una mayor probabilidad de desarrollar complicaciones cardiovasculares como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular e insuficiencia renal (Reinehr, 2013).

Como el principal factor de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 es la obesidad, torna crucial la prevención de esta última para así contrarrestar el aumento de peso excesivo (Colosia et al., 2013). Idealmente, esta prevención debería iniciarse

incluso antes del nacimiento. El ser consciente sobre la importancia de la dieta, la actividad física y el estilo de vida sedentario son muy importantes factores de prevención y se comprobó que los adolescentes obesos que cumplen con esas pautas tenían menor resistencia a la insulina, mejor control glucémico, y mayor índice de prevención de diabetes tipo 2 (D'Adamo & Caprio, 2011; Pulgaron & Delamater, 2014). Surge así 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.

Sin embargo, la prevención es extremadamente difícil de llevar a cabo por el modo en el que vivimos las sociedades modernas. En la actualidad hay una gran variedad de modalidades que son usadas para tratar el sobrepeso y la obesidad y evitar así el desarrollo de diabetes tipo 2, 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.

Las pruebas farmacoterapéuticas para mitigar la obesidad y el desarrollo de diabetes tipo 2 se han incrementado considerablemente en los últimos tiempos debido a la presión que ejercen las sociedades consumistas sobre los gobiernos para que inviertan en investigaciones focalizadas al desarrollo de terapias que permitan “comer sin engordar”. Asimismo, la farmacoterapia se ha convertido en una herramienta terapéutica importante para aquellos pacientes que no obtuvieron beneficios con las intervenciones de estilo de vida o que no puedan mantener la pérdida de peso inicial durante largos períodos. Sin embargo, la efectividad de la misma no logra superar las expectativas considerando los gastos que conlleva el desarrollo de un fármaco para uso humano. Es por ello que surge la importancia vital de hallar nuevos blancos moleculares para contrarrestar el desarrollo de obesidad y/o de sus complicaciones asociadas.

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 et al., 2012; Martinussen et al., 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 de manera muy activa en la regulación del metabolismo corporal (Tinker, Aziz, Li, & Specterman, 2018). En este trabajo de Tesis, nos focalizamos en evaluar el efecto de la deficiencia de la proteína Kir6.2, componente clave del canal de potasio, en el metabolismo de la glucosa en un modelo de obesidad inducida por la dieta.

Vimos que luego de la dieta rica en grasa los animales control (*wild-type*) aumentan de peso de acuerdo a lo publicado previamente (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 aproximadamente un 25% menos que los control. Llamativamente, estos animales consumieron más comida que los animales control, tal como fue demostrado previamente por (Park et al., 2011), en donde observaron que los animales carentes de la proteína Kir6.2 resultaban refractarios al aumento de peso con marcada hiperfagia.

Se sabe que, dependiendo del tiempo de administración y de la composición, las dietas ricas en grasa pueden conducir a daño hepático (Duan et al., 2018). En nuestro estudio comprobamos que la dieta no tuvo ningún efecto en el 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. Lo cual nos hace deducir que quizás si prolongamos el tiempo de la dieta, quizás se observen daños hepáticos considerables.

Es interesante lo observado en los estudios de glucosa e insulina en estos animales, que para poder explicarlo, deben considerarse como un todo. Básicamente, vimos que los animales control mantuvieron sus concentraciones basales de glucosa respecto de la dieta, así como los animales Kir6.2^{-/-}. Sin embargo, cuando evaluamos los niveles de insulina, vimos que los animales control presentaban casi el triple de insulina en plasma que los mismos bajo dieta chow. Esto indica que los animales control, para poder regular la concentración plasmática de glucosa, deben hipersecretar insulina, debido a la inminente resistencia a la misma inducida por la dieta. Los animales carentes de Kir6.2, sin embargo, carecieron de reacción a la dieta. Se sabe que una dieta rica en grasa generalmente resulta en resistencia periférica a la insulina e hiperinsulinemia inducida como respuesta compensatoria (Saltiel, 2001). Ha sido demostrado tanto *in vivo* como *in vitro* que los ácidos grasos pueden aumentar agudamente la sensibilidad celular a la

insulina estimulada por glucosa (Polonsky, 1999; Warnotte, Gilon, Nenquin, & Henquin, 1994). Cuando fueron sometidos a la dieta rica en grasa, los ratones control mantuvieron una glicemia normal, con un marcado incremento compensador de la concentración de insulina plasmática. En marcado contraste, los animales Kir6.2^{-/-} ya se mostraron levemente intolerantes a la glucosa bajo un régimen dietario normal, y al cabo de 10 semanas de dieta rica en grasa se volvieron levemente más intolerantes a la glucosa. Esto pareciera correlacionarse con resultados de estudios previos en donde se demuestra que los animales Kir6.2^{-/-} presentan una hipersensibilidad a la insulina bajo una dieta regular (Miki et al., 2002). Luego de la dieta rica en grasa, los animales carentes de Kir6.2 mantienen esa sensibilidad, aparentemente inalterada. Por lo que podemos explicar que la intolerancia a la glucosa que presentan los animales Kir6.2^{-/-} puede deberse a una capacidad secretoria reducida. Cabe destacar que Park et al, demostraron previamente que los ratones Kir6.2^{-/-} muestran una respuesta hipotalámica casi nula luego de una sobrecarga de glucosa (Park et al., 2011).

Esto nos llevó a evaluar la vía de señalización de la insulina en el hígado, que es el principal órgano donde se lleva a cabo la depuración de la glucosa plasmática. Cuando la insulina se une a su receptor desencadena la autofosforilación del mismo que genera sitios de anclaje para las proteínas sustrato del receptor de insulina (IRS-1–IRS4). Estas proteínas, a su vez, desencadenan la activación de una amplia gama de proteínas transductoras de señal entre las que se encuentra AKT. AKT activada, fosforilada, ejerce efectos sobre numerosos caminos que finalmente regulan la homeostasis de lípidos y carbohidratos (Hennessy, Smith, Ram, Lu, & Mills, 2005). Nuestros resultados, mostraron una vez más que los animales Kir6.2^{-/-} debido a que presentan niveles de insulina inalterables con la dieta, también se muestran no reactivos respecto de la acción de la misma en el hígado.

Esto nos llevó a evaluar los niveles de reservas energéticas relacionadas con el metabolismo de hidratos de carbono. El metabolismo del glucógeno está altamente regulado por las hormonas pancreáticas glucagón e insulina. La insulina que se libera del páncreas en respuesta a una elevación de la glicemia, desencadena una cascada de activación de la fosfoproteína fosfatasa. Esta fosfatasa cataliza la hidrólisis de los grupos fosfato de todas las enzimas implicados en el metabolismo del glucógeno (fosforilasa, fosforilasa quinasa, sintetasa). El resultado es la inactivación de la glucogenólisis y la activación de la glucogenogénesis. Por ello, medimos los niveles de glucógeno en el hígado por dos métodos distintos (dado que los niveles de glucógeno

varían enormemente dependiendo de la hora del día). Tal como esperábamos, observamos a marcada caída en los niveles de glucógeno hepático en los animales Kir6.2^{-/-}. Estos resultados están en línea con resultados previos en donde demuestran que estos animales son muy sensibles al agotamiento, debido a la falta de reservas energéticas.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados son interesantes de muchas maneras, dado que son el complemento necesario para el estudio del rol de la proteína Kir6.2 en el metabolismo lipídico (Tesis del estudiante Ignacio Báez-Rosés). Pero además, estamos convencidos de que la resistencia observada a la ganancia de peso corporal bajo una dieta rica en grasa, inducida por la deficiencia de la proteína Kir6.2, proporciona una base para un posible tratamiento antiobesidad. Por ello, debemos observar y entender la imagen completa. La relación entre el metabolismo glucídico y la proteína Kir6.2 quizás sea lo más estudiado hasta ahora, sin embargo, poco se sabe sobre los efectos que pueda causar la proteína Kir6.2 (o la falta de la misma) sobre el metabolismo hepático en general. Lo cierto es que 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.

Nuestros resultados representan los primeros pasos en la investigación del rol que cumple esta proteína en el metabolismo de manera global. Queda mucho por hacer y muchos interrogantes por responder, como por ejemplo ¿cuál es la relación entre las alteraciones del metabolismo glucídico con las del metabolismo lipídico? ¿Hay un nexo entre ambos metabolismos? Estamos convencidos de que nos paramos en el camino correcto para aportar cierta luz a estos interrogantes.

Es importante destacar que abrir nuevos caminos para entender la funcionalidad hepática y comprender así su fisiopatología, redundará en el aumento de posibilidades para el desarrollo de nuevos blancos terapéuticos que eviten el desarrollo de obesidad, la diabetes y de sus complicaciones asociadas.

REFERENCIAS

- 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
- 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
- Bennett, K. J., Probst, J. C., & Pumkam, C. (2011). Obesity among working age adults: the role of county-level persistent poverty in rural disparities. *Health Place*, *17*(5), 1174-1181. doi: 10.1016/j.healthplace.2011.05.012
- Berenbaum, F., Eymard, F., & Houard, X. (2013). Osteoarthritis, inflammation and obesity. *Curr Opin Rheumatol*, *25*(1), 114-118. doi: 10.1097/BOR.0b013e32835a9414
- 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
- Carmienke, S., Freitag, M. H., Pischon, T., Schlattmann, P., Fankhaenel, T., Goebel, H., & Gensichen, J. (2013). General and abdominal obesity parameters and their combination in relation to mortality: a systematic review and meta-regression analysis. *Eur J Clin Nutr*, *67*(6), 573-585. doi: 10.1038/ejcn.2013.61
- Castriota, F., Acevedo, J., Ferreccio, C., Smith, A. H., Liaw, J., Smith, M. T., & Steinmaus, C. (2018). Obesity and increased susceptibility to arsenic-related type 2 diabetes in Northern Chile. *Environ Res*, *167*, 248-254. doi: 10.1016/j.envres.2018.07.022
- Chan, J. M., Rimm, E. B., Colditz, G. A., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1994). Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care*, *17*(9), 961-969.
- Coleman, R. A., & Mashek, D. G. (2011). Mammalian triacylglycerol metabolism: synthesis, lipolysis, and signaling. *Chem Rev*, *111*(10), 6359-6386. doi: 10.1021/cr100404w
- Colosia, A. D., Palencia, R., & Khan, S. (2013). Prevalence of hypertension and obesity in patients with type 2 diabetes mellitus in observational studies: a systematic

- literature review. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 6, 327-338. doi: 10.2147/DMSO.S51325
- Consultation, W. H. O. E. (2004). Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*, 363(9403), 157-163. doi: 10.1016/S0140-6736(03)15268-3
- Cullin, J. M., & Fernandez, C. I. (2017). Response to "Ultraprocessed food consumption and risk of overweight and obesity". *Am J Clin Nutr*, 105(4), 1013. doi: 10.3945/ajcn.116.149278
- D'Adamo, E., & Caprio, S. (2011). Type 2 diabetes in youth: epidemiology and pathophysiology. *Diabetes Care*, 34 Suppl 2, S161-165. doi: 10.2337/dc11-s212
- 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
- de Sereday, M. S., Gonzalez, C., Giorgini, D., De Loreda, L., Braguinsky, J., Cobenas, C., . . . Tesone, C. (2004). Prevalence of diabetes, obesity, hypertension and hyperlipidemia in the central area of Argentina. *Diabetes Metab*, 30(4), 335-339.
- Diniz Mde, F., Beleigoli, A. M., Ribeiro, A. L., Vidigal, P. G., Bensenor, I. M., Lotufo, P. A., . . . Barreto, S. M. (2016). Factors associated with metabolically healthy status in obesity, overweight, and normal weight at baseline of ELSA-Brasil. *Medicine (Baltimore)*, 95(27), e4010. doi: 10.1097/MD.00000000000004010
- Duan, X., Meng, Q., Wang, C., Liu, Z., Sun, H., Huo, X., . . . Liu, K. (2018). Effects of calycosin against high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in mice. *J Gastroenterol Hepatol*, 33(2), 533-542. doi: 10.1111/jgh.13884
- 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
- Garaulet, M., & Gomez-Abellan, P. (2013). Chronobiology and obesity. *Nutr Hosp*, 28 Suppl 5, 114-120. doi: 10.3305/nh.2013.28.sup5.6926
- Garrett, N. A., Brasure, M., Schmitz, K. H., Schultz, M. M., & Huber, M. R. (2004). Physical inactivity: direct cost to a health plan. *Am J Prev Med*, 27(4), 304-309. doi: 10.1016/j.amepre.2004.07.014
- Gluchowski, N. L., Becuwe, M., Walther, T. C., & Farese, R. V., Jr. (2017). Lipid droplets and liver disease: from basic biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 14(6), 343-355. doi: 10.1038/nrgastro.2017.32
- Goday, A., Barneto, I., Garcia-Almeida, J. M., Blasco, A., Lecube, A., Gravalos, C., . . . Perez-Segura, P. (2015). Obesity as a risk factor in cancer: A national consensus of the Spanish Society for the Study of Obesity and the Spanish Society of Medical Oncology. *Clin Transl Oncol*, 17(10), 763-771. doi: 10.1007/s12094-015-1306-y

- Hansen, J. B. (2006). Towards selective Kir6.2/SUR1 potassium channel openers, medicinal chemistry and therapeutic perspectives. *Curr Med Chem*, 13(4), 361-376.
- Hennessy, B. T., Smith, D. L., Ram, P. T., Lu, Y., & Mills, G. B. (2005). Exploiting the PI3K/AKT pathway for cancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov*, 4(12), 988-1004. doi: 10.1038/nrd1902
- Huang, M. A., Greenon, J. K., Chao, C., Anderson, L., Peterman, D., Jacobson, J., . . . Conjeevaram, H. S. (2005). One-year intense nutritional counseling results in histological improvement in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol*, 100(5), 1072-1081. doi: 10.1111/j.1572-0241.2005.41334.x
- 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.
- Jensen, M. D., Ryan, D. H., Apovian, C. M., Ard, J. D., Comuzzie, A. G., Donato, K. A., . . . Obesity, S. (2014). 2013 AHA/ACC/TOS guideline for the management of overweight and obesity in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and The Obesity Society. *Circulation*, 129(25 Suppl 2), S102-138. doi: 10.1161/01.cir.0000437739.71477.ee
- Jimenez-Cruz, A., & Bacardi-Gascon, M. (2015). Obesity in Latin America: the need for a comprehensive approach. *Nutr Hosp*, 31(5), 2334-2335. doi: 10.3305/nh.2015.31.5.8722
- Kain, J., Hernandez Cordero, S., Pineda, D., de Moraes, A. F., Antiporta, D., Collese, T., . . . Rivera, J. (2014). Obesity Prevention in Latin America. *Curr Obes Rep*, 3(2), 150-155. doi: 10.1007/s13679-014-0097-8
- Kelley, D. E., Mokan, M., Simoneau, J. A., & Mandarino, L. J. (1993). Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J Clin Invest*, 92(1), 91-98. doi: 10.1172/JCI116603
- Kim, G., & Caprio, S. (2011). Diabetes and insulin resistance in pediatric obesity. *Pediatr Clin North Am*, 58(6), 1355-1361, ix. doi: 10.1016/j.pcl.2011.09.002
- Krotkiewski, M., Bjorntorp, P., Sjostrom, L., & Smith, U. (1983). Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest*, 72(3), 1150-1162. doi: 10.1172/JCI111040
- Langford, D. J., Bailey, A. L., Chanda, M. L., Clarke, S. E., Drummond, T. E., Echols, S., . . . Mogil, J. S. (2010). Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nat Methods*, 7(6), 447-449. doi: 10.1038/nmeth.1455
- Lehner, R., Lian, J., & Quiroga, A. D. (2012). Luminal lipid metabolism: implications for lipoprotein assembly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32(5), 1087-1093. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241497
- Levine, J. A. (2011). Poverty and obesity in the U.S. *Diabetes*, 60(11), 2667-2668. doi: 10.2337/db11-1118
- Lin, S., Naseri, T., Linhart, C., Morrell, S., Taylor, R., McGarvey, S. T., . . . Zimmet, P. (2017). Trends in diabetes and obesity in Samoa over 35 years, 1978-2013. *Diabet Med*, 34(5), 654-661. doi: 10.1111/dme.13197

- Long, S. D., & Pekala, P. H. (1996). Regulation of GLUT4 gene expression by arachidonic acid. Evidence for multiple pathways, one of which requires oxidation to prostaglandin E2. *J Biol Chem*, *271*(2), 1138-1144.
- 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.
- Mackenbach, J. D., Rutter, H., Compennolle, S., Glonti, K., Oppert, J. M., Charreire, H., . . . Lakerveld, J. (2014). Obesogenic environments: a systematic review of the association between the physical environment and adult weight status, the SPOTLIGHT project. *BMC Public Health*, *14*, 233. doi: 10.1186/1471-2458-14-233
- 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
- McGarry, J. D., Dobbins, R. L., & Stein, D. T. (1998). [Fatty acids, insulin resistance and pancreatic beta cell function]. *Journ Annu Diabetol Hotel Dieu*, 1-10.
- Miki, T., Minami, K., Zhang, L., Morita, M., Gono, T., Shiuchi, T., . . . Seino, S. (2002). ATP-sensitive potassium channels participate in glucose uptake in skeletal muscle and adipose tissue. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *283*(6), E1178-1184. doi: 10.1152/ajpendo.00313.2002
- Moran, C. P., & Shanahan, F. (2014). Gut microbiota and obesity: role in aetiology and potential therapeutic target. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, *28*(4), 585-597. doi: 10.1016/j.bpg.2014.07.005
- Mustillo, S., Worthman, C., Erkanli, A., Keeler, G., Angold, A., & Costello, E. J. (2003). Obesity and psychiatric disorder: developmental trajectories. *Pediatrics*, *111*(4 Pt 1), 851-859.
- 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.
- Ozanne, S. E. (2015). Epigenetic signatures of obesity. *N Engl J Med*, *372*(10), 973-974. doi: 10.1056/NEJMcibr1414707
- 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
- Pinto, K. A., Griep, R. H., Rotenberg, L., Almeida, M., Barreto, R. S., & Aquino, E. M. L. (2018). Correction: Gender, time use and overweight and obesity in adults: Results of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *PLoS One*, *13*(8), e0198380. doi: 10.1371/journal.pone.0198380
- Pinto, K. A., Griep, R. H., Rotenberg, L., da Conceicao Chagas Almeida, M., Barreto, R. S., & Aquino, E. M. L. (2018). Gender, time use and overweight and obesity in adults: Results of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *PLoS One*, *13*(3), e0194190. doi: 10.1371/journal.pone.0194190
- Polonsky, K. S. (1999). Evolution of beta-cell dysfunction in impaired glucose tolerance and diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, *107 Suppl 4*, S124-127. doi: 10.1055/s-0029-1212166

- Poole, T. B., & Morgan, H. D. (1975). Aggressive behaviour of male mice (*Mus musculus*) towards familiar and unfamiliar opponents. *Anim Behav*, *23*(2), 470-479.
- 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
- Pratt, M., Charvel Orozco, A. S., Hernandez-Avila, M., Reis, R. S., & Sarmiento, O. L. (2014). Obesity prevention lessons from Latin America. *Prev Med*, *69 Suppl 1*, S120-122. doi: 10.1016/j.ypmed.2014.09.021
- Pulgaron, E. R., & Delamater, A. M. (2014). Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment. *Curr Diab Rep*, *14*(8), 508. doi: 10.1007/s11892-014-0508-y
- Quiroga, A. D., Alvarez Mde, L., Parody, J. P., Ronco, M. T., Frances, D. E., Pisani, G. B., . . . Carrillo, M. C. (2007). Involvement of reactive oxygen species on the apoptotic mechanism induced by IFN-alpha2b in rat preneoplastic liver. *Biochem Pharmacol*, *73*(11), 1776-1785. doi: S0006-2952(07)00094-9 [pii]
- Quiroga, A. D., & Lehner, R. (2012). Liver triacylglycerol lipases. *Biochim Biophys Acta*, *1821*(5), 762-769. doi: 10.1016/j.bbailip.2011.09.007
- Quiroga, A. D., Li, L., Trotsmuller, M., Nelson, R., Proctor, S. D., Kofeler, H., & Lehner, R. (2012). Deficiency of carboxylesterase 1/esterase-x results in obesity, hepatic steatosis, and hyperlipidemia. *Hepatology*, *56*(6), 2188-2198. doi: 10.1002/hep.25961
- Randle, P. J., Garland, P. B., Hales, C. N., & Newsholme, E. A. (1963). The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, *1*(7285), 785-789.
- Reinehr, T. (2013). Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World J Diabetes*, *4*(6), 270-281. doi: 10.4239/wjd.v4.i6.270
- Rhee, H., Vela, I., & Chung, E. (2016). Metabolic Syndrome and Prostate Cancer: a Review of Complex Interplay Amongst Various Endocrine Factors in the Pathophysiology and Progression of Prostate Cancer. *Horm Cancer*, *7*(2), 75-83. doi: 10.1007/s12672-015-0238-x
- 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.
- 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.
- Saltiel, A. R. (2001). New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell*, *104*(4), 517-529.
- Santos, L. M. (2013). Obesity, poverty, and food insecurity in Brazilian males and females. *Cad Saude Publica*, *29*(2), 237-239.
- Segula, D. (2014). Complications of obesity in adults: a short review of the literature. *Malawi Med J*, *26*(1), 20-24.
- Seidell, J. C., & Halberstadt, J. (2015). The global burden of obesity and the challenges of prevention. *Ann Nutr Metab*, *66 Suppl 2*, 7-12. doi: 10.1159/000375143

- Seino, S., Iwanaga, T., Nagashima, K., & Miki, T. (2000). Diverse roles of K(ATP) channels learned from Kir6.2 genetically engineered mice. *Diabetes*, *49*(3), 311-318.
- Silberman, M., Moreno-Altamirano, L., Hernandez-Montoya, D., Capraro, S., Garcia-Garcia, J. J., & Soto-Estrada, G. (2017). Dietary patterns, overweight and obesity from 1961 to 2011 in the socioeconomic and political context of Argentina. *Int J Food Sci Nutr*, *68*(1), 104-116. doi: 10.1080/09637486.2016.1221384
- Simon, G. E., Von Korff, M., Saunders, K., Miglioretti, D. L., Crane, P. K., van Belle, G., & Kessler, R. C. (2006). Association between obesity and psychiatric disorders in the US adult population. *Arch Gen Psychiatry*, *63*(7), 824-830. doi: 10.1001/archpsyc.63.7.824
- Singh, G. M., Micha, R., Khatibzadeh, S., Lim, S., Ezzati, M., Mozaffarian, D., . . . Chronic Diseases Expert, G. (2015). Estimated Global, Regional, and National Disease Burdens Related to Sugar-Sweetened Beverage Consumption in 2010. *Circulation*, *132*(8), 639-666. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010636
- Sinha, R., & Jastreboff, A. M. (2013). Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biol Psychiatry*, *73*(9), 827-835. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.01.032
- Solt, D. B., Medline, A., & Farber, E. (1977). Rapid emergence of carcinogen-induced hyperplastic lesions in a new model for the sequential analysis of liver carcinogenesis. *Am J Pathol*, *88*(3), 595-618.
- Soriguer, F., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiu, E., Calle-Pascual, A., Carmena, R., . . . Vendrell, J. (2012). Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia*, *55*(1), 88-93. doi: 10.1007/s00125-011-2336-9
- Srivastava, G., & Apovian, C. M. (2018). Current pharmacotherapy for obesity. *Nat Rev Endocrinol*, *14*(1), 12-24. doi: 10.1038/nrendo.2017.122
- Stang, J., & Bonilla, Z. (2018). Factors Affecting Nutrition and Physical Activity Behaviors of Hispanic Families With Young Children: Implications for Obesity Policies and Programs. *J Nutr Educ Behav*, *50*(10), 959-967. doi: 10.1016/j.jneb.2017.08.005
- Sumithran, P., Prendergast, L. A., Delbridge, E., Purcell, K., Shulkes, A., Kriketos, A., & Proietto, J. (2011). Long-term persistence of hormonal adaptations to weight loss. *N Engl J Med*, *365*(17), 1597-1604. doi: 10.1056/NEJMoa1105816
- 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
- Thomann, R., Rossinelli, N., Keller, U., Tirri, B. F., De Geyter, C., Ruiz, J., . . . Puder, J. J. (2008). Differences in low-grade chronic inflammation and insulin resistance in women with previous gestational diabetes mellitus and women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*, *24*(4), 199-206. doi: 10.1080/09513590801893398
- 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
- Valsamakis, G., Konstantakou, P., & Mastorakos, G. (2017). New Targets for Drug Treatment of Obesity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, *57*, 585-605. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-010716-104735

- Van Der Vies, J. (1954). Two methods for the determination of glycogen in liver. *Biochem J*, 57(3), 410-416.
- 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.
- Vio, F., Albala, C., & Kain, J. (2008). Nutrition transition in Chile revisited: mid-term evaluation of obesity goals for the period 2000-2010. *Public Health Nutr*, 11(4), 405-412. doi: 10.1017/S136898000700050X
- Wadden, T. A., Berkowitz, R. I., Sarwer, D. B., Prus-Wisniewski, R., & Steinberg, C. (2001). Benefits of lifestyle modification in the pharmacologic treatment of obesity: a randomized trial. *Arch Intern Med*, 161(2), 218-227.
- Wadden, T. A., Hollander, P., Klein, S., Niswender, K., Woo, V., Hale, P. M., & Aronne, L. (2015). Weight maintenance and additional weight loss with liraglutide after low-calorie-diet-induced weight loss: The SCALE Maintenance randomized study. *Int J Obes (Lond)*, 39(1), 187. doi: 10.1038/ijo.2014.88
- Wang, Y., & Beydoun, M. A. (2007). The obesity epidemic in the United States--gender, age, socioeconomic, racial/ethnic, and geographic characteristics: a systematic review and meta-regression analysis. *Epidemiol Rev*, 29, 6-28. doi: 10.1093/epirev/mxm007
- Warnotte, C., Gilon, P., Nenquin, M., & Henquin, J. C. (1994). Mechanisms of the stimulation of insulin release by saturated fatty acids. A study of palmitate effects in mouse beta-cells. *Diabetes*, 43(5), 703-711.
- Weintraub, M., Sundaresan, 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.
- Yang, M., & Nickels, J. T. (2015). MOGAT2: A New Therapeutic Target for Metabolic Syndrome. *Diseases*, 3(3), 176-192. doi: 10.3390/diseases3030176
- 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
- Yildiz, B. O., Knochenhauer, E. S., & Azziz, R. (2008). Impact of obesity on the risk for polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 93(1), 162-168. doi: 10.1210/jc.2007-1834

Rosario, 7 de mayo de 2018.

Universidad Abierta Interamericana

Sede regional Rosario

Sr. Director de la carrera de Medicina

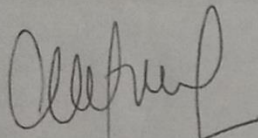
Dr. Weisburd Guillermo

S / D

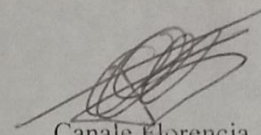
De mi mayor consideración:

Quien suscribe, Dr. Prof. Ariel D Quiroga, declara por medio de la presente hacerse cargo de la tutoría del trabajo final de la carrera de medicina titulado "Análisis del rol del canal de potasio Kir6 2/K-ATP en el metabolismo glucídico", cuya autora es la alumna Canale Florencia del sexto año de medicina, habiendo supervisado el plan de trabajo correspondiente.

Sin otra particularidad, saludo atentamente.



Dr. Ariel D Quiroga



Canale Florencia

Rosario, 7 de mayo de 2018

Centro de Altos Estudios en Ciencias Humanas y de la Salud

Sra. Directora

Dra. Agostini Marcela

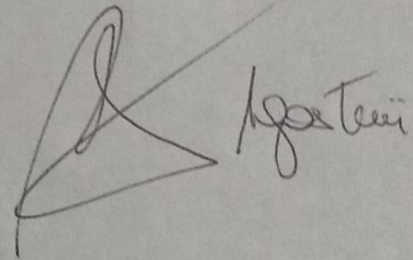
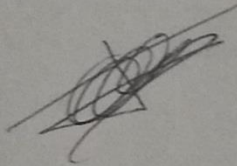
S / D

De mi mayor consideración:

Por intermedio de la presente, me dirijo a Ud. a fin de solicitar su autorización para realizar mi trabajo final en el Bioterio de la Universidad Abierta Interamericana, titulado "Análisis del rol del canal de potasio Kir6 2/K-ATP en el metabolismo glucídico", bajo la supervisión del Dr. Ariel D Quiroga, quien está a cargo de la tutoría.

Sin otra particularidad, saludo atentamente.

Canale Florencia



Rosario, 7 de mayo de 2018.

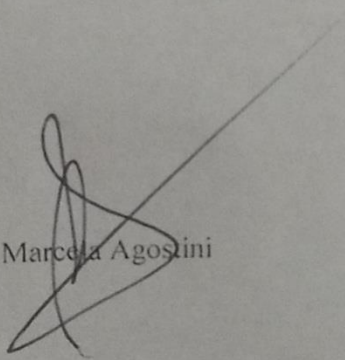
Universidad Abierta Interamericana
Sede regional Rosario
Sr. Director de la carrera de Medicina
Dr. Weisburd Guillermo

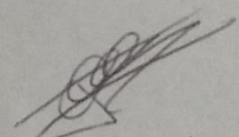
S / D

De mi mayor consideración:

Quien suscribe, Dra. Mg. Agostini Marcela, declara por medio de la presente hacerse cargo de la co-tutoría del trabajo final de la carrera de medicina titulado "Análisis del rol del canal de potasio Kir6.2/K-ATP en el metabolismo glucídico", cuya autora es la alumna Canale Florencia del sexto año de medicina, habiendo supervisado el plan de trabajo correspondiente.

Sin otra particularidad, saludo atentamente.


Dra. Marcela Agostini


Canale Florencia