

RESUMEN

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) aumenta la mortalidad en humanos al aumentar el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular (ECV) y de enfermedad de hígado graso no alcohólica (EHGNA). El estudio de un uso más extendido de fármacos existentes antidiabéticos para el retraso del desarrollo de ECV, así como el estudio más profundo de los mecanismos moleculares que favorecen la aparición de la EHGNA son de gran importancia para reducir en el futuro el impacto socioeconómico de estas enfermedades metabólicas.

En esta **primera parte** de este trabajo, se investigó el efecto del SGLT2i dapagliflozina (DAPA) en el metabolismo y en la aterosclerosis. Los inhibidores de los cotransportadores sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2i) son fármacos diseñados para el tratamiento de la DMT2 reduciendo la hiperglucemia al reducir hasta en un 90% la reabsorción de glucosa en el túbulo contorneado proximal del riñón. Estudios clínicos sugieren que el uso de los SGLT2i produce un efecto beneficioso sobre el fallo cardíaco y la ECV. Para estudiar el efecto de la DAPA en la aterosclerosis en condiciones de resistencia a insulina (RI) se utilizaron ratones *Apoe^{-/-}Irs2^{+/-}*, que muestran una aterosclerosis acelerada inducida por RI. El tratamiento con dapagliflozina en ratones *Apoe^{-/-}Irs2^{+/-}*, alimentados con una dieta rica en grasa y en colesterol, no produjo ningún efecto sobre el peso corporal, los niveles de glucosa en plasma o los lípidos. El tratamiento con DAPA no produjo ningún efecto en la tolerancia a la glucosa, aunque fueron inferiores en los ratones tratados con DAPA durante el test de glucosa sugiriendo la existencia de una alteración en la secreción de insulina. Consistente con estos resultados, el tratamiento con DAPA en islotes pancreáticos aislados de ratones *Apoe^{-/-}Irs2^{+/-}* mostraron menor secreción de insulina al ser estimulados con glucosa respecto a los islotes tratados con vehículo. Además, experimentos de señalización de la insulina mostraron una disminución de la activación de AKT en el tejido adiposo de ratones *Irs2^{+/-}* tratados con DAPA indicando una alteración en la vía de señalización de la insulina en este tejido. No se observaron cambios en el tamaño de la lesión aterosclerótica, en la vulnerabilidad de placa o en el contenido de macrófagos, células de músculo liso vascular, células T o colágeno. La DAPA no produjo ningún efecto sobre la inflamación las células inflamatorias circulantes ni en los niveles de citoquinas.

Este estudio indica que la dapagliflozina no protege de la aterosclerosis en ratones con resistencia a la insulina en condiciones hipercolesterolémicas.

La **segunda parte** del estudio se centró en la puesta a punto y la caracterización de un modelo experimental de esteatosis hepática no alcohólica inducida por dieta rica en grasa (21%) y azúcar (41.5%) y con un alto contenido en colesterol (1.25%) que denominamos DEHNA. La enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es una complicación metabólica que puede ser causada por diversas alteraciones metabólicas y que se asocia con frecuencia a la disfunción del tejido adiposo, la RI y la DMT2. Esta enfermedad presenta gran variabilidad de manifestaciones, por lo que disponer de un modelo de ratón que mimetice la sintomatología clínica y patológica

asociados a esta enfermedad es indispensable para poder desarrollar posibles dianas terapéuticas.

El tratamiento de 16 semanas de los ratones con DEHNA produjo una disminución en el peso corporal y en los niveles de ácidos grasos libres junto con una mejora en la sensibilidad a la insulina en los ratones tratados con DEHNA. No obstante, los ratones WT alimentados con DEHNA desarrollaron mayor peso hepático y un aumento en marcadores plasmáticos de daño hepático comparado con ratones alimentados con dieta control (DC). Los ratones WT alimentados con DEHNA también desarrollaron mayor esteatosis, inflamación lobular, degeneración balonizante y fibrosis y mayor puntuación NAS indicando un estadio avanzado de esteatosis o EHNA comparado con los ratones WT alimentados con DC. La inflamación hepática en los ratones DEHNA fue mayor con un incremento en los linfocitos T y en los macrófagos proinflamatorios CD11c. Sin embargo, se produjo una disminución en los niveles de monocitos totales y en los inflamatorios Ly6C^{hi} circulantes en la sangre. El análisis de leucocitos en sangre mostró también un aumento en los linfocitos T citotóxicos, los subtipos T proinflamatorios Th1 y Th9 y los linfocitos B en los ratones alimentados con DEHNA comparado con ratones WT alimentados con CD. El análisis de la expresión génica en hígado mostró una alteración del patrón de la expresión génica asociada a una mayor fibrosis con un desequilibrio del metabolismo del colesterol, de los triglicéridos y de la síntesis de ácidos grasos en los ratones alimentados con DEHNA comparado con ratones WT alimentados con CD.

Nuestros resultados indican que la DEHNA administrada en ratones WT durante 16 semanas genera un modelo de EHNA avanzado con fibrosis, niveles elevados de inflamación y alteraciones metabólicas importantes que cursan con pérdida de peso y una aparente mejora de la sensibilidad a la insulina.