



ORIGINAL

El resveratrol y sus efectos lipolíticos y antiinflamatorios en pre adipocitos de línea celular 3T3-L1

Lipolytic and anti-inflammatory effects of resveratrol on pre-adipocytes cellular line 3T3-L1

R. López,^{a,*} M. X. Arteaga,^a C. Rozo,^a F. Lizcano,^a L. G. Celis^a

Recibido: 23 de noviembre de 2017

Aceptado: 13 de marzo de 2018

PALABRAS CLAVE:

Obesidad;
Uso terapéutico;
Triglicéridos;
PPAR- gamma.

RESUMEN

La obesidad es una de las pandemias más importantes del siglo XXI que se caracteriza por un desbalance entre la ingesta y el gasto energético, es una problemática que va en ascenso. Una de las manifestaciones de esta patología es la liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS), mediante la alteración de la función mitocondrial del adipocito y factores de inflamación como TNF- α e IL-6, que pueden conducir a la resistencia a la insulina y la diabetes tipo II, a través de la alteración de diferentes vías de señalización como lo son las proteínas sirtrulinas, específicamente la sirtrulina 1 (SIRT1), que tiene la capacidad de inhibir la expresión de los genes controlados por el receptor nuclear PPAR γ que promueve de esta manera la movilización de los ácidos grasos, desde el adipocito, y evita su almacenamiento. Otro factor implicado es el inflamasoma, el cual podría explicar el proceso inflamatorio crónico que se genera a través de la activación masiva de citoquinas pro-inflamatorias y cómo éste repercute en un factor contribuyente y generador de obesidad y diabetes mellitus mediante el daño a la célula beta del páncreas. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto antiinflamatorio del resveratrol en preadipocitos de ratón 3T3-L1 comparado con la rosiglitazona y analizar los diferentes procesos por los cuales la obesidad conduce a un proceso inflamatorio crónico comparable con enfermedades infecciosas o autoinmunes. La metodología consistió en la incubación preadipocitos de ratón de la línea celular 3T3-L1 en presencia de un cóctel de diferenciación con rosiglitazona, isobutil xantina y dexametasona, se realizaron observaciones cada dos días en un periodo de 0 a 10 días. Posteriormente se aplicaron dosis de rosiglitazona y resveratrol, y se realizaron nuevas observaciones hasta el día 6 para corroborar el efecto del resveratrol. La determinación de triglicéridos se realizó mediante una prueba cualitativa utilizando la tinción de rojo aceite y una cuantitativa mediante extracción de lípidos con 5 ml de isopropanol para luego leer la absorbancia del extracto a 510 nm en un biofotómetro Eppendorf. Una vez obtenidos los resultados se empleó el test de Anova para elaborar el análisis estadístico. Los resultados obtenidos, tanto de forma cualitativa como cuantitativa, evidenciaron que las células tratadas con resveratrol contienen menor cantidad de triglicéridos con respecto a las tratadas con rosiglitazona, debido a que esta fitoalexina estimula la actividad de la enzima sirtrulina 1 (Sirt-1), la cual inhibe al receptor nuclear PPAR γ evitando la lipogénesis y la producción de factores inflamatorios por lo que puede convertirse en una alternativa terapéutica.

^a Universidad de la Sabana, Colombia.

* Autor para correspondencia: junior6892012@hotmail.com

KEY WORDS:

Obesity;
Therapeutic use;
Triglycerides;
PPAR-gamma.

ABSTRACT

Obesity is one of the most important pandemics of the XXI century, it is characterized by an imbalance between the intake and energy expenditure, and that instead of finding a solution is a problem that is on the rise. One of the manifestations of this pathology is the release of reactive oxygen species (ROS), by altering the mitochondrial function of the adipocyte and inflammatory factors such as TNF- α and IL-6, which can lead to resistance to insulin and type II diabetes, through the alteration of different signaling pathways such as sirtulin proteins, specifically sirtulin 1 (SIRT1), which has the ability to inhibit the expression of genes controlled by the nuclear receptor PPAR γ promoting in this way the mobilization of fatty acids from the adipocyte and avoiding its storage. Another factor involved is apparently the inflammasome which could explain the chronic inflammatory process that is generated by the massive activation of pro-inflammatory cytokines and how this influences the contributing factor and generator of obesity and diabetes mellitus through damage to the beta cell of the pancreas. The purpose of our work is to evaluate the anti-inflammatory effect of resveratrol in 3T3-L1 mouse preadipocytes compared to rosiglitazone and to analyze the different processes by which obesity leads to a chronic inflammatory process comparable with infectious or autoimmune diseases. The methodology consisted in the incubation of mouse preadipocytes of the cell line 3T3-L1 in the presence of a cocktail of differentiation with Rosiglitazone, Isobutyl Xanthine and Dexamethasone, and observations were made every two days in the period between 0 and 10 days. Subsequently, doses of Rosiglitazone and Resveratrol were applied and new observations were made until day 6 to corroborate the effect of Resveratrol. The determination of triglycerides was carried out by means of a qualitative test using oil red staining and a quantitative one by means of lipid extraction with 5 ml of isopropanol and then read the absorbance of the extract at 510 nm in an Eppendorf biophotometer. Once the results were obtained, the Anova test was used to elaborate the statistical analysis. The results obtained both qualitatively and quantitatively showed that the cells treated with Resveratrol contain a lower amount of triglycerides than those treated with Rosiglitazone, this is because this phytoalexin stimulates the activity of the enzyme Sirtulina 1 (Sirt-1), which inhibits the nuclear receptor PPAR γ by preventing lipogenesis and the production of inflammatory factors, so it can become a therapeutic alternative.

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede perjudicar la salud. Una forma simple de medir la obesidad es el índice de masa corporal (IMC). El sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo para numerosas enfermedades crónicas, entre las que se incluyen la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer, las cuales tienen una repercusión en el desarrollo económico, modernización, urbanización y globalización de los mercados de alimentos,

estos son algunos de los elementos que han contribuido a la epidemia de obesidad, además de la disminución significativa en la actividad física, asociada con el mayor uso del transporte automatizado, el uso de la tecnología en el hogar, entre otros.¹ La prevalencia de la obesidad aumenta de manera dramática en todo el mundo, un análisis sistemático reciente de la *Global Burden of Disease Study* informó un aumento mundial del sobrepeso y la obesidad entre 1980 y 2013 de 28.8 a 36.9% en hombres y de 29.8 a 38.0% en mujeres.²

En la búsqueda para contrarrestar las causas que inducen a enfermedades como la obesidad y

la diabetes, se podrán diseñar estrategias que conduzcan a estilos de vida que disminuyan las complicaciones y secuelas que presentan estas patologías. El resveratrol (3,4',5-trans-trihydroxystilbeno), un antioxidante polifenólico natural, no flavonoide, es una fitoalexina encontrada en 72 especies diferentes de plantas incluyendo uvas, nueces, bayas y cacahuates.^{3,4} Este medicamento ha recibido especial interés debido a su posible papel en la prevención de diversos procesos patológicos, ya que tiene efecto cardioprotector, anticancerígeno, antioxidante y antiinflamatorio, además está disponible en tabletas y se recomienda como suplemento dietario por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). Sin embargo, puede tener otros efectos en células en cultivo tales como inhibir el ciclo celular e inducir a la apoptosis vía la ruta de señalización MAP quinasa o por la inhibición de las proteínas involucradas en la traducción de las proteínas.^{5,6,7}

Desde el punto de vista farmacológico, el resveratrol es de baja biodisponibilidad (38%), tiene un tiempo de vida media de 0.13 horas, la eliminación es principalmente biliar y mínima en orina, también sufre de metabolismo del primer paso hepático por glucuronidación y sufre circulación enterohepática, por lo que repentinamente aumentan sus concentraciones plasmáticas entre 4-8 horas después de su administración, con una vida media de eliminación plasmática rápida de 12-15 minutos, aunque depende de la dosis de administración es un medicamento hidrosoluble que se encuentra unido altamente a proteínas, entre ellas la albúmina.^{3,4}

El resveratrol juega un papel importante en la expresión de genes que regulan la acumulación y consumo de triglicéridos a nivel del adipocito, ya que estudios han mostrado que al aumentar la expresión de SIRT1 (sirtrulina 1) se genera una movilización de los triglicéridos dentro de los adipocitos, también se ha visto que este gen SIRT1 se encuentra en regulación a la baja en personas y roedores que padecen obesidad.⁸

Otro componente perpetrador y coadyuvante en el proceso de obesidad y desarrollo de resistencia a la insulina es el inflammasoma NLRP3, el cual es una plataforma de multiproteínas citosólicas que permite la activación de las caspasas proinflamatorias, como la caspasa-1 característica de la inmunidad innata con posterior secreción de citoquinas proinflamatorias como lo son la interleucina-1b (IL-1b) e IL-18, que a su vez genera la liberación de factor de necrosis tumoral alfa, interferón gamma, con la subsecuente liberación de eosinófilos, mastocitos, neutrófilos, entre otros, todo esto dado por liberación de radicales libres de oxígeno que induce la expulsión de óxido nítrico, el cual permite la extravasación de

toda las células inflamatorias y que representa la reacción coordinada de respuesta dirigida a suprimir a microorganismos patógenos y a evitar el daño tisular estéril.^{11,12,13,14}

Toda esta cascada inflamatoria se va perpetuar en el tiempo, llevando finalmente a un proceso inflamatorio crónico, esto sucede debido a una activación de los macrófagos del tejido adiposo en los depósitos de grasa y que se combina con el desarrollo del estado proinflamatorio inducido por la obesidad y la resistencia a la insulina. La activación de los macrófagos M1 activados clásicamente a expensas de los macrófagos M2 antiinflamatorios se ha relacionado causalmente con el desarrollo de la inflamación del tejido adiposo y el síndrome metabólico, un estado fisiopatológico llamado acertadamente "meta-inflamación".^{13,3}

Para contextualizar, la liberación específica de citoquinas proinflamatorias por los macrófagos durante la infección es un mecanismo crítico para una respuesta inmune protectora, el origen de la inflamación durante la obesidad y los mecanismos moleculares subyacentes que explican su aparición no se entienden completamente.^{3,13} Las células inmunitarias innatas, como los macrófagos, discriminan entre los agentes infecciosos y las proteínas propias mediante la detección de patrones moleculares asociados a patógenos a través de la expresión del reconocimiento de patrones de receptores como Toll-like (TLR) y Nod-Like-receptors (NLRs). La evidencia emergente sugiere que los macrófagos también pueden reconocer patrones de peligro moleculares asociados a daños (DAMP) derivados de células lesionadas o dañadas y liberación de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β .¹³

El propósito de este trabajo es evaluar la capacidad del resveratrol como agente lipolítico y antiinflamatorio en células adiposas diferenciadas con rosiglitazona.

METODOLOGÍA

Línea celular: se utilizó fibroblastos (preadipocitos) de ratón 3T3L1 proveniente de la colección de cultivo tipo americano (ATCC), obtenida a partir de un extracto continuo de 3T3, caracterizada por ser células unipotentes que tienen la capacidad de expresar receptores de insulina y que han sido ampliamente utilizadas como modelo para el estudio de la adipogénesis.¹⁵ Cultivo celular: se realizó el cultivo de líneas celulares 3T3-L1 (preadipocitos de ratón) en Medio Dulbeco Modificado (DMEM), Suero Bovino Fetal (FBS) al 10% y Penicilina y Estreptomina al 1%, que se incuban durante 48 horas a una tem-

peratura de 37 °C y atmósfera con 95% de aire y 5% de CO₂, formándose una monocapa.

Posteriormente se realizaron subcultivos mediante una digestión enzimática con tripsina 0,25% y EDTA 0,04% durante 3 minutos en incubadora de CO₂, se siembran 3 cajas de cultivo celular por unas 48 horas para formar nuevamente una monocapa de células hasta alcanzar dos días postconfluencia.

Diferenciación celular: para distinguir las células 3T3-L1 se agregó un cóctel para inducir la diferenciación, que contienen 1µM Rosiglitazona, 1µM de Dexametasona para activar el factor de la transcripción C/EBPβ y 0.5 mM de Metil isobutil xantina, que incrementó los niveles de AMPc por inhibición de la fosfodiesterasa.¹⁶ Luego de 48 horas se cambia el medio de cultivo + cóctel de diferenciación, por sólo medio de cultivo + Rosiglitazona. Esto para el mantenimiento de las células y eliminación de desechos. Finalmente, se realizaron observaciones a los 0, 2, 4, 6, 8 y 10 días después de la aplicación del cóctel de diferenciación y en este momento se añadió 50 µM de resveratrol.¹⁷ Se realizaron nuevas observaciones hasta el día 6 para corroborar el efecto del mismo. Determinación de triglicéridos: el proceso de lipogénesis en los adipocitos fue valorado mediante la cantidad de triglicéridos presentes en las células grasas por un método cualitativo que consiste en la tinción de las células con rojo aceite que colorea los triglicéridos¹⁶ y por un método cuantitativo mediante extracción de lípidos con 5 ml de isopropanol para luego leer la absorbancia del extracto a 510 nm en un biofotómetro Ependorf.¹⁸

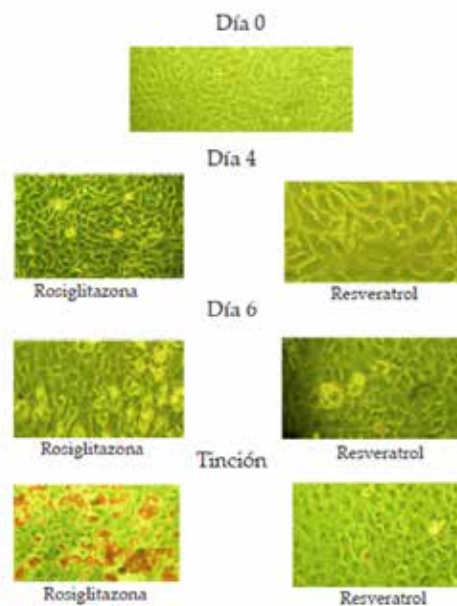
ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un test de Análisis de Varianza (Anova) y las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas cuando el valor de la media con error estándar (sem+< 0.05).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos permitieron observar el efecto lipolítico del resveratrol sobre las células adiposas, ya que la cantidad de triglicéridos dentro de las mismas fue menor con respecto a las células diferenciadas con rosiglitazona (figuras 1 y 2).

Figura 1. Efecto lipolítico del resveratrol con respecto a la rosiglitazona a los 0, 4, 6 y 8 (tinción) días.



Fuente: Elaboración propia.

DISCUSIÓN

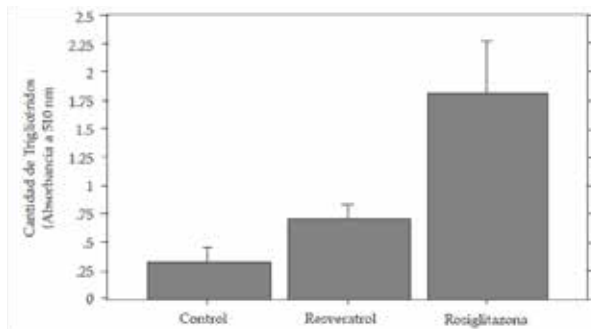
El resveratrol es un compuesto polifenólico proveniente de fuentes naturales como uvas y moras. Hace décadas el resveratrol tenía efecto antioxidante y quimiopreventivo contra el cáncer, por tal motivo ha sido fuente de interés por estudiarlo como un compuesto para el envejecimiento; se cree que este efecto antioxidante se logra debido a que el resveratrol activa el SIRT o sirtulinas, las cuales regulan el metabolismo, el envejecimiento y la respuesta al estrés, ya que el resveratrol regula la actividad deacetilasa de la lisina de las enzimas SIRT e indirectamente de esta manera mejora la actividad del H₂O₂, reduciendo la producción de radicales libres de oxígeno.¹⁹ La actividad quimio preventiva contra el cáncer se da debido a que promueve apoptosis de las células neoplásicas, ya que inhibe la actividad de factores de transcripción implicados en el crecimiento y diferenciación de células neoplásicas.²⁰

En este estudio se pudo evidenciar el efecto lipolítico del resveratrol en preadipocitos de la línea celular 3T3-L1. La proteína Sirt1 tiene un papel importante en el metabolismo energético, ya que existe una fuerte evidencia de que el resveratrol es capaz de activar a esta proteína y ésta a su vez modula la

expresión de la insulina y la secreción de la adiponectina; adipocitoquina que fortalece la sensibilidad a la insulina.^{21,2}

En el experimento se diferenciaron totalmente las células 3T3-L1 y, posteriormente, 10 días post-inducción, se aplicaron 50µM de resveratrol. Luego de teñir las células para cuantificar el contenido de triglicéridos hubo una fuerte reducción en grasa que fue observada en las células tratadas con resveratrol, debido a la activación de Sirt1, que actúa como un represor de genes que dirigen la diferenciación del adipocito y el almacenamiento de ácidos grasos.^{22,23,24}

Figura 2. Cuantificación de lípidos en cada célula diferenciada con el respectivo medicamento rosiglitazona muestra tener una mayor concentración de lípidos en la célula en comparación con el resveratrol y el control.



Fuente: Elaboración propia.

Los resultados obtenidos sugieren que al estimular la proteína Sirt-1 se puede generar la movilización de triglicéridos en los adipocitos de la línea celular 3T3-L1. Los mecanismos moleculares que explican esta acción no están aún claros; pero una explicación puede ser la capacidad del resveratrol de inducir la actividad de la Sirt 1 como se mencionó, lo cual promueve su activación e inhibición del receptor nuclear PPAR γ ; otra alternativa es que incrementa la expresión de los genes mitocondriales, incluyendo los involucrados en la fosforilación oxidativa.²⁵

Sirtulina-1 (SIRT1) funciona como una proteína de acetilasa, la cual remueve grupos acetyl de diversos grupos de proteínas en una manera NAD-dependiente. Sirt1 participa en diversos procesos celulares como lo son la modulación del ciclo celular, metabolismos y envejecimiento, a través de la interacción de diversos sustratos y en la cual mejora su actividad deacetilasa, de esta manera el resveratrol provocó

un estímulo en SIRT1 necesario para actuar en diversos componentes implicados en el proceso de adipogénesis y lipogénesis.⁸ Uno de los blancos de SIRT1 es el receptor del coactivador- 1alfa del proliferador del peroxisoma gamma (PGC-1 α), del receptor activador proliferador del peroxisoma gamma (PPAR), el cual es un importante factor en la función y biogénesis mitocondrial relacionada con el metabolismo mitocondrial.⁶

El PPAR-gamma es el principal factor de transcripción que regula la diferenciación de los adipocitos, el resveratrol también puede ejercer una acción directa al generar la transactivación del PPAR-gamma, el cual resultará en la inducción de activación de la ruta de señalización MAP quinasa, generando apoptosis del adipocito por esta vía.⁹ Adicionalmente no hay que olvidarse que la mitocondria en cualquier célula tiene un papel importante en la generación de ATP, pero igual o más importante en el metabolismo de los lípidos. De hecho, las mitocondrias proporcionan una gran enrucijada en el almacenamiento de lípidos y carbohidratos. Las mitocondrias están involucradas en procesos lipolíticos a través de la β -oxidación de lípidos, pero también en procesos anabólicos como la lipogénesis y el almacenamiento de lípidos en adipocitos y otros tejidos, es donde al parecer el PPAR-gamma también juega un papel preponderante.¹⁰

Dado que el resveratrol tiene múltiples blancos es difícil comprender del todo en qué forma actúa sobre las sirtrinas; una posibilidad es que estabiliza la unión de un péptido fluoróforo a la sirtrina que es necesario para su activación. Sin embargo, el mecanismo de acción por el cual el resveratrol y otros polifenoles actúan sobre Sirt1 sigue siendo desconocido.²⁶ Ha sido demostrado que Sirt1 se une a los sitios reguladores de genes dependientes de PPAR γ , que cumple un papel crucial en la activación de la adipogénesis y que además SIRT1 se une directamente a PPAR γ en adipocitos maduros.

La explicación a esta hipótesis demostró que SIRT1 interactúa con un corepresor de PPAR γ que posee actividad deacetilasa de histona y molecularmente genera represión de la transcripción de genes dependientes de PPAR γ y que la actividad deacetilasa de histona dependiente de NAD⁺ generada por SIRT1 no es suficiente para producir represión de PPAR γ , lo cual repercute en la movilización de grasa.^{2,6,25}

Algunos reportes indican que la utilización de resveratrol a través de la activación de SIRT1 modula la función de PGC-1 α , un coactivador que induce biogénesis mitocondrial y activa genes comprometidos en grasa parda y termogénesis adaptativa, induciendo potencialmente la actividad mitocondrial e

incrementando la tolerancia al frío; todos estos efectos son dependientes de la función de PGC-1 α .⁶

Adicionalmente, estudios que profundicen en la caracterización molecular de SIRT1 podría vislumbrar una vía de conexión molecular entre el envejecimiento celular y la regulación metabólica.²⁷ Otro factor implicado en el proceso inflamatorio crónico en pacientes obesos y que se relaciona con resistencia a la insulina es el inflamasoma NLRP3, el cual hace parte del sistema inmune natural de los individuos, y es fácil especular sobre las futuras implicaciones terapéuticas de estos resultados.¹² Al parecer el inflamasoma NLRP3, la IL-1 y a la IL-18 están implicadas en el desarrollo y evolución de las enfermedades como: aterosclerosis, diabetes tipo II, hiperhomocisteinemia, gota, malaria e hipertensión arterial, identificaron esta cascada como un blanco quimioterapéutico ideal para la prevención de estas patologías.¹¹

La manera en que se activa el inflamasoma postula tres hipótesis: la primera sugiere que el eflujo del ion potasio es una señal necesaria para la activación del NLRP3, ya que el potasio disminuye la concentración intracelular del inflamasoma, cabe recordar que el inflamasoma es un complejo citosólico presente en el citoplasma celular, que está íntimamente relacionado con la actividad mitocondrial en el adipocito. La segunda teoría propuesta es la de los fagocitos, que ingieren el material utilizado endógeno o exógeno y las proteínas agregadas, estos materiales una vez fagocitados son procesados de manera errónea y crea una liberación de proteasa lisosomal cathepsina B, la cual es detectada por el NLRP3 y genera activación del inflamasoma. La tercera teoría propuesta es la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) de corta duración, la cual es considerada como crítica para la activación del inflamasoma.^{11, 28}

Para concluir se ha demostrado que el inflamasoma NLRP3 tiene un papel sustancial en la detección de inductores asociados con la obesidad de la activación de caspasa-1 y, por lo tanto, regula el desarrollo y la magnitud de la inflamación y sus efectos posteriores sobre la señalización de la insulina. Estos hallazgos destacan el potencial de dirigirse a las vías moleculares que regulan la activación de la caspasa-1 en la obesidad para el tratamiento de la resistencia a la insulina y la inflamación crónica y de comorbilidades inducidas.¹³

Estos trabajos nos permitirán en el futuro utilizar el resveratrol o sus análogos, para desarrollar nuevas intervenciones en el tratamiento de los pacientes con obesidad y sus complicaciones, tales como diabetes tipo 2 o resistencia a la insulina. Esto la convierte en una molécula de interés farmacológico de suma im-

portancia y en especial por los múltiples blancos que posee, tales como las enzimas catalasa, xantina oxidasa y ciclooxigenasa-2.^{29,30,31,32} Un ejemplo de esto lo constituye los efectos citotóxicos que han sido encontrados en líneas celulares K β del tumor epidérmico nasofaríngeo humano, al igual que su efecto inhibitorio sobre la actividad de la xantina oxidasa.³⁰

Este estudio nos permite diseñar estrategias que pueden ayudar al ser humano a combatir la diabetes y la obesidad, las cuales están generando un impacto importante en cuanto al aumento de morbimortalidad, por eso la importancia de generar cambios en el estilo de vida para que disminuyan las complicaciones y secuelas que presentan estas enfermedades, y nuevas moléculas como el resveratrol, capaces de regular la actividad de proteínas tan importantes dentro del metabolismo de lípidos como SIRT1, el PPAR-gamma y el inflamasoma merecen el enfoque de amplias investigaciones.

Financiación:

El financiamiento de este trabajo ha sido realizado con fondos propios de la Institución y todo lo escrito en el mismo es responsabilidad de los autores.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de interés con alguno de los proveedores de los reactivos mencionados en el estudio.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Hoja de hechos. Geneva, World Health Organization (WHO), obesidad y sobrepeso. [En línea] 2017. [consultado el 28 de septiembre de 2017]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
2. de Ligt M, et al. Resveratrol and obesity: Can resveratrol relieve metabolic disturbances? *Biochim. Biophys. Acta*. [En línea] 2014, [consultado el 15 de octubre de 2017]. Disponible en <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.11.012>.
3. Alarcón de la Lastra C, Villegas I. Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: Mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2005; 49(5): 405-430.
4. Das S, Das D. Anti-Inflammatory Responses of Resveratrol. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*. 2007; 6(3): 168-173.
5. Kim S, Jin Y, Choi Y, Park T. Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochemical Pharmacology*. 2011; 81(11): 1343-1351.
6. Noriega-González J, Chirino Y, Mata-Miranda M, et al. Effect of Resveratrol on Mitochondrial Activity in Differentiated Mature Adipocytes. *International Journal of Morphology*. 2015; 33(3):1085-1092.
7. Alkhalaf M. Resveratrol-induced growth inhibition in MDA-MB-231 breast cancer cells is associated with mitogen-activated protein kinase signalling and protein translation. *European Journal of Cancer Prevention*. 2007; 16(4): 334-341.
8. Imamura H, Nagayama D, Ishihara N, et al. Resveratrol attenuates triglyceride accumulation associated with upregulation of Sirt1 and lipoprotein lipase in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*. 2017; 12: 44-50.
9. Hu P, Zhao L, Chen, J. Physiologically achievable doses of resveratrol enhance 3T3-L1 adipocyte differentiation. *European Journal of Nutrition*. 2014; 54(4): 569-579.
10. Li S, Bouzar C, Cottet-Rousselle C, et al. Resveratrol inhibits lipogenesis of 3T3-L1 and SGBS cells by inhibition of insulin signaling and mitochondrial mass increase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*. 2016; 1857(6): 643-652.
11. Suárez R, Buelvas N. El inflammasoma: mecanismos de activación. *Investigación Clínica* [En línea]. 2015; 56(1): 74-99. [consultado el 7 de octubre de 2017] Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=372937695009>.
12. Drenth J, van der Meer J. The Inflammasome -A Linebacker of Innate Defense. *New England Journal of Medicine*. 2006; 355(7): 730-732.
13. Vandannagsar B, Youm Y, Ravussin A, et al. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nature Medicine*. 2011; 17(2): 179-188.
14. Aróstegui J. Etiopatogenia de los síndromes asociados a criopirina: genética, bases moleculares y el inflammasoma. *Medicina Clínica*. 2011; 136: 22-28.
15. Student AK, Hsu RY, Lane MD. Induction of fatty acid synthetase synthesis in differentiating 3T3-L1 preadipocytes. *The Journal of Biological Chemistry*. 1980; 225(10): 4745-4750.
16. Fu M, Sun T, Bookout AL. A nuclear Receptor Atlas: 3T3-L1 Adipogenesis. *Molecular Endocrinology*. 2005; 19(10): 2437-2450.
17. Picard F, Kurtev M, Chung N. Sirt 1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPARγ. *Nature*. 2004; 429: 771-776.
18. Xiang-hui L, Zhang J, Sui S, Yang M. Effect of daidzin, genistin, and glycitin on osteogenic and adipogenic differentiation of bone marrow stromal cells and adipocytic transdifferentiation of osteoblasts. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2005; 26 (9): 1081-1086.
19. Pan Y, Zhang H, Zheng Y, et al. Resveratrol Exerts Antioxidant Effects by Activating SIRT2 To Deacetylate Prx1. *Biochemistry*. 2017; 56(48): 6325-6328.
20. Chatterjee A, Ronghe A, Padhye S, et al. Antioxidant activities of novel resveratrol analogs in breast cancer. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2017; e21925.
21. Chang C, Lin K, Peng K, et al. Resveratrol exerts anti-obesity effects in high-fat diet obese mice and displays differential dosage effects on cytotoxicity, differentiation, and lipolysis in 3T3-L1 cells. *Endocrine Journal*. 2016; 63(2):169-178.
22. Haemi L, Jae-woo K. High-dose Resveratrol Inhibits Insulin Signaling Pathway in 3T3-L1 Adipocytes. *Journal of Lifestyle Medicine*. 2013; 3(1), 41-47.
23. Kang N, Ha A, Kim J and Kim W. Resveratrol inhibits the protein expression of transcription factors related adipocyte differentiation and the activity of matrix metalloproteinase in mouse fibroblast 3T3-L1 preadipocytes. *Nutrition Research and Practice*. 2012; 6(6): 499.
24. Zhang X, Huang B, Choi S and Seo J. Anti-obesity effect of resveratrol-amplified grape skin extracts on 3T3-L1 adipocytes differentiation. *Nutrition Research and Practice*. 2012; 6(4): 286.
25. Peredo-Escárcega A, Guarner-Lans V, Pérez-Torres I, et al. The Combination of Resveratrol and Quercetin Attenuates Metabolic Syndrome in Rats by Modifying the Serum Fatty Acid Composition and by Upregulating SIRT 1 and SIRT 2 Expression in White Adipose Tissue. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015; (1):1-9.
26. Sauve AA, Wolberger C, Schramm VL, Boeke JD. The Biochemistry of Sirtuins Annu. *Rev Biochem*. 2006; 75: 435-446.

27. Lin J, Handschin C, Spiegelman B. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metabolism*. 2005; 1: 361-370.
28. Rheinheimer J, de Souza BM, Cardoso NS, Bauer AC, Crispim D. Current role of the NLRP3 inflammasome on obesity and insulin resistance: a systematic review. *Metabolism*. 2017, [consultado el 18 de octubre de 2017]. doi:10.1016/j.metabol.2017.06.002
29. Pirola L, Frôidô S. Resveratrol: One molecule, many targets. *IUBMB Life*. 2008; 60(5): 323-332.
30. Huang XF, Li HQ, Shi L, et al. Synthesis of Resveratrol analogues, and evaluation of their cytotoxic and Xanthine oxidase inhibitory activities. *Chem Biodivers*. 2008; 5(4): 636-642.
31. Zykova TA, Zhu F, Zhai X, et al. Resveratrol directly targets Cox-2 to inhibit carcinogenesis. *Mol Carcinog*. 2008; 9999 (9999) [En línea]. 2008 [consultado el 21 de octubre de 2017]. Disponible en <http://www3.interscience.wiley.com/journal/117949900/abstract>.
32. Qiang L, Wang H, Farmer SR. Adiponectin secretion is regulated by SIRT 1 and the endoplasmic reticulum oxidoreductase Ero1-L α . *Molecular and Cellular Biology*. 2007; 27(13): 4698-4707.