

AGRADECIMIENTOS	I
ÍNDICE	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
ABSTRACT.....	1
RESUMEN	3
RESUM	5
INTRODUCCIÓN	7
1. DIABETES	9
1.1. <i>La diabetes y su incidencia global en la actualidad</i>	9
1.2. <i>La diabetes mellitus tipo 2.....</i>	10
2. ATEROSCLEROSIS	12
2.1. <i>Incidencia actual de las enfermedades cardiovasculares</i>	12
2.2. <i>Pared arterial: estructura y composición</i>	12
2.3. <i>Alteraciones de la homeostasis de la pared vascular: la aterosclerosis.....</i>	13
2.4. <i>Mecanismo y patofisiología de la aterosclerosis.....</i>	14
3. EFECTOS DE DMT2 EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR	18
4. ALTERACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO: ENFERMEDAD DEL HÍGADO GRASO NO ALCOHÓLICO	20
4.1. <i>Características de la EHGNA.....</i>	20
5. LOS COTRANSPORTADORES SODIO GLUCOSA COMO DIANA TERAPÉUTICA DE LA DMT2	23
5.1. <i>Estructura de los cotransportadores sodio-glucosa y mecanismo de acción.....</i>	23
5.2. <i>Desarrollo de los inhibidores SGLT</i>	25
5.3. <i>Dapagliflozina.....</i>	26
6. MODELOS MURINOS DE ATEROSCLEROSIS, DIABETES Y EHGNA	26
6.1. <i>Deficiencia en apolipoproteína E: modelo de hipercolesterolemia y aterosclerosis</i>	26
6.2. <i>Doble deficiencia en Apoe e Irs2: modelo de aterosclerosis acelerada por DMT2</i>	27
6.3. <i>Modelos de ratón de EHGNA inducida por dieta grasa.....</i>	28
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	30
MATERIAL Y MÉTODOS.....	33
1. ESTUDIOS IN VIVO EN RATONES.....	35
1.1. <i>Ratones, genotipados y dietas</i>	35
1.2. <i>Medidas metabólicas y ensayos bioquímicos.....</i>	36
1.3. <i>Análisis histopatológico de tejidos</i>	38
1.4. <i>Cuantificación de la aterosclerosis</i>	40

1.5.	<i>Caracterización de la placa de ateroma</i>	41
2.	CARACTERIZACIÓN DE PARÁMETROS INFLAMATORIOS	46
2.1.	<i>Análisis de citoquinas circulantes</i>	46
2.2.	<i>Caracterización de las células circulantes en sangre mediante citometría de flujo</i>	46
3.	CARACTERIZACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL HÍGADO.....	49
3.1.	<i>Determinación del contenido de triacilgliceroles hepáticos</i>	49
3.2.	<i>Determinación celular en hígado mediante citometría de flujo</i>	50
3.3.	<i>Determinación de la fibrosis hepática</i>	51
3.4.	<i>Determinación de la esteatosis hepática</i>	51
3.5.	<i>Determinación del contenido de linfocitos T hepáticos</i>	52
4.	ESTUDIOS <i>IN VITRO</i> EN CÉLULAS DERIVADAS DE RATÓN	52
4.1.	<i>Obtención de macrófagos derivados de médula ósea de ratón</i>	52
4.2.	<i>Cultivo de macrófagos en medio condicionado y análisis de la secreción de citoquinas</i> ..	53
5.	ESTUDIOS <i>EX VIVO</i> EN TEJIDOS DE RATÓN	53
5.1.	<i>Aislamiento de islotes pancreáticos para el análisis de secreción de insulina</i>	53
5.2.	<i>Cultivo de explantes de tejido adiposo para señalización de insulina y análisis proteico</i> .	54
6.	ANÁLISIS DE EXPRESIÓN PROTEICA MEDIANTE WESTERN BLOT	54
6.1.	<i>Obtención y cuantificación de extractos proteicos</i>	54
6.2.	<i>Análisis de expresión proteica con SDS-Page y Western blot</i>	55
7.	ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN GÉNICA MEDIANTE PCR CUANTITATIVA EN TIEMPO REAL (QPCR).....	56
7.1.	<i>Obtención y cuantificación de extractos de ARN</i>	56
7.2.	<i>Retrotranscripción del ARN y análisis de la expresión génica por PCR cuantitativa en tiempo real</i>	57
8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	60
	RESULTADOS	61
1.	ESTUDIO DEL EFECTO DE LA DAPAGLIFLOZINA EN EL METABOLISMO DE RATONES <i>APOE^{-/-}Irs2^{+/-}</i> CON RESISTENCIA A INSULINA Y ATROSCLEROSIS ACELERADA	63
1.1.	<i>Caracterización metabólica de ratones <i>ApoE^{-/-}Irs2^{+/-}</i> tratados con dapagliflozina o vehículo</i>	63
1.2.	<i>Efecto de la dapagliflozina en el metabolismo de carbohidratos</i>	66
1.3.	<i>Efecto de la dapagliflozina en el tamaño o estabilidad de la placa aterosclerótica en ratones <i>ApoE^{-/-}Irs2^{+/-}</i></i>	70
1.4.	<i>Efecto de la dapagliflozina en la inflamación sistémica en ratones <i>ApoE^{-/-}Irs2^{+/-}</i></i>	74
1.5.	<i>Efecto de la dapagliflozina en macrófagos de ratón <i>ApoE^{-/-}Irs2^{+/-}</i></i>	77
2.	ESTUDIO DE LAS ALTERACIONES INMUNES EN UN MODELO MURINO DE ESTEATOSIS	79
2.1.	<i>Estudio del metabolismo en ratones WT sometidos a una dieta esteatogénica</i>	80

2.2. Estudio de la fibrosis y de la inflamación sistémica en ratones WT sometidos a una dieta esteatogénica.....	82
2.3. Estudio de la expresión génica en ratones WT con una dieta esteatogénica	88
DISCUSIÓN.....	94
CONCLUSIONES.....	104
BIBLIOGRAFÍA.....	107
ANEXO.....	120