**TL 18**

**LA LIBERACIÓN DE ATP HACIA EL MEDIO EXTRACELULAR INDUCE UNA RESPUESTA INFLAMATORIA ASOCIADA A LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN FIBRAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS DE RATONES OBESOS**

Gonzalo Jorquera Olave1, Roberto Meneses Valdés2, Paola Llanos Vidal3, Giovanni Rosales Soto2, Mariana Casas Atala2, Enrique Jaimovich Pérez2

1Centro de Neurobiología y Fisiopatología Integrativa (CENFI), Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso., 2Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, 3Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile

**Contenido:**

El músculo esquelético es uno de los órganos blanco claves de la insulina y por lo tanto un regulador central de la glicemia. En individuos obesos se ha descrito una inflamación crónicaque afecta principalmente al tejido adiposo, al hígado y al músculo esquelético. Este estado inflamatorio induce el desarrollo de resistencia a la insulina. Previamente hemos descrito que las miofibras esqueléticas pueden liberar ATP al medio extracelular (ECM) a través del canal de panexina. Por otro lado, se conoce que altas concentraciones de ATP en el ECM pueden gatillar una potente señal inflamatoria. Proponemos que las miofibras esqueléticas de sujetos obesos liberan altos niveles de ATP hacia el ECM, a través del canal de panexina, promoviendo la expresión de genes inflamatorios y el desarrollo de insulinorresistencia.

Alimentamos ratones C57BL/6 con dieta control o alta en grasa (HFD) durante 8 a 12 semanas y posteriormente aislamos miofibras del músculo FDB. Para obtener los FDB *knockdown*(KD) de panexina-1, electroporamos*in vivo*plasmidios sh-panexina1/mcherry o solo mcherry. Analizamos la liberación de ATP con un ensayo basado en la actividad luciferina/luciferasa. La expresión génica fue estudiada con qPCR y la de proteínas por WB. La sensibilidad a insulina fue analizada por captación de 2-NBDG (análogo fluorescente de glucosa).

Los ratones alimentados con la HFD ganaron más peso comparados a aquellos alimentados con dieta control. Además, los animales HFD mostraron un test de tolerancia a la glucosa alterado y una glicemia e insulinemia en ayunas elevada. Encontramos que los marcadores inflamatorios TLR4, IL-6, IL-1β y TNF-α presentaron una expresión génica incrementada en las miofibras de ratones obesos. Observamos que la liberación de ATP desde las miofibras de animales obesos fue mayor, en estado basal y post-estimulación eléctrica, comparada a las controles. La incubación con 100 μM de oleamida, inhibidor de panexina, bloqueó la liberación de ATP en las miofibras de animales obesos. La expresión génica de los marcadores inflamatorios fue inhibida por oleamida y por apyrasa, una ATP-difosfatasa. Inhibimos la expresión del canal de panexina a través de un sh-RNA en el FDB de animales HFD. En las miofibras KD observamos una liberación disminuida de ATP y la inhibición de la expresión de los marcadores inflamatorios. Finalmente, la incubación con 300 μM de ATP indujo resistencia a la insulina en miofibras de animales controles, mientras que la incubación con CBX, bloqueador de panexina, incrementó la captación de 2-NBDG en fibras musculares de animales obesos.

En este trabajo proponemos un nuevo mecanismo para el desarrollo de inflamación y resistencia a la insulina en el músculo esquelético de sujetos obesos. Encontramos que la liberación de ATP hacia el ECM ocurre en una forma descontralada, mediada por el canal de panexina, en miofibras de individuos obesos. La acumulación de ATP en el ECM es capaz de activar un programa inflamatorio que permite el desarrollo de insulinorresistencia.

**Financiamiento:** Fondecyt Postdoctorado 3170194