

720380

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



DETERMINACION DEL NUMERO Y TAMAÑO DE
LAS CELULAS ADIPOSAS EN OBESIDAD
INFANTIL, Y SU CONTENIDO DE
LIPIDOS

T E S I S

Que Para Obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a:

IRMA YOLANDA ROBLES SILES

México, D. F.

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS TESIS 1978
ABO M.T. 373 367
FECHA _____
AÑO _____
9 _____



JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE: PROF. FERNANDO VELEZ OROZCO.

VOCAL: " DEA CORONADO PERDOMO.

SECRETARIO: " SALVADOR MARTIN SOSA.

1er. SUPLENTE: " MA. DOLORES LASTRA AZPILICUETA.

2o. SUPLENTE: " ALVARO OSORNIO.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGIA DEL HOSPITAL DEL NIÑO D.I.E

SUSTENTANTE: IRMA YOLANDA ROBLES SILES.

ASESOR DEL TEMA: DR. SALVADOR MARTIN SOSA.

SUPERVISOR TECNICO: DR. CARLOS ROBLES VALDES.

Agradecemos a las siguientes personas que de una u otra manera contribuyeron para la realización de este trabajo:

Al Dr. Carlos Robles Valdés, Jefe del Depto. de Endocrinología del Hospital del Niño DIF.

Al Dr. Salvador Martín Sosa, Jefe del Depto. de Virología del Hospital del Niño DIF.

Al Dr. Javier Kuts de la Mora, Jefe de Enseñanza del Hospital del Niño DIF, por las fotos y algunas de las gráficas de este trabajo.

Al Dr. Ricardo Peniche, Ex Jefe de Residentes de Cirugía del Hospital del Niño DIF, por las biopsias de tejido adiposo de los niños usados como controles normales.

Al Dr. Ruy Pérez Tamayo, del Depto. de Patología del Instituto Nacional de la Nutrición, por las facilidades que nos brindó para realizar los cortes - por congelación de nuestras biopsias.

Al Dr. Miguel Peniche Flores, de Farmacéuticos Lakeside, S. A., por proporcionarnos los equipos para la determinación de Lípidos Totales y la de Triglicéridos.

A mis padres:

Sr. Hilario Robles F.

Sra. Concepción S. de Robles.

A mi hermano:

Arturo

A mis amigos

A Carlos

INDICE

	Pag.
INTRODUCCION	1
GENERALIDADES	4
MATERIAL Y METODOS	26
RESULTADOS	39
DISCUSION	51
CONCLUSIONES	55
RESUMEN	57
BIBLIOGRAFIA	59

I. INTRODUCCION

En estudios recientes realizados en el Hospital del Niño DIF (1), se observó que el 75% de los pacientes - que consultan al endocrinólogo es por causa de obesidad. - Durante el año de 1977 se hizo un estudio prospectivo para tratar de esclarecer los factores que propician la obesidad, encontrándose los siguientes:

- a) En la primera infancia no se presta atención a la obesidad.
- b) La mayor parte de los niños obesos se empiezan a tratar hasta la edad escolar o en la pubertad.
- c) 75% tienen antecedentes positivos de obesidad.
- d) 60% tienen antecedentes positivos de diabetes.
- e) 100% tienen importantes repercusiones psicológicas.
- f) Presentan un grado importante de inactividad.
- g) Malos hábitos alimenticios (dietas hipercalóricas y -- mal balanceadas).

En cuanto al tratamiento, el pronóstico es desalentador ya que una tercera parte lo abandona prácticamente al iniciarlo, otra tercera parte continúa aumentando de peso y sólo en la tercera parte restante, se obtienen resultados más o menos satisfactorios.

También se observó que sólo una minoría (menos del 5%), la constituyen pacientes con obesidades secundarias a causas genéticas y/o endócrinas.

Debido a lo grave del problema se han desarrollado algunas técnicas para el estudio del tejido adiposo, co

mo las empleadas en Estados Unidos de Norteamérica (2) y en Suecia (3) que permiten cuantificar el número y tamaño de las células grasas así como la cantidad de lípidos intracelulares que contienen.

De acuerdo con estos estudios se sabe que la cantidad excesiva de tejido adiposo que constituyen la obesidad presenta tres tipos celulares, que son:

- 1) Hiperplasia: el número de las células grasas se encuentra aumentado.
- 2) Hipertrofia: el tamaño de la célula grasa está aumentado.
- 3) Mixta: hay hiperplasia e hipertrofia.

Según las teorías de Hirsch y Björntorp, la hiperplasia y la hiperplasia-hipertrofia se establecen en dos períodos críticos de la vida, que son los dos primeros años y la adolescencia. Estos estudios indican que si una persona es obesa en alguna de estas etapas tiene un 30% de probabilidades de permanecer obesa en la vida adulta (4).

Todo esto, en conjunto, representa problemas muy serios para el tratamiento de los pacientes obesos, sobre todo si se considera que durante la infancia no se le dá importancia a este problema, como ya se mencionó, debido a que en esta etapa de la vida no se presentan alteraciones graves como no sean las psicológicas y que las repercusiones sobre el funcionamiento de diversos aparatos y sistemas, como aumento de la litiasis vesicular en el aparato digestivo, arterioesclerosis, insuficiencia venosa, -

insuficiencia coronaria a nivel cardiovascular, enfermedad respiratoria crónica, problemas a nivel osteomuscular, además de los problemas psicológicos, son aparentes hasta que se llega a la edad adulta, en la que la morbilidad y la mortalidad aumentan desproporcionadamente reduciendo su esperanza de vida con respecto a los sujetos normales.

Por estas razones se consideró de importancia desarrollar y estandarizar la técnica para la medición y el conteo de las células grasas en niños normales y obesos, estableciendo además relaciones con diversas variables como son edad, sexo, sobrepeso, celularidad y composición del tejido adiposo en nuestro medio y compararlos con los reportados en el extranjero. Este tipo de estudio no se había realizado anteriormente en nuestro país.

**II. GENERALIDADES SOBRE TEJIDO
ADIPOSO Y OBESIDAD**

A) Generalidades histológicas del tejido adiposo

Las células grasas también son llamadas adipocitos, forman parte del tejido conectivo laxo si se encuentran aisladas o en grupos pequeños, pero si se encuentran agrupadas en lobulillos forman el tejido adiposo (5).

Estos lobulillos se encuentran sostenidos y separados por tabiques de tejido conectivo laxo, el que conduce vasos sanguíneos y nervios al interior del tejido. -- Dentro del lobulillo, cada célula grasa está sostenida por un estroma constituido por fibras colágenas y reticulares muy delgadas que contienen abundantes capilares, que así -- mantienen un contacto directo con las células grasas, y -- además hay presencia de células cobadas. Se ha observado -- que un 50% de las células del tejido adiposo son células -- del estroma.

Hay dos tipos de tejido adiposo que son: el -- blanco y el pardo.

El tejido adiposo blanco es muy común en los ma-- míferos, y representa casi todo el tejido adiposo del hom-- bre; en ocasiones hay carotenos presentes, lo que lo hace menos blanco.

El tejido adiposo pardo se encuentra en muchos mamíferos, y su color se debe a que dispone de riego san-- guíneo abundante y a que sus células contienen gran canti-- dad de mitocondrias ricas en citocromos, los cuales contie

nen un compuesto coloreado. Su función es regular la temperatura corporal de los animales recién nacidos y en algunas especies es fuente de energía calórica para la hibernación.

El tejido adiposo constituye un órgano de actividad metabólica que interviene en la captación, síntesis, almacenamiento y movilización de los lípidos (6).

La grasa es un material aislante que sirve como relleno de diversas partes del cuerpo.

Para estudios histológicos, el corte por congelación es el método de elección cuando no se desea disolver la grasa que contiene el tejido. En este método, una porción del tejido ya sea fresco o recién fijado, se coloca sobre la platina del microtomo, debajo de la cual se encuentra una válvula en la que se libera CO₂ líquido que al gasificarse enfría al tejido hasta que se congela; una vez congelado tiene la suficiente dureza para poder cortarlo en secciones finas con una cuchilla horizontal. Estos cortes tienen la ventaja de que su preparación es rápida, no exponen al tejido a solventes de grasas y pueden teñirse bastante bien con los colorantes específicos de éstas.

Los colorantes empleados en estas tinciones son solubles en grasa, como el Sudán III y el Rojo escarlata, que al disolverse en las estructuras lipídicas dan un color anaranjado a las zonas de adsorción. El colorante Sudán Negro B se fija preferentemente a los fosfolípidos y al colesterol.

B) Metabolismo del tejido adiposo y regulación de la movilización de las grasas

No se había considerado la importancia de los lípidos tisulares hasta que en 1935 Schoenheimer y Rittenberg (6) demostraron el estado dinámico de la grasa corporal.

Como forma de almacenar energía, la grasa presenta ventajas sobre los carbohidratos y las proteínas, ya que su valor calórico es más de dos veces mayor y tiene asociada menor cantidad de agua, es decir, la grasa es la forma más concentrada de almacenar energía; sin embargo, primero se utilizan los carbohidratos, después la grasa y finalmente las proteínas.

La grasa es esencial en la dieta, en cantidad mínima para que haya una provisión adecuada de ácidos grasos poliinsaturados esenciales y vitaminas liposolubles, que no se pueden sintetizar en cantidad suficiente para el buen funcionamiento del organismo. Además de ser portador de estos compuestos, permite su absorción adecuada en el aparato digestivo.

Los depósitos de triglicéridos (TG) en el tejido adiposo, continuamente están experimentando lipólisis y reesterificación (7). El resultado de estos dos procesos determina la magnitud del depósito de ácidos grasos libres (AGL) en el tejido, que a su vez es la fuente determinante

de los AGL en el plasma.

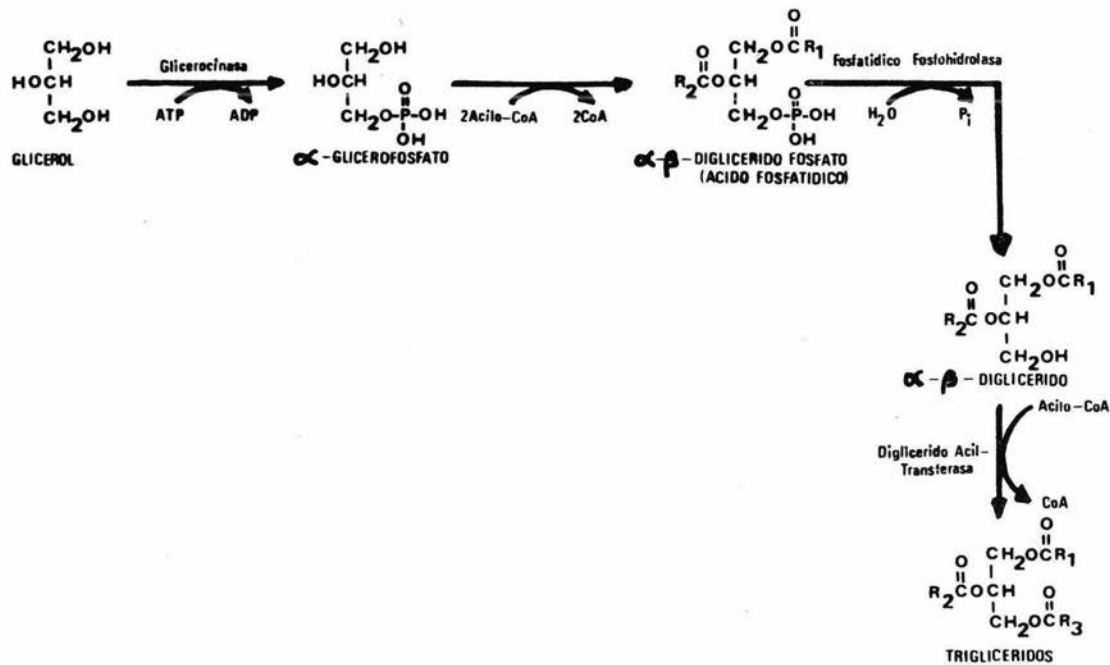
En el tejido adiposo, los TG se sintetizan a -- partir de la acilo-CoA y del alfa-glicerofosfato (8), se-- gún el mecanismo que se muestra en la fig. 1. Debido a la baja actividad de la enzima glicerocinasa en el tejido adi-- poso, el glicerol no puede utilizarse en la esterificación de acilo-CoA. El tejido depende de un suministro de gluco-- sa para proveerse del alfa-glicerofosfato, necesario en es-- ta reacción.

Los TG son hidrolizados por una lipasa sensible a ciertas hormonas, para formar AGL y glicerol. Los AGL -- formados en la lipólisis pueden resintetizarse, en el teji-- do, con una tiocinasa, en acilo-CoA y reesterificarse con el alfa-glicerofosfato, para formar TG; así se mantiene un ciclo continuo de lipólisis y reesterificación dentro del tejido, aunque si la tasa de reesterificación no iguala a la de lipólisis, los AGL se difunden hacia el plasma, en -- donde elevan sus niveles.

Si es adecuada la ingestión de alimentos o la -- utilización de la glucosa por el tejido adiposo se encuen-- tra aumentada, disminuye la salida de AGL y su nivel en -- plasma baja; sin embargo, continúa la liberación de glice-- rol, lo que demuestra que el efecto de la glucosa no está mediado por la reducción de la tasa de lipólisis, para re-- ducir los AGL plasmáticos.

En el tejido adiposo, la glucosa puede tomar va-- rias rutas, incluyendo la oxidación hasta CO₂ por la vía --

Fig.1. SINTESIS DE TRIGLICERIDOS



del ácido cítrico, oxidación en la derivación de la hexosa monofosfato (HMP), conversión a ácidos grasos de cadena -- larga y formación de glicéridos-glicerol por la vía del alfa-glicerofosfato.

Los AGL liberados por el tejido adiposo también pueden metabolizarse en el mismo tejido; si los carbohidratos son abundantes, el tejido adiposo tiende a acentuar la utilización de la glucosa para la producción de energía y a esterificar a los AGL, pero si el suministro es bajo, -- conserva a la glucosa para la esterificación por la formación de alfa-glicerofosfato y utiliza los AGL para la producción de energía.

Influencia de las hormonas sobre el tejido adiposo

La relación de AGL liberados del tejido adiposo se encuentra afectada por muchas hormonas que influyen en la tasa de esterificación o de lipólisis (6, 9).

Así, la administración de insulina es seguida -- por una disminución de los AGL plasmáticos circulantes; -- además, otra acción de esta hormona en el tejido adiposo -- es la de inhibir la actividad de la lipasa sensible a las hormonas, reduciendo la liberación de AGL y glicerol. Se -- ha señalado al tejido adiposo como el sitio principal de -- la acción insulínica "in vivo", debido a que es más sensible a la insulina que el músculo estriado.

La prolactina, en este tejido, tiene un efecto

similar al de la insulina, sólo si se administra en grandes dosis.

Otras hormonas, como la adrenocorticotrópica -- (HACT), las hormonas alfa y beta estimulantes de los melanocitos (HEM), la hormona de crecimiento (HC), la hormona estimulante de la tiroides (HET), la vasopresina, la epinefrina, la norepinefrina y el glucagon, aceleran la liberación de AGL del tejido adiposo con lo que se elevan los niveles de éstos en plasma y aumenta la tasa de lipólisis en los depósitos de triglicéridos.

Muchas de estas hormonas activan a la lipasa -- sensible a las hormonas, directamente, con lo que aumentan la utilización de la glucosa. Este último proceso se atribuye al estímulo de la esterificación, por aumentar la disponibilidad de los AGL. La mayoría de estos procesos lipolíticos necesitan de la presencia de glucocorticoides y -- hormonas tiroideas para tener un efecto óptimo, ya que estas hormonas, por sí mismas, no aumentan la lipólisis pero actúan facilitando este proceso.

En el tejido adiposo se encuentran varias lipasas, una de las cuales es una triglicérido lipasa-hormona sensible, además de una diglicérido-lipasa y una monoglicérido-lipasa que no son hormona sensibles, pero que son más activas que la primera. La monoglicérido-lipasa se considera como catalizador del paso limitante de la lipólisis. La lipólisis se encuentra controlada por la cantidad de AMP - cíclico presente en el tejido, por lo que se puede decir -

que los procesos que preservan o destruyen el AMP cíclico tienen efecto sobre la lipólisis. La insulina tiene un -- efecto antilipolítico tanto "in vivo" como "in vitro" y antagoniza con las hormonas lipolíticas.

El ácido nicotínico y la prostaglandina E₁ también detienen la movilización de los AGL.

El sitio de acción de las hormonas tiroideas en este tejido para la facilitación de la lipólisis, aún no se ha esclarecido.

El efecto de la hormona de crecimiento (HC) para la promoción de la lipólisis, en presencia de glucocorticoides, es lenta y depende de la formación de las proteínas que intervienen en la formación del AMP cíclico. Este proceso ha servido para explicar el papel de la glándula - pituitaria y de la corteza suprarrenal en el aumento de la movilización de las grasas.

Asimilación de los ácidos grasos liberados de - los triglicéridos por el tejido adiposo

La principal forma química en la cual interactúan los lípidos plasmáticos con el tejido adiposo, es la de TG en forma de quilomicrones o como lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD).

Se ha encontrado una correlación buena entre la facultad del tejido adiposo para incorporar ácidos grasos de TG y la actividad de la enzima lipoproteín-lipasa, cuya actividad varía con el estado nutricional y el hormonal. -

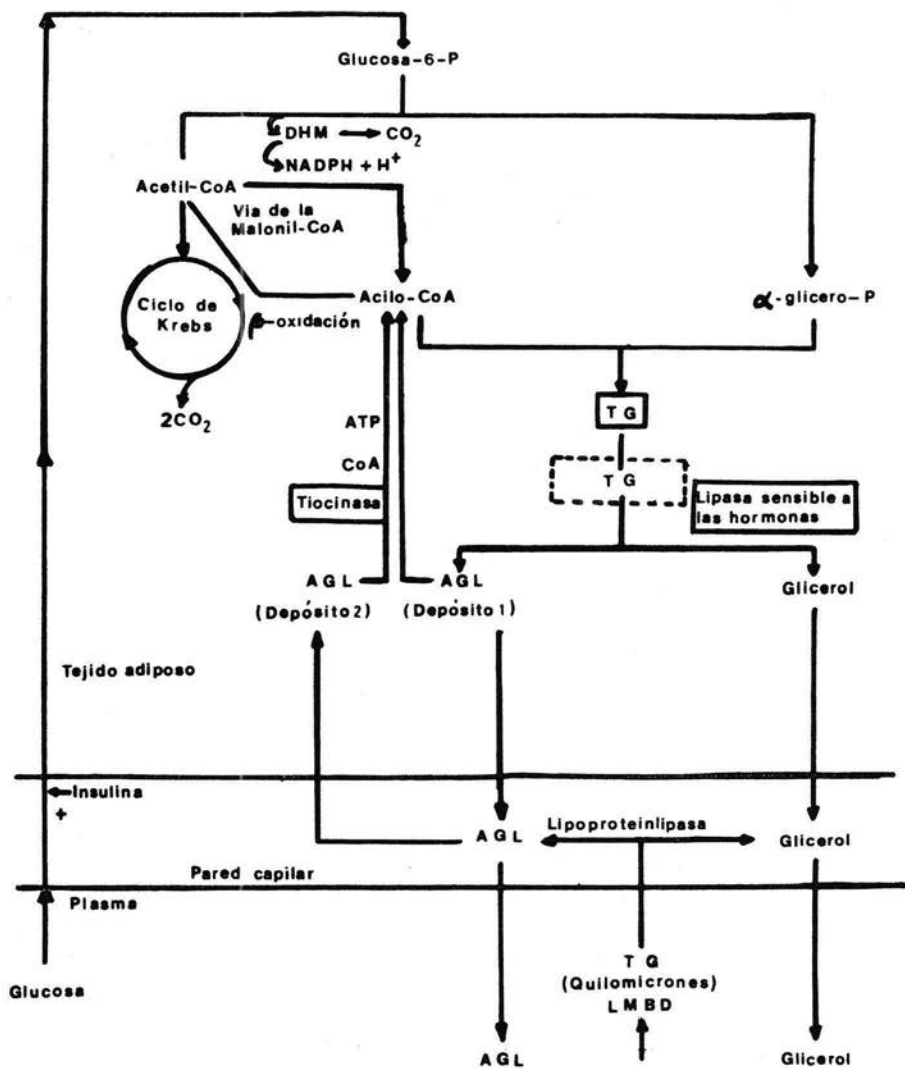
La sangre normal no contiene cantidades apreciables de lipoproteín-lipasa, pero puede ser liberada a la circulación desde varios tejidos después de una inyección de heparina. Esta enzima se ha encontrado en extractos de corazón, tejido adiposo, bazo, pulmón, médula suprarrenal, aorta, diafragma y glándula mamaria lactante.

Se considera que los AGL liberados tienen el mismo destino en el tejido adiposo que los incorporados directamente del plasma. El destino del glicerol liberado dependerá de si el tejido en cuestión contiene o no glicerocinasa; esta enzima tiene baja actividad en el tejido adiposo, lo que indica que el glicerol que se forma como resultado de la separación de los ácidos grasos liberados de TG, es devuelto al plasma (Fig. 2).

El descenso en la actividad de la lipoproteín-lipasa del tejido adiposo que ocurre durante la inanición, se puede deber a una caída en el contenido de la enzima o a su conversión en una forma menos activa.

Al disminuir la actividad de la lipoproteín-lipasa en el tejido adiposo, se eleva en el corazón y en el sistema músculo-esquelético. La lipoproteín-lipasa es activada por ciertos polipéptidos presentes en las apoproteínas de las lipoproteínas de alta densidad (LAD) y en las de muy baja densidad (LMBD).

Fig. 2. METABOLISMO DEL TEJIDO ADIPOSO



DHM = Derivación de la hexosammonofosfato; TG = Triglicérido;
 AGL = Acidos grasos libres; LMBD = Lipoproteínas de muy baja
 densidad.

05

C) Diversos métodos para valorar la obesidad

Antes de discutir sobre obesidad se debe diferenciar el sobrepeso de la obesidad propiamente dicha. El sobrepeso se puede definir como un incremento de 5 a 10% del peso corporal sobre una medida arbitraria, que generalmente es la estatura. El ser obeso significa tener una proporción anormalmente alta de grasa corporal en relación a la masa corporal magra.

Para clasificar las causas que producen obesidad, se deben describir las siguientes características:

1. Edad de establecimiento.
2. Factores etiológicos, si se conocen.
3. Estado descriptivo de la obesidad: moderada a severa; - difusa o localizada; estática o progresiva.
4. Celularidad del tejido adiposo.
5. Factores contribuyentes al problema, si existen.

Así, durante la infancia y la pubertad los factores etiológicos que se presentan son los siguientes:

- a) Por medicamentos; la obesidad es moderada y se desconoce la celularidad del tejido adiposo.
- b) Hipotalámicos: causados por tumores, procesos inflamatorios o traumas; en este caso la obesidad es difusa y en ocasiones severa, y la celularidad es normal o aumentada.
- c) Endócrinos, grupo en el que se incluye a los pacientes

con síndrome de Cushing, insulinoma, hipogonadismo, hipotiroidismo, hipoparatiroidismo y pseudohipoparatiroidismo. La obesidad puede ser de moderada a severa, difusa o estática; la celularidad del tejido adiposo se desconoce.

- d) Prader-Willi; síndrome en el que la obesidad es de moderada a severa, difusa, progresiva y de celularidad desconocida.
- e) Genéticos; que incluyen el síndrome de Laurence-Moon---Bardet-Biedl y el síndrome de hiperostosis frontal interna. La obesidad puede ser moderada, difusa, estática
- f) Por factores desconocidos, en los que la obesidad puede ser moderada y estática, severa y progresiva, y la celularidad del tejido adiposo es normal o aumentada en el primer caso y aumentada en el segundo; además, en ambos casos se observa inactividad.

De todos estos factores, los cinco primeros son poco frecuentes; en cambio, el de causa desconocida es el más frecuente.

Para decidir si un individuo es obeso o solamente presenta sobrepeso, se necesitan técnicas y patrones para cuantificar la grasa corporal (10). Existen varias técnicas para medir la grasa corporal, las cuales pueden ser directas e indirectas.

Técnicas directas

1. Análisis cuantitativo de grasa corporal en -

cadáveres: Se ha realizado en diversos laboratorios, en los que se observa que la grasa corporal normal varía entre un 5 a 30% de la composición total del cuerpo.

También se han determinado otros componentes como agua, que es el mayor, en proporción del 60 al 75%, proteínas del 10 al 30% y cenizas en un 5% aproximadamente.

Como este tipo de análisis no se puede desarrollar en condiciones normales, se han utilizado métodos indirectos para medir la grasa corporal.

Técnicas indirectas

1. Observación superficial: Para llevar a cabo este examen se requiere observar el incremento de los pliegues o las redondeces corporales, que sugieren un aumento de grasa. Estas observaciones no son cuantitativas, a pesar de que dan una buena aproximación del contenido de grasa en forma individual. Este problema se soluciona al asignar tipos corporales, usando para este propósito fotografías somatométricas de sujetos desnudos, con las cuales se pueden obtener resultados numéricos por medio de diversos grados de endomorfía (redondeces), mesomorfía (musculatura) y ectomorfía (masa magra), cuyas características se describen a continuación:

a) Endomorfía, este tipo se caracteriza porque el abdomen tiende a ser más grande que el tórax, todas las partes del cuerpo son suaves y redondas; además, las manos y los pies son comparativamente más pequeños.

- b) Mesomorffia, el tórax es muscular y mucho más grande que el abdomen, los músculos corporales están bien desarrollados y sus articulaciones son prominentes.
- c) Ectomorffia, en este grupo todo el cuerpo es largo y delgado, los músculos son duros y los huesos delicados.

2. Mediciones antropomórficas: Estas involucran la determinación del peso, la estatura, la medición de la distancia entre las crestas ilíacas, de los trocánteres mayores, de las articulaciones acromioclaviculares y de los pliegues gruesos (11).

El grado de sobrepeso o de obesidad se puede expresar en diversas formas, algunas de las cuales son:

- a) Peso relativo, que se obtiene con la relación o porcentaje entre el peso corporal actual y el peso ideal.
- b) Relación peso corporal-estatura (P/E , donde P es el peso corporal y E es la estatura).
- c) Índice de masa corporal (P/E^2).
- d) Índice ponderal ($E/\sqrt[3]{P}$).

Todos estos índices presentan altos grados de correlación entre ellos, pero el índice de masa corporal presenta la mejor correlación con la grasa corporal.

Al hacer una relación no exponencial entre el peso corporal y la estatura, se observa un decremento marcado en el pronóstico de la duración de la vida cuando el peso aumenta sobre el peso promedio; en cambio, al emplear el índice ponderal, se encuentra una relación no lineal, -

en la que el pronóstico de la duración de la vida no decrece marcadamente hasta que el índice cae abajo de 12 a 12.3 lo que corresponde a un sobrepeso del 20% (4).

Desde un punto de vista práctico, el criterio más empleado es la medición del grosor de los pliegues corporales de cuatro sitios diferentes, que generalmente son: bíceps, tríceps, área subescapular y área suprailíaca, que es el método desarrollado por Durnin y Womersley, en el que se emplea un calibrador de pliegues corporales (en mm) de la Cía. Lange (Fig. 3).

Como el peso corporal es la medida que se emplea comúnmente para determinar la obesidad, se deben indicar las limitaciones y problemas que presenta su empleo. - Antes de los 6 a 7 años de edad, el peso corporal proporciona un estimado bajo de la grasa corporal presente; por lo tanto, los niños que no presentan un sobrepeso de más del 10%, en realidad pueden ser obesos. En cambio, durante la adolescencia el peso corporal frecuentemente dá un sobrestimado de la cantidad de grasa presente; así, los adolescentes con un 20% de sobrepeso, en realidad pueden ser no obesos. De todo esto se puede concluir que el peso corporal no es un buen indicador de la obesidad en un individuo si no va acompañado por las mediciones independientes de los componentes esquelético y muscular del cuerpo (10, 12).

3. Mediciones de densidad corporal: La densidad corporal se determina por medio de la densidad especí-

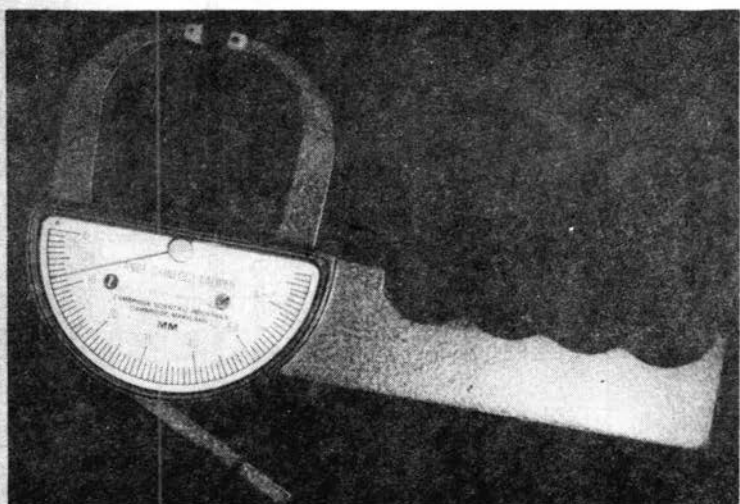


Fig. 3. Calibrador de pliegues corporales (en-
mm) de la Cía. Lange.

fica, esto es, el peso del cuerpo dentro y fuera del agua. Con esta información es posible fraccionar los componentes del cuerpo en grasos y no grasos. Este es un método relativamente fácil de llevar a cabo si se cuenta con los medios adecuados (13).

4. Técnicas de dilución: Dentro de estas técnicas, la que se emplea con mayor frecuencia es la desarrollada por Lesser y col. (10) en la que se emplea una sustancia soluble en la grasa, como el ciclopropano, cuya distribución se puede relacionar con la grasa total presente; también se emplea la distribución de agua tritiada o la cuantificación del isótopo ^{40}K incorporado en la masa celular (14).

Una técnica semejante a la incorporación del ^{40}K es la medición del agua corporal total. Para emplear estos métodos es necesario suponer que la masa corporal magra es constante (15).

D) Aspectos metabólicos de la obesidad

Metabolismo de carbohidratos e insulina

Gran número de individuos obesos presentan evidencias de un metabolismo de carbohidratos alterado, al igual que hiperinsulinemia, ya sea en ayuno o en estado postprandial; estas alteraciones pueden ocurrir sin que haya manifestaciones de diabetes mellitus. Al buscar una relación directa entre la obesidad y la diabetes, se encuentra una característica entre los individuos obesos, esto -

es, sus depósitos adiposos presentan un tamaño aumentado - cuando el metabolismo se encuentra alterado (2, 16).

En estudios realizados "in vitro", en tejido -- adiposo, se ha observado que el metabolismo de la glucosa, y en especial la lipogénesis, sigue un valor normal en las células adiposas de los obesos. Sin embargo, en los suje-- tos obesos el número total de células adiposas se encuen-- tra incrementado, al igual que la lipogénesis total en sus depósitos adiposos. Esta lipogénesis contribuye en menor - cantidad a la síntesis de TG, ya que la mayor parte se ob-- tiene por la esterificación de los ácidos grasos del plas-- ma (7, 13).

La sensibilidad a la insulina del tejido adipo-- so "in vitro", puede medirse por medio de la oxidación de la glucosa y depende del tamaño de las células adiposas, - pues las células más grandes son menos sensibles a la insu-- lina (17). Entonces, se puede predecir que si la hiperinsu-- linemia precede a la obesidad, también conduce a un aumen-- to del contenido de lípidos de las células y por tanto a - hipertrofia.

Después de la ingestión de alimentos y su absor-- ción en el intestino, los carbohidratos pasan por el siste-- ma portal al hígado, y la fracción no almacenada pasa al - espacio del agua corporal para su utilización, iniciándose la estimulación o represión de algunas funciones. Así, las células beta del páncreas son estimuladas para sintetizar y liberar insulina, en tanto que las células alfa y la hi-

pófsis bajan la producción de glucagon y hormona de crecimiento, respectivamente.

La insulina es fuertemente lipogénica y antilipolítica, en tanto que el glucagon y la hormona de crecimiento causan lipólisis. El efecto neto de la insulina es estimular el transporte de la glucosa a través de las membranas celulares en el tejido adiposo y el músculo, al mismo tiempo que suprime la lipólisis y la liberación de la glucosa hepática.

Se ha observado que en la obesidad, la glucosa después de fosforilarse y por la vía glucolítica de Embden Meyerhoff, se puede ir del 1,3-difosfoglicerato al 3-fosfoglicerato y formar una molécula de ATP o desviarse por otro mecanismo a 2,3-difosfoglicerato y a 3-fosfoglicerato sin que haya producción de energía.

Metabolismo de proteínas

Las proteínas constituyen del 15 al 20% de la ingesta calórica, y se ha encontrado que los obesos presentan niveles altos de valina, leucina, isoleucina, tirosina y fenilalanina, los que, a excepción de la tirosina, estimulan la producción de insulina.

Metabolismo de los lípidos

Se ha observado que el tejido adiposo de los obesos presenta una actividad mitocondrial reducida de la enzima alfa-glicerofosfato-deshidrogenasa, la cual está in

volucrada en la oxidación del alfa-glicerofosfato, que es un precursor esencial para la síntesis de TG. Debido a esto, los pacientes obesos presentan síntesis excesiva de -- TG, ya que hay un exceso de alfa-glicerofosfato (9, 18) - (Fig. 4).

Funciones glandulares

1. Hormona de crecimiento (HC): Los estudios -- que se han realizado para observar el efecto de esta hormo na en el desarrollo celular de diversos órganos, han mos-- trado que incrementa la proliferación celular.

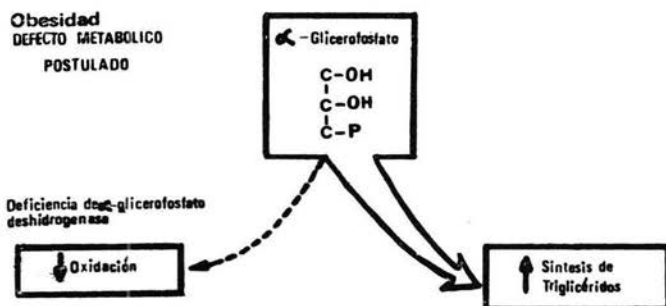
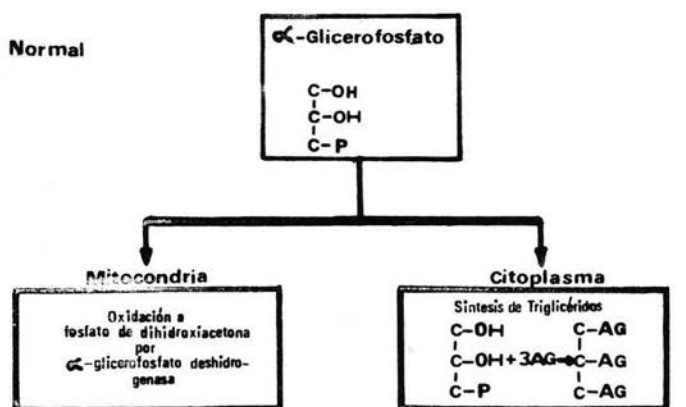
Los sujetos obesos que tienen niveles anormales de HC, sugieren que es muy importante en el desarrollo de hipertrofia en ellos, debido a su efecto sobre la división celular (19).

2. Función suprarrenal: La función corticosupra rrenal se ha encontrado elevada en un 30 a 60% de los pa-- cientes obesos, pero aún no se ha establecido claramente - la relación entre esta función y el desarrollo o el mante- nimiento de la obesidad.

3. Tiroides: En la actualidad, hay poca eviden- cia de que un mal funcionamiento de la tiroides pueda parti cipar en la patogénesis de la obesidad. En sujetos obesos los niveles séricos de yodo unido a proteína o tiroxina se encuentran normales.

4. Hormonas sexuales: En la pubertad, se ha en- contrado que hay un aumento de peso al extirpar o irradiar

Fig. 4. TEORIA DEL CAMINO SEGUIDO POR EL α -GLICEROFOSFATO



10

los ovarios o los testículos, sin que directamente sea resultado de un déficit en las hormonas sexuales.

III. MATERIAL Y METODOS

En la actualidad se reconoce el importante papel metabólico del tejido adiposo, por lo que se han desarrollado técnicas para estudiarlo en forma más completa, -- debido a que las influencias genéticas y nutricionales, -- así como las manipulaciones experimentales, pueden causar grandes cambios en el tamaño del depósito adiposo o en su número total de células (20).

Para determinar la extensión de tales cambios -- en la masa del tejido adiposo, que son observables por cam bios en el tamaño o en el número de los adipocitos, se tra ta de explorar el efecto que estos cambios producen en el metabolismo de este tejido (6), para lo cual se han desa-- rrollado algunos métodos para determinar la celularidad -- del tejido adiposo y la cantidad de lípidos presentes en -- los adipocitos.

Antiguamente, estas mediciones se realizaban -- por medio de la cuantificación del ADN del tejido adiposo, pero este método es tedioso e inexacto ya que vasos sanguí neos, tejido fibroso, macrófagos, etc. presentes en ese te jido contribuyen con cantidades desconocidas de ADN al to-- tal obtenido. También se observó que el ADN contenido en -- otras células puede exceder al contenido en los adipocitos.

En la actualidad se han implantado otros méto-- dos; uno de ellos es el desarrollado por J. Hirsch y E. -- Gallian (21) en los Estados Unidos de Norteamérica, en el que se obtiene una biopsia de tejido adiposo (22), se som

te a disgregación con colagenasa, una parte se fija con te traóxido de osmio (OsO_4), se pasa a través de filtros de nylon de diferentes diámetros, con el fin de obtener una mejor disgregación, se lavan con solución salina en cada paso y después con solución de Ringer, con lo que se obtie ne una suspensión en la que se encuentran los adipocitos libres. De esta suspensión se toman alícuotas que son sometidas, primero, a un conteo por medio del contador electrónico Coulter y, después, a la medición del tamaño de las células con un analizador de partículas Zeiss, por medio de microfotografías.

Este método es muy exacto, pero su desventaja es su costo excesivo, ya que la colagenasa y el OsO_4 , además de los aparatos, son muy caros.

La otra parte del tejido se somete a la determi nación de los lípidos presentes (23).

Existe otro método, que se emplea en Suecia y fué desarrollado por Per Björntorp (3), en el cual la biop sia de tejido adiposo se fija con formaldehído y se le practican cortes gruesos por congelación. Después, cada corte se coloca dentro de una cámara que se llena con una solución isoosmolar en la que el corte flota espontáneamente, procediéndose luego a medir los diámetros de los adipocitos con un microscopio y un ocular graduado.

Este método es simple, barato y rápido, y pre presenta una correlación muy buena con el método de Hirsch y Gallian. Por este método también se cuantifican los lípi-

dos presentes en la célula grasa, para lo cual se hace un extracto del tejido (22, 23). Este extracto se somete a -- cromatografía gas-líquido (GGL) o bien a las determinaciones químicas que se emplean comúnmente para lípidos totales, triglicéridos, ácidos grasos no esterificados, colesterol y fosfolípidos.

Determinación del tamaño y número de los adipocitos

En este trabajo se estudiaron 53 niños en edad escolar, de los cuales 11 fueron considerados controles -- normales debido a que se encontraban en talla y peso normales para su edad.

La obtención de la biopsia, en los niños controles, se realizó por técnicas quirúrgicas; en los niños obesos, se obtuvo realizando una biopsia percutánea de la región hipogástrica con una aguja de Silvermann No. 14 (22) (Fig. 5).

Las biopsias se colocaron en solución de Ringer a temperatura ambiente y se dividieron en dos partes, una para el conteo y la medición de los adipocitos, y la otra para determinar los lípidos presentes en las células grasas.

La primera parte se fijó con formaldehído al -- 35% durante 7 minutos; los cortes por congelación, de 200 micras de espesor, se hicieron en la platina de un microtomo de congelación por CO₂. El corte se coloca en una peque

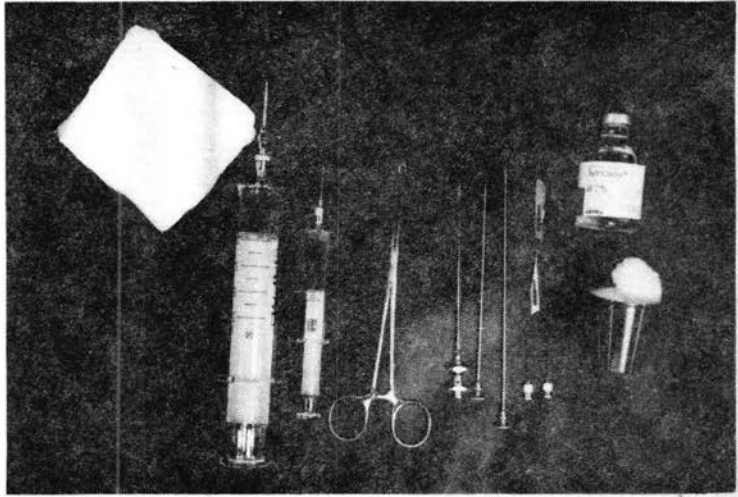


Fig. 5. Equipo empleado para tomar la biopsia de tejido adiposo, en niños obesos.

ña cámara adherida a un portaobjeto con silicon, la que -- se llena con solución de Ringer para permitir que el corte flote espontáneamente y es cubierta por un cubreobjeto -- (Fig. 6).

Para observar las preparaciones se utilizó un -- microscopio Zeiss, modelo Standard WL, con un micrómetro -- ocular graduado para medir los diámetros de 100 células, -- 50 células en una dirección y las otras 50 en dirección -- perpendicular a la primera. Cada unidad de la escala del -- ocular graduado a 40X correspondió a 3.571 micras.

Cálculos de otras variables necesarias para este estudio

Se midieron los pesos y las estaturas de los 53 niños y se compararon con las tablas de Ramos Galván (24), que estiman los pesos y las estaturas normales, para cada edad, en niños mexicanos. En base a estas tablas se determina si los niños tienen un peso normal o si presentan algún grado de sobrepeso.

Tomando como base el peso y la estatura se determinaron las siguientes variables:

1. Agua Corporal Total (ACT), según la fórmula de Friis-Hansen (15) que sólo es válida hasta la pubertad:

$$ACT = 0.135 \times P^{0.666} \times E^{0.535} \quad (\text{en litros})$$

donde: P = peso en Kg.

E = estatura en cm.

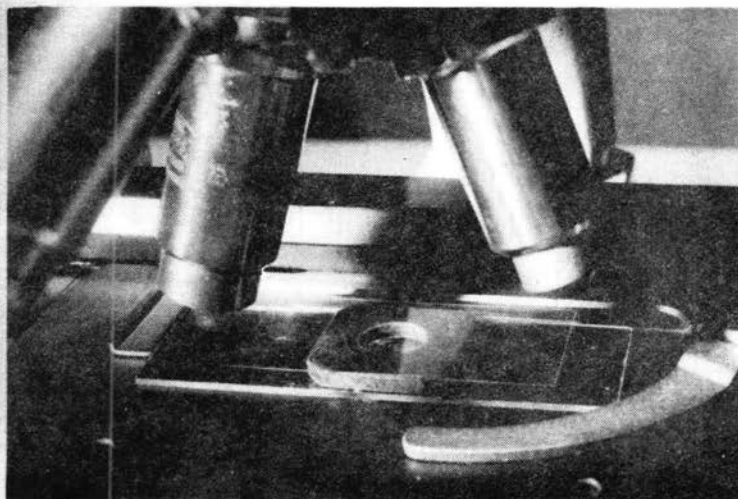


Fig. 6. Cámara cerrada en la cual flota el corte del tejido adiposo, para medir los diámetros de los adipocitos.

2. Masa Corporal Magra (MCM) o peso magro, suponiendo que en todos los individuos la MCM contiene un 73% de agua (10):

$$\text{MCM} = \text{ACT} / 0.73 \quad (\text{en Kg})$$

3. Grasa Corporal Total (GCT) (10):

$$\text{GCT} = \text{P} - \text{MCM} \quad (\text{en Kg})$$

4. Determinación del diámetro celular promedio:

Se promediaron los diámetros de las 100 células medidas y se determinó su desviación estándar, empleando las siguientes fórmulas de estadística (25):

$$\text{Promedio} = \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

$$\text{Desviación Estándar} = \text{D.E.} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

donde: x_i = Valores individuales

n = Número total de valores

5. Volumen promedio del adipocito: Se determinó por medio de la siguiente fórmula (26):

$$\text{Vol. promedio celular} = \frac{\pi (3 \text{ DE}^2 d + d^3)}{6}$$

donde: DE = Desviación estándar

d = Diámetro promedio del adipocito (micras)

$\pi = 3.1416$

6. Número total de células grasas: Este resultado se calcula de acuerdo con la fórmula de Bray (26):

$$\text{No. de células grasas} = \frac{\text{GCT}}{0.92 \times \text{Vol. celular promedio}} \times 10^9$$

donde: 0.92 = Densidad de los triglicéridos

Además se calcularon regresiones lineales por medio de una calculadora Texas Instrument modelo SR-51A de programación estadística, y se calcularon los valores de "p" de acuerdo a la "t" de Student, con las tablas de Caño y col. (25).

Determinación de la cantidad de lípidos presentes en los adipocitos

La segunda parte de la biopsia de cada paciente se sometió a una extracción de lípidos, para poder determinar la cantidad de lípidos presentes.

En la literatura se han descrito algunas técnicas para llevar a cabo la extracción de lípidos de materiales biológicos, como el método de Folch modificado (23) o el método empleado por Hirsch (22).

La extracción se lleva a cabo en la forma siguiente:

1. Se pesa una pequeña cantidad de la biopsia,

no mayor de 10 mg.

2. Este fragmento se coloca en un microhomogenizador tipo Douncinger con pistón recubierto de teflón, se homogeniza y se lava en tres ocasiones con 1 ml de cloroformo (CHCl_3) cada vez, para asegurar la máxima extracción.

3. Se centrifuga a 10 000 rpm durante 10 minutos en una centrífuga Sorvall, transfiriendo el sobrenadante a un tubo de ensayo limpio y seco.

4. Se evapora todo el solvente a baño maría a 80°C , con corriente de aire o de nitrógeno.

5. El residuo se reconstituye con 1 ml de CHCl_3 para concentrar la muestra.

De esta muestra se toma el volumen necesario para llevar a cabo la determinación de lípidos totales, y otro volumen para diluirlo 1:10 con metanol para determinar los triglicéridos.

Las técnicas empleadas para estas determinaciones fueron: para lípidos totales, el método de Zöllner y Kirsch (27) y para los triglicéridos, el método de Eggstein (28), que son los empleados en los equipos de Boehringer Mannheim GmbH.

Determinación de Lípidos Totales

Método colorimétrico.

Principio:

Los lípidos con ácido sulfúrico caliente, en presencia de ácido fosfórico y vainillina, forman un com-

plejo rosa cuya intensidad de color es proporcional a la concentración de los mismos.

Reactivos:

1. Soluciones estándar de lípidos totales ----
(1 000, 750, 500 y 250 mg/100 ml).

2. Solución de ácido fosfórico (11.8 M); vainillina (13 mM).

3. Acido sulfúrico concentrado p.a.

Condiciones fotocolorimétricas:

Longitud de onda: 546 nm.

Cubeta de vidrio: 1 cm de paso de luz.

Temperatura: 100° C, 20-25° C, respectivamente.

Método:

Pipetear en tubos de ensayo limpios y secos:

	Blanco	Estándar	Prueba
Solución estándar	-	0.05 ml	-
Extracto de lípidos	-	-	0.05 ml
Acido sulfúrico	-	2.0 ml	2.0 ml
Mezclar bien, tapar con torunda de algodón e incubar por - 10 minutos en baño maría a ebullición. Enfriar con agua -- fría. Pipetear en tubos de ensayo limpios y secos, de la - mezcla anterior:			
Mezcla de reacción	-	0.10 ml	0.10 ml
Acido sulfúrico	0.10 ml	-	-
Solución 2	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml

Se mezcla muy bien y se incuba 30 minutos a temperatura am
biente.

En el espectrofotómetro se leen los estándares y pruebas contra el blanco.

Cálculos:

A partir de la curva de calibración se extrapolan los valores de la concentración de cada lectura.

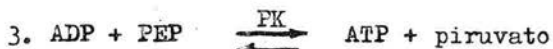
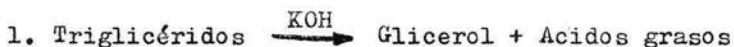
Determinación de Triglicéridos

Método ultravioleta.

Principio:

El glicerol se determina enzimáticamente antes y después de la saponificación por un álcali.

Las reacciones involucradas en esta determinación se pueden representar en el siguiente esquema:



donde: GK = Glicerocinasa

PEP = Fosfoenolpiruvato

PK = Piruvatocinasa

LDH = Deshidrogenasa láctica

La conversión de glicerol en glicerol-1-P está acompañada por la oxidación de NADH_2 , la cual es directamente medible por un decremento de absorbancia.

Reactivos:

1. Amortiguador de trietanolamina 0.1 M, pH 7.6;
MgSO₄ 6.4 mM.

2. NADH 6 mM; ATP 33 mM; PEP 11 mM.

3. Suspensión de LDH 2 mg/ml; PK 1 mg/ml.

4. Suspensión de GK 2 mg/ml.

5. KOH alcohólico 0.5 N aproximadamente.

6. MgSO₄ 0.15 M aproximadamente.

Condiciones espectrofotométricas:

Longitud de onda: 366 nm.

Cubeta de cuarzo: 1 cm de paso de luz.

Temperatura: 55-70° C; 20-25° C.

Método:

Saponificación: En un tubo de centrifuga limpio
y seco se pipetea:

Extracto del tejido diluído..... 0.2 ml

KOH alcohólico0.5 ml

Se mezcla bien, se tapan los tubos con "Parafilm", se incu-
ba de 20 a 30 minutos en baño maría a 55-70° C, después se
enfria a temperatura ambiente.

Solución de MgSO₄ 1.0 ml

Mezclar muy bien, centrifugar y usar el sobrenadante para
la determinación.

Pipetear en una cubeta limpia y seca:

Solución 1 2.5 ml

Solución 2 0.1 ml

Sobrenadante claro 0.5 ml

Suspensión 3 0.02 ml

Mezclar e incubar 10 minutos a temperatura ambiente. Leer la extinción E_1 .

Suspensión 4 0.02 ml

Mezclar e incubar por 10 minutos a temperatura ambiente. - Leer la extinción E_2 .

Cálculos:

$$E_1 - E_2 = \Delta E$$

$$\Delta E_{366 \text{ nm}} \times 1432 = \text{mg de triglicéridos/100 ml.}$$

En ambos métodos, simultáneamente se utilizó un suero control para evaluar el grado de confiabilidad de -- los resultados obtenidos. El control utilizado fué "Preci-lip" Lote No. 448 A/B de Boehringer Mannheim GmbH.

IV. RESULTADOS

Las muestras se agruparon de acuerdo al porcentaje de obesidad en cuatro grupos: normales, de 20 a 40%, de 40 a 60%, y más del 60%. Se hicieron análisis de las -- muestras en forma mixta y por sexos separados, para saber si existían variaciones entre estos grupos.

La tabla 1 muestra los resultados individuales de los pacientes normales y de los obesos. En esta tabla -- se observa que la grasa corporal de los obesos es aproximadamente 3.5 veces la encontrada en el grupo normal. El pro medio de los primeros fué de 17.247 ± 6.11 Kg y para los -- segundos de 4.878 ± 1.690 Kg.

El diámetro de los adipocitos va aumentando al existir mayor grado de sobrepeso, como se indica en la tabla 2.

TABLA 2. Diámetro promedio de los adipocitos
(en micras)

	Normales	20-40%	40-60%	>60%
M. mixtas	69.19	107.61	115.46	127.25
D.E.	12.50	14.73	11.09	5.41
Niñas	65.57	119.42	117.78	126.63
D.E.	12.04	3.34	14.31	4.19
Niños	71.26	106.71	113.72	127.57
D.E.	13.20	18.25	8.46	6.14

Al graficar el grado de obesidad contra el diámetro promedio del adipocito, se encuentra una correlación significativa, con una regresión lineal $(r) = +0.79$, con --

TABLA 1. Resultados Individuales

NORMALES					20 - 40 %				40 - 60 %				>60 %						
Edad (años)	Sexo	GCT' (Kg)	Diámetro celular (micras)	No. cel/Kg de grasa $\times 10^9$	Edad (años)	Sexo	GCT' (Kg)	Diámetro celular (micras)	No. cel/Kg de grasa $\times 10^9$	Edad (años)	Sexo	GCT' (Kg)	Diámetro celular (micras)	No. cel/Kg de grasa $\times 10^9$	Edad (años)	Sexo	GCT' (Kg)	Diámetro celular (micras)	No. cel/Kg de grasa $\times 10^9$
0.25	M	0.3	100.975	1.89	5	M	3.8	71.42	5.07	6	M	11.1	122.13	1.06	7	M	14.1	130.07	0.83
1	M	1.0	69.625	5.14	8	M	14.1	115.91	1.23	8	M	8.9	119.38	1.27	9	F	20.0	126.98	0.93
3	M	1.6	64.67	6.56	10	M	14.0	122.34	1.03	3	M	12.4	114.45	1.27	10	F	20.0	117.41	1.01
5	M	2.6	65.625	6.88	11	M	10.7	118.24	1.05	10	M	12.2	105.70	1.60	10	M	16.7	132.59	0.85
8	M	5.6	66.20	6.36	12	M	19.9	113.59	1.32	10	M	12.8	107.63	1.45	11	M	15.3	122.63	1.04
9	F	4.0	65.45	6.22	12	M	26.7	119.06	1.15	10	M	16.6	92.70	2.26	14	M	41.7	135.77	0.75
12	M	6.7	66.25	6.43	13	M	22.7	106.99	1.57	10	M	22.0	123.06	1.01	7	F	13.5	121.88	1.04
11	F	4.3	69.71	5.61	13	M	15.5	86.10	3.45	12	M	14.4	114.34	1.29	10	F	16.9	126.20	0.30
12	F	4.2	59.375	9.29	8	F	10.2	109.64	1.46	12	M	16.4	109.99	1.42	12	F	19.2	129.81	0.87
12	F	11.5	80.325	3.66	11	F	11.2	113.95	1.25	12	M	19.2	120.20	1.07					
15	F	11.9	52.85	12.50					1.59	13	M	14.4	123.41	1.02					
									1.58	14	M	23.7	115.59	1.26					
										10	F	16.4	110.38	1.40					
										11	F	12.9	125.84	0.98					
										12	F	19.6	116.66	1.23					
										13	F	17.4	90.06	2.60					
										13	F	22.0	117.74	1.19					
										13	F	21.6	128.73	0.92					
										14	F	23.7	121.81	1.02					
										16	F	20.0	108.17	1.53					
										17	F	22.0	140.59	0.67					

* = Grasa corporal total.

$P < 0.001$ en el grupo mixto; en el grupo de las niñas la $r = +0.81$ con una $P < 0.001$; y en el grupo de los niños la $r = +0.77$ con una $P < 0.001$ (Figs. 7, 8 y 9).

Con respecto al volumen promedio del adipocito, se observa una relación semejante al diámetro, como se indica en la tabla 3.

TABLA 3. Volumen promedio del adipocito (en nl)

	Normales	20-40%	40-60%	>60%
M. mixtas	0.214	0.747	0.902	1.188
D.E.	0.14	0.26	0.25	0.15
Niñas	0.174	0.747	0.962	1.170
D.E.	0.09	0.09	0.34	0.11
Niños	0.237	0.747	0.857	1.197
D.E.	0.16	0.32	0.17	0.17

También en este caso se graficaron el porcentaje de obesidad contra el volumen promedio del adipocito en el grupo mixto, en el de niñas y en el de niños. La correlación encontrada es para el grupo mixto, la $r = +0.79$ con $P < 0.001$; en el grupo de las niñas, la $r = +0.80$ con $P < 0.001$; y en el de los niños, la $r = +0.79$ con $P < 0.001$ (Figs. 10, 11, 12).

El número total de células grasas, al contrario del diámetro y del volumen, fué decreciendo al incrementar se el porcentaje de obesidad, lo cual se muestra en la tabla 4.

Fig.7. PORCENTAJE DE OBESIDAD CONTRA DIAMETRO
CELULAR (MICRAS) EN NIÑOS Y NIÑAS

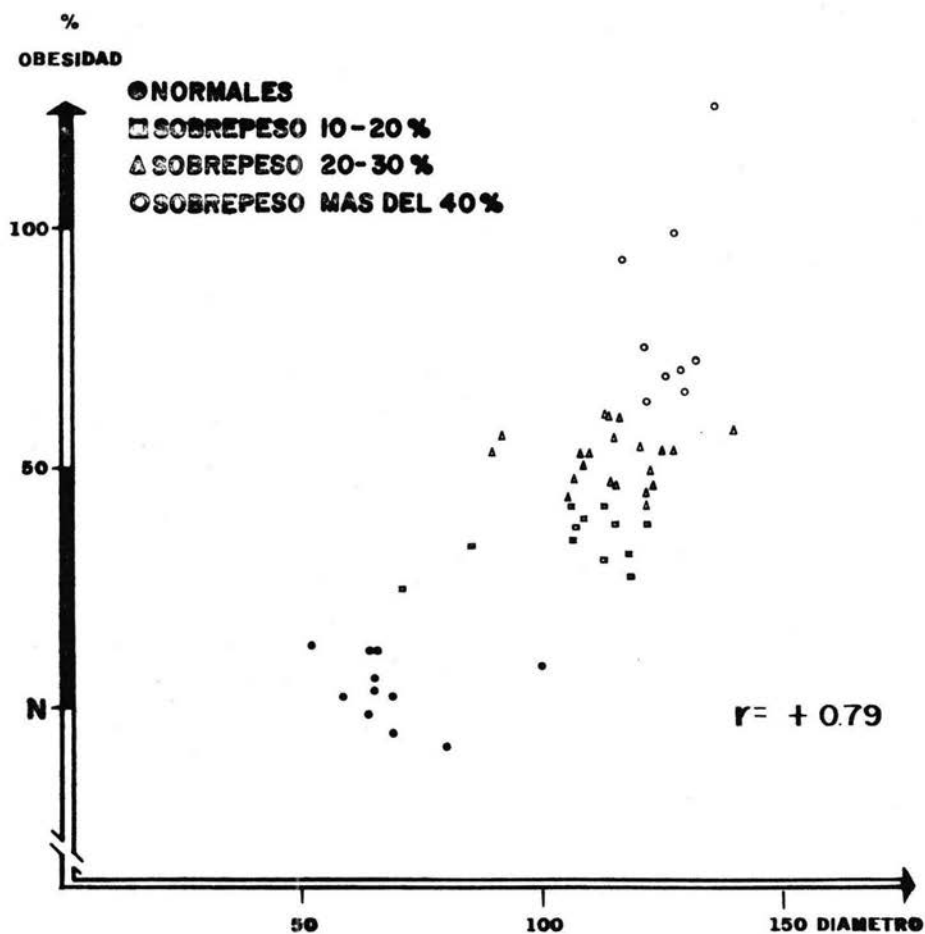


Fig.8. PORCENTAJE DE OBESIDAD CONTRA DIAMETRO
 CELULAR (MICRAS) EN NIÑAS

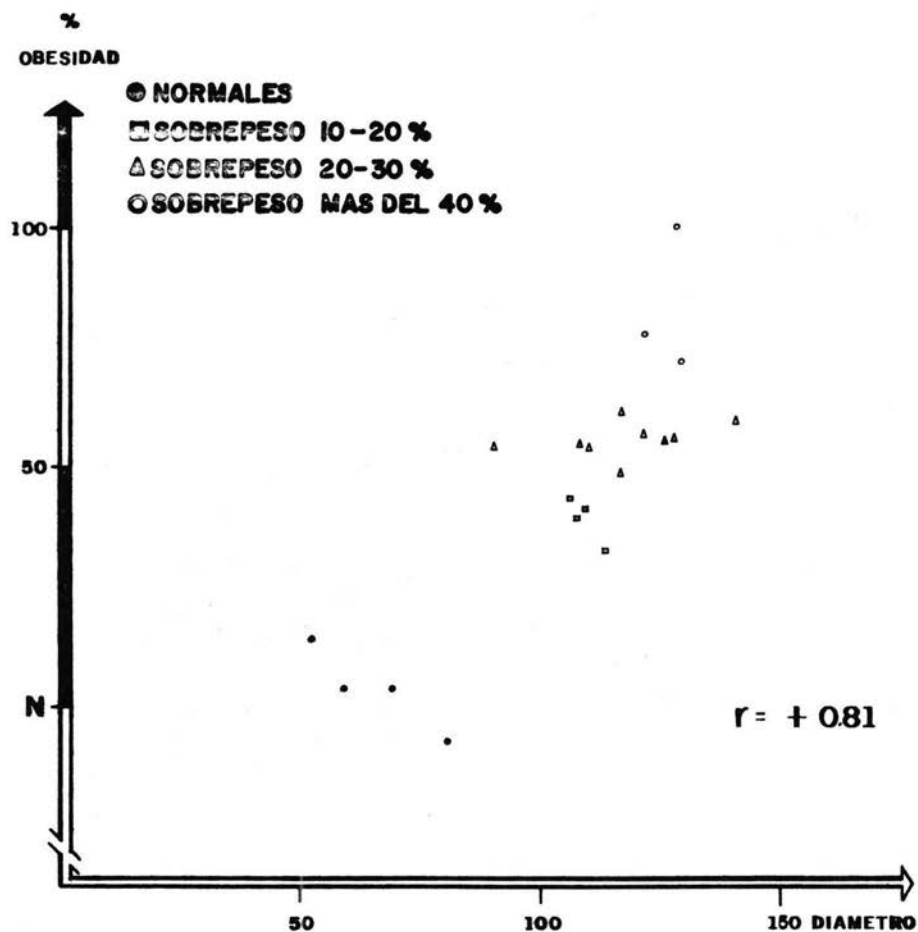


Fig.10. PORCENTAJE DE OBESIDAD VS. VOLUMEN

CELULAR(nl) EN NIÑOS Y NIÑAS

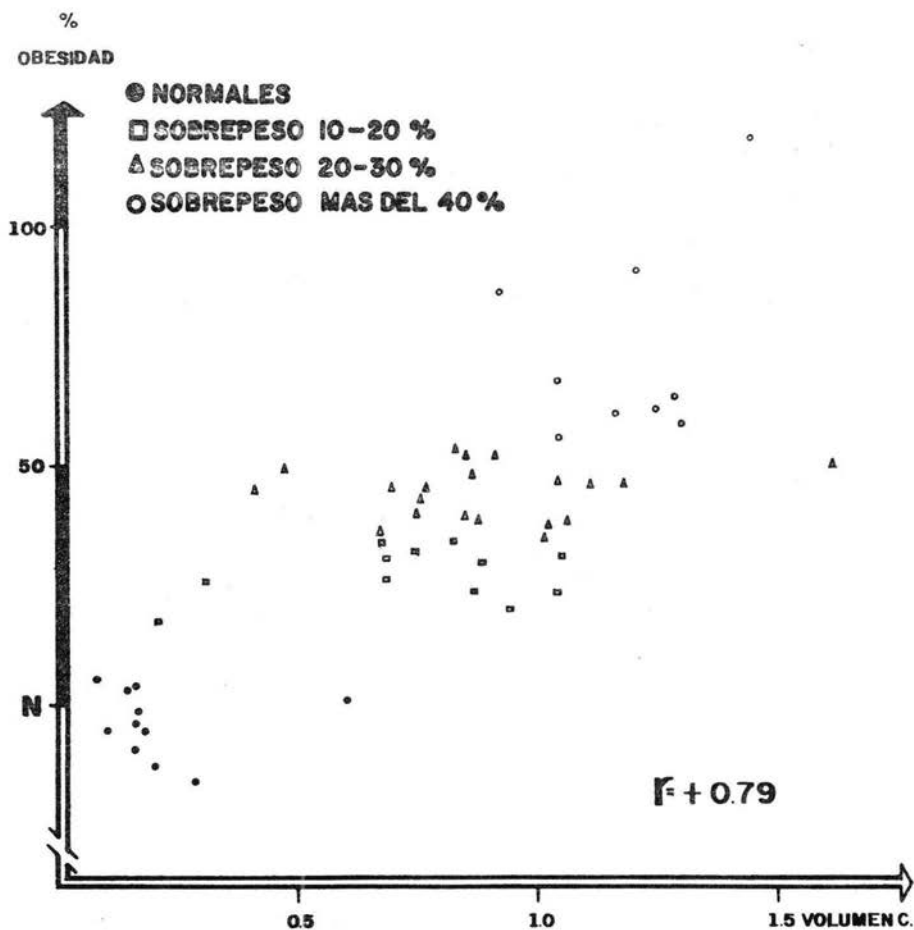


Fig. 11. PORCENTAJE DE OBESIDAD VS. VOLUMEN

CELULAR(ni) EN NIÑAS

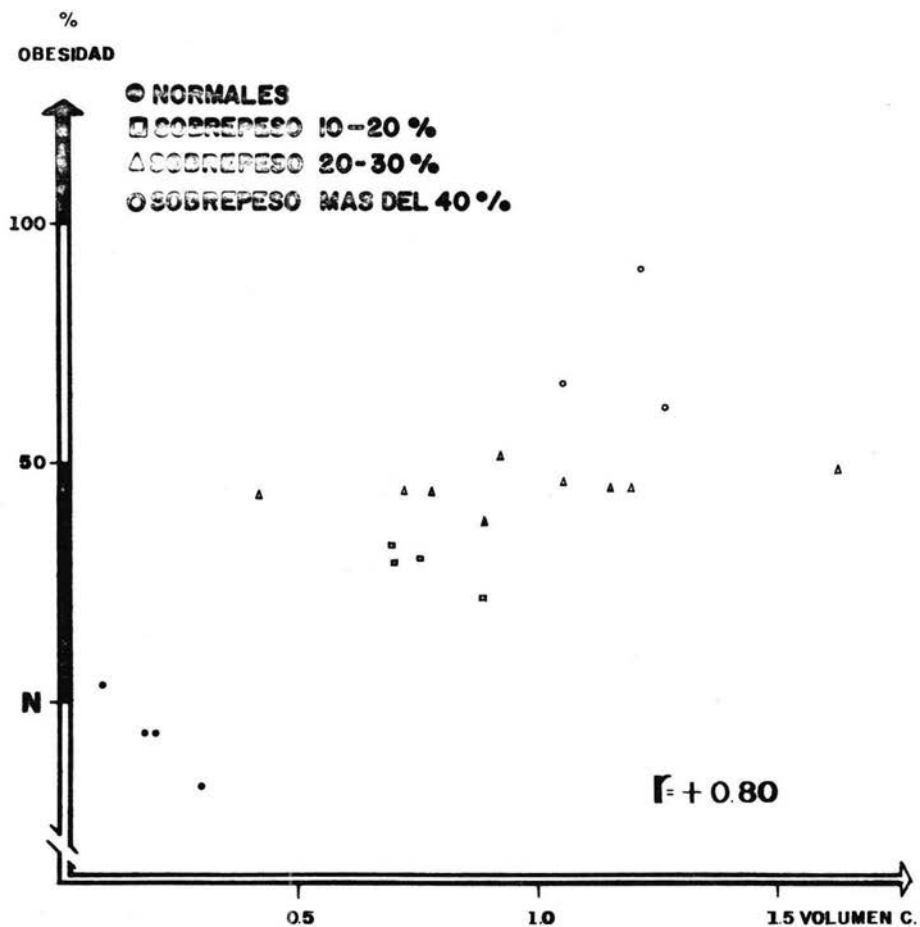


Fig. 12. PORCENTAJE DE OBESIDAD VS. VOLUMEN
 CELULAR (nl) EN NIÑOS

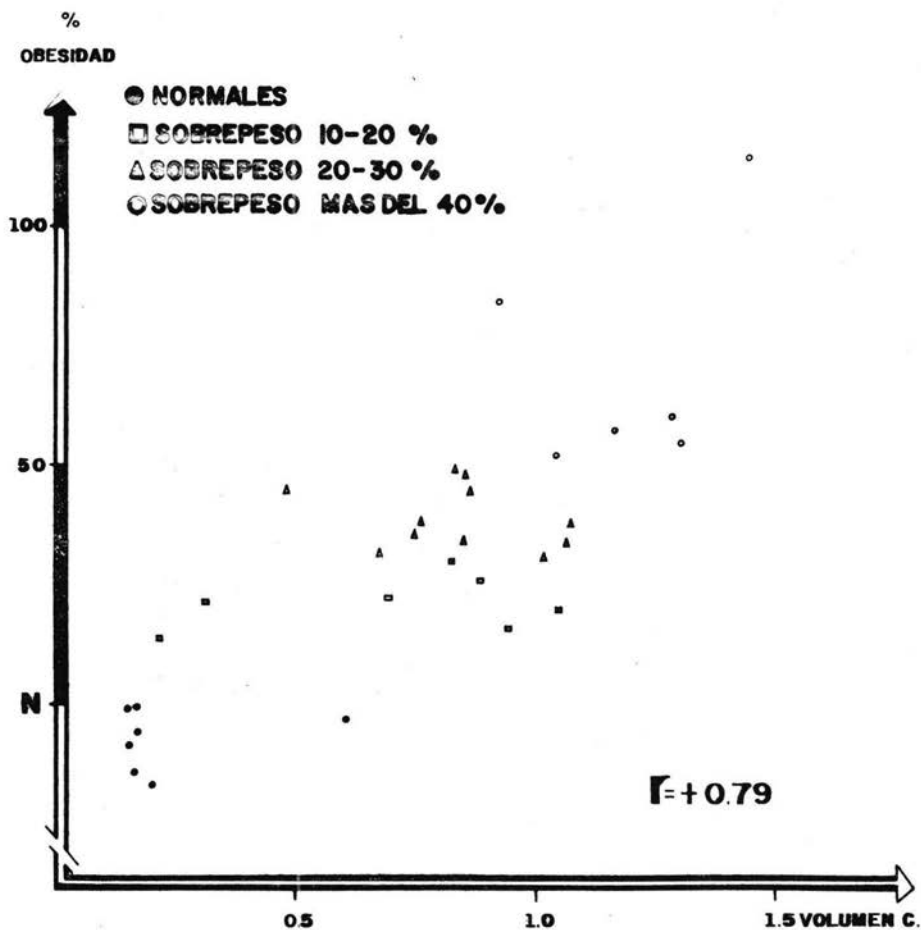


TABLA 4. Número total de células grasas ($\times 10^9$)

	Normales	20-40%	40-60%	> 60%
M. mixtas	35.56	24.98	21.63	17.36
D.E.	10.16	12.67	8.63	5.51
Niñas	63.40	22.88	23.38	15.27
D.E.	27.06	11.30	10.19	1.36
Niños	19.66	26.03	20.33	18.40
D.E.	10.74	13.92	7.14	6.45

El número total de células grasas se estandarizó a 1 Kg de grasa, para poder comparar los resultados obtenidos ya que los niños son de diferentes edades. En este caso se observa una relación contraria a la que presentan el diámetro y el volumen, como se observa en la tabla 5.

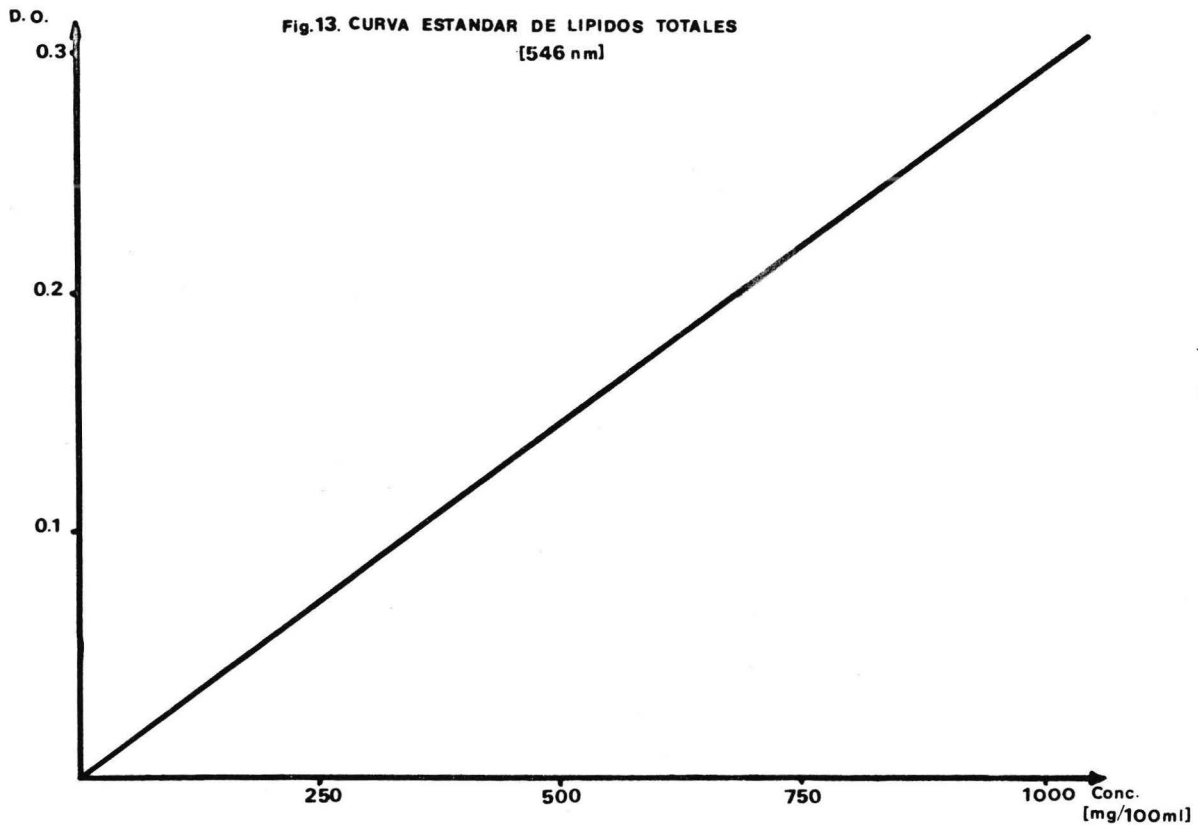
TABLA 5. No. de células grasas/Kg de grasa ($\times 10^9$)

	Normales	20-40%	40-60%	> 60%
M. mixtas	6.41	1.81	1.31	0.91
D.E.	2.76	0.21	0.43	0.10
Niñas	7.77	1.47	1.28	0.94
D.E.	3.39	0.16	0.56	0.09
Niños	5.64	1.98	1.33	0.90
D.E.	1.74	0.48	0.33	0.10

En cuanto al contenido de lípidos de los adipocitos, se cuantificaron los lípidos totales por medio de una curva estándar que se realizó por triplicado (Fig. 13).

El contenido de lípidos totales se encuentra au

24



mentado al incrementarse el porcentaje de obesidad, como -
lo muestra la tabla 6.

TABLA 6. Lípidos totales intracelulares ($\mu\text{g}/\text{cel}$)

	Normales	20-40%	40-60%	>60%
M. mixtas	0.280	0.686	0.829	1.096
D.E.	0.11	0.19	0.23	0.13
Niñas	0.305	0.687	0.887	1.074
D.E.	0.10	0.07	0.29	0.08
Niños	0.265	0.686	0.786	1.107
D.E.	0.11	0.28	0.16	0.15

Al igual que el contenido de lípidos totales, -
los triglicéridos intracelulares también aumentan al aumen
tar el grado de sobrepeso; los resultados se observan en -
la tabla 7.

TABLA 7. Triglicéridos intracelulares ($\mu\text{g}/\text{cel}$)

	Normales	20-40%	40-60%	>60%
M. mixtas	0.188	0.533	0.748	1.037
D.E.	0.07	0.19	0.20	0.13
Niñas	0.182	0.498	0.810	1.014
D.E.	0.07	0.06	0.25	0.09
Niños	0.191	0.550	0.702	1.048
D.E.	0.08	0.22	0.14	0.15

V. DISCUSSION

En el presente estudio, las biopsias sólo se tomaron de la región abdominal debido a que los pacientes -- son niños y porque se puede considerar a las células grasas presentes en esta región como representativas del tamaño de los adipocitos de todo el cuerpo.

La grasa corporal total se encuentra aumentada hasta 3.5 veces en los niños obesos con relación a los niños normales; así, los primeros tienen un promedio de --- 17.247 ± 6.11 Kg y los normales de 4.878 ± 1.690 Kg.

Se advierte que el diámetro promedio del adipocito se incrementa al aumentar el grado de sobrepeso (Tabla 2); así en los niños con un ligero sobrepeso (20-40%) se presenta un aumento de aproximadamente 1.5 veces el diámetro con respecto al diámetro en los niños normales. Al realizar estudios por separado de los niños y de las niñas, observamos que los niños normales tienen un diámetro promedio levemente aumentado al relacionarlo con el de las niñas; esto es porque dentro del grupo de los niños hay uno de tres meses y otro de un año, en los que se ha visto que durante el primer año de vida se encuentran incrementados los depósitos adiposos exclusivamente porque la célula grasa tiene un tamaño aumentado. Las diferencias entre ambos sexos no son significativas entre los niños obesos.

En cuanto al volumen promedio del adipocito, se tiene una relación igual a la establecida para el diámetro promedio (Tabla 3). Esto es, se observa un aumento de 3 a

6 veces aproximadamente, con relación a los niños normales. No se encuentran diferencias entre ambos sexos.

El número total de células grasas se encuentra en relación inversa a la que presentan el diámetro y el volumen; al comparar los resultados obtenidos para los niños y para las niñas presentan un aumento significativo debido a que una de ellas tiene células con un volumen promedio - muy pequeño (0.087 nl) y en cambio su número total de adipocitos es demasiado alto (148.2×10^9); de todo esto se - deduce que presenta hiperplasia y que en el futuro puede - llegar a ser obesa con más facilidad que las demás niñas - de su grupo. Entre los niños y las niñas obesos no hay diferencias significativas (Tabla 4).

Para comparar mejor el número de células grasas se estandariza el número total de adipocitos a 1 Kg de grasa corporal. Los resultados obtenidos para el grupo mixto y para cada sexo (Tabla 5) muestran un notorio decremento entre los niños normales y los que presentan un sobrepeso ligero. La relación va disminuyendo al aumentar el grado - de sobrepeso.

La cantidad de lípidos intracelulares nos muestra un incremento al aumentar el grado de sobrepeso, lo -- que se puede sugerir por medio de las mediciones del diámetro promedio y el volumen promedio de los adipocitos y se comprueba con los resultados obtenidos (Tablas 6 y 7).

La cantidad de lípidos totales intracelulares - nos muestra un aumento de 3 a 5 veces aproximadamente en -

los niños obesos con respecto a los niños normales; al comparar las cantidades presentes en los niños y en las niñas no hay diferencias.

Las diferencias que se encuentran entre el grupo mixto, el de los niños y el de las niñas, del contenido de triglicéridos, muestran incrementos significativos, ya que al comparar los resultados de los pacientes con sobrepeso mediano, ligero y severo con los normales, se observan aumentos de 4, 3 y 5 veces (aproximadamente) respectivamente.

Del tamaño celular y de la cantidad de lípidos se observa que a mayor grado de sobrepeso hay una mayor cantidad de lípidos intracelulares, y dentro de éstos una mayor proporción es grasa neutra o triglicéridos por célula, debido a que el porcentaje de triglicéridos con respecto a los lípidos totales aumenta en los pacientes obesos - (94.53%) con respecto a los pacientes normales (68.24%).

Se ha establecido el criterio de que hay hiperplasia si el número de células grasas es mayor de 0.5×10^{10} células y así mismo existe hipertrofia si el volumen promedio de los adipocitos es mayor de 0.4-0.5 nl. Aceptando este criterio se puede establecer que los niños obesos del presente estudio, presentan hipertrofia desde una obesidad ligera hasta la más severa, y también hiperplasia.

Se presenta una comparación de los resultados obtenidos en este trabajo y los reportados en la literatura, en la que se observa una buena correlación entre ellos

(Tabla 8).

TABLA 8. Resultados publicados en la medición de adipocitos

Autor	Pacientes	Diámetro celular (micras)	Volumen celular (nl)	No.cel/Kg de grasa x 10 ⁹ .
Bray	Adultos	N ^o 76.5±10	0.26±0.09	4.7±1.9
		O ^o 108±12	0.78±0.29	1.6±0.5
Björntorp	Adultos	N 75.9±12	0.23±0.13	2.5±1.9
		O 125±13	1.05±0.25	1.0±0.6
Hirsch & Knittle	Niños y adultos	N 73.6±11	0.21±0.11	1.5±1.4
		O 123±12	0.98±0.20	1.1±0.6
Björntorp	Niños - (18/12)	N 94.2±13	0.44±0.13	3.2±1.2
Nosotros	Niños - (5-16 a)	N 69.2±13	0.21±0.14	5.4±1.5
		O 119±11	0.99±0.23	1.2±0.4

Hipertrofia más de 0.4 a 0.5 nl.

Hiperplasia más de 5.0 X 10⁹ células.

N^o = Normales

O^o = Obesos

VI. CONCLUSIONES

La medición de los diámetros promedio de los -- adipocitos se llevó a cabo con un microscopio y un ocular graduado, empleando una técnica manual que es sencilla, rápida y de bajo costo. Los resultados obtenidos son muy satisfactorios (Tabla 8) ya que son comparables a los reportados en la literatura médica extranjera, los cuales se -- han obtenido ya sea con el método automático o con el método manual. Además, los resultados son reproducibles, lo -- cual habla en favor de la precisión del método.

Con los resultados obtenidos para el diámetro y el volumen celular promedio, se encontró que las células -- grasas son más grandes al aumentar el peso del paciente sobre el peso ideal para su edad y estatura.

Las determinaciones de lípidos totales y de triglicéridos intracelulares, han permitido comprobar la hipótesis de que las células grasas contienen mayor cantidad -- de lípidos almacenados, que en gran parte son triglicéridos y en menor proporción colesterol y fosfolípidos.

Al tener células de mayor tamaño (diámetro y volumen), éstas disminuyen sus receptores a insulina, lo que produce hiperinsulinemia y se establece un ciclo perjudi--cial, en el que es más fácil almacenar grasas en el adipocito que movilizarlas para su utilización.

Con los resultados obtenidos para los niños obesos se puede concluir que presentan un patrón celular mixto, es decir, que hay hiperplasia e hipertrofia, por lo --

cual es posible predecir que estos niños requerirán un tratamiento más largo debido a que les es difícil bajar de peso, porque tienen células bastante grandes y porque su número está aumentado. Por eso el pronóstico para los pacientes con hiperplasia o hiperplasia-hipertrofia es peor, ya que como tienen un número de células aumentado, siempre -- van a tener problemas de sobrepeso.

El estar obeso contribuye a que el organismo sufra alteraciones en su metabolismo, lo que a largo plazo origina en estos sujetos un sin número de enfermedades que pueden, en gran parte de los casos, aumentar la morbilidad y la mortalidad.

En nuestro medio la causa principal de obesidad es la dieta inadecuada, tanto por ignorancia como por pobreza, en la que abundan los carbohidratos en forma de harinas y féculas, por ser más económicas que otros alimentos que proporcionan mayor cantidad de proteínas. También se observó que las causas genéticas y endócrinas son poco frecuentes.

La infancia y la pubertad son etapas críticas para el desarrollar hiperplasia del tejido adiposo, lo cual es útil diagnosticar los patrones celulares de los niños obesos con el fin de mejorar los tratamientos médicos que les ayudarán a alcanzar su peso ideal.

VII. RESUMEN

Se realizaron estudios para determinar la celularidad del tejido adiposo en 53 niños en edad escolar, de los cuales 33 son niños y 20 son niñas, con el fin de establecer sus patrones celulares. Estos patrones pueden ser de tres tipos: hiperplasia, hipertrofia y mixta (hiperplasia-hipertrofia).

A 11 de estos niños se les consideró como controles normales debido a que se encontraban en talla y peso normales para su edad.

Las biopsias se obtuvieron de la región hipogástrica. Se colocaron en solución de Ringer a temperatura ambiente y se dividieron en dos partes, una para el conteo y la medición de los adipocitos, y la otra para determinar los lípidos presentes en las células grasas.

La primera parte de la biopsia se fijó con formaldehído, se hicieron cortes por congelación a 200 micras, los cuales se colocaron en una pequeña cámara llena de solución de Ringer, y se observaron con un microscopio dotado de un ocular graduado para medir las células grasas y determinar su diámetro promedio.

Además, se calcularon otras variables como son: agua corporal total (ACT), masa corporal magra (MCM), grasa corporal total (GCT), porcentaje de sobrepeso, volumen promedio del adipocito y el número de células adiposas.

La segunda parte de la biopsia se sometió a una extracción de lípidos para determinar la cantidad de lípi-

dos presentes en forma de lípidos totales y de triglicéridos. Las técnicas empleadas en estas determinaciones fueron: para lípidos totales, el método de Zöllner y Kirsch, que es un método colorimétrico, y para determinar triglicéridos se empleó el método de Eggstein, que es enzimático.

Se correlacionaron el diámetro y el volumen promedio del adipocito contra el porcentaje de sobrepeso, encontrándose en ambos casos incrementos al aumentar el grado de sobrepeso. La cantidad de lípidos totales y de triglicéridos intracelulares, se comportaron de la misma manera que la seguida por el diámetro y el volumen.

El número total de células grasas siguió una relación inversa a la seguida por el diámetro, es decir, disminuye al aumentar el grado de sobrepeso.

De todo esto, se concluyó que el patrón celular seguido por los niños obesos del presente estudio, es el mixto, esto es, hay hiperplasia e hipertrofia.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Robles C. y Robles I.Y.: Experiencia del servicio de Endocrinología del Hospital del Niño DIF, en obesidad infantil y escolar. Memorias del 10. Congreso sobre avances en Pediatría, 1978.
2. Hirsch J. and Knittle J.L.: Cellularity of obese and nonobese human adipose tissue. Federation Proc. 29: --- 1516-21, 1970.
3. Björntorp P., Sjöstrom L. and Vrana V.: Microscopic fat cell size measurements on frozen cut adipose tissue in comparison with automatic determinations of osmium-fixed fat cells. J.Lipid. Res. 12: 521-30, 1971.
4. Weil W.B. Jr: Current controversies in childhood obesity. J. of Pediatrics 91: 175-87, 1977.
5. Ham A.W. Histología. Ed. Interamericana, 5a. Edición, - 1967.
6. Harper H.A. Química Fisiológica. Ed. El Manual Moderno, 4a. Edición, 1975.
7. Bray G.A., Glennon J.A., Salans L.B., Horton E.S., Danforth E. Jr. and Sims E.A.H.: Spontaneous and experimental human obesity: Effects of diets and adipose cell size on lipolysis and lipogenesis. Metabolism 26: 739-47, 1977.
8. Lehninger A.L. Bioquímica. Ediciones Omega, 4a. Edición, 1974.
9. Assimacopoulos-Jeannet F. and Jeanrenaud B.: The hormonal and metabolic basis of experimental obesity. Clinics

- in *Endocrinology and Metabolism* 5: 337-65, 1976.
10. Lesser G.T., Deutsch S. and Markofsky J.: Use of independent measurements of body fat to evaluate overweight and underweight. *Metabolism* 20: 792-804, 1971.
 11. Bray G.A.: The overweight patient. *Advances of Internal Medicine* 25: 267-308, 1976.
 12. Björntorp P.: Effects of age, sex, and clinical conditions on adipose tissue cellularity in man. *Metabolism* 23: 1091-102, 1974.
 13. Björntorp P. and Sjöstrom L.: Number and size of adipose tissue fat cells in relation to metabolism in human obesity. *Metabolism* 20: 703-13, 1971.
 14. Krotkiewski M., Sjöstrom L., Björntorp P. and Smith U.: Regional adipose tissue cellularity in relation to metabolism in young and middle-aged women. *Metabolism* 24: 703-10, 1975.
 15. Friis-Hansen B.: Body water compartments in children: Changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics* 28: 169-81, 1961.
 16. Nestel P. and Goldrick B.: Obesity: Changes in lipid metabolism and the role of insulin. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* 5: 313-35, 1976.
 17. Knittle J.L.: Obesity in childhood: A problem in adipose tissue cellular development. *J. of Pediatrics* 81: 1048-059, 1972.
 18. Sims E.A.H.: Experimental obesity: Dietary-induced --

- thermogenesis and their clinical implications. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* 5: 377-95, 1976.
19. Hirsch J. and Batchelor B.: Adipose tissue cellularity in human obesity. *Clinics in Endocrinology and Metabolism* 5: 299-311, 1976.
 20. Hirsch J.: Discussion. *Adv. Psychosom. Med.* 7: 229-42, 1972.
 21. Hirsch J. and Gallian E.: Methods for the determination of adipose cell size in man and animals. *J.Lipid.Res.* 9: 110-19, 1968.
 22. Hirsch J., Farquhar J.W., Ahrens E.H., Peterson M.L. - and Stoffel W.: Studies of adipose tissue in man: A microtechnique for sampling and analysis. *Am. J. Clin. - Nutr.* 8: 499-511, 1960.
 23. Tietz N.W. *Química Clínica Moderna*. Ed. Interamericana, 1a. Edición, 1972.
 24. Ramos Galván R.: *Somatometría Pediátrica*. Archivo de - Investigación Médica. 6 Supl. 1, 1975; IMSS.
 25. Cañedo L., García-Romero H. y Méndez I.: *Principios de Investigación Médica*. Ediciones Médicas Hospital del - Niño DIF, 1977.
 26. Bray G.A.: Measurements of subcutaneous fat cells from obese patients. *Ann. Intern. Med.* 73: 565, 1970.
 27. Zöllner N. y Kirsch K.Z. *ges. exp. Med.* 135: 545, 1962.
 28. Eggstein M. *Klin. Wschr.* 44: 267, 1966.