



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

Facultad de Medicina



**ASOCIACION DEL INDICE DE MASA CORPORAL EN LA  
DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPO Y GIRO DENTADO  
ESTUDIO POST MORTEM.**

1

**QUE PRESENTA:**

Aurea Escobar España

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:**

MEDICO ESPECIALISTA EN ANATOMIA PATOLOGICA

**TUTOR:**

Dr. Erick Gómez Apo

**LUGAR DE PRESENTACION:**

CIRCUTO ESCOLAR 411A, COPILCO UNIVERSIDAD, COYOACÁN, 04360 CIUDAD DE  
MÉXICO, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

**AÑO DE PRESENTACIÓN:**

CIUDAD DE MÉXICO, 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyo de Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN217219 por su apoyo para ejecución del presente trabajo.

2

A mis padres, Elena España Garcés y Alberto Escobar Sánchez, por su apoyo incondicional.

A mi maestro, el Dr. Erick Gómez Apo, por guiarme y compartirme conocimiento.

# INDICE

CARTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO – 4

RESUMEN ESTRUCTURADO – 5

1. ANTECEDENTES -6

- 1.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA OBESIDAD – 6
- 1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD- 6
- 1.3. OBESIDAD Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL-7
- 1.4. NEUROGENESIS Y OBESIDAD-8

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA -9

3. JUSTIFICACIÓN-9

4. HIPOTESIS – 10

5. OBJETIVOS -11

6. METODOLOGÍA -11

- 6.1. TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO – 11
- 6.2. POBLACIÓN -11
- 6.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA -11
- 6.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN: INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN -12
- 6.5 DEFINICION DE LAS VARIABLES A EVALUAR Y FORMA DE MEDIRLAS -14
- 6.6. DESCRIPCIÓN DE LA OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y METODOLOGÍA REQUERIDA -16
- 6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO -18

7. RESULTADOS- 19

- 7.1 RESULTADO DE ANÁLISIS HIPOCAMPOS CON DOS JUECES-19
- 7.2 RESULTADO DE ANÁLISIS GIROS DENTADOS CON DOS JUECES -19
- 7.3. RESULTADOS DE ANÁLISIS MULTIVARIADO PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES DE HIPOCAMPOS CON DOS JUECES -20
- 7.4 RESULTADO DE HIPOCAMPOS Y GIROS DENTADOS CON DOS JUECES ESTRATIFICADO (PESO NORMAL, SOBREPESO Y OBESIDAD) -21
- 7.5. REGRESIÓN LINEAL (HIPOCAMPO DOS JUECES E ÍNDICE DE MASA CORPORAL) - 22
- 7.6 REGRESIÓN LINEAL (GIRO DENTADO DOS JUECES E ÍNDICE DE MASA CORPORAL).- 23

8. DISCUSIÓN -23

9. CONCLUSIONES – 24

10. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES- 26

11. ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD -26

- 11.1. ASPECTOS ÉTICOS -26
- 11.2. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD -27
- 11.3. MARCO JURÍDICO -27

12. RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS -27

13. RECURSOS DISPONIBLES – 28

14. RECURSOS NECESARIOS -28

15. REFERENCIAS – 29

16. ANEXOS - 33

SALUD



Comité de Evaluación de Protocolos de  
Investigación de Médicos Residentes



Of. No. DECS/JPO-539-2020

Ciudad de México a 03 de septiembre del 2020

**Dra. Aurea Escobar España**  
**Servicio de Anatomía Patológica**  
**PRESENTE**

Hacemos de su conocimiento que con esta fecha el Comité de Evaluación de Protocolos de Investigación de Médicos Residentes dictaminó la última versión de su Protocolo Titulado: **Título anterior: DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPO Y GIRO DENTADO EN INDIVIDUOS CON OBESIDAD. ESTUDIO POSMORTEM. Título actual: ASOCIACION DEL INDICE DE MASA CORPORAL EN LA DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPO Y GIRO DENTADO. ESTUDIO POST MORTEM** ", (359-142/20) como:

**APROBADO**

En caso de que su protocolo tenga el dictamen de aprobado cuenta con el siguiente número de registro:

**DECS/JPO-CT-539-2020**

En el caso de que su protocolo tenga dictamen de **CONDICIONADO A CORRECCIONES**, este **NO** cuenta con número de registro y debe realizar las correcciones que se enlistan en los puntos que integran la tabla adjunta a este documento para su consideración y en su caso, aprobación definitiva y asignación de número de registro. Si su protocolo tiene dictamen de **RECHAZADO**, este ya no podrá ser evaluado por este comité y no se le asignará ningún número de registro.

Deberá entregar la respuesta a las **CORRECCIONES** en un tiempo de 15 a 30 días vía correo electrónico y de forma impresa, a partir de la fecha de este oficio. Cabe mencionar que de no entregarlo como se indica, no será revisado por el **Comité de Evaluación de Protocolos de Investigación de Médicos Residentes** y su protocolo será cancelado.

Si su protocolo tiene dictamen de **APROBADO**, haga caso omiso de las indicaciones anteriores, ya que el mismo cuenta con número de registro. Así mismo deberá entregar por escrito el avance del protocolo cada **3 meses** a partir de la fecha en que fue aprobado y hasta obtener resultado de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, de la Secretaría de Salud. **De no presentar los avances o resultados del proyecto, la Dirección de Educación y Capacitación en Salud se reserva el derecho de cancelar el registro del protocolo hasta la entrega de los mismos**.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**

  
**Dra. Rocio Natalia Gómez López**

Jefa de Posgrado  
Presidenta del Comité

23/09/2020

DIRECCIÓN DE  
EDUCACIÓN Y  
CAPACITACIÓN EN SALUD  
www.hgm.salud.gob.mx

Dr. Balmis 148  
Colonia Doctores  
Delegación Cuauhtémoc

Tel: 52 55 2789 2000  
Fax: 52 55 2789 2000



## ASOCIACION DEL INDICE DE MASA CORPORAL EN LA DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPO Y GIRO DENTADO. ESTUDIO POST MORTEM.

### RESUMEN ESTRUCTURADO

**ANTECEDENTES.** La obesidad es una enfermedad multifactorial y sistémica que se caracteriza por un exceso de tejido adiposo corporal. México ocupa el segundo lugar en obesidad a nivel mundial, siendo un problema de salud pública. La obesidad repercute en el sistema nervioso central de diversas formas, incluidos los cambios anatómicos y funcionales, factores circulantes asociados, comorbilidades e inflamación crónica. Se ha demostrado que en sujetos con obesidad la sustancia gris se reduce en la corteza prefrontal, regiones subcorticales y el hipocampo, siendo este último de gran relevancia, ya que participa en procesos de aprendizaje y memoria, además de que en el giro dentado ocurre la neurogénesis. **OBJETIVOS.** Describir las características morfológicas del hipocampo y giro dentado de individuos adultos con y sin obesidad. Determinar la densidad neuronal en el hipocampo y giro dentado. **JUSTIFICACION.** La justificación principal de este proyecto de investigación es la generación de conocimiento básico sobre la interacción obesidad con el sistema nervioso central. Con lo anterior, se pretende difundir esta información a la población en general para que se tome conciencia de las repercusiones de la obesidad en el cerebro y se tomen las medidas de prevención necesarias. **METODOLOGIA.** Estudio analítico transversal. Este estudio corresponde al área de ciencias básicas en medicina y da continuación en la línea de investigación “obesidad y sistema nervioso central”. Se realizara conteo neuronal bidimensional de somas neuronales en el hipocampo y giro dentado de cerebros obtenidos de autopsias de pacientes con y sin sobrepeso/obesidad. **RESULTADOS ESPERADOS.** En los sujetos con obesidad se encontrará disminución en la densidad neuronal en comparación con los sujetos sin obesidad.

Palabras clave: **obesidad, autopsias, somas neuronales, densidad neuronal, hipocampo, giro dentado**

# ASOCIACION DEL INDICE DE MASA CORPORAL EN LA DENSIDAD NEURONAL EN HIPOCAMPO Y GIRO DENTADO. ESTUDIO POST MORTEM.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1. DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA OBESIDAD.

La obesidad se caracteriza por un exceso de tejido adiposo corporal; sin embargo, es la alteración funcional del tejido adiposo y no sólo su acumulación la que juega un papel relevante en esta patología, cuando el aumento de grasa corporal se debe principalmente a la hipertrofia y depósito visceral del tejido adiposo, las funciones normales de regulación metabólica de dicho tejido se modifican provocando alteraciones en diversos órganos (1). Es considerada una enfermedad multifactorial y sistémica, ya que en su generación intervienen factores fisiológicos, genéticos, epigenéticos y causas subyacentes relacionadas con la disponibilidad y el mercadeo de alimentos, multiorgánica, metabólica e inflamatoria crónica, multideterminada por la interrelación entre lo genómico y lo ambiental, fenotípicamente expresada por un exceso de grasa corporal que conlleva un mayor riesgo de morbimortalidad (1). El principal indicador antropométrico utilizado en adultos es el índice de masa corporal (IMC) y permite determinar peso bajo, peso normal, sobrepeso y obesidad (2, 3). De acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2017, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad (3); la obesidad se define como:

Adultos 20 a 59 años: Sobrepeso: sin talla baja IMC 25.0 a 29.9 kg/m<sup>2</sup> y con talla baja IMC de 23 a 24.9 kg/m<sup>2</sup> - Obesidad: sin talla baja IMC mayor de 30 kg/m<sup>2</sup> y con talla baja IMC mayor de 25 kg/m<sup>2</sup>

Adultos mayores de 60 años: Sobrepeso: IMC de 28 a 31.9 kg/m<sup>2</sup> - Obesidad: IMC mayor de 32 kg/m<sup>2</sup>

México ocupa el segundo lugar en obesidad a nivel mundial y de manera particular, el primer lugar de obesidad infantil, siendo un problema de salud pública, debido a su magnitud y trascendencia (4). De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) (4), la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en 2018 en adultos (mayores de 20 años) es de 73.0% (4).

### 1.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD.

El adipocito es la principal célula del tejido adiposo y está especializada en almacenar triglicéridos y liberarlos en situaciones de necesidad energética (2). Además, el adipocito desempeña un rol activo tanto en el equilibrio energético como en numerosos procesos fisiológicos y metabólicos (2,5). Aunque en la actualidad, al menos 600 factores bioactivos son considerados adipoquinas, la leptina y adiponectina son las más estudiadas (2). La obesidad ha sido asociada con una perturbación en el perfil secretor, tanto del tejido adiposo como del adipocito,

observando así, una alteración en el ratio leptina/adiponectina (2). Por lo tanto, en un contexto de lipoinflamación se observa un aumento de los niveles séricos de leptina acompañados de una disminución de adiponectina (2,6). Si a esto le sumamos el papel inmunomodulador que desempeña la leptina, y el papel antiinflamatorio y sensibilizador de la insulina a nivel sistémico de la adiponectina, nos encontramos con un perfil secretor, que conlleva inflamación sistémica (6). El tejido adiposo se compone además de estroma con numerosas células que conforman el microambiente celular (2). Las células inmunes del tejido adiposo también tienen capacidad de secretar factores relacionados con la inflamación, circunstancia que será esencial para determinar el rol que tengan las alteraciones en dicho microambiente en el concierto metabólico, pasando de un perfil antiinflamatorio a inflamatorio(2,6). En la obesidad la mayoría de citoquinas de perfil proinflamatorio son emitidas por macrófagos M1 o “clásicamente activados”, los cuales encuentran muy aumentado su número por infiltración de monocitos circulantes atraídos por quimioatrayentes y por proliferación local (6).

### 1.3. OBESIDAD Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

La obesidad repercute en el sistema nervioso central (SNC) de diversas formas, incluidos los cambios anatómicos y funcionales, los factores circulantes asociados con la obesidad en el cerebro, las comorbilidades asociadas y, por último los efectos de la inflamación asociada a la obesidad en el cerebro (2,7).

Se han reportado diferencias en la sustancia gris y blanca en individuos obesos. Con respecto a la sustancia gris, se ha demostrado principalmente en estudios de imagen, que se reduce en regiones cerebrales como el hipocampo, la corteza prefrontal y otras regiones subcorticales en el contexto de la obesidad (7). La atrofia del hipocampo es de particular importancia ya que se ha relacionado con la enfermedad de Alzheimer (EA) y otras demencias (7). Se han propuesto varios modelos de lesión que incluyen la participación del estrés oxidativo, la inflamación y el metabolismo anormal de los lípidos cerebrales (7). Se ha demostrado que la leptina tiene un impacto directo en los núcleos hipotalámicos que son responsables de la producción de péptidos orexigénicos y anorexigénicos, participando así en el desarrollo de circuitos de alimentación (7). La leptina también se ha relacionado con la liberación de neurotransmisores presinápticos y la sensibilidad del neurotransmisor postsináptico, y con los procesos de memoria y cognición, especialmente con las funciones hipotalámicas e hipocampales. La neurodegeneración, la neurogénesis, la plasticidad sináptica y la consolidación de la memoria están influenciadas por la acción de la leptina en el hipocampo (7). Además, la leptina mejora la cognición a través de la regulación de la función del hipocampo. Otros estudios in vitro han demostrado que la leptina puede inducir la formación de sinapsis en neuronas del hipocampo cultivadas y que reduce los niveles extracelulares de péptido beta amiloide tanto in vivo como in vitro (7). Los niveles plasmáticos de adiponectina se correlacionan

inversamente con la obesidad, con niveles disminuidos. Se ha demostrado que la adiponectina regula la proliferación, la neurogénesis y la ramificación de las células madre neurales del hipocampo (7).

El aumento de los niveles circulantes de citocinas proinflamatorias participa en la inflamación sistémica inducida por la obesidad (7). Se ha demostrado que las citocinas periféricas inducen la producción local de citocinas en el cerebro. (7) La neuroinflamación periódica es una defensa necesaria para el cerebro (7). Sin embargo, cuando la neuroinflamación se prolonga o no se controla, conduce a una plasticidad sináptica desadaptativa y al desarrollo de diferentes trastornos neurodegenerativos (7). La barrera hematoencefálica (BBB) evita que las células inflamatorias de la sangre ingresen al cerebro (7), sin embargo, los neutrófilos y los monocitos pueden infiltrarse y contribuir a la inflamación (7). Una vez dentro del cerebro, estas células y sus factores secretados actúan sobre la microglia, los astrocitos y los pericitos y colaboran para una mayor interrupción de la BBB que conduce a daño neuronal (7). Los astrocitos producen factores antiinflamatorios que reclutan monocitos, y las neuronas pueden modular positiva o negativamente la respuesta antiinflamatoria. Por lo tanto, la inflamación cerebral implica los esfuerzos coordinados de varios tipos de células, incluidos los neutrófilos de la microglia, los monocitos, los astrocitos y las neuronas. (7)

#### 1.4. NEUROGENESIS Y OBESIDAD.

Una función importante del giro dentado (GD) es la neurogénesis, ya que es una de las dos zonas neurogénicas en el cerebro, además de la zona subventricular, que genera continuamente nuevas neuronas a lo largo de la vida, participando en procesos de aprendizaje y memoria (8,9). Este proceso se ve disminuido por la exposición al estrés ambiental, la hiperactividad del eje hipotalámico y el aumento de la inflamación (8,10). El mecanismo completo no se comprende completamente, pero se atribuye a la estimulación de las células inmunes con la activación concomitante de la vía NF- $\kappa$ B y la liberación de interleucinas y óxido nítrico. Morfológicamente, se reduce la expresión de las espinas dendríticas y las proteínas sinápticas y aumentan los marcadores de apoptosis (11). La evidencia electrofisiológica de la función hipocámpica disminuida se obtiene de estudios que muestran una potenciación a largo plazo reducida o ausente, un modelo putativo de aprendizaje y plasticidad sináptica (12). El volumen reducido del hipocampo en los estudios de resonancia magnética (RM) estructural ha proporcionado evidencia de una morfología cerebral deteriorada similar a la mostrada en animales expuestos al estrés (12,13). Recientemente se desarrolló un nuevo método de imagen para estudiar la neurogénesis del hipocampo in vivo mediante el uso de espectroscopía magnética para visualizar un posible marcador biológico para las células madre y progenitoras neurales (14). Hay escasa información de este método aplicado para estudiar los efectos de la obesidad en la neurogénesis del hipocampo y muy pocos estudios publicados que lo

han aplicado. Aunque requiere una mayor optimización, se necesitan más avances tecnológicos como estos y la colaboración con otras disciplinas como la bioingeniería puede facilitar este proceso (14,15).

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad es un problema de salud pública con gran impacto global que al ser una enfermedad multifactorial y sistémica repercute en múltiples órganos, entre ellos el encéfalo. Hay pocas descripciones de los cambios secundarios de la adiposidad en el sistema nervioso central y su impacto en la neurogénesis, utilizándose para su estudio en el hipocampo principalmente métodos de imágenes no invasoras (resonancia magnética) y medidas indirectas para estimar la neurogénesis. Recientemente se desarrolló un nuevo método de imagen para estudiar la neurogénesis del hipocampo in vivo mediante el uso de espectroscopía magnética para visualizar un posible marcador biológico para las células madre y progenitoras neurales, sin embargo, hay escasa información de este método aplicado para estudiar los efectos de la obesidad en la neurogénesis del hipocampo y muy pocos estudios publicados que lo han aplicado. En relación con la obesidad y la sustancia gris de otras áreas cerebrales, histológicamente en la neocorteza se describió disminución en la cantidad de somas neuronales.

Este trabajo se realiza con la intención de buscar diferencias cuantitativas en neuronas hipocámpicas y del giro dentado en sujetos obesos en estudio Post mortem. El estudio busca un factor de asociación y no factor de riesgo. Es un estudio descriptivo, transversal y analítico. Se realiza en estudio Post mortem por el acceso que tenemos a los cerebros humanos en nuestro trabajo cotidiano. Se realizará el conteo neuronal en sujetos del grupo problema y del grupo control, y se realizará una diferencia de media. El estudio es un análisis bidimensional a través de toma de fotografías y evaluado por dos jueces. Las fotografías serán tomadas en el sector CA1 del hipocampo y del giro dentado mediante un microscopio óptico. Los resultados serán analizados con una prueba de T de Student para determinar diferencia de medias entre los dos grupos.

## 3. JUSTIFICACIÓN

El aprendizaje y la memoria son dos procesos cognitivos trascendentales para la adaptación y la supervivencia de los organismos. Ambas conductas son procesadas en el sistema nervioso central y su regulación requiere de la participación de diversas estructuras cerebrales. Una de estas estructuras es el hipocampo, el cual está asociado en parte con la memoria declarativa. De manera interesante, el hipocampo es una de las dos regiones del cerebro adulto donde se producen nuevas neuronas (neurogénesis). Estas nuevas neuronas tienen la capacidad de integrarse a las redes neuronales del hipocampo. Resultados recientes sugieren que las nuevas neuronas participan en la regulación de funciones cognitivas asociadas a esta estructura cerebral.

En México, la obesidad es una enfermedad con alta prevalencia, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en 2018, en adultos (mayores de 20 años) es de 73.0%. Se han reportado anomalías estructurales y funcionales en el cerebro asociadas con exceso de grasa corporal. Varios estudios de neuroimagen con análisis basados en vóxeles (medida tridimensional volumétrica utilizada en estudios de imagen) sugieren que el sobrepeso predispone a los individuos a menor volumen cerebral, atrofia cerebral o densidad disminuida de la sustancia gris en el lóbulo temporal y en el lóbulo frontal. Estudios de resonancia magnética de tensor de difusión han proporcionado evidencias de menor cantidad de sustancia blanca en sujetos obesos. Mayor masa corporal puede alterar los sistemas bioquímicos en el cerebro entre ellos el control de las hormonas sexuales. El aumento o disminución de dichas hormonas provocan cambios en la función cerebral así como en su estructura. También hay procesos fisiopatológicos como la inflamación y la disfunción endotelial inherentes a la obesidad que tienen un efecto sobre la estructura cerebral y predisposición a demencias. Hasta el momento no conocemos estudios Post mortem que den cuenta de las anomalías estructurales del hipocampo en relación con la obesidad. Por lo que este estudio se basa en la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe diferencia de medias en el conteo neuronal en el hipocampo y giro dentado entre sujetos con y sin obesidad?

La justificación principal de este proyecto de investigación es la generación de conocimiento básico sobre la interacción obesidad e integridad del sistema nervioso central. Con lo anterior, se pretende difundir esta información a la población en general para que se tome conciencia de las repercusiones de la obesidad en el cerebro y se tomen las medidas de prevención necesarias, ya que se sigue siendo uno de los principales problemas de salud pública de este siglo.

#### 4. HIPÓTESIS

Unidad de observación: Cortes histológicos Post mortem de hipocampos de sujetos adultos con peso normal, sobrepeso y obesidad.

Variable independiente: Índice de masa corporal IMC (peso normal, sobrepeso, obesidad).

Variable dependiente: Densidad neuronal en hipocampo y giro dentado.

Hipótesis nula: La densidad neuronal del hipocampo y giro dentado, evaluada por la cantidad de somas en 25 campos en seco fuerte en el estudio Post mortem de los sujetos que presentan obesidad no difiere a los sujetos sin obesidad.

Hipótesis alterna: Si los sujetos presentan obesidad, entonces en el estudio Post mortem del hipocampo y giro dentado se encontrarán alteraciones estructurales en la densidad neuronal en comparación con los encéfalos de sujetos sin obesidad, caracterizados por aumento en la cantidad de somas del giro dentado (neurogénesis) y disminución de somas del giro hipocámpico.

## 5. OBJETIVOS

GENERAL: Describir las características morfológicas Post mortem del hipocampo y giro dentado de individuos con y sin obesidad.

ESPECÍFICO: Determinar la densidad neuronal en el sector CA1 del hipocampo y en el giro dentado en sujetos adultos con y sin obesidad.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1. TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Es un estudio analítico transversal.

### 6.2. POBLACIÓN

Cerebros colectados del Servicio de Patología Post mortem de la Unidad de Anatomía Patológica del Hospital General de México, O.D., de pacientes con sobrepeso/obesidad y sin obesidad durante el periodo de Marzo 2013 a Febrero 2015 como parte de los proyectos autorizados por los comités de ética e investigación con números de registros DI/12/310/3/93 y DI/18/310/04/014.

### 6.3. TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizó el cálculo de tamaño de muestra para diferencia de medias en grupos independientes, basados en los valores designados en el artículo de Yokum S y cols, (16). Para el cálculo del tamaño de muestra del presente estudio se utilizó el estadígrafo de tamaño muestral para la comparación de medias:

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 s^2}{d^2}$$

Donde: Z alfa = Valor de Z correspondiente al riesgo deseado, Z beta = valor Z correspondiente al riesgo deseado (potencia), S2 = varianza de la variable que tiene el grupo de referencia y d = valor mínimo de la diferencia que se desea detectar.

Como no hay estudios Post mortem previos donde se comparen medidas de volumen del encéfalo de sujetos obesos y controles, para el cálculo del tamaño de muestra se tomaron las medias y desviaciones estándar de la diferencia significativa del volumen global de sustancia gris del grupo de obesos (M = 452.27, SD = 45.06) y normales (M = 542.78, SD = 60.3).

$$n = \frac{2(1.654 + 1.282)^2 \cdot 60.3^2}{43.24^2} = 33.32$$

El tamaño de la muestra para encontrar diferencias entre grupos es de 34 por cada grupo. En base al cálculo de tamaño de muestra se hubiera perdido la factibilidad de realizar este estudio por lo que se colectaron 20 casos por conveniencia de la unidad de patología Post mortem que cumplieron con los criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Se formaron dos grupos con muestras de tejido cerebral humano, el grupo Problema se constituyó de 10 cerebros individuos con sobrepeso/obesidad que reúnan los criterios de inclusión. Y el grupo Control correspondiente a 10 cerebros de individuos con peso normal. De cada caso que cumpla los criterios de inclusión por grupo se les asignó un código para su identificación. Se registró en una base de datos realizada expresamente los siguientes datos de los casos: edad, sexo, peso, talla, índice de masa corporal, fecha de defunción, causa principal de fallecimiento y comorbilidades. A los individuos seleccionados se les realizaron la toma de somatometría previo al estudio de autopsia, se mide la talla con cinta métrica de 150 cm y se pesa en la báscula de plataforma fija inalámbrica y rampa marca TORREY® (modelo PLP 4x4 WL) se usó camilla con peso de 18 kg y dimensión máxima de 1.20 m.

## 6.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN: INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

### 6.4.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Los casos que serán incluidos en el estudio para el grupo de sujetos sin obesidad deberán tener las siguientes características:

- Individuos de 15 a 65 años de edad de ambos sexos (mayor de 15 años debido a que ya no existe plasticidad neuronal y menos de 65 años para evitar encontrar cambios asociados a senilidad).

- Autorización de estudio de necropsia intrahospitalaria.

Los casos que serán incluidos en el estudio para el grupo de sujetos con sobrepeso/obesidad deberán reunir los criterios arriba expuestos pero deberán tener:

- Individuos con índice de masa corporal mayor a 25 kg/m<sup>2</sup>.

Los casos que serán incluidos en el estudio para el grupo de sujetos con peso normal deberán reunir los criterios arriba expuestos pero deberán tener:

- Individuos con índice de masa corporal debe ser de 18.5-24.99 kg/m<sup>2</sup>.

#### 6.4.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluirán del estudio todos los casos que tengan:

- Causa de muerte médico-legal. – Diabetes mellitus. - Hipertensión arterial sistémica. – Embarazo.

- Malformaciones congénitas en sistema nervioso central. – Ascitis. - Insuficiencia renal.

- Enfermedad neurológica o psiquiátrica. – Insuficiencia hepática.

- Neoplasia primaria o secundaria en sistema nervioso central. – Insuficiencia respiratoria.

- Individuos con antecedente de cirugía en sistema nervioso central.

- Síndrome de Cushing.

- Síndrome de Prader-Willi.

#### 6.4.3. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Cerebros con cambios macroscópicos por trauma.

- Cerebros con hallazgos de enfermedad neurológica (infecciones, desmielinizantes, infartos, tumor).

- Cerebros con cambios macroscópicos o microscópicos por autólisis que impidan su evaluación.
- Ausencia de bloques de parafina o daño en el material localizado en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica

## 6.5 DEFINICION DE LAS VARIABLES A EVALUAR Y FORMA DE MEDIRLAS

**Tabla 1. Tabla de operacionalización VARIABLES INDEPENDIENTES.**

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERATIVA	UNIDAD DE MEDICION	TIPO DE ESCALA	CODIFICACION
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Edad expresada en años	Años	Cuantitativa. (Continua)	No aplica
Genero	Condición biológica	Masculino o femenino a través del carnet del hospital, expediente clínico y fenotipo del individuo	Masculino / Femenino	Cualitativa Nominal	No aplica
Índice de masa corporal	Medida antropométrica que se calcula con la siguiente expresión matemática: $IMC = \text{peso} / \text{estatura}^2$ .	Clasificación por IMC  Peso normal: 18.5 – 24.9  Sobrepeso / obesidad: >25.0	IMC	Cualitativa Nominal	No aplica

**Tabla 2. Tabla de operacionalización VARIABLES DEPENDIENTES**

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERATIVA	UNIDAD DE MEDICION	TIPO DE ESCALA	CODIFICACION
Sector CA1 del hipocampo derecho	El hipocampo es una estructura par del sistema nervioso central compuesto principalmente por neuronas piramidales. El cornuammonis (CA) se subdivide en CA1, CA2, CA3 y CA4.	Determinación de la densidad neuronal a través del conteo manual de somas neuronales a partir de fotomicrografías en cortes seriados.	Densidad neuronal	Cuantitativa Continua	No aplica
Giro dentado derecho	El giro dentado es una estructura adyacente al hipocampo que presenta neurogénesis y se compone principalmente de neuronas granulares.	Determinación de la densidad neuronal a través del conteo manual de somas neuronales a partir de fotomicrografías en cortes seriados.	Densidad neuronal	Cuantitativa Continua	No aplica
Densidad neuronal	La densidad neuronal se define como el número de somas neuronales por cada milímetro cuadrado (mm <sup>2</sup> )	Determinación de la densidad neuronal (Nvn) contabilizando la cantidad de somas neuronales en 25 campos en seco	Densidad neuronal	Cuantitativa Continua	No aplica

		fuerte y aplicando la fórmula: $N_{vn} = N_{an} / (D^2 \cdot n + t)$ donde $N_{an}$ es el número de neuronas por unidad área, $D^2$ es el diámetro nuclear medio y $t$ es el grosor de la sección.			
--	--	--	--	--	--

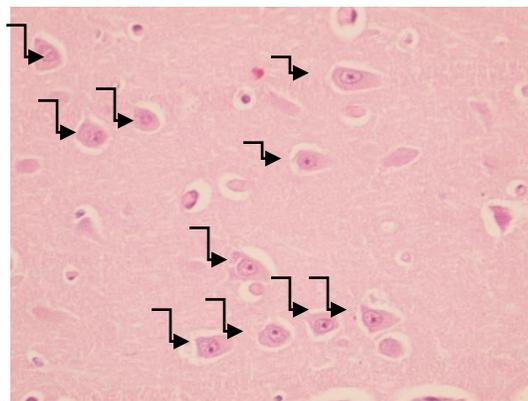
## 6.6. DESCRIPCIÓN DE LA OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y METODOLOGÍA REQUERIDA

### 6.6.1 PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL TEJIDO.

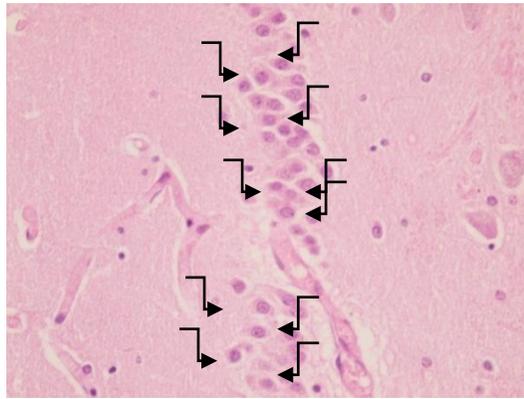
Se realizó autopsia completa, con extracción del encéfalo de la cavidad craneana, que se colocó en un recipiente con 10 litros de formaldehído al 10% completamente sumergido y a temperatura ambiente durante 10 días. Una vez cumplido este periodo, el encéfalo se colocó en un recipiente con 10 litros de agua por un día. Se retiró del agua y se preparó el equipo para su medición y corte. Se pesó con balanza digital. Se retiró la duramadre de rostral a caudal. Se realizó la separación de la porción supratentorial de la infratentorial con bisturí con hoja del número 22. Se realizaron cortes consecutivos coronales en dirección rostro-caudal de 5 mm de espesor con cuchillo de acero inoxidable y se colocaron en una tabla de madera para su primera revisión. Al colocarse la totalidad de los cortes, se realizó la segunda revisión minuciosa del parénquima cerebral, sistema ventricular y meninges. Se tomaron muestras del hipocampo y giro dentado y se colocaron en cápsulas de inclusión, que se sumergieron en un recipiente con formaldehído al 10% por 24 horas y se procesó el tejido por un técnico histotecnólogo. Se depositó el resto del tejido en bolsas de RPBI (residuos y productos biológicos e infecciosos). Cada corte se revisó por tercera vez para detectar cualquier hallazgo neuropatológico.

### 6.6.2. PROCEDIMIENTO PARA EL EXAMEN MICROSCÓPICO.

Se seleccionaron los hipocampos y giros dentados derechos y se incluyeron en una cápsula plástica. Se realizó el procesamiento de tejidos en histokinette para la fijación, deshidratación, aclaramiento e infiltración con parafina. Se reincluyó el tejido para realizar bloques de parafina. Se realizaron cortes histológicos de 5 micrómetros de espesor que se tiñeron con técnica de hematoxilina y eosina. Se colocó resina y cubreobjetos. Las laminillas teñidas fueron examinadas mediante microscopio Olympus modelo E-620 por dos patólogos. Se realizó conteo manual bidimensional de los somas neuronales en las siguientes áreas: 1) Hipocampo CA1 y 2) Giro dentado; basados en el método de estimación de densidad neuronal descrito en el artículo de Kurt M. Ayberket al. (16). Se obtuvieron 5 imágenes adyacentes capturadas con el objetivo seco fuerte (400X) a lo largo de cada una de las regiones a estudiar, utilizando una cámara digital Olympus CX31. Se capturaron un total de 25 fotografías, para cada hipocampo y 25 fotografías para cada giro dentado (5 imágenes por campo, 5 bloques de tejido). Se contaron los somas neuronales en dichas regiones mediante la búsqueda intencionada de alguna de las características que distinguen a las neuronas de las células de la glía: tamaño, forma, sustancia de Nissl, 11 nucléolo evidente (Figura 1 y 2) y posteriormente se plasmó el conteo de cada una de las imágenes evaluadas por los dos jueces. La densidad neuronal (Nvn) se estimó aplicando la fórmula:  $Nvn = N_{an} / (D_n + t)$  donde  $N_{an}$  es el número de neuronas por unidad área,  $D_n$  es el diámetro nuclear medio y  $t$  es el grosor de la sección (16). Al término del conteo neuronal, se sumó cada resultado y se almacenó en una base de datos.



**Figura 1.** Fotomicrografía teñida con hematoxilina y eosina (400X) representativa del hipocampo. Se indican con flecha los somas de las neuronas, dentro de neuropilo de características normales.



**Figura 2.** Fotomicrografía teñida con hematoxilina y eosina (400X) representativa del giro dentado. Se indican con flecha los somas de las neuronas, dentro de neuropilo de características normales.

### 6.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo un análisis descriptivo de las características demográficas y de somatometría de los grupos estudiados, donde se calcularon la media y desviación estándar de las mediciones.

Con el propósito de evaluar la distribución de las mediciones microscópicas se hicieron gráficas de caja y bigotes para cada uno de los hipocampos y giros dentados estudiados; utilizamos este recurso estadístico ya que es una presentación visual que proporciona una idea de la tendencia central del conjunto de datos, la dispersión de estos, la posible presencia de datos atípicos y podemos comparar ambos grupos.

Se hicieron las comparaciones entre grupos de las mediciones de cada uno de los hipocampos y giros dentados. Con respecto a las mediciones microscópicas, se hicieron también comparaciones entre los grupos en el hipocampo y giro dentado. Se llevaron a cabo pruebas no paramétricas de U de Mann-Whitney estratificado por peso de las mediciones combinadas de dos revisores del tejido a la variable independiente.

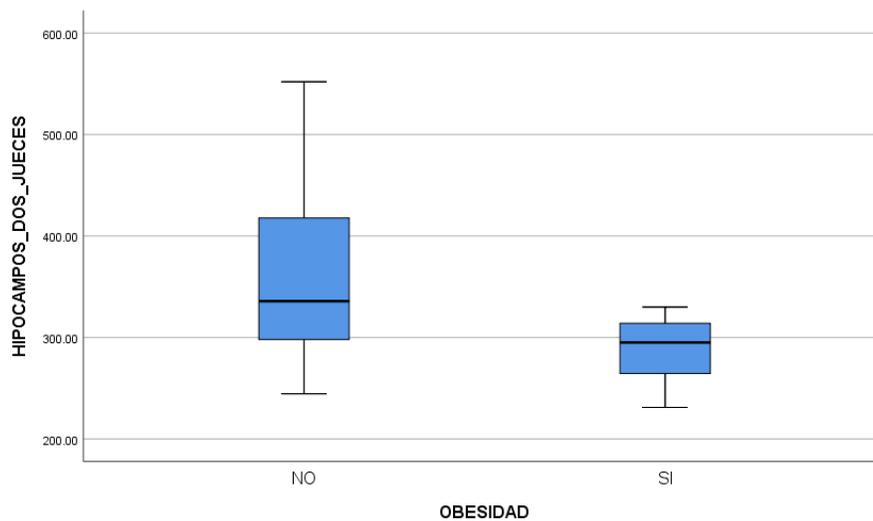
Finalmente, se realizará regresión lineal evaluado la relación entre el índice de masa corporal y el conteo neuronal en hipocampos y en giros dentados.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 RESULTADO DE ANÁLISIS HIPOCAMPOS CON DOS JUECES.

Se realiza estadística descriptiva valorando los resultados de los dos jueces en el conteo neuronal de los hipocampos, en los sujetos sin obesidad la media es de 362.43 neuronas, mediana de 335.75 neuronas, varianza de 10371.96, desviación de 101.84, rango intercuartil de 154.88, asimetría de 1.058. Para los sujetos con obesidad la media es de 289.40 neuronas, mediana de 295 neuronas, varianza de 32.78, desviación de 32.78.

Se realiza gráfica de caja y bigote (figura 3), en ambos grupos se encuentran valores típicos en los rangos intercuartiles, sin presencia de rangos atípicos.

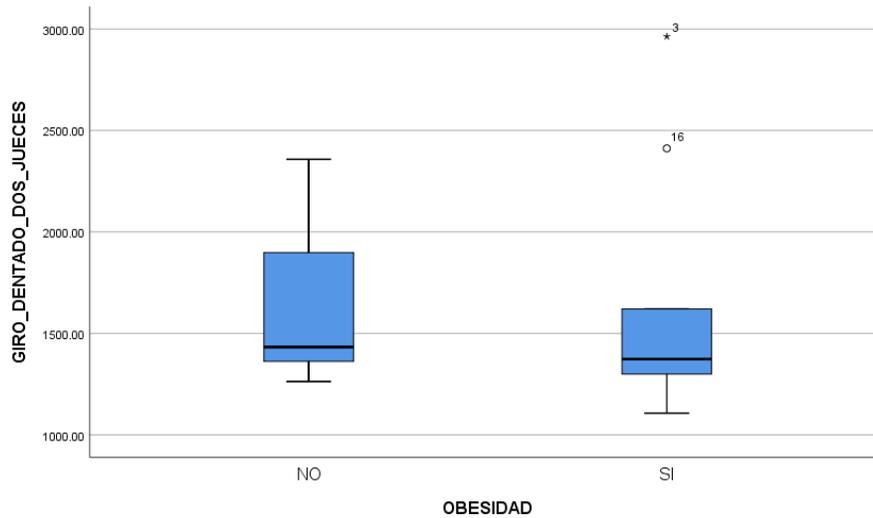


**Figura 3.** Conteo neuronal de los hipocampos (2 jueces) en sujetos con y sin obesidad. Gráfica de caja y bigote

### 7.2 RESULTADO DE ANÁLISIS GIROS DENTADOS CON DOS JUECES.

Se realiza estadística descriptiva valorando los resultados de los dos jueces en el conteo neuronal de los giros dentados, en los sujetos sin obesidad la media es de 1625.87 neuronas, mediana de 1432.75 neuronas, varianza de 166634, desviación de 408.20, rango intercuartil de 678.88, asimetría de 1.232. Para los sujetos con obesidad la media es de 1621.20 neuronas, mediana de 1374 neuronas, varianza de 355353.84, desviación de 596.11.

Se realiza gráfica de caja y bigote (figura 4), en el grupo de sujetos sin obesidad, se encuentran valores típicos en los rangos intercuartiles, sin presencia de rangos atípicos; en el grupo de sujetos con obesidad se encuentra dos casos atípicos en el extremo superior.



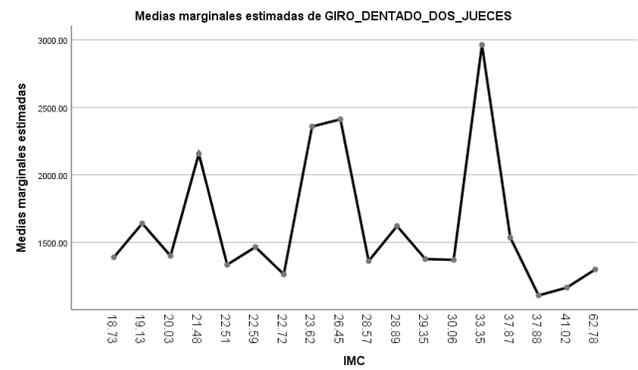
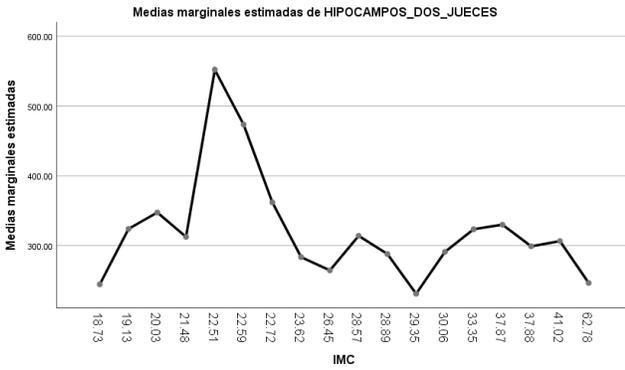
**Figura 4.** Conteo neuronal de los giros dentados (2 jueces) en sujetos con y sin obesidad. Gráfica de caja y bigote

### 7.3. RESULTADOS DE ANÁLISIS MULTIVARIADO PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES DE HIPOCAMPOS CON DOS JUECES.

Se realiza análisis multivariado de muestras independientes con Bootstrap de 10,000 muestreos, con modelo corregido para hipocampos con tipo III de suma de cuadrados de 105988, 17 grados de libertad y media cuadrática de 6234; para giros dentados con tipo III de suma de cuadrados de 4364725, 17 grados de libertad y media cuadrática de 256748.

Obteniendo el resumen de prueba de hipótesis con las siguientes afirmaciones:

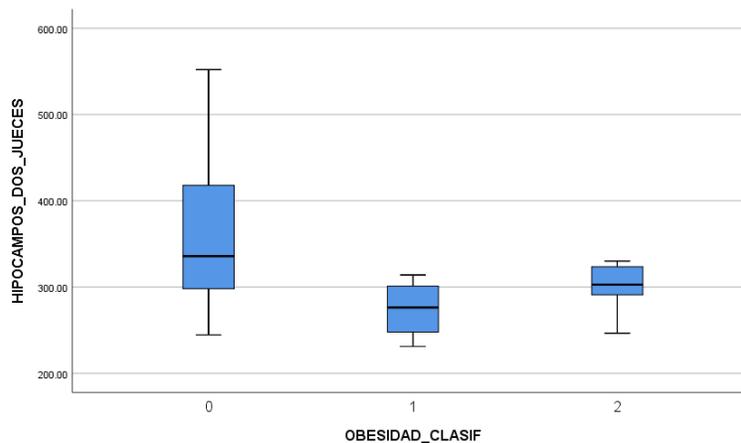
- Prueba de U de Mann-Whitney para pruebas independientes, con significancia de 0.083, sugiere rechazar la hipótesis nula (la distribución de hipocampos dos jueces es la misma entre las categorías de obesidad).
- Prueba de U de Mann-Whitney para pruebas independientes, con significancia de 0.573, sugiere retener la hipótesis nula (la distribución de giros dentados dos jueces es la misma entre las categorías de obesidad).



**Figuras 5 y 6.** Medias marginales estimadas de hipocampos y giros dentados (2 jueces)

### 7.4 RESULTADO DE HIPOCAMPOS Y GIROS DENTADOS CON DOS JUECES ESTRATIFICADO (PESO NORMAL, SOBREPESO Y OBESIDAD).

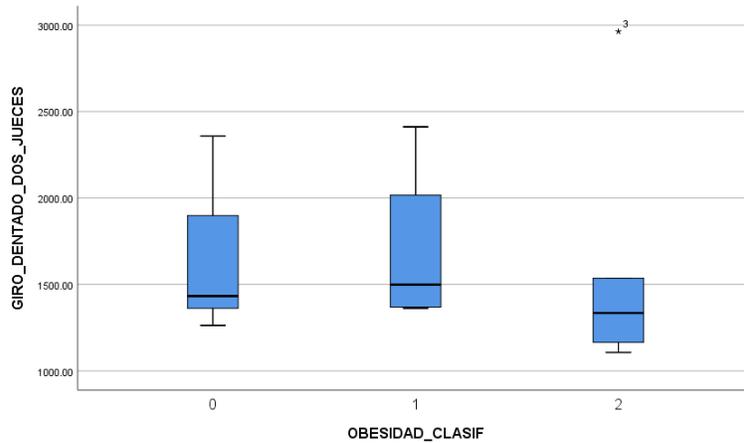
Se realiza análisis de resultados estratificado por grupo: correspondiente al estrato de peso normal 8 sujetos (44.4%), estrato de sobrepeso 4 sujetos (22.2%) y estrato de obesidad 6 sujetos (33.3%). Se realiza estadística descriptiva valorando los resultados de los dos jueces en el conteo neuronal de los hipocampos, en los sujetos con peso normal la media es de 362.43 neuronas, mediana de 335.75 neuronas, varianza de 10371.96, desviación de 101.84, rango intercuartil de 154.88, asimetría de 1.058. Para los sujetos con sobrepeso la media es de 274.37 neuronas, mediana de 276.25 neuronas, varianza de 1244, desviación de 35.28. Para los sujetos con obesidad la media es de 299.41 neuronas, mediana de 302.75 neuronas, varianza de 887.34, desviación de 29.78. Se realiza gráfica de caja y bigote (figura 7), en los tres grupos se encuentran valores típicos en los rangos intercuartiles, sin presencia de rangos atípicos.



**Figura 7.** Análisis de resultados estratificado por grupo en hipocampo. Gráfica de caja y bigote.

Se realiza estadística descriptiva valorando los resultados de los dos jueces en el conteo neuronal de los giros dentados, en los sujetos con peso normal la media es de 1625.87 neuronas, mediana de 1432.75 neuronas, varianza de 166634.83, desviación de 408.20, rango intercuartil de 678.88, asimetría de 1.232. Para los sujetos con sobrepeso la media es de 1692.75 neuronas, mediana de 1498.75 neuronas, varianza de 243719.75, desviación de 493.67. Para los sujetos con obesidad la media es de 1573.5 neuronas, mediana de 1335 neuronas,

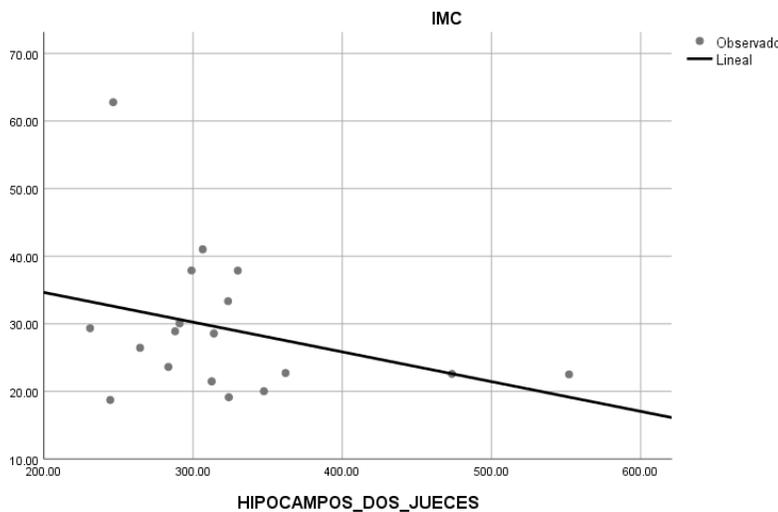
varianza de 486579.2, desviación de 697.55. Se realiza gráfica de caja y bigote (figura 8), en ambos grupos se encuentran valores típicos en los rangos intercuantiles, con presencia un caso con rango atípico en el estrato de obesidad.



**Figura 8.** Análisis de resultados estratificado por grupo en giro dentado. Gráfica de caja y bigote.

### 7.5. REGRESIÓN LINEAL (HIPOCAMPO DOS JUECES E ÍNDICE DE MASA CORPORAL).

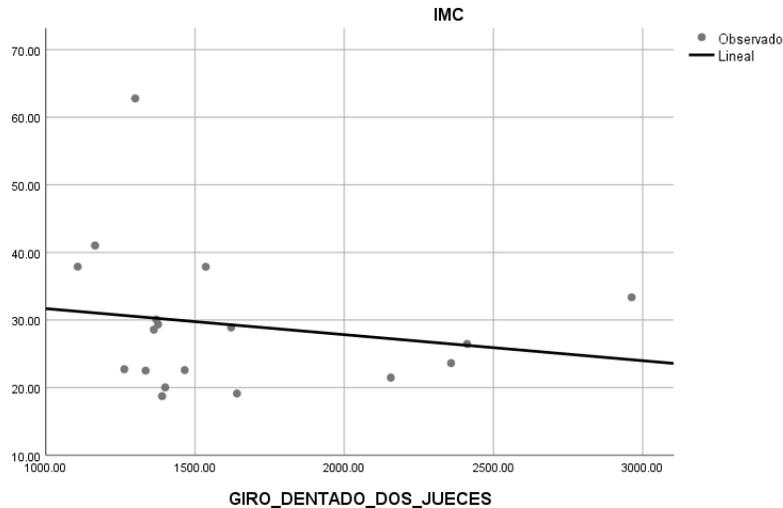
Se realiza regresión lineal entre la media de conteo neuronal entre los dos jueces y el conteo neuronal, considerando los 18 sujetos, con R cuadrada de .105, F 1.870, significancia .190, estimación constante de 43.439; con la siguiente gráfica de valores.



**Figura 9.** Regresión lineal (hipocampo - dos jueces e índice de masa corporal).

## 7.6 REGRESIÓN LINEAL (GIRO DENTADO DOS JUECES E ÍNDICE DE MASA CORPORAL).

Se realiza regresión lineal entre la media de conteo neuronal entre los dos jueces y el conteo neuronal, considerando los 18 sujetos, con R cuadrada de .033, F .546, significancia .471, estimación constante de 35.530; con la siguiente gráfica de valores.



**Figura 10.** Regresión lineal (hipocampo - dos jueces e índice de masa corporal).

## 8. DISCUSIÓN

Los estudios de investigación básica han realizado evaluaciones de los daños hipocámpicos, giro dentado, hipotalámicos y corticales en modelos animales para obesidad, diabetes mellitus e hipertensión arterial sistémica. La evaluación de estos cambios en sujetos humanos es limitada, debido al riesgo mayor al mínimo con la toma de biopsias cerebrales en vida, por lo que la exploración de estos cambios solo puede realizarse posmortem, considerando estos estudios de proximidad, ya que pueden haber múltiples factores en la vida de estos sujetos que pueda modificar la histología, además de que la causa de muerte directa también puede influir; estas desventajas son conocidas por los autores, sin embargo, la riqueza de evaluar un cerebro humano es incomparable, sin menospreciar los modelos animales.

Se estima que neurogénesis en humanos, habiendo cuantificado el número de células expresadas por precursores neuronales (neuroblastos) marcados con doblecortina en las zonas subventriculares, encontradas en las neuronas del bulbo olfatorio y en el giro dentado del hipocampo (18).

Generalmente se cree que el hipocampo humano continúa generando nuevas neuronas, mostrando que la población definida de células progenitoras no coleasen en la zona subgranular durante el desarrollo fetal y posnatal. Se ha encontrado que el número de células progenitoras proliferantes y neuronas jóvenes en el giro dentado disminuye marcadamente durante el primer año de vida a solo unas pocas neuronas jóvenes aisladas observadas entre los 7 y 13 años (19).

La evaluación de la porción medial de los lóbulos temporales en vida en humanos solo puede inferir mediante estudios volumétricos por estudios de imagen.

Taki y colaboradores, realizaron la evaluación de la relación entre el IMC y el volumen de sustancia gris, en el que encontraron correlación positiva significativa entre el IMC en regiones como los giros frontales anteriores, lóbulo posterior del cerebelo, lóbulos frontales y temporales, tálamos y cabeza de los giros dentados (20).

Al igual que la información sobre la relación obesidad e IMC es limitada en tejido humano, otras enfermedades se encuentran en similares condiciones, esto debido a la reducida cantidad de muestra de tejido posmortem a evaluar, debido a una gran cantidad de explicaciones, siendo la principal, la reducción en el número de los estudios de necropsia hospitalaria por la falta de autorización expresa directamente del sujeto antes de su fallecimiento y por los familiares.

## 9. CONCLUSIONES

Al evaluar los somas neuronales del hipocampo, se realiza la comparación de grupos en la gráfica de caja y bigotes evaluados por dos jueces se reconoce una diferencia de medianas y de rangos, con mediana de 335.75 somas neuronales en el grupo de sujetos sin obesidad versus 289.40 somas neuronales en el grupo de sujetos con obesidad, con rangos intercuartiles inferiores para el grupo problema, concluyendo que hay una reducción de somas neuronales en el grupo problema. En la evaluación de la gráfica por caja y bigotes estratificado en grupo de peso normal, sobrepeso y obesidad, hay una reducción en la cantidad de somas neuronales (274.25 somas) con un leve incremento en los sujetos con obesidad (299.41 somas). Al realizar prueba paramétrica de U de Mann-Whitney para pruebas independientes hay una reducción de somas neuronales en el grupo problema con

sobrepeso/obesidad en comparación con el grupo control sin obesidad, con significancia estadística de 0.083.

Al evaluar los somas neuronales del giro dentado, se realiza la comparación de grupos en la gráfica de caja y bigotes evaluados por dos jueces se reconoce una diferencia de medianas y de rangos, con mediana de 1625.87 somas neuronales en el grupo de sujetos sin obesidad versus 1621.20 somas neuronales en el grupo de sujetos con obesidad, con rangos intercuartiles inferiores, concluyendo que hay una discreta reducción de somas neuronales en el grupo problema. En la evaluación de la gráfica por caja y bigotes estratificado en grupo de peso normal, sobrepeso y obesidad, hay un incremento en la cantidad de somas neuronales (1692.75 somas) con una reducción en los sujetos con obesidad (1573.5 somas). Al realizar prueba paramétrica de U de Mann-Whitney para pruebas independientes no hay reducción de somas neuronales en el grupo problema con sobrepeso/obesidad en comparación con el grupo control sin obesidad, con significancia estadística de 0.573.

En el hipocampo, al evaluar la gráfica de distribución de valores por estratos entre control, sobrepeso y obesidad en el hipocampo se identifica un estado basal de somas, una reducción de somas en sobrepeso, con un leve incremento en el grupo de obesidad, esta distribución podría sugerir leve neurogénesis en el grupo de obesidad. En el giro dentado, al evaluar la gráfica de distribución de valores por estratos entre control, sobrepeso y obesidad en el giro dentado se identifica un estado basal de somas, un leve incremento de somas en sobrepeso, con una reducción en el grupo de obesidad, esta distribución podría sugerir leve neurogénesis en el grupo de sobrepeso.

Como conclusión, hay una reducción de somas neuronales en el hipocampo y giro dentado relativamente proporcional al IMC; a mayor IMC hay menor cantidad de somas neuronales demostrado mediante regresión lineal.

## 10. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Periodo total de realización de 12 meses (julio 2019 a julio 2020).

**Tabla 3.** Cronograma del plan de trabajo.

PROCEDIMIENTO	TIEMPO
Elaboración del método	2 meses
Relación y obtención de bloques de tejido	1 mes
Obtención cortes a partir de bloques de parafina	2 meses
Tinción de los cortes	1 mes
Estudio microscópico de los cortes	1 mes
Obtención de microfotografías	1 mes
Conteo bidimensional de somas neuronales por dos jueces	2 meses
Realización de base de datos	1 mes
Análisis de resultados	1 mes

## 11. ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD

### 11.1. ASPECTOS ÉTICOS

Se presentó ante el comité de investigación y comité de ética del Hospital General de México el proyecto titulado “Cambios morfológicos cerebrales en sujetos obesos. Estudio Post mortem”, que fue autorizado con el número de identificación DI/12/310/3/93, y se reconsideró a los mismos comités el proyecto titulado “morfometría ultraestructural vascular y determinación de caspasas en la corteza cerebral de sujetos con obesidad. Estudio Post mortem”, que fue autorizado con el número de identificación DI/18/310/04/014). Los presentes estudios corresponden a una investigación sin riesgo para los pacientes, ya que se llevará a cabo posterior a su defunción, mediante el análisis de cerebros pertenecientes al Servicio de Patología Post mortem de la Unidad de Anatomía Patológica, así mismo la revisión de los expedientes garantiza la confidencialidad de los datos personales y clínicos de los pacientes. El servicio de Patología se reserva el derecho de utilizar el material biológico para estudios de investigación, respaldado con el consentimiento informado de necropsia (Figura 3). Por lo que los autores damos testimonio de que el estudio cumple con los aspectos éticos de privacidad y confidencialidad, además que la información se utilizará exclusivamente para fines académicos y de investigación.

## 11.2. ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD

Este es un estudio sin riesgo. Se realizará la evaluación de laminillas teñidas con hematoxilina y eosina obtenidos del desgaste de bloques de parafina de los casos seleccionados. El personal encargado del análisis de los cerebros se encuentra capacitado para realizar los cortes seriados, empleando las barreras de protección universal. Se sometió el presente protocolo a la Dirección de Investigación del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, fue presentado a las comisiones de Ética e Investigación, siendo autorizado con clave de registro DI/12/310/04/93y .

27

## 11.3. MARCO JURÍDICO.

En cumplimiento con la Norma Oficial Mexicana NOM – 168 –SSA1 – 1998 del Expediente Clínico. - Inciso 8.8.11. “En caso de defunción, las causas de la muerte acorde al certificado de defunción y si se solicitó y obtuvo estudio de necropsia hospitalaria”. En cumplimiento con la Ley General de Salud. Título decimocuarto. Donación, trasplantes y pérdida de la vida. - ARTICULO 325. El consentimiento tácito sólo aplicará para la donación de órganos y tejidos una vez que se confirme la pérdida de la vida del disponente. En el caso de la donación tácita, los órganos y tejidos sólo podrán extraerse cuando se requieran para fines de trasplantes. - ARTICULO 350 bis 2. Para la práctica de necropsias en cadáveres de seres humanos se requiere consentimiento del cónyuge, concubinario, concubina, ascendientes, descendientes o de los hermanos, salvo que exista orden por escrito del disponente, o en el caso de la probable comisión de un delito, la orden de la autoridad judicial o el Ministerio Público. - ARTICULO 350 bis 3. Para la utilización de cadáveres o parte de ellos de personas conocidas, con fines de docencia e investigación, se requiere el consentimiento del disponente. Tratándose de cadáveres de personas desconocidas, las instituciones educativas podrán obtenerlos del Ministerio Público o de establecimientos de prestación de servicios de atención médica o de asistencia social. Para tales efectos, las instituciones educativas deberán avisar a la Secretaría de Salud, en los términos de esta Ley y demás disposiciones aplicables.

## 12. RELEVANCIA Y EXPECTATIVAS

Este estudio corresponde al área de ciencias básicas en medicina y da continuación en la línea de investigación de “obesidad y sistema nervioso central” que actualmente cuenta con dos trabajos: “Cambios morfológicos cerebrales en sujetos obesos. Estudio Post mortem” (DI/12/310/3/93) y “Cambios estructurales encefálicos en individuos con obesidad. Estudio Post mortem” (DI/18/310/04/014.). Este estudio tiene la finalidad de ser

utilizado como publicación de tesis. Es un estudio que busca generar nuevo conocimiento, ya que como se comentó en un inicio, los cambios morfológicos en el sistema nervioso central secundarios a la obesidad es un tema árido, a pesar de ser una enfermedad con gran prevalencia mundial. El estudio es observacional debido a que nuestra área de estudio es la anatomía patológica y desarrollamos capacidad de identificación visual y reconocimiento de estructuras. En la obesidad se ha descrito déficit cognitivo y de la memoria, además se asocia a depresión y demencias. Lo que se busca en este proyecto es fundamentar histológicamente las regiones donde encontramos estas funciones (hipocampo/memoria y giro dentado/depresión). Posiblemente hacia la posteridad la obesidad sea una causa de demencia; si logramos identificar cambios en este sitio se abre la pauta para terapia blanco-dirigida a estas dos estructuras.

### 13. RECURSOS DISPONIBLES.

El material biológico corresponde a bloques de parafina de autopsias seleccionadas del archivo de Anatomía Patológica; no se solicitarán recursos financieros federales ya que se utilizarán los propios recursos del Servicio; los recursos humanos corresponden a un histotecnólogo, dos residentes de Anatomía Patológica/Neuropatología y un médico adscrito del Servicio de Anatomía Patológica.

### 14. RECURSOS NECESARIOS

Los recursos financieros, humanos y biológicos son propios de nuestra institución Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, por lo que no se solicitará recursos federales o a alguna institución.

#### **Taxonomía CRediT (Contributor Roles Taxonomy).**

Aurea Escobar España. Médico Residente de tercer año de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina, UNAM. Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Autor principal. Colaboración en conceptualización / escritura / conteo neuronal / Análisis estadístico.

Erick Gómez Apo. Tutor del proyecto. Facultad de Medicina, UNAM. Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Colaboración en conceptualización / escritura / revisión / fotografía / análisis estadístico / investigación / validación.

Juan Felipe Silva Pereyra. Proyecto de Neurociencias. Facultad de estudios superiores de Iztacala, UNAM. Colaboración en conceptualización / escritura / revisión / fotografía / análisis estadístico / investigación / validación.

Perla G. Franco Del Toro. Facultad de Medicina, UNAM. Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Colaboración en conteo neuronal y metodología.

Laura G. Chávez Macías. Facultad de Medicina, UNAM. Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Colaboración en metodología y estadística.

María Virgilia Soto Abraham. Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”. Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”. Colaboración en metodología y estadística.

## 15. REFERENCIAS

1. Flores L, Rodríguez M, Rivas A. Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. Rev Med Hosp Gen Méx. [Internet]. 2011. [citado 2020 Jul 20]; 74 (3): 157-165. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-revista-medica-del-hospital-general-325-pdf-X0185106311356353>
2. Suárez W, Sánchez J, González J. Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2017 [citado 2020 Jul 20] ; 44( 3 ): 226-233. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182017000300226&lng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182017000300226&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000300226>.
3. NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2017, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad. Diario oficial, [Internet]; 2018,[citado 2020 Jul 20], primera sección. Disponible en: <http://www.omego.org.mx/normatividad/NORMA%20Oficial%20Mexicana%20NOM-008-SSA3-2017,%20Para%20el%20tratamiento%20integral%20del%20sobrepeso%20y%20la%20obesidad.pdf>.
4. ENSANUT. 2018. Encuesta Nacional De Salud Y Nutrición. [Online] Available at: <https://ensanut.insp.mx/> [Accessed 21 July 2020].

5. Srivastava N, Lakhan R, Mittal B. Pathophysiology and genetics of obesity. *Indian J Exp Biol.* [Internet]:2007, [citado 2020 Jul 20];45(11):929-936. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18072536/>.
6. Wilding J. Pathophysiology and aetiology of obesity. *Medicine.* [Internet]; 2011; [citado 2020 Jul 20];39(1):6-10. Disponible en: [https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039\(10\)00253-7/pdf](https://www.medicinejournal.co.uk/article/S1357-3039(10)00253-7/pdf)
7. Uranga R, Jeffrey K. The Complex Interactions Between Obesity, Metabolism and the Brain. *Front Neurosci.* [Internet]. 2019. [citado 2020 Jul 20]. 13 (3): 513. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6542999/>. doi:10.3389/fnins.2019.00513
8. Baptista P, Andrade J. Adult Hippocampal Neurogenesis: Regulation and Possible Functional and Clinical Correlates. *Frontiers in Neuroanatomy.* [Internet]; 2018 ; [citado 2020 Jul 20]; 12 (10):200-210. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2018.00044/full>. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00044>.
9. Cappaert N, Van Strien N, Witter M. Hippocampal Formation. *The Rat Nervous System.* [Internet]; 2015; [citado 2020 Jul 20]; 511-573. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123742452000206?via%3Dihub>. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00020-6>
10. Yu D, Marchetto M, Gage F. How to make a hippocampal dentate gyrus granule neuron. *Development.* [Internet] 2014 [citado 2020 Jul 20];141(12):2366-2375. Disponible en: <https://dev.biologists.org/content/141/12/2366>. <https://dev.biologists.org/content/141/12/2366>.
11. Boldrini M, Santiago A, Hen R, Dwork A, Rosoklija G, Tamir H et al. Hippocampal Granule Neuron Number and Dentate Gyrus Volume in Antidepressant-Treated and Untreated Major Depression. *Neuropsychopharmacology.* [Internet]. 2013 [citado 2020 Jul 20];38(6):1068-1077. Disponible en <https://www.nature.com/articles/npp20135#citeas>. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.5>
12. Amaral D, Scharfman H, Lavenex P. The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). *The Dentate Gyrus: A Comprehensive Guide to Structure, Function, and*

- Clinical Implications. [Internet]; 2007; [citado 2020 Jul 20]:3-790. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2492885/>. doi: 10.1016/S0079-6123(07)63001-5
13. Stillman C, Weinstein A, Marsland A, Gianaros P, Erickson K. Body–Brain Connections: The Effects of Obesity and Behavioral Interventions on Neurocognitive Aging. *Frontiers in Aging Neuroscience*. [Internet]; 2017; [citado 2020 Jul 20]; 3(11):14-19. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28507516/>. 10.3389/fnagi.2017.00115.
14. Ho N, Sommers M, Lucki I. Effects of diabetes on hippocampal neurogenesis: Links to cognition and depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. [Internet]. 2013; [citado 2020 Jul 20]; 37(8):1346-1362. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3788092/>. 10.1016/j.neubiorev.2013.03.010.
15. Pistikova A, Brozka H, Bencze M, Radostova D, Vales K, Stuchlik A. The Effect of Hypertension on Adult Hippocampal Neurogenesis in Young Adult Spontaneously Hypertensive Rats and Dahl Rats. *Physiological Research*. [Internet]; 2017; [citado 2020 Jul 20]; 881-887. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-effect-of-hypertension-on-adult-hippocampal-in-Pi%C5%A1t%C3%ADkov%C3%A1-Brozka/ea7463e7a04cbc1f44c3110350fc26db655f68f7.10.33549/physiolres.933562>
16. Yokum, S., Ng, J. & Stice, E. Relation of regional gray and white matter volumes to current BMI and future increases in BMI: a prospective MRI study. *Int J Obes*; [Internet]; 2012; [citado 2020 Jul 20], 36, 656–664. Disponible en <https://doi.org/10.1038/ijo.2011.175>
17. Kafa Ilker M, Ari Ilknur, Kurt M. Ayberk. Morphometric Investigation of Neurons in the Hippocampal CA1, CA3 Areas and Dentate Gyrus in a Rat Model of Sepsis. *Int. J. Morphol.* [Internet]. 2010 Mar [citado 2020 Jul 21]; 28(1):183-192. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022010000100026&lng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022010000100026&lng=es). <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000100026>.
18. Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J. Dynamics of hippocampal neurogenesis in adult humans. *Cell*. 2013 Jun 6;153(6):1219-1227. doi:

10.1016/j.cell.2013.05.002. Disponible en: <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2813%2900533-3>

19. Shawn F Sorrells, Mercedes F Paredes, Arantxa Cebrian-Silla, Kadellyn Sandoval, Dashi Qi, Kevin W Kelley, David James, Simone Mayer, Julia Chang, Kurtis I Auguste, Edward F Chang, Antonio J Gutierrez, Arnold R Kriegstein, Gary W Mathern, Michael C Oldham, Eric J Huang, Jose Manuel Garcia-Verdugo, Zhengang Yang, Arturo Alvarez-Buylla. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature* 2018 Mar 15;555(7696):377-381. doi: 10.1038/nature25975. Epub 2018 Mar 7. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nature25975/>
20. Yasuyuki Taki , Shigeo Kinomura, Kazunori Sato, Kentaro Inoue, Ryoji Goto, Ken Okada, Shinya Uchida, Ryuta Kawashima, Hiroshi Fukuda. Relationship between body mass index and gray matter volume in 1,428 healthy individuals. *Obesity (Silver Spring)* 2008 Jan;16(1):119-24. doi: 10.1038/oby.2007.4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18223623/>

## 16. ANEXOS



**CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN  
PARA REALIZAR NECROPSIA HOSPITALARIA**

Lugar y fecha \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_ No. de Expediente \_\_\_\_\_ edad \_\_\_\_\_

Identificado con: \_\_\_\_\_

Nombre del Familiar Responsable: \_\_\_\_\_

Identificado con: \_\_\_\_\_

Representante Legal \_\_\_\_\_

Identificado con: \_\_\_\_\_

Por medio de la presente y en pleno uso de mis facultades, sin que haya mediado violencia física o moral, manifiesto que he sido informado que uno de los estudios que fortalecen el avance del conocimiento médico y la investigación que es el estudio de necropsia, por lo que autorizo se realice dicho procedimiento en mi cuerpo en caso de fallecer, en cumplimiento al Artículo 325 de la Ley General de Salud, así como la Norma Oficial Mexicana NOM-168-SSA1-1998 del Expediente Clínico.

<p>_____ Nombre y Firma del Paciente</p>	<p>_____ Nombre y Firma del Médico Tratante Quien se identifica con:</p>
<p>_____ Nombre y Firma del Familiar Responsable</p>	<p>_____ Nombre y Firma del Representante Legal</p>
<p>_____ Nombre y Firma Testigos Quien se Identifica con:</p>	<p>_____ Nombre y Firma Testigo Quien se Identifica con :</p>

**Figura 3.** Carta de consentimiento informado bajo información para realizar necropsia hospitalaria.



Of. No. DI/03/18/090

Ciudad de México a 27 de febrero de 2018

**DR. ERICK GÓMEZ APO**  
Servicio de Patología  
Presente

Estimado Dr. Gómez:

Se informa a usted que la última versión del protocolo titulado: **"CAMBIOS ESTRUCTURALES ENCEPÁLICOS EN INDIVIDUOS CON OBESIDAD. ESTUDIO POSMORTEM"** con clave de registro DI/18/310/04/014, fue presentado a los Comités de Ética en Investigación y Comité de Investigación, quienes dictaminaron su **A P R O B A C I Ó N**. Le informo que el apoyo de los recursos para su proyecto, dependerá de la disponibilidad del presupuesto asignado a la Dirección de Investigación.

*"A la Vanguardia en el Cuidado de la Vida"*  
Atentamente  
Director de Investigación

  
**DR. SERGIO AGUSTÍN ISLAS ANDRADE**

Nota: Este proyecto será apoyado con presupuesto federal  
C.c.p. Lic. Félix M. Morales Sánchez

SAIA/GMK/edg\*



DIRECCIÓN DE  
INVESTIGACIÓN  
www.hgm.salud.gob.mx

Dr. Teresa M  
Colonia Doctores  
Delegación Cuauhtémoc  
México, DF 06726

T +52 (55) 5054 1842  
Cm +52 (55) 2789 2000  
Eg 1164

Figura 4. Carta de aprobación del Comité de Ética