



# INVESTIGACIÓN ORIGINAL

## SOBREPESO Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE ADIPONECTINA EN MONOCITOS DE SANGRE PERIFÉRICA

Overweight and adiponectin receptors expression in peripheral blood monocytes

Ismena Mockus<sup>1</sup>, Jorge Eduardo Caminos<sup>1</sup>,  
Luz Helena Aranzález<sup>1</sup>, Doris Ramírez<sup>2</sup>

1. Profesor, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
2. Profesora, Departamento de Nutrición y Dietética, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

Correspondencia: [ivmockuss@unal.edu.co](mailto:ivmockuss@unal.edu.co)

### Resumen

**Antecedentes.** Estudios anteriores han demostrado la asociación entre aumento del tejido adiposo e incremento de aterosclerosis y han evidenciado la expresión de receptores de adiponectina en la placa aterosclerótica. A su vez, trabajos previos han permitido concluir que los macrófagos del ateroma provienen de los monocitos circulantes.

**Objetivo.** Determinar la expresión relativa de los receptores 1 y 2 de adiponectina (AdipoR1 y AdipoR2) en monocitos circulantes de sujetos con sobrepeso y con peso normal.

**Material y métodos.** Mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real se determinó la expresión relativa (mRNA) de AdipoR1 y AdipoR2 en monocitos de sangre periférica aislados con técnica de inmovilización, en un grupo de estudiantes de 18 a 25 años (n=48); además se midieron parámetros antropométricos y bioquímicos (resistencia a la insulina con modelo homeostático, colesterol total, colesterol-HDL y triglicéridos).

**Resultados.** Se encontró que los niveles de expresión de AdipoR1 en monocitos eran mayores que los de AdipoR2

( $p < 0,001$ ). No se observaron diferencias en la expresión de AdipoR1 o AdipoR2 en monocitos de acuerdo al género, índice de masa corporal, porcentaje de masa grasa, resistencia a la insulina o perfil lipídico.

**Conclusión.** El hallazgo de una mayor expresión de AdipoR1 en comparación a AdipoR2 en monocitos circulantes corrobora los resultados de otros autores. Los datos obtenidos sugieren que la expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en monocitos de sujetos normales y con sobrepeso no se relaciona con la sensibilidad a la insulina. Se recomienda realizar otros estudios, que además de involucrar población con índice de masa corporal superior a 30 kg/m<sup>2</sup> e individuos con obesidad abdominal, determinen posibles efectos de factores relacionados con el estilo de vida sobre la regulación de la expresión de estos receptores en monocitos circulantes.

**Palabras clave:** adiponectina, sobrepeso, monocitos, reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa reversa (RT-PCR), expresión génica.

**Mockus I, Caminos J, Aranzález L, Ramírez D.** Sobrepeso y expresión de receptores de adiponectina en monocitos de sangre periférica. *Rev.Fac.Med.* 2007; 55:215-223.



### Summary

**Background.** Previous research had shown that adipose tissue increase is associated to greater atherosclerosis and have also demonstrated adiponectin receptors (AdipoR1 and AdipoR2) expression in atherosclerotic plaque. In addition, previous research have allowed to conclude that atheroma's macrophage arise from circulating monocytes.

**Aims.** To determine AdipoR1 and AdipoR2 relative expression in peripheral blood monocytes from overweight and normal subjects.

**Materials and methods.** AdipoR1 and AdipoR2 relative expression was determined in peripheral blood monocytes by using real-time polymerase chain reaction. Peripheral blood monocytes were isolated by means of immunoaffinity technique from a group of students aged 18 to 25 years (n=48). Anthropometric and biochemical parameters (total and HDL-cholesterol, triglycerides and insulin resistance estimated by the homeostasis model assessment ratio) were measured.

**Results.** AdipoR1 expression in peripheral blood monocytes was higher than that of AdipoR2 ( $p < 0.001$ ). According to sex, body mass index, percentage body fat, insulin resistance or lipid profile, there were no differences in AdipoR1 or AdipoR2 expression.

**Conclusions.** Our results about a greater AdipoR1 expression in comparison to AdipoR2 corroborate previous findings. Our data suggest no relation between the expression of AdipoR1 and AdipoR2 in monocytes of normal and overweighted subjects and insulin sensibility. Further studies are recommended which involve population with body mass index superior to  $30 \text{ kg/m}^2$  and individuals with abdominal obesity, and in addition establish possible effects of style-life related factors on the regulation of the expression of these receptors in peripheral monocytes.

**KeyWords:** adiponectin, overweight, monocytes, reverse transcriptase polymerase chain reaction, gene expression, receptors.

**Mockus I, Caminos J, Aranzález L, Ramírez D.** Overweight and adiponectin receptors expression in peripheral blood monocytes. *Rev.Fac.Med.* 2007; 55:215-223

### Introducción

Estudios epidemiológicos han asociado la obesidad con la aterosclerosis (1). Se ha demostrado que el adipocito, a través de la producción de adipocitocinas, está involucrado en la inflamación vascular (2). Se ha establecido que los monocitos, expresan receptores para hormonas y factores sintetizados por los adipocitos (3-5). Se ha comprobado la expresión en los monocitos de receptores de adiponectina. Los niveles circulantes de adipocitocina se correlacionan negativamente con el índice de masa corporal (IMC) (6,7). Se ha observado que la adiponectina desempeña un papel protector contra el daño vascular (8,9).

La conversión de los monocitos circulantes en macrófagos espumosos de la placa aterosclerótica está asociada a múltiples factores entre los cuales están el aumento del tejido adiposo visceral, la disminución de la sensibilidad a la insulina, incremento de los niveles plasmáticos de colesterol-LDL, la reducción de colesterol-HDL y la elevación de triglicéridos (10,11). Los efectos de los factores anteriores podrían estar mediados por acciones sobre la expresión de los receptores de adiponectina (AdipoR) en los monocitos circulantes. Aunque se ha establecido que los monocitos expresan predominantemente AdipoR1, no se conoce la relación de esta expresión con la cantidad de tejido adiposo. Por lo tanto, resulta

de interés determinar la expresión génica de los receptores AdipoR1 y AdipoR2 en los monocitos de adultos jóvenes con sobrepeso y compararla con la de sujetos de peso normal. Además se considera importante establecer posibles correlaciones de la expresión génica de estos receptores con parámetros antropométricos y bioquímicos relacionados con sensibilidad a la insulina y aterosclerosis.

## Materiales y métodos

### Población, determinaciones antropométricas, bioimpedancia eléctrica

El presente es un estudio de corte transversal llevado a cabo con estudiantes que ingresaron por primera vez a la Universidad Nacional de Colombia en el segundo semestre de 2004. Todos los estudiantes que presentaron el examen médico de ingreso un IMC igual o mayor de  $25 \text{ kg/m}^2$  fueron convocados por la División de Bienestar Estudiantil para participar en el presente trabajo y además se invitó a un número doble de hombres y mujeres de la misma población, seleccionados mediante muestreo aleatorio simple, con IMC entre  $18,5 \text{ kg/m}^2$  y  $24,9 \text{ kg/m}^2$  (12). Se excluyeron los sujetos con estados infecciosos o ingesta de medicamentos durante los 15 días anteriores al examen. La dislipidemia, la diabetes mellitus tipo 2, la hiperuricemia o tratamientos previos para reducir peso no fueron criterios de exclusión. Asistieron a la convocatoria 62 sujetos, de los cuales 11 fueron descartados por presentar alguno de los criterios de exclusión. Según el género y el índice de masa corporal se conformaron cuatro grupos finales de estudio: Grupo 1: mujeres con IMC menor a  $25 \text{ kg/m}^2$  ( $n=12$ ), Grupo 2: mujeres con IMC mayor o igual a  $25 \text{ kg/m}^2$  ( $n=12$ ), Grupo 3: hombres con IMC menor a  $25 \text{ kg/m}^2$  ( $n=12$ ) y Grupo 4: hombres con IMC mayor o igual a  $25 \text{ kg/m}^2$  ( $n=12$ ).

Para realizar el presente trabajo se solicitó y obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia; los estudiantes firmaron un consentimiento informado. El estudio se efectuó acorde con la declaración de Helsinki.

Se realizaron las siguientes medidas antropométricas: talla, peso, perímetro de cintura y perímetro de cadera. Se calculó el IMC, la relación cintura/cadera y cintura/talla (13-15). Se determinó el porcentaje de masa grasa utilizando un impedanciómetro RJL Systems Inc® según metodología previamente descrita (16).

### Determinaciones bioquímicas

Después de 12 horas de ayuno y previo al examen antropométrico (salvo el IMC) se tomaron muestras de 20 mL de sangre venosa en tubos secos y con heparina. El tubo sin anticoagulante se centrifugó a 2500 revoluciones por 10 minutos y se obtuvo el suero que se almacenó a  $-80^\circ\text{C}$  para la determinación de colesterol total, colesterol-HDL, triglicéridos, glucosa e insulina. Las concentraciones plasmáticas de triglicéridos, colesterol total, colesterol-HDL y glucosa se determinaron al mes de haber obtenido la muestra mediante métodos enzimáticos-colorimétricos utilizando el producto Sera-Pak® Plus en un equipo automatizado Vitalab Selectra 2 de Merck. Las concentraciones de colesterol-LDL se calcularon utilizando la fórmula de Friedewald (17,18):

$$\text{colesterol total} - (\text{colesterol HDL} + \text{triglicéridos}/5)$$

Las concentraciones de insulina se determinaron mediante inmunoanálisis de electroquimioluminiscencia (ECLIA-Insulin Cat Set de Roche®) en un equipo automatizado Elecsys® 1010 y se calculó el índice de resistencia a la insulina con modelo homeostático (HOMA-R) (19-20).



### Aislamiento de monocitos de sangre periférica, extracción de RNA y análisis de la expresión génica mediante RT-PCR en tiempo real

Las células mononucleares de la sangre venosa fueron separadas de las células rojas y de los granulocitos mediante un gradiente de densidad empleando Ficoll-Hypaque (densidad 1,078 g/mL, ICN Biomedicals, Inc). Una vez obtenidas las células mononucleares se procedió a la separación de los monocitos mediante un método de inmunoafinidad (Dyna<sup>®</sup> Monocyte Negative Isolation Kit - Biotech ASA, Oslo, Norway) (21). Los monocitos aislados fueron almacenados a -80°C para el estudio de la expresión de AdipoR1 y AdipoR2.

El RNA total de los monocitos de 28 estudiantes (n=7 por grupo) se aisló con trizol (GibcoBRL) como se ha descrito previamente (22). La concentración del RNA se determinó a una  $\lambda$  de 260 nm (UV) con un espectrofotómetro (Termo Electron Corporation Bionate 3<sup>®</sup>). El RNA se retrotranscribió (RT) y posteriormente se realizó el análisis por PCR en tiempo real mediante el uso de los siguientes primers (23,24):

AdipoR1 antisentido 5'-AAGAAGCGCTCAGGAATTCG-3',  
sentido 5'-TTCTTCCTCATGGCTGTGATGT-3';  
AdipoR2 antisentido 5'-GGATCCGGGCAGCATACA-3',  
sentido 5'-ATAGGGCAGATAGGCTGGTTGA-3';  
 $\beta$ -actina antisentido 5'-AGGAGGCAATGATCTTGATC-3',  
sentido 5'-TTCCTGGGCATGGAGTCCT-3'.

La expresión de los AdipoR1 y AdipoR2 se reportó en relación a la del gen constitutivo de la  $\beta$ -actina (23,24). La PCR en tiempo real se efectuó en un equipo LightCycler<sup>®</sup> 2.0 con el reactivo LightCycler DNA Master SYBR Green I (Cat. No. 2 015 099, Roche) (25,26).

#### Análisis estadístico

Los programas utilizados fueron Epi-Info 2002 y SPSS versión 11.5 (27). En la comparación de

los grupos (normal y sobrepeso) para cada grupo independiente, hombres y mujeres, en las variables continuas, se evaluó previamente la normalidad, usando las pruebas de Kolmogorov Smirnov y Shapiro Wilks y la homogeneidad de las varianzas con la prueba de Levene. En caso de normalidad, se utilizó prueba t-student para dos grupos independientes, con varianzas homogéneas o heterogéneas. Cuando las distribuciones fueron diferentes a la normal se usó la prueba no-paramétrica para dos grupos independientes de Mann Whitney. Las correlaciones entre la expresión de AdipoR1 y AdipoR2 y las variables antropométricas y bioquímicas se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r) o de Spearman ( $r_s$ ) cuando las distribuciones fueron diferentes a normal. Para la comparación entre las medianas de expresión de AdipoR1 y AdipoR2, se utilizó la prueba de Wilcoxon para medidas relacionadas o repetidas. En el ajuste de variables de confusión con AdipoR1 y AdipoR2 entre los cuatro grupos, se utilizó análisis multivariado por medio análisis de varianza. Las pruebas se evaluaron a un nivel de significancia del 5 por ciento ( $p < 0.05$ ).

## Resultados

### Parámetros antropométricos y bioquímicos

Las características antropométricos de la muestra en estudio aparecen en las tablas 1 y 2.

Si bien el grupo de mujeres con sobrepeso (Grupo 2) presentó niveles mayores de colesterol total y de colesterol-LDL y concentraciones menores de colesterol-HDL en comparación al grupo de mujeres de peso normal (Grupo 1), las diferencias no fueron significativas. Las glicemias fueron similares en los dos grupos. Los niveles de triglicéridos estuvieron cerca de mostrar diferencias significativas y la insulina y el índice HOMA-R fueron significa-

**Tabla 1.** Características antropométricas y bioquímicas de las mujeres con peso normal (Grupo 1) y de las mujeres con sobrepeso (Grupo 2). Se reporta  $X \pm DS$ . Significancia estadística:

Variable (*)	Grupo 1 n=12	Grupo 2 n=12
Edad (años) (p=0.660)	19,6±1,2	19,4±0,8
Talla (cm) (p=0.594)	158,9±5,9	157,6±5,9
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) (p<0.001)	21,4±2,0	27,5±2,3
Perímetro cintura (cm) (p<0.001)	66,9±5,3	81,1±4,6
Índice cintura/cadera (cm/cm) (p<0.001)	0,73±0,03	0,79±0,02
Índice cintura/talla (cm/m) (p<0.001)	42,1±3,3	51,6±2,7
% Grasa (p<0.001)	26,7±4,6	37±4
Colesterol total (mg/dL) (p=0.126)	159,4± 21,2	178±35
Colesterol-HDL (mg/dL) (p=0.123)	61,5±9,8	55±11
Colesterol-LDL (mg/dL) (p=0.165)	81,5±23,6	96±26
Triglicéridos (mg/dL) (0.096)	82,0±19,8	137,6±104,7
Glucosa (mg/dL) (p=0.958)	83,7±6,4	83±9
Insulina (mU/mL) (p=0.002)	9,3±4,3	16,2±5,4
HOMA-R (p=0.004)	1,9±0,9	3,4±1,2

(\*) Prueba t-student para grupos independientes

**Tabla 2.** Características antropométricas de los hombres con peso normal (Grupo 3) y de los hombres con sobrepeso y obesidad (Grupo 4). Se reporta  $X \pm DS$ .

Variable (*)	Grupo 3 n=12	Grupo 4 n=12
Edad (años) (p=0.347)	22,1 ± 2,0	21,3 ± 2,2
Talla (cm) (p=0.335)	172,3 ± 7,6	169,0 ± 8,7
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) (p<0.001)	21,8 ± 2,0	28,5 ± 1,9
Perímetro de cintura (cm) (p<0.001)	76,3 ± 5,2	91,2 ± 6,6
Índice cintura/cadera (cm/cm) (p=0.014)	0,84 ± 0,03	0,89 ± 0,06
Índice cintura/talla (cm/m) (p<0.001)	44,4 ± 3,3	53,9 ± 2,7
% Grasa (p<0.001)	18 ± 4	29 ± 5
Colesterol total (mg/dL) (p=0.300)	172 ± 20	177 ± 27
Colesterol-HDL (mg/dL) (p=0.044)	56 ± 14	46 ± 9
Colesterol-LDL (mg/dL) (p=0.353)	95 ± 26	101 ± 27
Triglicéridos (mg/dL) (p=0.040)	99 ± 32	152 ± 77
Glucosa (mg/dL) (p=0.246)	81 ± 6	84 ± 6
Insulina (mU/mL) (p=0.043)	7,4 ± 4,1	10,8 ± 3,5
HOMA-R (p=0.041)	1,5 ± 0,8	2,2 ± 0,7

(\*) Prueba t-student para grupos independientes

tivamente mayores en el grupo 2 en relación al grupo 1 (Tabla 1).

El grupo de hombres con sobrepeso (Grupo 4) presentó niveles elevados de colesterol total y colesterol-LDL en comparación al grupo de hom-

bres con peso normal (Grupo 3) pero sin significancia estadística. Las concentraciones de colesterol-HDL fueron significativamente menores en el grupo 4 en comparación al grupo 3. Las glicemias fueron similares en los dos grupos. Los niveles de triglicéridos, insulina y el índice



HOMA-R fueron significativamente mayores en el grupo 4 en relación al grupo 3 (Tabla 2).

#### Análisis de la expresión génica

La  $\beta$ -actina amplificó adecuadamente en los monocitos de cada uno de los sujetos estudiados. Se encontró expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en los monocitos de todos los sujetos estudiados. Al comparar la expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en los 28 sujetos, se observó que la expresión relativa de AdipoR1 ( $5,67 \pm 0,86$ , med=5,67) fue significativamente mayor en comparación a la de AdipoR2 ( $4,90 \pm 0,71$ , med=4,71) ( $p < 0,001$ , Test no-paramétrico de Wilcoxon).

La expresión relativa de AdipoR1 fue similar en los grupos 1 y 2 ( $5,75 \pm 1,32$ , med=5,31 versus  $5,62 \pm 0,89$ , med=5,23,  $p=0,402$ , Mann Whitney exacto) y en los grupos 3 y 4 ( $5,59 \pm 0,41$ , med=5,41 versus  $5,73 \pm 0,69$ , med=5,53,  $p=0,469$ , Mann Whitney exacto). La expresión relativa de AdipoR2 fue similar en los grupos 1 y 2 ( $5,02 \pm 1,18$ , med=4,64 versus  $4,73 \pm 0,60$ , med=4,44,  $p=0,267$ , Mann Whitney exacto) y en los grupos 3 y 4 ( $4,85 \pm 0,20$ , med=4,85 versus  $4,99 \pm 0,59$ , med=4,88,  $p=0,531$ , Mann Whitney exacto).

Al comparar los grupos con sobrepeso y los grupos de peso normal, después de ajustar con las variables antropométricas y bioquímicas, no se encontró diferencias entre ellos en la expresión relativa de AdipoR1 ( $p=0,467$ ) ni en la de AdipoR2 ( $p=0,282$ ).

No se encontró correlaciones de la expresión relativa de AdipoR1 y AdipoR2 con los parámetros antropométricos, el porcentaje de grasa corporal, el colesterol total, el colesterol-HDL, el colesterol-LDL, los triglicéridos, la glicemia, la insulina o el índice HOMA-R (no se muestran datos). En el análisis de la significancia estadística de estas relaciones se encontró  $p > 0,05$ .

#### Discusión

Estudios previos han demostrado, mediante PCR en tiempo real la expresión de mRNA de AdipoR1 y AdipoR2 en placas de ateroma de carótidas humanas obtenidas durante procedimientos de endarterectomía (28). Resulta de interés estudiar en los monocitos, que son células que participan en los procesos de inflamación de la pared arterial y en la formación del ateroma y que pueden ser recolectadas en sangre periférica, la expresión de AdipoR1 y AdipoR2. En el presente trabajo, realizado en un grupo de adultos jóvenes, se evidenció en monocitos de sangre periférica aislados mediante técnica de inmunoafinidad, la expresión de AdipoR1 y AdipoR2. Se observó que los monocitos de sangre periférica de todos los sujetos expresaron AdipoR1 y AdipoR2, siendo mayor la expresión relativa de AdipoR1, lo cual está de acuerdo con publicaciones anteriores (28).

En el presente trabajo efectuado en monocitos aislados de sangre periférica no se encontraron diferencias en la expresión relativa de AdipoR1, ni de AdipoR2 cuando se compararon sujetos con sobrepeso y sujetos de peso normal agrupados según el género. Otros autores han observado una menor expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en linfocitos de humanos obesos en comparación a los de sujetos con anorexia (29).

Se ha reportado que en la obesidad disminuye la expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en el tejido adiposo dando lugar a una disminución del efecto de la adiponectina y a un aumento de la resistencia a la insulina (30). Estudios previos han demostrado que en tejido adiposo y en adipocitos aislados, la expresión de AdipoR1 es mayor que la de AdipoR2 y, a su vez, AdipoR1 presenta una menor expresión en el tejido omental en comparación al subcutáneo (31). Investigaciones anteriores han evidenciado, además, un efecto

inhibidor de la obesidad y de la resistencia a la insulina sobre la expresión de AdipoR1 y AdipoR2 en el músculo e hígado de rata (32). También se ha demostrado una correlación entre la expresión de receptores de adiponectina en el músculo esquelético y sensibilidad a la insulina en humanos (23).

Por otra parte, se ha descrito en miotubos humanos una asociación de la expresión de mRNA de AdipoR2 con los niveles de triglicéridos plasmáticos y una correlación positiva entre la expresión de mRNA de AdipoR1 y las concentraciones circulantes de insulina, triglicéridos y colesterol (33). En el presente estudio no se observaron correlaciones de las expresiones relativas de AdipoR1 y de AdipoR2 con el índice de masa corporal, con el perímetro de cintura, con el porcentaje de grasa corporal, con los niveles de triglicéridos, o con la sensibilidad a la insulina determinada por el índice HOMA-R. Es posible que los mecanismos que regulan la expresión de estos receptores en monocitos sean diferentes a los que tienen lugar en tejido adiposo y músculo esquelético.

En el presente trabajo no determinamos los niveles circulantes de adiponectina; otros autores han descrito una correlación positiva entre los niveles séricos de adiponectina y la expresión de AdipoR1 en linfocitos circulantes (29).

### Conclusión

Se corroboró en los monocitos de sangre periférica de adultos jóvenes una mayor expresión de AdipoR1 en comparación a AdipoR2. No se observaron diferencias en la expresión relativa de estos receptores cuando se compararon sujetos con sobrepeso y con peso normal de acuerdo al género. No se encontraron correlaciones de la expresión relativa de estos receptores y parámetros antropométricos y

bioquímicos relacionados con resistencia a la insulina y aterosclerosis. Se considera necesario seguir avanzando en la comprensión de los mecanismos que controlan la expresión de los receptores de adiponectina en los monocitos circulantes. Se recomienda realizar otros estudios que involucren población con índice de masa corporal superior a 30 kg/m<sup>2</sup> e individuos con obesidad abdominal. Queda por establecer la variación de la expresión de estos receptores a lo largo de la vida, su regulación por factores medioambientales (tipo de dieta y actividad física) y su valor predictivo en la enfermedad vascular aterosclerótica.

### Agradecimientos

A los estudiantes que participaron en el estudio y a Nohora Cifuentes (Salud Estudiantil, Dirección Nacional de Bienestar, Universidad Nacional de Colombia).

### Referencias

1. **Hall JE, Crook ED, Jones DW, Wofford MR, Dubbert PM.** Mechanisms of obesity-associated cardiovascular and renal disease. *AM J Med Sci* 2002; 324:127-137.
2. **Lau DCW, Dhillon B, Yan H, Szmítko PE, Verma S.** Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288:H2031-H2041.
3. **Osterud B, Bjørklid E.** Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol Rev* 2003; 83:1069-1112.
4. **Hansson GK.** Mechanisms of disease: inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685-1695.
5. **Charrière G, Cousin B, Arnaud E, André M, Bacou F, Pénicaud L, et al.** Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem* 2003; 278:9850-9855.
6. **Diez JJ, Iglesias P.** The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 2003;148:293-300.
7. **Ryan AS, Berman DM, Nicklas BJ, Sinha M, Gingerich RL, Meneilly GS, et al.** Plasma adiponectin



- and leptin levels, body composition, and glucose utilization in adult women with wide ranges of age and obesity. *Diabetes Care* 2003;26:2383-2388.
8. **Kojima S, Funahashi T, Maruyoshi H, Honda O, Sugiyama S, Kawano H, et al.** Levels of the adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, have a close relationship with atheroma. *Thromb Res* 2005;115:483-490.
  9. **Ukkola O, Santaniemi M.** Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? *J Mol Med* 2002;87:2764-2769.
  10. **Caballero AE.** Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. *Obes Res* 2003;11:1278-1289.
  11. **Han J, Hajjar DP, Zhou X, Gotto AM Jr, Nicholson AC.** Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated gene expression. A new mechanism of action for high density lipoprotein. *J Biol Chem* 2002;277:23582-23586.
  12. **Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y.** Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr* 2000;72:694-701.
  13. **Mockus I, Franco F, Montoya M, Alfonso LM, Alzate A.** Anthropometric variables of students at a Colombian state university. *Acta Med Auxol* 1995;27:139-144.
  14. **Berber A, Gómez-Santos R, Fanghanel G, Sanchez-Reyes L.** Anthropometric indexes in the prediction of type 2 diabetes mellitus, hypertension and dyslipidemia in a Mexican population. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:1794-1799.
  15. **Lopatynski J, Mardarowicz G, Szczesniak G.** A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, waist-to-height ratio and body mass index as indicators of impaired glucose tolerance and as risk factors for type-2 diabetes mellitus. *Ann Univ Mariae Curie Sklodowska* 2003;58:413-419.
  16. **Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, Deurenberg P, Elia M, Gómez JM, et al.** Bioelectrical impedance analysis-part I: review of principles and methods. *Clinical Nutrition* 2004;23:1226-1243.
  17. **Naito HK.** *Colesterol en Pesce* AJ, Kaplan LA, eds. Química Clínica Métodos. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana S.A. 1990 p.1149-1235.
  18. **Friedewald W, Levy R, Fredrickson D.** Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
  19. **Pacini G, Mari A.** Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and b-cell function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003;17:305-322.
  20. **Cabezas-Cerrato J, Araújo D.** Resistencia a la acción de la insulina. Evolución histórica del concepto. Técnicas para el estudio *in vivo* en humanos. *Endocrinol Nutr* 2003;50:396-406.
  21. **Dörffel Y, Wallukat G, Bochnig N, Homuth V, Herberg M, Dörffel W, et al.** Agonistic AT(1) receptor autoantibodies and monocyte stimulation in hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2003;16:827-833.
  22. **Chomczynski P, Sacchi N.** Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-159.
  23. **Civitaresse AE, Jenkinson CP, Richardson D, Bajaj M, Cusi K, Kashyap S, et al.** Adiponectin receptors gene expression and insulin sensitivity in non-diabetic Mexican Americans with or without a family history of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2004;47:816-820.
  24. **Shimada T, Koitabashi A, Fujii Y, Hashimoto T, Hosaka K, Tabei K, et al.** PPARgamma mediates NSAIDs-induced upregulation of TFF2 expression in gastric epithelial cells. *FEBS Lett* 2004;558:33-38.
  25. **Mavrodieva V, Levy L, Gabriel DW.** Improved sampling methods for real-time polymerase chain reaction diagnosis of citrus canker from field samples. *Phytopathology* 2004;94:61-68.
  26. **Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, Patel HR.** Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 2005;5:209-219.
  27. **Epi info.** Disponible en: <http://www.cica.es/epiinfo/> (consultado noviembre 2005).
  28. **Chinetti G, Zawadzki C, Fruchart JC, Staels B.** Expression of adiponectin receptors in human macrophages and regulation by agonists of the nuclear receptors PPARalpha, PPARgamma, and LXR. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;314:151-158.
  29. **Alberti L, Gilardini L, Girola A, Moro M, Cavagnini F, Invitti C.** Adiponectin receptors gene expression in lymphocytes of obese and anorexic patients. *Diabetes, Obes Metab* 2007;9:344-349.
  30. **Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K.** Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116:1784-1792.
  31. **Rasmussen MS, Lihn AS, Pedersen SB, Bruun JM, Rasmussen M, Richelsen B.** Adiponectin receptors in human adipose tissue: effects of obesity, weight loss, and fat depots. *Obesity* 2006;14:28-35.



32. **Beylot M, Pinteur C, Peroni O.** Expression of the adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 in lean rats and in obese Zucker rats. *Metabolism* 2006;55:396-401.
33. **Staiger H, Kaltenbach S, Staiger K, Stefan N, Fritsche A, Guirguis A, et al.** Expression of adiponectin receptor mRNA in human skeletal muscle cells is related to *in vivo* parameters of glucose and lipid metabolism. *Diabetes* 2004;53:2195-2201.

