

Resistina: una nueva hormona expresada en el tejido adiposo

Rubén Nogueiras, Carmen R. González, Hugo Mendieta, Ricardo Lage, Carlos Diéguez

Full-text papers at core.ac.uk

provided by Repositorio Institucional de la Un

E-mail: jscaaligo@usc.es

Resumen

La resistina es una proteína de 12,5 kDa rica en residuos de cisteína que se secreta principalmente en los adipocitos. El descubrimiento de la resistina pareció ser un principio prometedor para el tratamiento de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. Sin embargo, aunque en roedores su función parece estar relacionada con el empeoramiento de la sensibilidad a la insulina, en humanos todavía no se puede afirmar con claridad su papel.

En los roedores, la resistina actúa de forma perjudicial en la ruta de señalización de la insulina en los principales tejidos diana, como son el tejido adiposo, el hígado y el músculo. Esta hormona también estimula la producción hepática de glucosa y sus niveles circulantes son elevados en animales obesos, mientras que estos niveles disminuyen de manera muy significativa después de la restricción alimenticia. Todos estos datos sugieren que además de la resistencia a la insulina, la resistina también ejerce una acción importante en la regulación de la homeostasis metabólica. Además, en humanos, dada su expresión en células mononucleares, es de suponer que esta proteína juega un papel importante en los procesos inflamatorios y/o inmunitarios. Aunque los trabajos que han estudiado sus acciones en relación a la resistencia a insulina inducida por la obesidad son bastante contradictorios, es de esperar que pueda ejercer múltiples funciones biológicas, teniendo en cuenta la variedad de tejidos en que es expresada.

Summary

Resistin is a 12.5 kDa cysteine-rich peptide which is mainly secreted from adipocytes. The discovery of resistin seemed to be a promising finding for the treatment of obesity-induced insulin resistance. However, although in rodents its functions seem to be related with insulin sensitivity impairment, in humans is still too early to clarify its role.

In rodents, resistin acts in the impairment of insulin signalling pathways in the target-tissues, such as adipose tissue, liver and muscle. This hormone also stimulates hepatic glucose production and its serum levels are elevated in obese animals, whereas these levels significantly decrease after food restriction. Taken together, these data suggest that in addition to its role in insulin-resistance, resistin also exerts an important action in the metabolic homeostasis regulation.

On the other hand, its role in humans remains unknown, but it has been showed that resistin expression is high in mononuclear cells, which suggest that this hormone plays an important ro-

le in inflammatory and/or immunology processes. Although several works studying its actions in obesity-induced insulin resistance are contradictory, it is likely that resistin may be involved in the regulation of different biological functions, considering its wide distribution.

El tejido adiposo como órgano endocrino

El tejido adiposo blanco es cuantitativamente el componente más variable del cuerpo, pudiendo oscilar desde un pequeño porcentaje hasta un 50% del peso corporal en humanos y roedores con obesidad mórbida. En los mamíferos, el tejido adiposo se diferencia de la mayoría de los tejidos en que se encuentra disperso en múltiples lugares del cuerpo. Históricamente, el principal papel que se propuso para las células que forman el tejido adiposo, los adipocitos, fue el de almacenar triacilglicérols (TAG) durante períodos de exceso calórico y movilizar estas reservas cuando el gasto energético es mayor que la ingesta. Los adipocitos maduros poseen todas las enzimas y proteínas necesarias para realizar estas funciones de lipogénesis y de transporte de los productos generados mediante la lipólisis. Los adipocitos, cuyo tamaño varía enormemente (20-200 μm de diámetro) se encuentran en una red de tejido conectivo y están adaptados para el almacenamiento y liberación de energía. Para almacenar los lípidos, los adipocitos son capaces de variar su diámetro unas 20 veces. Debido a que el 90% del volumen celular está ocupado por lípidos, el núcleo y el citoplasma son desplazados a la periferia de los adipocitos. En las células del tejido graso, todas estas funciones están perfectamente reguladas por hormonas, citoquinas y otros factores que están involucrados en el metabolismo energético.¹ La grasa es altamente eficiente para almacenar energía no sólo por su elevado contenido energético por unidad de peso, sino también porque es hidrofóbica. Cada gramo de tejido adiposo puede contener alrededor de 800 mg de TAG y alrededor de 100 mg de agua. Por el contrario, las proteínas y el glucógeno no sólo tienen un bajo contenido energético por unidad de peso sino que además se encuentran mucho más hidratados.

El tejido adiposo blanco está activamente involucrado en la regulación de las funciones celulares mediante una compleja red de interacciones endocrinas, paracrinas y autocrinas que influyen en las acciones de muchos tejidos, tales como el hi-

potálamo, páncreas, músculo esquelético, riñón, etc. Los adipocitos, además actúan como células secretoras endocrinas,^{2,3} ya que se ha observado que algunas hormonas, factores de crecimiento y citoquinas son expresadas en el tejido adiposo.

Como ya hemos mencionado, existen algunos posibles mediadores de la resistencia a insulina asociada a la obesidad, como pueden ser la leptina,⁴ el TNF- α ,⁵ la adiponectina,⁶ la oleoil-estrona⁷ o la interleuquina-6⁸ que se sintetizan en el tejido adiposo. Pero recientemente, tres grupos han descubierto una nueva hormona, la resistina, de manera independiente, usando diferentes métodos con distintos objetivos. Uno de los grupos identificó la resistina en una búsqueda para localizar dianas de las tiazolidinedionas (TZD), unos fármacos utilizados habitualmente para mejorar la sensibilidad a la insulina.⁹ Por otro lado, los análisis mediante *microarrays* identificaron la resistina como un factor secretado específicamente por los adipocitos (ADSF, *adipose secretory factor*).¹⁰ Un tercer grupo encontró este nuevo factor, al que llamaron FIZZ3, como variante de una proteína que se inducía durante la inflamación pulmonar, la FIZZ1 (*found in inflammatory zone 1*).¹¹

Resistina

La resistina es una proteína de 12,5 kD rica en residuos de cisteína (Cys) que es secretada específicamente por los adipocitos y cuya expresión está inducida durante la conversión de preadipocitos a adipocitos maduros, por lo que se le supone una función muy importante como regulador de la adipogénesis.¹⁰ Durante el ayuno su expresión es muy baja en el tejido adiposo, pero esta expresión aumenta sustancialmente tras la ingesta o tras la administración de insulina.⁹

La secuencia de ADNc de resistina de rata tiene 1.174 bp con 2 secuencias de poliadenilación, una proximal a los 524 nucleótidos y otra distal a los 1.149 nucleótidos.¹⁰ El ADNc de ratón es más corto en la región 3' con sólo una señal de poliadenilación que se corresponde con la secuencia proximal de ra-

ta. Además, la secuencia de ADNc de ratón contiene una señal de poliadenilación consenso AATAAA. En contraste, la secuencia de ADNc de rata revela una señal de poliadenilación ATACA, con una sola base cambiada; esta secuencia probablemente es una señal que posteriormente dará lugar a la formación del ARNm más largo. Entre las secuencias de nucleótidos de ratón y de rata existe un 68% de homología (85% y 43% en las regiones codificante y no codificante, respectivamente). Las características estructurales más destacables son la presencia de múltiples serinas y cisteínas.¹⁰ El patrón de cisteínas (Cys) que se encuentra en la región C-terminal (CX12CX8CX3CX10CX9CC) se conserva en una familia de moléculas que incluyen 3 subtipos diferentes:¹²

- 1) RELM α (*resistin-like molecule α*): Su expresión es muy abundante en el tejido adiposo, aunque también se observa su expresión en la glándula mamaria que contiene gran cantidad de grasa, en corazón y en pulmón. La RELM α se sintetiza en el estroma vascular que constituye el tejido adiposo.
- 2) RELM β (*resistin-like molecule β*): Son muy abundantes en el colon pero no en los demás tejidos, habiéndose localizado tan sólo una expresión muy baja en el yeyuno y en el íleon. La RELM β humana y de ratón están altamente conservadas, especialmente en la región C-terminal rica en residuos Cys que es la más similar a la resistina.
- 3) RELM γ (*resistin-like molecule γ*): tiene una homología del 86% con RELM β . El gen de este subtipo se encontró en el genoma de roedores, pero no en el de humanos.¹³ Posee los niveles de expresión más altos en las células y órganos del sistema hematopoyético, incluyendo la médula ósea, leucocitos, bazo y timo. Debido a su patrón de expresión, parece que podría ejercer funciones similares a las citoquinas.

Además de estas moléculas pertenecientes a la familia de la resistina, también se ha descubierto otra forma molecular de la resistina en el tejido adiposo. Se trata de una isoforma generada mediante un *splicing* alternativo del gen de la resistina en la rata, denominada S-resistina (*short resistin*). Estudios de secuenciación han demostrado que esta isoforma no posee el segundo exón que contiene la secuencia consenso necesaria para su secreción. Es-

to implica que esta forma alternativa, no es secretada, y además se ha observado que presenta inmunofluorescencia nuclear.¹⁴

Esta familia de proteínas rica en residuos Cys ya había sido descrita anteriormente por Holcomb y su grupo en 2000¹¹ con el nombre de proteínas Fizz; la Fizz 1 se asociaba con inflamaciones pulmonares y su expresión se localizaba específicamente en dos tipos celulares: células epiteliales de la mucosa branquial y pneumocitos alveolares de tipo II. Esta proteína Fizz 1 se corresponde con RELM α . La Fizz 2 equivale a la RELM β y la Fizz 3 es la resistina.

La región consenso de las RELM es un péptido de 105-114 aminoácidos de longitud, con tres dominios: a) una secuencia N-terminal, b) una porción media que es variable y c) una secuencia altamente conservada C-terminal que constituye cerca de la mitad de la molécula y que está formada por 10 residuos Cys C-terminales. Se supone que esta región conservada contribuye a la unión con una familia de receptores que todavía no se conocen.

Existe un residuo de Cys presente en la resistina (C26), así como en RELM β , pero no en RELM α , que es necesario para la homodimerización. Las restantes 10 Cys que están conservadas en todos los miembros de la familia RELM/Fizz están involucradas en la formación de puentes disulfuro intramoleculares, creando una estructura que puede contribuir a que los miembros de esta familia posean funciones comunes tales como la unión al receptor.¹⁵

La Cys26 puede ser necesaria para alguna unión disulfuro intermolecular adicional. El residuo Cys que se requiere para la dimerización de la resistina se encuentra en el interior del dominio N-terminal que es muy variable. Esta variabilidad en la secuencia primaria y la dimerización, junto con la expresión específica en el tejido adiposo, sugiere la posible existencia de diferencias funcionales en las acciones de la resistina y del resto de miembros de las RELM. Aunque los mecanismos de señalización de estas proteínas todavía no se conocen, parece evidente que estas proteínas deberían actuar mediante receptores de la superficie celular. Un caso similar a la resistina podría ser la activina, un factor de crecimiento de la superfamilia TGF- β (*transforming growth factor- β*), que es un dímero con uniones disulfuro que contiene 9 cisteínas, y en el que la mutación de una sola Cys hace que la activina no sea capaz de activar el receptor.¹⁶

El gen de la resistina

Mientras que el ARNm de la resistina en humanos muestra una homología del 64,4% con el de ratón (Fig. 1), la secuencia genómica total de la resistina en ratón tiene sólo una homología del 46,7% con la resistina humana y es casi tres veces más grande que el gen que codifica para la resistina humana. Las secuencias intrónicas muestran aún una menor homología (28,7%), sin embargo los límites de los intrones están altamente conservados entre estas dos especies, con los clásicos límites GT/AG. Esta homología en las regiones 5' y 3' de los intrones de ambas especies, implica que tuvieron una vía de evolución común.¹⁷ Aunque el número de intrones es el mismo entre las regiones codificantes, existe un intrón extra de 2.279 nucleótidos en la secuencia genómica del ratón que se encuentra situado después del codón de parada, denominado intrón X, que está ausente en la resistina humana.

El triplete Arg-Gly-Asp que está presente en la resistina humana, está ausente en la proteína de ratón. Este tripéptido se identificó originalmente como la secuencia de fibronectina que media las uniones celulares y posteriormente se encontró en mu-

chas otras proteínas.¹⁸ Este triplete también está involucrado en la apoptosis, al activar directamente la caspasa-3.¹⁹ Por tanto, no parece que exista una relación clara entre las funciones de la resistina humana y la resistina en roedores.

Debido a que el intrón extra contiene diferentes elementos de respuesta y diferentes lugares de unión a factores de transcripción, su presencia podría ser muy importante en cuanto a una posible regulación de la expresión del gen de la resistina en ratones. Se ha atribuido la expresión diferencial del gen de la resistina durante la adipogénesis en humanos y roedores a la presencia de este intrón extra que posee elementos de respuesta a los PPAR, que pueden ser los responsables de la inhibición de la expresión de la resistina en ratones después de la administración de TZD.¹⁷

Los adipocitos son células altamente diferenciadas y numerosos genes son expresados específicamente o predominantemente en las células grasas.²⁰ Entre estos genes se incluyen factores de transcripción implicados en la adipogénesis tales como los miembros de la familia C/EBP y PPAR γ .²¹ C/EBP β y C/EBP δ están transitoriamente inducidos durante la adipogénesis y están involucrados en la estimulación de C/EBP y PPAR γ ,^{22,23} los cuales se expresan en adipocitos maduros. Hartman y cols.,²⁴ han demostrado que el promotor de la resistina de ratón contiene un lugar de unión a C/EBP α que es necesario y suficiente para su activación. El C/EBP α sirve como activador transcripcional de muchos genes adipocíticos, y entre estos genes se encuentra la resistina, ya que se ha demostrado que la unión de C/EBP α en adipocitos está asociada con el reclutamiento de los coactivadores CBP y P300, y con la acetilación de histonas en el promotor de la resistina, mientras que el C/EBP ζ tiene los efectos opuestos.²⁵ Esto es coherente con los resultados presentados con anterioridad, en los cuales se observó que C/EBP α se une y activa el promotor de la resistina, lo que conduce al reclutamiento de coactivadores transcripcionales y la acetilación de histonas en los adipocitos.²⁴

Vías activadoras del gen de la resistina

Estudios recientes habían demostrado que PPAR γ podía inducir la adipogénesis en ausencia de C/EBP α , mientras que C/EBP α era incapaz de

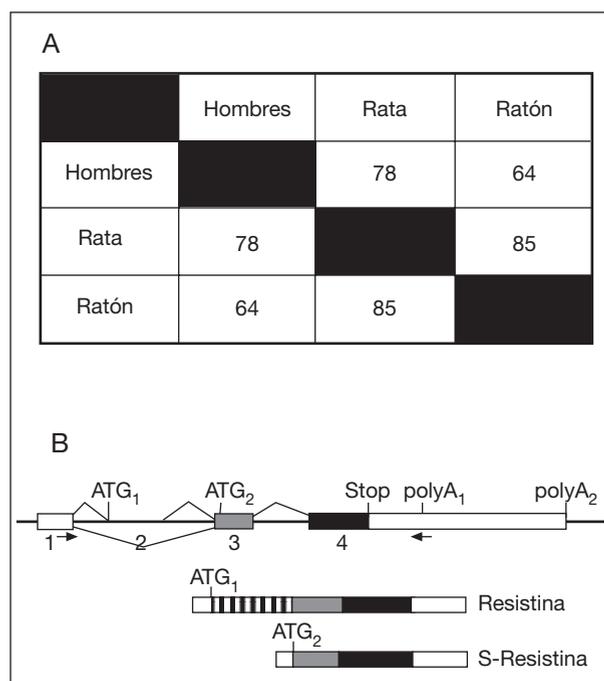


Figura 1. A. Homología de la secuencia codificante de la resistina entre las diferentes especies (expresado en porcentaje). B. La estructura del gen de la resistina y comparación con la forma corta de la resistina (S-resistina), que pierde el exón 2.

inducir la adipogénesis en ausencia de PPAR γ , estableciéndose así que PPAR γ era el principal regulador de la adipogénesis.²⁶ Sin embargo, en el caso de la resistina, el lugar de unión del promotor con C/EBP α es suficiente para la expresión del gen. Por el contrario, PPAR γ no activa directamente la expresión de este gen, aunque es posible que el gen de la resistina contenga un elemento de respuesta situado fuera de los constructos del promotor analizados por este grupo.²⁴

Para determinar cuál era la señal intracelular que induce la expresión de la resistina, se estudiaron las vías PI3-quinasa-Akt y MAPK. El PI3-quinasa es una quinasa clave en la vía que regula los efectos mitogénicos y metabólicos de la insulina; así, la expresión de la subunidad catalítica p110 α , que mimetiza la activación de PI3-quinasa²⁷ reduce la expresión de la resistina en adipocitos 3T3-L1, sugiriendo que la PI3-quinasa juega un papel importante en la regulación de la expresión de la resistina. Además, PTEN, una fosfatasa que regula negativamente la PI3-quinasa²⁸ incrementó la expresión de la resistina.

La quinasa serina/treonina Akt media numerosos efectos de los receptores de los factores de crecimiento que activan la PI3-quinasa.²⁹ Akt es particularmente importante como mediador de algunas acciones metabólicas de la insulina y es reconocida como diana por la PI3-quinasa. La sobreexpresión de Akt inhibe la expresión de la resistina, lo que confirma que la cascada PI3-quinasa-Akt es responsable de la regulación negativa de la expresión de la resistina. Al mismo tiempo, la sobreexpresión de factores que activan la vía MAPK también suprimieron la expresión de la resistina, indicando que esta vía también influye en la expresión de esta hormona.²⁵

Distribución de la resistina

Expresión de la resistina en diferentes tipos de tejido adiposo

En ratones, la expresión más alta de resistina se localiza en el tejido adiposo gonadal. De manera similar, en las ratas Zucker los niveles de ARNm de la resistina en el tejido adiposo gonadal y visceral fueron mayores que en el resto de los depósitos.

En estudios realizados en humanos se observó una expresión mayor del ARNm de la resistina en el tejido graso abdominal, que está relacionado po-

sitivamente con la resistencia a la insulina, en comparación con el resto de depósitos grasos, sugiriendo que la resistina humana podría jugar un papel importante en la resistencia a la insulina inducida por la obesidad. Adicionalmente, se observó que la liberación de resistina en muestras de tejido adiposo omental humano fue unas 250 veces mayor que en las muestras de grasa subcutánea, aunque la principal fuente de resistina parece no ser específica de los adipocitos, sino de otros tipos celulares cuya expresión se incrementa durante la obesidad.

Otros tejidos donde se expresa el gen de la resistina

El ARNm de la resistina se ha localizado principalmente en el tejido adiposo blanco de roedores^{9,10} (Fig. 2). Sin embargo, también se localizó una ex-

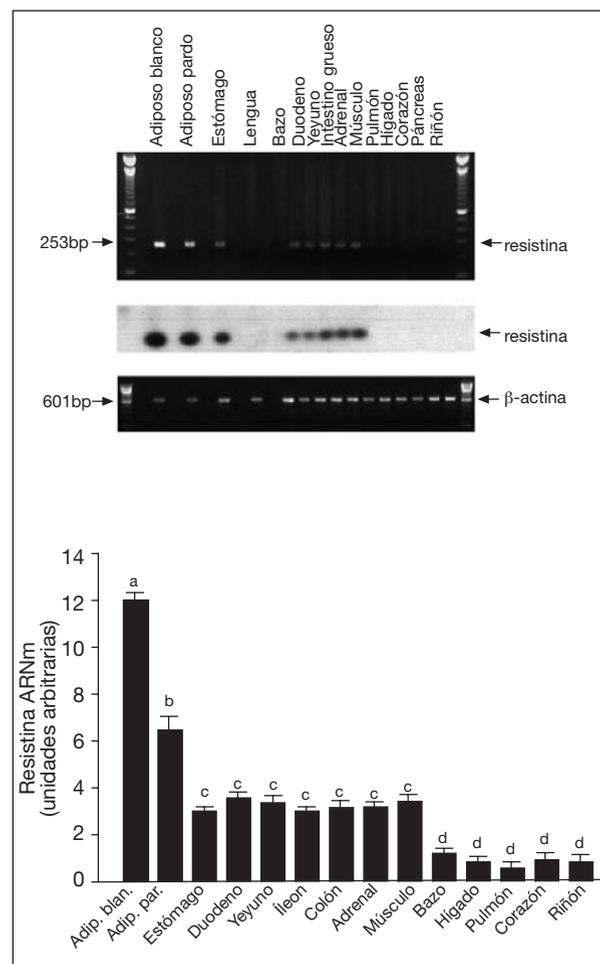


Figura 2. RT-PCR y Southern blot representativos de la distribución del ARNm de la resistina en los tejidos de rata (zona superior). La gráfica representa la cantidad de ARNm de la resistina, medido mediante RT-PCR a tiempo real, existente en cada tejido (zona inferior).

presión mucho menor en la glándula mamaria de roedores.⁹ Estudios posteriores también han demostrado la expresión del gen de la resistina en el núcleo arqueado del hipotálamo, en la hipófisis,³⁰ en el tejido adiposo pardo,³¹ el tracto gastrointestinal, el músculo esquelético, la glándula adrenal³² y el testículo.³³

Los niveles de ARNm de la resistina en la hipófisis se incrementaron marcadamente cuando los ratones tenían entre 14 y 21 días de vida, a pesar de que los niveles hipotalámicos permanecieron constantes a lo largo del desarrollo. Sin embargo, se observó que al tratar los ratones con glutamato monosódico (que daña el núcleo arqueado del hipotálamo y las células productoras de GHRH) la expresión de la resistina disminuye considerablemente en la hipófisis. La explicación para estos resultados podría ser que la resistina hipofisaria o bien es dependiente del hipotálamo o bien es secretada en las células somatotropas.³⁰

El tejido adiposo pardo posee funciones fisiológicas totalmente distintas al tejido adiposo blanco. Entre estas propiedades las más importantes son la función termogénica, que permite disipar el exceso de energía en forma de calor, y la regulación de la temperatura corporal, especialmente en animales pequeños como los roedores. En humanos jóvenes, este tejido juega un papel similar; sin embargo, la importancia del tejido adiposo pardo en los adultos no se conoce con detalle. Para el estudio de la expresión del gen de la resistina en el tejido adiposo pardo se utilizó la línea celular T37i, y se observó que el gen de la resistina se expresaba en células diferenciadas, mientras que en las células no diferenciadas los niveles de expresión de la hormona fueron indetectables. Por tanto, parece que la activación del gen de esta hormona ocurre durante la diferenciación de los adipocitos.³¹ Estos resultados son comparables a los que se encontraron en el tejido adiposo blanco de humanos y roedores.^{9,10} La máxima expresión del gen de la resistina se encontró, en cultivo, a los 7 días de diferenciación, coincidiendo con los cambios morfológicos celulares característicos de los adipocitos pardos, así como con la activación de la expresión de ciertos genes adipogénicos (LPL, PPAR γ 2 y aP2).³⁴ Después del día 7, los niveles de resistina cayeron bruscamente, posiblemente debido a un mecanismo autocrino que regula negativamente los niveles de ARNm de la resistina. Este resultado contrasta con los datos obtenidos en adipocitos 3T3-L1, en

los cuales la expresión de la resistina es máxima en el día 4 y los niveles permanecen elevados hasta el día 12.³⁵ Por otro lado, se demostró que la regulación de la resistina en los adipocitos pardos es diferente a los adipocitos blancos ya que el tratamiento de células T37I con insulina aumentó rápidamente y de manera muy marcada la transcripción del gen de la resistina, y la incubación de estas células con TZD incrementó los niveles de ARNm de la resistina, mientras que el tratamiento con dexametasona e isoproterenol disminuyó la expresión del ARNm de la resistina un 50%.³¹

Por otro lado, la resistina se localizó a lo largo del tracto gastrointestinal, en el músculo y la glándula adrenal, tejidos en los que se observó que la expresión del gen de la resistina es específica del tejido, ya que la expresión del ARNm de la hormona fue mayor en el tejido adiposo blanco y pardo de los machos respecto a las hembras (Fig. 3). Sin embargo, en el resto de tejidos donde la resistina fue localizada, los niveles de la hormona entre ambos sexos fueron muy similares. Además, tras el ayuno, la expresión de la resistina sólo disminuyó en el tejido adiposo blanco, pero no en los demás tejidos.³² Otro de los tejidos donde se ha localizado la expresión de la resistina es el testículo,³³ un tejido en el cual se

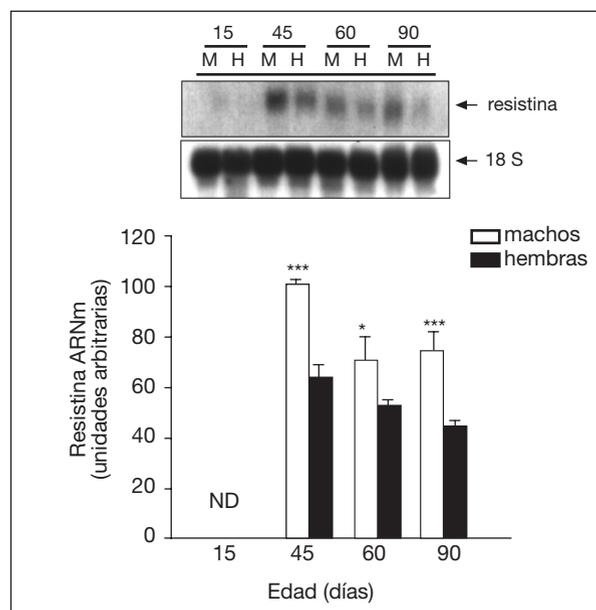


Figura 3. Northern blot representativo de la cantidad de ARNm de la resistina en tejido adiposo blanco durante el desarrollo posnatal en ratas machos y hembras (zona superior). Representación gráfica del análisis de la densidad óptica del ARNm (zona inferior). *P< 0,05, ***P< 0,001, ND: no detectable.

ha demostrado la expresión de otras hormonas involucradas en la regulación de la homeostasis metabólica.³⁶ La resistina se localiza en las células de Leydig, las células de Sertoli y los túmulos seminíferos, y su expresión se encuentra regulada por las gonadotropinas hipofisarias, tales como la gonadotropina coriónica humana (hCG) y la hormona estimuladora del folículo (FSH), los ligandos del PPAR γ y el estado nutricional. En este trabajo también se demostró que la resistina estimula la secreción de testosterona, sugiriendo así que esta hormona puede estar involucrada en la relación que existe entre homeostasis energética y reproducción.

Expresión de la resistina en respuesta a fármacos antidiabéticos

Si la resistina fuese responsable de la patogénesis de la resistencia a la insulina, uno esperaría que los agentes sensibilizadores de la insulina disminuyeran la expresión de la resistina. De acuerdo con esta hipótesis, el ARNm y la proteína de la resistina disminuyeron tras la administración de TZD en los adipocitos 3T3-L1.⁹ De manera similar, la sobreexpresión de PPAR γ en los adipocitos disminuyó la expresión tanto del mensajero como de la proteína. Sin embargo, los efectos de las TZD sobre la expresión de la resistina *in vivo* son bastante controvertidos, ya que existen estudios que demuestran el incremento de la expresión de la resistina tras la administración de TZD, mientras que otros señalan su disminución. Por otro lado, la metformina, un agente sensibilizante a la insulina que actúa de manera diferente a las TZD, incrementa la expresión de la proteína de la resistina en el tejido adiposo de los ratones *db/db*. Los niveles de ARNm de la resistina humana se mantuvieron invariables en los monocitos humanos en respuesta al tratamiento durante 24 horas con rosiglitazona. Sin embargo, en los macrófagos derivados de monocitos tanto el ARNm como la proteína de la resistina disminuyeron después de 96 horas de tratamiento con rosiglitazona.

Acciones biológicas de la resistina

La neutralización de la resistina mediante la administración de inmunoglobulina- γ antiresistina provoca una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre de roedores con resisten-

cia a la insulina inducida por la dieta, mientras que los ratones tratados con resistina recombinante disminuyeron la sensibilidad a la insulina. El tratamiento de adipocitos 3T3-L1 con resistina también disminuye el transporte de glucosa estimulado por la insulina.⁹ Sin embargo, el mecanismo mediante el cual la resistina provoca esta inhibición tanto *in vivo* como *in vitro* es desconocido.

Los resultados anteriores se confirmaron cuando se administró resistina recombinante vía intraperitoneal, lo cual provocó un empeoramiento de la tolerancia a la glucosa en los ratones. Sin embargo, el incremento de la resistina circulante estimuló la producción de glucosa sin variar los niveles fisiológicos de insulina, ni la sensibilidad a la insulina periférica.³⁷ En contraste con estas observaciones, otro estudio demostró que en cultivos *in vitro* de adipocitos humanos la resistina no se expresa en cantidades significativas, por lo que se sugiere que otro factor secretado por el tejido adiposo es el responsable de la resistencia a la insulina.³⁸ Pero hay que señalar que estas condiciones *in vitro* son muy diferentes de las que sufren los productos de secreción de los adipocitos *in vivo*.

Existe un estudio en el que se demostró que existe un efecto directo de la resistina sobre el transporte de glucosa estimulado por insulina en las células del músculo esquelético L6.³⁹ En este trabajo se observó que la incubación con resistina recombinante en células L6 inhibió selectivamente el transporte de glucosa mediante la alteración de la translocación de Glut4 y de los componentes de la vía de señalización de la insulina que se sabe que están mediados por el transporte de glucosa estimulado por insulina. Sin embargo, la incubación con resistina no afectó a la capacidad de la insulina para fosforilar el receptor y uno de sus sustratos, el IRS-1 asociado a la actividad PI3-quinasa y a la activación/fosforilación de Akt. A pesar de todo, este estudio no excluye la posibilidad de que la resistina actúe inhibiendo vías de señalización independientes de la PI3-quinasa que puedan estar mediadas por el transporte de glucosa inducido por insulina.³⁹

Resistina y homeostasis de la glucosa

Cuando la resistina se administró intraperitonealmente a ratones, la homeostasis de la glucosa y la acción de la insulina empeoraron. La infusión

de resistina a ratas Sprague-Dawley también disminuyó la homeostasis de la glucosa debido al incremento de la producción de glucosa hepática, sin cambios aparentes en la utilización de glucosa por el músculo o el tejido adiposo blanco. Además, los niveles circulantes de otras hormonas como el glucagón no se alteraron tras el tratamiento con resistina. En otro estudio, la incubación con resistina inhibió el transporte de glucosa en células musculares L6 tras una administración aguda,³⁹ confirmando así los resultados obtenidos previamente en adipocitos.⁹ En los ratones que no poseen el gen de la resistina,⁴⁰ se ha observado que los niveles de glucosa después de 4 a 6 horas de ayuno fueron un 30% menores que en los animales alimentados con una dieta estándar o con una dieta rica en grasa. La administración de resistina a los ratones $-/-$ alimentados con una dieta rica en grasa reestableció los niveles circulantes de glucosa hasta alcanzar unos valores casi iguales que los ratones $+/+$ alimentados con una dieta rica en grasa.

En otro estudio se ha demostrado que la sobreexpresión de resistina en ratones transgénicos incrementa los niveles de lípidos circulantes y en el músculo esquelético, empeora el metabolismo de la glucosa produciendo intolerancia a la glucosa, sin que varíen los niveles circulantes de resistina, insulina o leptina.⁴¹

En otro estudio, donde la hiperresistinemia se provocó mediante la inyección de adenovirus, se produjo una intolerancia a la glucosa y una hiperinsulinemia posprandial, asociadas con una disminución de la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético, hígado y tejido adiposo blanco.⁴²

Por último, se sabe que la dieta rica en grasa incrementa de manera significativa los niveles plasmáticos de resistina, mientras que la administración de un oligodeoxinucleótido que bloquea la expresión de la resistina mejora la acción de la insulina hepática en los ratones alimentados con una dieta rica en grasa. Además, la normalización de los niveles de resistina también disminuyó la producción de glucosa en los ratones alimentados con ese tipo de dieta.⁴³

Regulación de la resistina

Existen diferentes factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia a la insulina, la cual es

un marcador de la diabetes tipo 2, de forma que muchos de estos factores han sido utilizados para el estudio de la regulación de la expresión del gen de la resistina en modelos de roedores.

Efectos de la glucosa y la insulina

Estudios *in vitro* han demostrado que la insulina tiene un gran efecto supresor sobre la síntesis del ARNm de la resistina en los adipocitos 3T3-L1, y esto ocurre con concentraciones de insulina por debajo de los niveles fisiológicos.⁴⁴ Estos resultados fueron confirmados posteriormente, y además del efecto inhibitorio que la insulina ejercía sobre la expresión de la resistina, también se observó que niveles elevados de glucosa aumentan la expresión de la resistina.⁴⁵ En la diabetes humana, el estado prediabético suele ir acompañado por hiperglucemia e hiperinsulinemia.⁴⁶ Consecuentemente, se desconoce cómo es regulada la resistina en estos estadios, ya que tanto la hiperglucemia como la hiperinsulinemia regulan opuestamente la expresión de la resistina. Alternativamente, también es posible que la resistencia a la insulina refleje la poca capacidad de la insulina para suprimir la expresión de la resistina por los adipocitos durante la diabetes tipo 2. En estadios tardíos de la enfermedad, que están marcados por hiperglucemia e hipoinsulinemia, se esperaría que la síntesis de resistina fuese estimulada, contribuyendo así a la resistencia a la insulina inducida por la hiperglucemia.

Sin embargo, estudios *in vivo* han demostrado que la insulina estimula la expresión del gen de resistina en ratas Zucker,⁴⁷ ocurriendo lo mismo en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina.¹⁰ Esta contradicción refleja las enormes diferencias existentes entre las líneas celulares de adipocitos y el tejido adiposo, o entre los efectos directos e indirectos de la hormona. Por tanto, los cambios patológicos que existen en este tipo de roedores diabéticos conducen a una respuesta anormal tras la administración de insulina exógena.

Por otro lado, un trabajo realizado con dos modelos de roedores transgénicos que sobreexpresan IGFBP-3 (*insulin growth factor binding protein-3*) y que por tanto son hiperglucémicos, intolerantes a glucosa y resistentes a la insulina, mostró que los niveles de ARNm de la resistina no varían en el tejido adiposo de estos animales respecto a sus controles.⁴⁸

Efectos de la obesidad y de la ingesta

Existen fuertes contradicciones acerca de los niveles de expresión del gen de la resistina en modelos de roedores obesos, ya que se ha demostrado que los niveles de resistina en suero son altos en ratones con obesidad inducida por la diabetes,⁹ aunque sorprendentemente los niveles de ARNm son bajos en el tejido adiposo de los animales obesos (*ob/ob*, *db/db*, *tub/tub*, *KKA^y*).⁴⁷ Sin embargo, es importante comentar que este estudio, al igual que otros que obtuvieron resultados similares, sólo tuvieron en cuenta la expresión del ARNm de la resistina por unidad de masa, sin hacer una correlación con la masa de tejido adiposo total.

En el primer trabajo que se estudió la regulación de la expresión de resistina, se observó que los niveles en suero de esta hormona eran elevados en ratones alimentados con una dieta rica en grasas. De igual modo, los ratones *ob/ob* y *db/db*, que son obesos y diabéticos, tenían niveles de resistina elevados en el suero.⁹ Sin embargo, en otro estudio se observó que el ARNm de la resistina está regulado negativamente en roedores obesos⁴⁹ ya que sus niveles disminuyen en ratones obesos hiperfágicos inyectados con tioglucosa, lo cual concuerda con los resultados obtenidos casi simultáneamente por otros grupos en diferentes modelos de ratones obesos.^{47,50}

La expresión del gen de la resistina está inhibida como consecuencia de los cambios ocurridos durante el desarrollo del tejido adiposo, ya que en ratones transgénicos que sobreexpresan el receptor adrenérgico $\alpha 2A$ ($\alpha 2A$ -AR) y que son muy sensibles a una dieta alta en grasas y, por lo tanto, desarrollan una hiperplasia en los adipocitos, la expresión de la resistina está inhibida.⁴⁹ Sin embargo, en este modelo, la sensibilidad a la insulina no se modificó. Lo que se observó es que la inhibición de la resistina sólo ocurría en animales con sobrepeso, ya que en un modelo de ratones denominado *FVB/n strain* que son muy resistentes a una dieta alta en grasas, y que por lo tanto no experimentan sobrepeso con este tipo de dieta, los niveles de resistina no se vieron afectados. Por tanto, según este trabajo, los ácidos grasos no controlan la expresión de la resistina directamente.⁴⁹ La principal diferencia entre este trabajo y el resto es el uso de células grasas aisladas en vez de tejido adiposo, lo cual podría explicar los resultados tan contradic-

torios, ya que durante la obesidad los tipos de células del tejido adiposo varían considerablemente.⁴⁹ Por el contrario, ratas con resistencia a la insulina inducida por fructosa tenían unos niveles de resistina más bajos que los controles debido al aumento de los ácidos grasos libres y a un aumento del tamaño de las células del tejido adiposo.⁵¹

Las ratas Fischer 344 se usan como modelo de resistencia a la insulina inducida por la edad, ya que estos animales ganan más grasa que las ratas Sprague-Dawley, y este aumento de grasa ocurre a edades jóvenes.⁵² Este tipo de rata parece ser un buen modelo para el estudio de la diabetes tipo 2 en humanos ya que presentan resistencia a la leptina sin desarrollar obesidad mórbida, y desarrollan la diabetes en los estadios tardíos de la vida. En este modelo animal se observó que la expresión del gen de la resistina no estaba involucrada en la resistencia a la insulina porque, aunque la expresión de la hormona se incrementaba proporcionalmente a la ganancia de grasa, los animales no se volvían más resistentes a la insulina en este mismo período.⁵²

Efectos del sistema nervioso

El sistema nervioso autónomo ejerce una acción directa a nivel celular y molecular sobre los niveles de tejido adiposo.⁵³ Existen evidencias fisiológicas y neuroanatómicas que demuestran la existencia de inervaciones simpáticas en el tejido adiposo, y además se ha sugerido un papel para el sistema nervioso autónomo en la lipólisis.⁵⁴ Sin embargo parecía que la inervación parasimpática estaba ausente. En los estados de elevado gasto energético (estado catabólico) el sistema nervioso simpático es predominante,⁵⁵ mientras que en los estados de almacenamiento energético (estado anabólico) el sistema nervioso parasimpático prevalece.⁵⁶ Recientemente, se ha demostrado que tanto la expresión de la leptina como de la resistina disminuyen en ratas vagotomizadas, sugiriendo la existencia de una estimulación de la liberación de estas dos hormonas por el nervio vago.⁵⁷ Estos resultados implican que el tejido adiposo está regulado también por el sistema nervioso parasimpático, indicando su potencial como estimulador del transporte de glucosa y ácidos grasos libres y el crecimiento del tejido adiposo. Por tanto, el sistema parasimpático podría mediar la etiología de la obesidad por la regulación

directa de los estadios metabólicos del tejido adiposo.

Existen evidencias de que un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático contribuye a la resistencia de la insulina, y se ha demostrado que la estimulación β -adrenérgica disminuye la expresión del gen de la resistina en los adipocitos 3T3-L1 de manera dosis-dependiente.⁵⁸

A nivel molecular, la estimulación β -adrenérgica es un fuerte activador de la lipólisis, lo cual conduce al incremento de la concentración de ácidos grasos libres. Estos ácidos grasos libres conducen parcialmente a la resistencia a la insulina, ya que inhiben su señalización.⁵⁹ En el tejido adiposo de roedores, los receptores β -adrenérgicos predominantes en la estimulación de la lipólisis son el subtipo β_3 , y los agonistas del adrenoceptor β tienen un potente efecto inhibitorio sobre la expresión del gen *ob* y la producción de leptina en este tejido.^{60,61} El isoproterenol, un agonista de los receptores β -adrenérgicos, disminuye la expresión de la resistina en los adipocitos 3T3-L1.⁶² Así que parece que

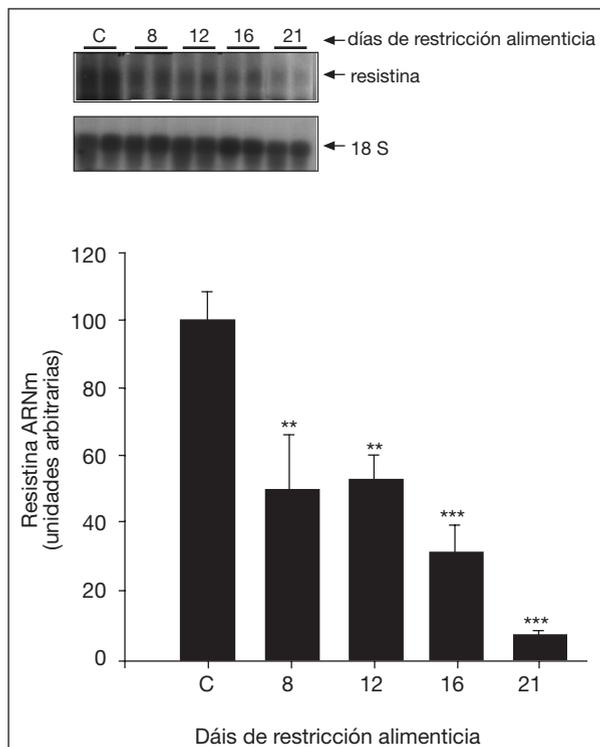


Figura 4. Northern blot representativo de la cantidad de ARNm de resistina en ratas hembras adultas sometidas a una restricción alimenticia (30%) durante distintos tiempos (zona superior). Representación gráfica del análisis de la densidad óptica del ARNm (zona inferior). ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

hay un efecto dual de la estimulación β -adrenérgica: por una parte, la activación de receptores β -adrenérgicos induce resistencia a la insulina y, por otra parte, la sensibilidad a la insulina debería disminuir por la inhibición de la expresión del gen de la resistina. El efecto del isoproterenol sobre la resistina está mediado por el aumento de los niveles intracelulares de AMPc. Puede que la lipólisis en respuesta a los niveles intracelulares de AMPc juegue un papel en la regulación de la expresión de la resistina, ya que los niveles de expresión de esta hormona están inhibidos por el ayuno y la restricción alimentaria (Figs. 4 y 5), algo que acompaña al incremento de la lipólisis y por tanto, al aumento de la concentración de ácidos grasos libres. De manera similar, se ha demostrado que la reducción de ácidos grasos libres citosólicos debido a una acción antilipolítica de la insulina incrementa los niveles de ARNm de la resistina.¹⁰

Sin embargo, en el trabajo realizado por Haugen y cols.³⁵ no se observó ningún efecto de los agonis-

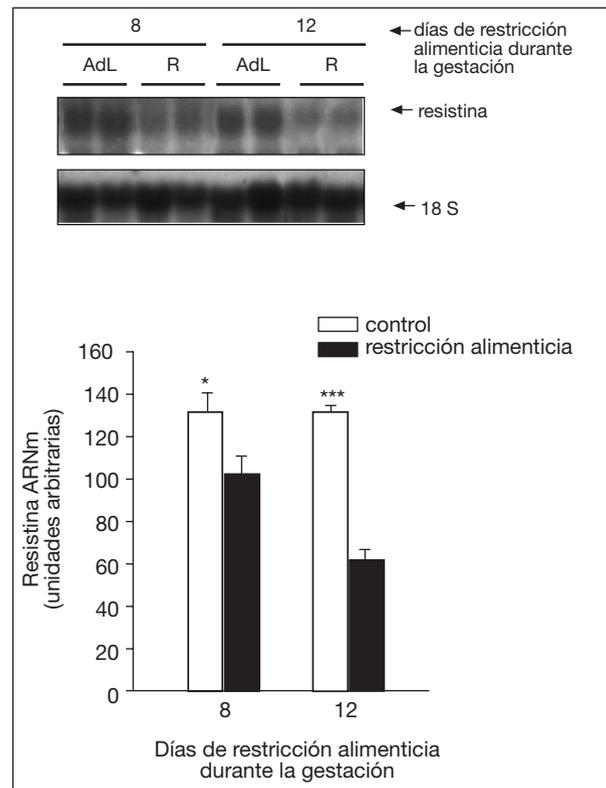


Figura 5. Northern blot representativo de la cantidad de ARNm de la resistina en ratas gestantes sometidas a una restricción alimenticia (30%) durante distintos tiempos (zona superior). Representación gráfica del análisis de la densidad óptica del ARNm (zona inferior). * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

tas β_3 -adrenérgicos sobre la expresión de la resistina en adipocitos 3T3-L1, lo cual sugiere que el efecto regulador de las catecolaminas sobre la producción de la resistina no opera mediante receptores β_3 -adrenérgicos. Esta pérdida de respuesta de los agonistas β_3 -adrenérgicos implicaría que los efectos del isoproterenol observados en el trabajo citado anteriormente, ocurren vía adrenorreceptores β_1 o β_2 .

En el estudio realizado en adipocitos 3T3-L158 también se observó un incremento en los niveles del ARNm de la resistina después del tratamiento con dexametasona, lo cual implica que los glucocorticoides aumentan la expresión de la resistina. Este resultado coincide con la inducción de resistencia a la insulina por un exceso de glucocorticoides.⁶³ La dexametasona también incrementa la expresión de la resistina *in vivo*.⁴⁵ Los glucocorticoides inducen resistencia a la insulina ya que afectan a la capacidad de unión de la insulina, a la fosforilación del IRS-1 y al transportador de glucosa.⁶⁴⁻⁶⁷

Efectos de otros factores involucrados en la resistencia a la insulina

TNF α

Algunos estudios han demostrado que el TNF α induce resistencia a la insulina y que los niveles en suero de esta citoquina son elevados en humanos y roedores obesos.²⁰ Sorprendentemente, el TNF α inhibe tanto la expresión del gen de la resistina como la secreción de la proteína, lo cual sugiere que la resistina debe estar inhibida en estados asociados con elevados niveles de TNF α tales como la obesidad.⁶² Al igual que el isoproterenol, el TNF α también activa la vía proteína quinasa A (PKA), así que es posible que ambos factores inhiban la expresión de la resistina a través de las mismas moléculas de señalización.

Endotelina

Péptido de 21 aminoácidos que posee actividad vasoconstrictora, mitogénica y diferentes propiedades metabólicas.^{68,69} Se han encontrado niveles elevados de endotelina en numerosas enfermedades, entre las que se incluyen la obesidad y la diabetes.⁷⁰ La exposición crónica de adipocitos 3T3-L1 a endotelina inhibió la secreción de resistina,⁷¹

mientras que la insulina provocó el efecto contrario. Sin embargo, la administración aguda tanto de endotelina como de insulina provocó un incremento en la secreción de resistina de manera dosis-dependiente.

Lipopolisacárido

La administración de lipopolisacárido induce hiperglucemia y resistencia a la insulina en ratas⁷² y humanos.⁷³ Sin embargo, el mecanismo mediante el cual produce estos efectos todavía no se ha elucidado. Mientras en un estudio la expresión de la resistina se incrementó después de la administración de lipopolisacárido,⁷⁴ en otro trabajo se ha observado que existe una disminución de la expresión de la resistina en el tejido adiposo de ratones tras la administración de lipopolisacárido.⁷⁵ Estos resultados contradictorios podrían deberse a las diferentes dosis o períodos de tratamiento utilizados. La administración sistemática de lipopolisacárido incrementa la liberación de diferentes citoquinas y otros mediadores celulares, tales como el TNF- α , la IL-1 y la IL-6.⁷⁶ Es posible que el aumento de los valores de resistina tras la administración de LPS en monocitos ocurra mediante alguno de estos factores. Del mismo modo, los mecanismos que conducen al incremento de los niveles de resistina provocados por el lipopolisacárido tampoco se conocen.

Glucocorticoides y hormonas tiroideas

El exceso de glucocorticoides está asociado con un empeoramiento de la sensibilidad a la insulina, y se ha demostrado que la administración de los mismos a roedores incrementó la expresión del ARNm de la resistina en el tejido adiposo.⁴⁶ En este sentido, la adrenalectomía incrementa la sensibilidad a la insulina en ratones *ob/ob*, y se ha observado que la extracción de las glándulas adrenales tanto en ratones normales como en *ob/ob* provocó un incremento en los niveles tanto de resistina como de adiponectina.⁷⁷ Por tanto, este trabajo sugiere que ambas hormonas están reguladas de la misma manera y que la resistina no es responsable de la resistencia a la insulina, al menos en los ratones adrenalectomizados.

Por otro lado, la alteración de los niveles de hormonas tiroideas regula tanto la secreción como la

sensibilidad a la insulina. Los niveles del gen de la resistina se incrementaron en las ratas hipotiroideas y disminuyeron en las ratas hipertiroideas, sugiriendo que la mejoría de la sensibilidad a la insulina que se observa en ratas obesas tras el tratamiento con hormona tiroidea exógena podría estar mediada por la resistina.⁷⁸

Efectos de la gestación y la lactancia

La gestación es un estado hipermetabólico en el cual tanto la ingesta como el peso corporal se incrementan de manera muy marcada. Además, durante la gestación se producen cambios en la sensibilidad a la insulina que pueden provocar diabetes gestacional. Se ha observado que la expresión del ARNm de la resistina se incrementa significativamente durante la primera mitad de la preñez, mientras que disminuye en la segunda mitad, sugiriendo que el estado de resistencia a la insulina presente durante la primera parte de la gestación podría estar mediado por la resistina.⁷⁸

Se estima que la lactancia en los roedores provoca una pérdida de aproximadamente el 70% de las reservas de tejido adiposo. El rápido decrecimiento de los almacenes energéticos durante la lactancia podría atribuirse al incremento de la lipólisis y la disminución de la lipogénesis, ya que se sabe que durante este período las concentraciones de insulina en suero disminuyen,⁷⁹ mientras que los adipocitos se vuelven resistentes a la insulina, la actividad del sistema nervioso simpático en el tejido adiposo se incrementa y disminuye la actividad lipoproteína lipasa y la síntesis de enzimas y de ácidos grasos.⁸⁰ A pesar de todos estos hechos, los niveles de ARNm de resistina en el tejido adiposo no variaron en los animales lactantes, por tanto, la resistina no está asociada con los cambios metabólicos lipídicos durante la lactancia y no parece tener un papel relevante en los cambios en la sensibilidad a la insulina que ocurren en los animales lactantes.⁸¹

Efectos de los fármacos antidiabéticos

Agonistas de PPAR γ

Las TZD aumentan la sensibilidad a la insulina de los tejidos diana,⁸² en donde actúan como ligandos de alta afinidad para el receptor nuclear par-

ticularmente abundante en las células del tejido adiposo llamado receptor activado por proliferación de peroxisomas- γ (PPAR γ).⁸³ Es probable que el PPAR γ sea la diana de las acciones antidiabéticas de las TZD, ya que: a) existe una fuerte correlación entre la unión del PPAR γ *in vitro* y la disminución de los valores de la glucosa *in vivo*;⁸⁴ b) los activadores de la pareja del heterodímero PPAR γ , el receptor retinoico X, también tienen propiedades antidiabéticas;⁸⁵ c) pacientes heterocigotos para el alelo dominante negativo del PPAR γ tienen resistencia a la insulina, lo cual implica que existe una relación entre el PPAR γ y la diabetes.⁸⁶

El PPAR se encuentra como un heterodímero con otro receptor nuclear, el receptor X del ácido retinoico (RXR). Un correceptor adicional en este complejo sirve para mantener al receptor en estado inactivado. La unión de este complejo al ligando induce un cambio conformacional, desplazando al correceptor y posibilitando así la unión de un coactivador. El receptor activado interactúa con secuencias específicas del ADN y como consecuencia activa o inhibe la transcripción de algunos genes. Aunque la identidad de los elementos de respuesta a las TZD en los genes que están involucrados en la recuperación de la sensibilidad a la insulina no se conocen, se han encontrado varias secuencias de respuesta del PPAR.⁸⁷ Algunos estudios han demostrado que el PPAR γ se expresa principalmente en el tejido adiposo, mientras que en el resto de tejidos los niveles detectados fueron mucho más bajos.⁸⁸

Existen grandes contradicciones acerca de la expresión del gen de la resistina como respuesta a agonistas de los PPAR. Desde el descubrimiento de la resistina, varios artículos se han ido sucediendo en el estudio de diferentes fármacos antidiabéticos y han expuesto resultados totalmente opuestos, dependiendo del modelo de estudio. Así, en animales *ob/ob* y *db/db* se observa una disminución de los niveles de resistina después del tratamiento con TZD.^{9,51} Por otra parte se ha demostrado que el tratamiento de animales *ob/ob* con agonistas de PPAR γ provocó un aumento en la expresión del ARNm de la resistina en el tejido adiposo.⁴⁷ Finalmente, en un trabajo realizado *in vitro* se demostró que la incubación de adipocitos en medios que contienen agonistas específicos del PPAR γ provocaron una disminución de la expresión del gen de la resistina.³⁵

Metformina

La metformina es un fármaco que incrementa la sensibilidad a la insulina. El tratamiento con este fármaco mejoró la hiperglucemia y la hiperinsulinemia en los ratones diabéticos *ob/ob*. Sin embargo, los resultados observados indican que la expresión de la proteína de resistina en el tejido adiposo se incrementa tras el tratamiento con metformina.⁸⁹ Por tanto parece que la resistina actuase mejorando la resistencia a la insulina y no provocándola. En contraste, el tratamiento con insulina en los ratones *db/db*, aunque también provocó una mejora de la hiperglucemia, no provocó cambios significativos en la expresión de la resistina. Tanto los animales tratados como los controles *ob/ob* eran hiperinsulinémicos, lo cual sugiere que la expresión de la resistina en el tejido adiposo es inhibida por la hiperinsulinemia.⁸⁹

Efectos de la prolactina y la hormona de crecimiento

Prolactina

La prolactina es una hormona diabetógena, por tanto la hiperprolactinemia produce intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina tanto en humanos como en roedores.⁹⁰⁻⁹² Se ha demostrado que la expresión del ARNm de la resistina es mayor en los machos transgénicos para la prolactina que en las hembras transgénicas.⁹³ Además de tener los niveles de prolactina en suero elevados, los machos transgénicos también tienen elevados niveles de testosterona. La razón de esto es que la prolactina estimula la expresión del receptor de la hormona luteinizante (LH-R) en las células de Leydig en el testículo de roedores, resultando un incremento en la producción de testosterona.^{94,95} Al normalizar estos niveles de testosterona, la expresión del ARNm de la resistina respecto a los controles no varió; por tanto, los niveles de testosterona deben de ser altos para que se produzca el incremento de la expresión de la resistina en machos transgénicos para la prolactina.

Hormona de crecimiento

El tratamiento con hormona de crecimiento (GH) en ratas *spontaneous dwarf* (deficientes en GH), in-

crementa de manera rápida y sustancial la expresión de la resistina en el tejido adiposo blanco. La rapidez con la cual la GH ejerce su efecto implica que esta hormona podría actuar directamente sobre la transcripción de la resistina.⁹⁶ Aunque previamente no se había encontrado ningún efecto de la GH sobre la expresión de la resistina en adipocitos diferenciados 3T3-L1,⁵⁸ la GH *in vivo* sí ha provocado efectos. Esto puede ser debido a que la GH ejerce su principal efecto sólo durante la fase temprana de diferenciación, después de la cual la insulina y otros factores predominan en el proceso.⁹⁷ Otra prueba de esto es que los preadipocitos humanos aislados expresaban resistina sólo durante la transición preadipocito-adipocito, y luego los niveles de ARNm de la hormona decaían gradualmente cuando las células se diferenciaban completamente.⁹⁸

Vitamina A

La vitamina A es un nutriente con importantes efectos sobre el desarrollo y el metabolismo del tejido adiposo. El ácido retinoico, su forma ácido carboxílica, promueve o inhibe la adipogénesis de células preadipocíticas en cultivo dependiendo de la dosis. Además, tanto el ácido retinoico como la vitamina A afectan a la adiposidad corporal y la expresión de factores de transcripción adipogénicos y lipogénicos en los roedores. Se ha demostrado que la administración de ácido retinoico a ratones normales reduce la expresión de ARNm de la resistina en el tejido adiposo, reduce los niveles circulantes de resistina, el peso corporal y mejora la tolerancia a la glucosa. La expresión de la resistina en roedores también disminuyó tras una dieta suplementada con vitamina A, sugiriendo que esta vitamina puede ejercer sus acciones mediante la resistina.⁹⁹

Resistina en humanos

Para examinar la posibilidad de que la resistina podría ser una posible causa de la resistencia a la insulina en humanos, se ha estudiado la expresión del gen de la resistina en diferentes tejidos y, sorprendentemente, se ha comprobado que esta hormona se expresa en células sanguíneas mononucleares, pero sus niveles de expresión son extremadamente bajos o indetectables tanto en el tejido adiposo como en el músculo.^{100,101} En un princi-

pio no se encontraron diferencias de expresión del gen entre el tejido adiposo de individuos normales, resistentes a la insulina y diabéticos tipo 2, lo cual sugería que la producción de resistina por las células del tejido adiposo no era la responsable de la resistencia a la insulina en humanos.¹⁰⁰ Sin embargo, en otro estudio se ha observado que mientras el ARNm de la resistina no fue detectado en el tejido adiposo de individuos sanos, sí fue detectable en el tejido adiposo de sujetos obesos.¹⁰² A pesar de esto, no se encontró relación alguna entre la adiposidad y la expresión del ARNm de la resistina en adipocitos aislados, lo que indica que el incremento de los niveles de resistina en el tejido adiposo blanco de individuos obesos es debido a que la resistina se expresa en otro tipo celular del tejido adiposo diferente a los adipocitos. Esto llevó a los investigadores a estudiar la expresión de la resistina en diferentes tipos celulares del tejido adiposo, demostrando que sus niveles eran indetectables en los preadipocitos, en preadipocitos diferenciados *in vitro* y en el endotelio vascular; sin embargo, los niveles de ARNm de la resistina fueron más elevados en el estroma vascular de las biopsias de tejido adiposo,¹⁰² lo cual contrastaba con lo encontrado en el tejido adiposo de roedores.¹⁰ Otro estudio que obtuvo resultados contrarios a los presentados en roedores fue el de Janke y cols., quienes observaron una expresión elevada del gen de la resistina en preadipocitos humanos, expresión que disminuía durante la diferenciación adipogénica. Este resultado era totalmente contrario a lo observado en ratones, ya que en estos la expresión de la resistina se incrementaba durante la diferenciación adipogénica de la línea celular 3T3-L1. Además, tampoco se encontró relación alguna entre la resistencia a la insulina y la expresión del gen de la resistina en adipocitos abdominales humanos.⁹⁸

La expresión de la resistina en el tejido adiposo subcutáneo y visceral de sujetos obesos es muy similar, lo que sugiere que la resistina es incapaz de explicar la relación entre la grasa visceral y la resistencia a la insulina. Por lo tanto, es posible que la relación entre obesidad, expresión de la resistina en tejido adiposo, resistencia a la insulina y la influencia de los agonistas del PPAR γ sobre esta hormona en roedores no se puedan trasladar a los humanos.¹⁰² Además, aunque la expresión de la resistina en el tejido adiposo de sujetos obesos es mayor que en

sujetos normales, tampoco existe una correlación entre el índice de masa corporal y la expresión de la resistina en los adipocitos. Una explicación para esto es que en el tejido adiposo de sujetos obesos se almacena una gran proporción de células mononucleares (monocitos, macrófagos y linfocitos).¹⁰²

En estudios realizados con posterioridad, la grasa abdominal y omental presentaron niveles similares de ARNm de la resistina,¹⁰³ mayores que en el resto de depósitos de grasa. Por lo tanto, este trabajo sugería que esta hormona sí que está relacionada con el riesgo que un exceso de grasa visceral conlleva en la diabetes tipo 2. Un segundo trabajo de este grupo confirmó la expresión del ARNm y proteína en el tejido adiposo humano, mientras que esta expresión no se encontró en las células mononucleares sanguíneas.¹⁰⁴ Además, la expresión de la resistina era mucho mayor en el tejido adiposo de pacientes obesos.

En estudios realizados en cultivos primarios de adipocitos humanos se ha encontrado que hay ARNm de la resistina en adipocitos de humanos obesos, pero no en adipocitos de pacientes normales,¹⁰⁵ lo cual apoya los resultados obtenidos previamente.¹⁰² En este estudio se concluye que la resistina es sintetizada y liberada a niveles elevados por células no adipocíticas del tejido adiposo humano, y esto podría deberse a la elevada concentración de células mononucleadas en el tejido adiposo. Sin embargo, no se encontró una correlación entre la liberación de resistina y adiponectina en los cultivos primarios humanos, sugiriendo que existe una regulación diferencial respecto a los roedores.

Los altos niveles de expresión de resistina en la médula ósea llevaron a examinar la expresión del ARNm de la hormona en células mononucleares circulantes, llamadas macrófagos derivados de monocitos.¹⁰¹ En concordancia con trabajos anteriores, Savage y cols. encontraron que el ARNm de la resistina se incrementaba durante la diferenciación de monocito a macrófago, y que el tratamiento a corto plazo con rosiglitazona no afectaba a la expresión de la resistina.¹⁰² Sin embargo, un tratamiento con rosiglitazona a largo plazo disminuyó los niveles de ARNm y de proteína de la hormona. La curva de respuesta de la expresión y síntesis de la resistina al incremento de las concentraciones de rosiglitazona fue bifásica. Este patrón es diferente a otros como la metaloproteínasa-9, cuya ex-

presión es suprimida en los macrófagos por la rosiglitazona.¹⁰¹ Esto indica que otros factores están involucrados en la regulación de la expresión de la resistina en los macrófagos humanos.

Los estudios farmacológicos realizados con anterioridad en monocitos y adipocitos humanos de pacientes con un defecto genético en el PPAR γ no habían apoyado la hipótesis de que la expresión de la resistina humana estuviese directamente regulada por la acción del PPAR γ .¹⁰² Sin embargo, análisis bioinformáticos identificaron diferentes elementos de respuesta a los PPAR (PPRE) en la secuencia del ADN genómico en la zona anterior al lugar de transcripción de la resistina. De todos ellos, sólo uno, el PPRE2, tiene capacidad de unión al PPAR γ . El mecanismo preciso por el cual el PPAR γ disminuye la expresión de resistina no se conoce. Esta regulación directa de la secreción de resistina por el PPAR γ puede ser una prueba de la unión entre la proteína y la diabetes tipo 2. Lo que parece claro es que si la resistina se expresa abundantemente en células mononucleares, esta hormona debe jugar un papel muy importante en la función monocito-macrófago, como sugiere el hecho de que el gen sea inducido durante la diferenciación y que la adquisición del fenotipo del macrófago coincida con el patrón de expresión de citoquinas tales como TNF α e IL-6, que están íntimamente involucradas en el proceso inflamatorio arteroesclerótico.¹⁰¹ Recientemente, también se ha observado que los niveles circulantes de resistina son elevados en pacientes con enfermedades cardiovasculares.¹⁰⁶

Por último, se ha observado la expresión de ARNm y proteína de la resistina en placenta. Esta expresión se localizó principalmente en células del trofoblasto durante el primer mes de embarazo y en células del sincitiotrofoblasto en placentas a término. Además, los niveles de esta hormona en el plasma de mujeres gestantes fueron mayores que en mujeres no gestantes. Esto sugiere la posibilidad de que la placenta puede secretar resistina a la circulación materna, ya que la expresión de la resistina en el tejido adiposo de mujeres gestantes no es diferente a la expresión en mujeres no gestantes.¹⁰⁷

Conclusiones

En resumen, podemos afirmar que en roedores parece estar claro el papel de la resistina en la re-

sistencia a la insulina. Sus niveles circulantes se incrementan durante la obesidad, su bloqueo mejora la homeostasis de la glucosa y su administración ejerce un efecto negativo sobre los tejidos diana de la insulina. Además, en los roedores la resistina se expresa principalmente en el tejido adiposo blanco y se encuentra regulada por diferentes factores que afectan a la sensibilidad a la insulina (fármacos antidiabéticos, glucocorticoides, hormonas tiroideas, etc.). Además de estas funciones, la resistina posee la capacidad de incrementar los niveles de testosterona, pudiendo ser un factor que esté relacionado tanto con la homeostasis energética como en funciones sobre el sistema de reproducción.

En humanos, sin embargo, el papel de la resistina no está ni mucho menos esclarecido, y los trabajos publicados son bastante contradictorios. La falta de una técnica de detección fiable de los niveles de resistina circulantes, el desconocimiento de cuál es su receptor y el que ningún trabajo haya estudiado realmente el efecto de la administración de resistina en humanos pueden ser las causas del desconocimiento de la función de la resistina. De todos modos, parece que esta hormona podría ejercer algún papel en la respuesta inflamatoria y no estar involucrada en la resistencia a la insulina, dada su mayoritaria expresión en células mononucleares. En particular es necesario el esclarecer preguntas básicas como: ¿cuál es el receptor(es) de la resistina y cómo es su mecanismo de acción?, ¿cuál es el papel de la resistina en los humanos?, ¿está involucrada en la resistencia a la insulina o en la respuesta inflamatoria?, ¿cuáles serían las consecuencias biológicas que producirían el bloqueo o la administración de resistina en sujetos normales o en la gestación?

Bibliografía

1. Kopelman PG. Emerging management strategies for obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; **22**: S7-11.
2. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab* 2000; **11**: 327-32.
3. Casanueva FF, Diéguez C. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Front Neuroendocrinol* 1999; **20**: 317-63.
4. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; **372**: 425-32.
5. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995; **270**: 26746-9.
6. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose

- tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995; **95**: 2111-9.
7. Peinado-Onsurbe J, Blay M, Casadome L, Fernández-López JA, Remesar X, Alemany M. Effect of 24-h food deprivation on lipoprotein composition and oleoyl-estrone content of lean and obese Zucker rats. *Eur J Nutr* 2001; **40**: 155-60.
 8. Yin T, Miyazawa K, Yang YC. Characterization of interleukin-11 receptor and protein tyrosine phosphorylation induced by interleukin-11 in mouse 3T3-L1 cells. *J Biol Chem* 1992; **267**: 8347-51.
 9. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; **409**: 307-12.
 10. Kim KH, Lee K, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001; **276**: 11252-6.
 11. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, Nelson C, Lowman HB, Wright BD, Skelton NJ, Frantz GD, Tumas DB, Peale FV Jr, Shelton DL, Hebert CC. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *EMBO J* 2000; **19**: 4046-55.
 12. Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, Enders GH, Silberg DG, Wen X, Wu GD, Lazar MA. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 502-6.
 13. Gerstmayr B, Kusters D, Gebel S, Muller T, Van Miert E, Hofmann K, Bosio A. Identification of RELMγ, a novel resistin-like molecule with a distinct expression pattern. *Genomics* 2003; **81**: 588-95.
 14. Del Arco A, Peralta S, Carrascosa JM, Ros M, Andrés A, Arribas C. Alternative splicing generates a novel non-secretable resistin isoform in Wistar rats. *FEBS Lett* 2003; **555**: 243-9.
 15. Banerjee RR, Lazar MA. Dimerization of resistin and resistin-like molecules is determined by a single cysteine. *J Biol Chem* 2001; **276**: 25970-3.
 16. Husken-Hindi P, Tsuchida K, Park M, Corrigan AZ, Vaughan JM, Vale WW, Fischer WH. Monomeric activin A retains high receptor binding affinity but exhibits low biological activity. *J Biol Chem* 1994; **269**: 19380-4.
 17. Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene* 2003; **305**: 27-34.
 18. D'Souza SE, Ginsberg MH, Plow EF. Arginyl-glycyl-aspartic acid (RGD): a cell adhesion motif. *Trends Biochem Sci* 1991; **16**: 246-50.
 19. Buckley CD, Pilling D, Henríquez NV, Parsonage G, Threlfall K, Scheel-Toellner D, Simmons DL, Akbar AN, Lord JM, Salmon M. RGD peptides induce apoptosis by direct caspase-3 activation. *Nature* 1999; **397**: 534-9.
 20. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 2001; **104**: 531-43.
 21. Rosen ED, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands and atherosclerosis: ending the heartache. *J Clin Invest* 2000; **106**: 629-31.
 22. Wu Z, Rosen ED, Brun R, Hauser S, Adelmant G, Troy AE, McKeeon C, Darlington GJ, Spiegelman BM. Cross-regulation of C/EBP alpha and PPAR gamma controls the transcriptional pathway of adipogenesis and insulin sensitivity. *Mol Cell* 1999; **3**: 151-8.
 23. Christy RJ, Kaestner KH, Geiman DE, Lane MD. CCAAT/enhancer binding protein gene promoter: binding of nuclear factors during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 2593-7.
 24. Hartman HB, Hu X, Tyler KX, Dalal CK, Lazar MA. Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin. *J Biol Chem* 2002; **277**: 19754-61.
 25. Song H, Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y, Ono H, Inukai K, Fukushima Y, Kikuchi M, Shimano H, Yamada N, Oka Y, Asano T. Resistin is regulated by C/EBPs, PPAR, and signal-transducing molecules. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **299**: 291-8.
 26. Rosen ED, Hsu CH, Wang X, Sakai S, Freeman MW, González FJ, Spiegelman BM. C/EBPα induces adipogenesis through PPARγ: a unified pathway. *Genes Dev* 2002; **16**: 22-6.
 27. Cusi K, Maezono K, Osman A, Pendergrass M, Patti ME, Pratiapanawatr T, DeFronzo RA, Kahn CR, Mandarino LJ. Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase- and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest* 2000; **105**: 311-20.
 28. Lee JO, Yang H, Georgescu MM, Di Cristofano A, Maehama T, Shi Y, Dixon JE, Pandolfi P, Pavletich NP. Crystal structure of the PTEN tumor suppressor: implications for its phosphoinositide phosphatase activity and membrane association. *Cell* 1999; **99**: 323-34.
 29. Cho H, Mu J, Kim JK, Thorvaldsen JL, Chu Q, Crenshaw EB 3rd, Kaestner KH, Bartolomei MS, Shulman GI, Birnbaum MJ. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta). *Science* 2001; **292**: 1728-31.
 30. Morash BA, Wilkinson D, Ur E, Wilkinson M. Resistin expression and regulation in mouse pituitary. *FEBS Lett* 2002; **526**: 26-30.
 31. Viengchareun S, Zennaro MC, Pascual-Le Tallec L, Lombes M. Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. *FEBS Lett* 2002; **532**: 345-50.
 32. Nogueiras R, Gallego R, Gualillo O, Caminos JE, García-Caballero T, Casanueva FF, Diéguez C. Resistin is expressed in different rat tissues and is regulated in a tissue- and gender-specific manner. *FEBS Lett* 2003; **548**: 21-7.
 33. Nogueiras R, Barreiro ML, Caminos JE, Gaytan F, Suominen JS, Navarro VM, Casanueva FF, Aguilar E, Toppari J, Diéguez C, Tena-Sempere M. Novel expression of resistin in rat testis: functional role and regulation by nutritional status and hormonal factors. *J Cell Sci* 2004; **117**: 3247-57.
 34. Penfornis P, Viengchareun S, Le Menuet D, Cluzeaud F, Zennaro MC, Lombes M. The mineralocorticoid receptor mediates aldosterone-induced differentiation of T37i cells into brown adipocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; **279**: E386-94.
 35. Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001; **507**: 105-8.
 36. Barreiro ML, Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: a novel signal linking energy status and fertility? *Mol Cell Endocrinol* 2004; **226**: 1-9.
 37. Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest* 2003; **111**: 225-30.
 38. Dietze D, Koenen M, Rohrig K, Horikoshi H, Hauner H, Eckel J. Impairment of insulin signaling in human skeletal muscle cells by co-culture with human adipocytes. *Diabetes* 2002; **51**: 2369-76.
 39. Moon B, Kwan JJ, Duddy N, Sweeney G, Begum N. Resistin inhibits glucose uptake in L6 cells independently of changes in insulin signaling and GLUT4 translocation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; **285**: E106-15.
 40. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala MW, Pocai A, Scherer PE, Steppan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 2004; **303**: 1195-8.

41. Pravenec M, Kazdova L, Landa V, Zidek V, Mlejnek P, Jansa P, Wang J, Qi N, Kurtz TW. Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem* 2003; **278**: 45209-15.
42. Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to *in vivo* insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest* 2004; **114**: 224-31.
43. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 2004; **114**: 232-9.
44. Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P. Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001; **507**: 105-8.
45. Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y, Ono H, Inukai K, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Oka Y, Asano T. Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells. *Diabetes* 2002; **51**: 1737-44.
46. Reaven GM, Chen YD. Role of abnormal free fatty acid metabolism in the development of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1988; **85**: 106-12.
47. Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW, Oliver WR Jr, Willson TM, Kliewer SA, Hotamisligil GS. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 2001; **276**: 25651-3.
48. Silha JV, Gui Y, Murphy LJ. Impaired glucose homeostasis in insulin-like growth factor-binding protein-3-transgenic mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; **283**: E937-45.
49. Le Lay S, Boucher J, Rey A, Castan-Laurell I, Krief S, Ferre P, Valet P, Dugail I. Decreased resistin expression in mice with different sensitivities to a high-fat diet. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **289**: 564-7.
50. Moore GB, Chapman H, Holder JC, Lister CA, Piercy V, Smith SA, Clapham JC. Differential regulation of adipocytokine mRNAs by rosiglitazone in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **286**: 735-41.
51. Juan CC, Au LC, Fang VS, Kang SF, Ko YH, Kuo SF, Hsu YP, Kwok CF, Ho LT. Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin-resistant rat model probably by elevated free fatty acids. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **289**: 1328-33.
52. Levy JR, Davenport B, Clore JN, Stevens W. Lipid metabolism and resistin gene expression in insulin-resistant Fischer 344 rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; **282**: E626-33.
53. Ludwig DS, Tritos NA, Mastaitis JW, Kulkarni R, Kokkotou E, Elmquist J, Lowell B, Flier JS, Maratos-Flier E. Melanin-concentrating hormone overexpression in transgenic mice leads to obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2001; **107**: 379-86.
54. Penicaud L, Cousin B, Leloup C, Lorsignol A, Casteilla L. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. *Nutrition* 2000; **16**: 903-8.
55. Scheurink AJ, Steffens AB. Central and peripheral control of sympathoadrenal activity and energy metabolism in rats. *Physiol Behav* 1990; **48**: 909-20.
56. Nijjima A. Nervous regulation of metabolism. *Prog Neurobiol* 1989; **33**: 135-47.
57. Kreier F, Fliers E, Voshol PJ, Van Eden CG, Havekes LM, Kalsbeek A, Van Heijningen CL, Sluiter AA, Mettenleiter TC, Romijn JA, Sauerwein HP, Buijs RM. Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat—functional implications. *J Clin Invest* 2002; **110**: 1243-50.
58. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Iso-proterenol inhibits resistin gene expression through a G(S)-protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001; **500**: 60-3.
59. Patti ME, Virkamaki A, Landaker EJ, Kahn CR, Yki-Jarvinen H. Activation of the hexosamine pathway by glucosamine *in vivo* induces insulin resistance of early postreceptor insulin signaling events in skeletal muscle. *Diabetes* 1999; **48**: 1562-71.
60. Gettys TW, Harkness PJ, Watson PM. The beta 3-adrenergic receptor inhibits insulin-stimulated leptin secretion from isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 1996; **137**: 4054-7.
61. Mantzoros CS, Qu D, Frederich RC, Susulic VS, Lowell BB, Maratos-Flier E, Flier JS. Activation of beta(3) adrenergic receptors suppresses leptin expression and mediates a leptin-independent inhibition of food intake in mice. *Diabetes* 1996; **45**: 909-14.
62. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Tumor necrosis factor alpha is a negative regulator of resistin gene expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **288**: 1027-31.
63. Andrews RC, Walker BR. Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. *Clin Sci (Lond)* 1999; **96**: 513-23.
64. Olefsky JM. Effect of dexamethasone on insulin binding, glucose transport, and glucose oxidation of isolated rat adipocytes. *J Clin Invest* 1975; **56**: 1499-08.
65. Saad MJ, Folli F, Kahn CR. Insulin and dexamethasone regulate insulin receptors, insulin receptor substrate-1, and phosphatidylinositol 3-kinase in Fao hepatoma cells. *Endocrinology* 1995; **136**: 1579-88.
66. Giorgino F, Almahfouz A, Goodyear LJ, Smith RJ. Glucocorticoid regulation of insulin receptor and substrate IRS-1 tyrosine phosphorylation in rat skeletal muscle *in vivo*. *J Clin Invest* 1993; **91**: 2020-30.
67. Sakoda H, Ogihara T, Anai M, Funaki M, Inukai K, Katagiri H, Fukushima Y, Onishi Y, Ono H, Fujishiro M, Kikuchi M, Oka Y, Asano T. Dexamethasone-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is due to inhibition of glucose transport rather than insulin signal transduction. *Diabetes* 2000; **49**: 1700-8.
68. Levin ER. Endothelins as cardiovascular peptides. *Am J Nephrol* 1996; **16**: 246-51.
69. White MF, Kahn CR. The insulin signaling system. *J Biol Chem* 1994; **269**: 1-4.
70. Hopfner RL, Gopalakrishnan V. Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications. *Diabetologia* 1999; **42**: 1383-94.
71. Zhong Q, Lin CY, Clarke KJ, Kemppainen RJ, Schwartz DD, Judd RL. Endothelin-1 inhibits resistin secretion in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **296**: 383-7.
72. Sugita H, Kaneki M, Tokunaga E, Sugita M, Koike C, Yasuhara S, Tompkins RG, Martyn JA. Inducible nitric oxide synthase plays a role in LPS-induced hyperglycemia and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; **282**: E386-94.
73. Agwunobi AO, Reid C, Maycock P, Little RA, Carlson GL. Insulin resistance and substrate utilization in human endotoxemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; **85**: 3770-8.
74. Lu SC, Shieh WY, Chen CY, Hsu SC, Chen HL. Lipopolysaccharide increases resistin gene expression *in vivo* and *in vitro*. *FEBS Lett* 2002; **530**: 158-62.
75. Rajala MW, Lin Y, Ranalletta M, Yang XM, Qian H, Gingerich R, Barzilai N, Scherer PE. Cell type-specific expression and coregulation of murine resistin and resistin-like molecule-alpha in adipose tissue. *Mol Endocrinol* 2002; **16**: 1920-30.
76. Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res* 2000; **49**: 497-505.
77. Makimura H, Mizuno TM, Bergen H, Mobbs CV. Adiponectin is stimulated by adrenalectomy in ob/ob mice and is highly correlated with resistin mRNA. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; **283**: E1266-71.
78. Nogueiras R, Gualillo O, Caminos JE, Casanueva FF, Diéguez C. Regulation of resistin by gonadal, thyroid hormone, and nutritional status. *Obes Res* 2003; **11**: 408-14.

79. Pickavance L, Tadayyon M, Williams G, Vernon RG. Lactation suppresses diurnal rhythm of serum leptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; **248**: 196-9.
80. Chilliard Y, Delouis C, Smith MC, Sauvant D, Morand-Fehr P. Mammary metabolism in the goat during normal or hormonally-induced lactation. *Reprod Nutr Dev* 1986; **26**: 607-15.
81. Bing C, Gómez-Ambrosi J, Zabalegui N, Williams G, Trayhurn P. Resistin and RELM- α gene expression in white adipose tissue of lactating mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **296**: 458-62.
82. Henry RR. Thiazolidinediones. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1997; **26**: 553-73.
83. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *J Biol Chem* 1995; **270**: 12953-6.
84. Willson TM, Cobb JE, Cowan DJ, Wiethe RW, Correa ID, Prakash SR, Beck KD, Moore LB, Kliewer SA, Lehmann JM. The structure-activity relationship between peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonism and the antihyperglycemic activity of thiazolidinediones. *J Med Chem* 1996; **39**: 665-8.
85. Mukherjee R, Davies PJ, Crombie DL, Bischoff ED, Cesario RM, Jow L, Hamann LG, Boehm MF, Mondon CE, Nadzan AM, Pateriniti JR Jr, Heyman RA. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists. *Nature* 1997; **386**: 407-10.
86. Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, Agostini M, Schwabe JW, Soos MA, Maslen GL, Williams TD, Lewis H, Schafer AJ, Chatterjee VK, O'Rahilly S. Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature* 1999; **402**: 880-3.
87. Palmer CN, Hsu MH, Griffin HJ, Johnson EF. Novel sequence determinants in peroxisome proliferator signaling. *J Biol Chem* 1995; **270**: 16114-21.
88. Braissant O, Fougère F, Scotto C, Dauca M, Wahli W. Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat. *Endocrinology* 1996; **137**: 354-66.
89. Fujita H, Fujishima H, Morii T, Koshimura J, Narita T, Kakei M, Ito S. Effect of metformin on adipose tissue resistin expression in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **298**: 345-9.
90. Foss MC, Paula FJ, Paccola GM, Piccinato CE. Peripheral glucose metabolism in human hyperprolactinaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995; **43**: 721-6.
91. Matsuda M, Mori T. Effect of estrogen on hyperprolactinemia-induced glucose intolerance in SHN mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996; **212**: 243-7.
92. Reis FM, Reis AM, Coimbra CC. Effects of hyperprolactinaemia on glucose tolerance and insulin release in male and female rats. *J Endocrinol* 1997; **153**: 423-8.
93. Ling C, Kindblom J, Wennbo H, Billig H. Increased resistin expression in the adipose tissue of male prolactin transgenic mice and in male mice with elevated androgen levels. *FEBS Lett* 2001; **507**: 147-50.
94. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA. Prolactin (PRL) and its receptor: actions signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 1998; **19**: 225-68.
95. Aragona C, Bohnet HG, Friesen HG. Localization of prolactin binding in prostate and testis: The role of serum prolactin concentration on the testicular LH receptor. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1977; **84**: 402-9.
96. Delhanty PJ, Mesotten D, McDougall F, Baxter RC. Growth Hormone Rapidly Induces Resistin Gene Expression in White Adipose Tissue of Spontaneous Dwarf (SDR) Rats. *Endocrinology* 2002; **143**: 2445-8.
97. Gregoire FM, Smas CM, Sul HS. Understanding adipocyte differentiation. *Physiol Rev* 1998; **78**: 783-809.
98. Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM. Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance. *Obes Res* 2002; **10**: 1-5.
99. Felipe F, Bonet ML, Ribot J, Palou A. Modulation of resistin expression by retinoic acid and vitamin A status. *Diabetes* 2004; **53**: 882-9.
100. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **285**: 561-4.
101. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, O'Rahilly S. Resistin / Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma action in humans. *Diabetes* 2001; **50**: 2199-202.
102. McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002; **359**: 46-7.
103. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, Crocker J, Barnett AH, Kumar S. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; **87**: 2407.
104. Fain JN, Cheema PS, Bahouth SW, Lloyd Hiler M. Resistin release by human adipose tissue explants in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **300**: 674-8.
105. Patel L, Buckels AC, Kinghorn IJ, Murdock PR, Holbrook JD, Plumpton C, Macphee CH, Smith SA. Resistin is expressed in human macrophages and directly regulated by PPAR gamma activators. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; **300**: 472-6.
106. Díez JJ, Iglesias P, Fernández-Reyes MJ, Aguilera A, Bajo MA, Álvarez-Fidalgo P, Codoceo R, Selgas R. Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; **62**: 242-9.
107. Yura S, Sagawa N, Itoh H, Kakui K, Nuamah MA, Korita D, Takemura M, Fujii S. Resistin is expressed in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 1394-7.