

Obesidad e inflamación: pruebas de una lesión elemental

Andrea Sbarbati, MD, PhD^a, Francesco Osculati, MD^a, Davide Silvani, MD^b, Donatella Benati, PhD^a, Mirco Galiè, PhD^a, Francesco Saverio Camoglio, MD^c, Gino Rigotti, MD^d y Claudio Maffei, MD^b

En la obesidad se ha emitido la hipótesis de que podría haber un proceso inflamatorio en el tejido adiposo, a pesar de no haber pruebas de tal lesión. Parece estar demostrada la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo de los individuos obesos, pero no se han demostrado otras alteraciones en este tejido. Además, en el ser humano no se ha aclarado si la inflamación es un componente temprano de la obesidad, dado que no se dispone de datos recogidos en los niños obesos. En el presente estudio se ha valorado la afección inflamatoria del tejido adiposo y se ha identificado la lesión "inflamatoria" elemental en un grupo de niños obesos. El estudio en la edad infantil nos ofrece la oportunidad de investigar el tejido adiposo durante las primeras fases de la obesidad. En todos los sujetos obesos, el análisis ultramicroscópico del tejido adiposo demostró un componente inflamatorio, y el grado de las lesiones dependía de la puntuación de desviación estándar del índice de masa corporal. La lesión elemental es un microgranuloma, con fragmentos de adipocitos, que evoluciona hacia la fibrosis. Se hallaron macrófagos (y con menos frecuencia linfocitos o granulocitos) en zonas perivascularles. Estas lesiones no se hallaron en los niños no obesos. El estudio demostró la presencia de un proceso "inflamatorio" en el tejido adiposo de los niños obesos, lo que confirma otros hallazgos previos en animales y en adultos obesos y demuestra la presencia de una alteración precoz en el ser humano. Sin embargo, la acumulación de macrófagos sólo era uno de los componentes de la lesión inflamatoria, en

la que había además una degeneración de los adipocitos, una fibrosis y, en menor grado, una acumulación de granulocitos y linfocitos. El hallazgo de fragmentos de adipocitos en la lesión elemental sugiere que pueden degenerar al comienzo del proceso, y que los materiales originados pueden reclutar otros macrófagos y leucocitos. Estos resultados preliminares sugieren que deben diseñarse nuevos estudios para poner en claro la causa de la fragilidad de los adipocitos en los niños obesos.

INTRODUCCIÓN

La obesidad se asocia con una ligera inflamación crónica^{1,2} y las vías inflamatorias podrían tener una importancia crítica en los mecanismos subyacentes a la obesidad y sus complicaciones, aunque se desconocen los factores que desencadenan la respuesta inflamatoria, especialmente en el ser humano. Al parecer, el proceso inflamatorio se origina y reside principalmente en el tejido adiposo, que podría regular el proceso mediante la producción de citocinas. En recientes estudios realizados en ratones se ha documentado la presencia de poblaciones leucocitarias en el tejido adiposo, que intervendrían potencialmente en el desarrollo de la situación inflamatoria característica de la obesidad³. Xu et al⁴ observaron una notable infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y hallaron que los genes específicos de la inflamación y los macrófagos están regulados al alza en este tejido, lo que anunciaría un aumento de los valores circulantes de insulina. Los genes expresados habitualmente por los macrófagos se correlacionaron de forma positiva con el tamaño de los adipocitos y la masa corporal⁵. Se hallaron relaciones similares en el tejido adiposo subcutáneo humano teñido para el antígeno CD68 de los macrófagos⁶.

Sobre la base de los datos recogidos principalmente en los modelos animales, parece haberse demostrado una infiltración de macrófagos en el tejido adiposo de los individuos obesos. Sin embargo, no está claro si se trata de un hecho aislado o se asocia con otras alteraciones del tejido que aún no se han demostrado por biología molecular o microscopía óptica. Además, no se ha dilucidado si ello es una característica temprana de la obesidad humana, dado que no se dispone de datos en los niños obesos.

^aDepartment of Morphological-Biomedical Sciences, Human Anatomy and Histology Section, University of Verona. Verona. Italia. ^bDepartment of Mother and Child Biology-Genetics, Pediatrics Section, University of Verona. Verona. Italia. ^cPediatric Surgery Unit, University Hospital, University of Verona. Verona. Italia. ^dPlastic and Reconstructive Surgery (II Division). City Hospital. Verona. Italia.

Correspondencia: Prof. Andrea Sbarbati, DSMB, Human Anatomy and Histology Section, University of Verona, Medical Faculty, Strada Le Grazie 8, 37134, Verona, Italia.

Correo electrónico: andrea.sbarbati@univr.it

Declaración de conflictos de intereses: no había conflictos de intereses en este estudio. El autor encargado de la correspondencia tuvo pleno acceso a todos los datos del estudio y la responsabilidad final de la decisión de enviarlo para su publicación.

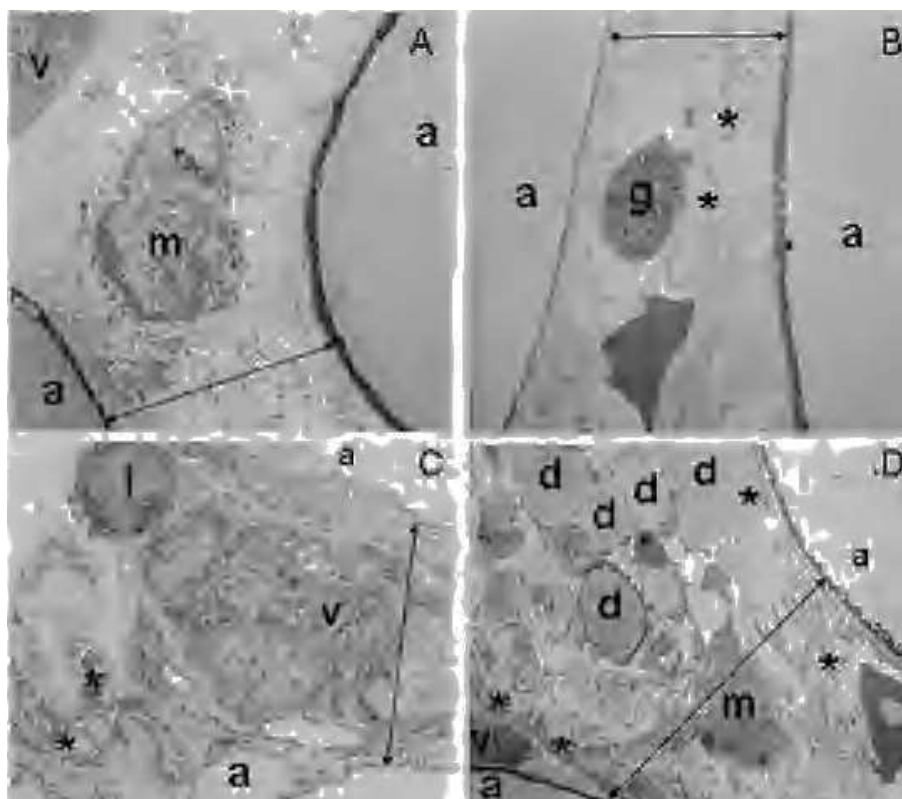


Fig. 1. Imágenes de microscopía electrónica del tejido adiposo subcutáneo en niños obesos. A) Un macrófago (m) es visible cerca de un vaso (v) ($\times 4.000$). B) Se observa un granulocito (g) en la proximidad de adipocitos degenerados (*) ($\times 3.000$). C) Se aprecia un linfocito y adipocitos degenerados (*) cerca de un vaso (v) ($\times 3.500$). D) Un macrófago (m), gotitas de lípidos (d) y adipocitos degenerados (*), cerca de un vaso (v) ($\times 3.000$). En todos los paneles, la línea negra marca los tabiques engrosados entre los adipocitos (a).

El estudio se realizó en un grupo de niños obesos que no habían presentado sobrepeso y sus consecuencias metabólicas durante un período prolongado y, por tanto, constituían un modelo para el estudio de las primeras fases de la enfermedad en el ser humano. Los objetivos del estudio consistieron en valorar la afección inflamatoria del tejido adiposo en los niños e identificar la potencial lesión inflamatoria elemental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diecinueve niños de raza blanca (11 varones y 8 niñas) pre-puberales, de $11,0 \pm 1$ años de edad, fueron reclutados a partir de los pacientes que acudían a la clínica de obesidad del Department of Pediatrics del University Hospital (Verona, Italia). En todos ellos se realizó una exploración física y se practicaron determinaciones antropométricas y densitométricas (ARXED) para analizar la composición corporal. El desarrollo puberal se valoró clínicamente mediante los estadios de Tanner⁷. Ningún niño sufría enfermedades manifiestas aparte de la obesidad, ni seguía dietas al ingresar en el estudio o recibía tratamiento medicamentoso alguno. Antes de la participación de los niños en el estudio se obtuvo el consentimiento informado de los padres. Se utilizó como control el tejido adiposo subcutáneo de niños no obesos (4 varones y 1 niña; edad, $7,4 \pm 1,6$ años; rango, 6,0-10,0) obtenido en el curso de intervenciones quirúrgicas. En todos los niños se midió la talla, el peso y la composición corporal. El protocolo fue aprobado por el Ethical Committee of the University Hospital of Verona, y se obtuvo el consentimiento informado de los padres de todos los niños.

Determinaciones antropométricas

La talla y el peso se midieron en situación postabsortiva y con la vejiga vacía. La talla se midió con un tallímetro estándar y el resultado se ajustó a la fracción de 0,5 cm más próxima. El

peso se midió en una báscula romana estándar para uso médico y se ajustó a la fracción de 0,1 kg más próxima, con el sujeto en ropa interior ligera y descalzo. Para calcular el índice de masa corporal (IMC) se dividió el peso (kg) por el cuadrado de la talla (m^2). La puntuación de la desviación estándar (PDE) del IMC se calculó con el método LMS, utilizando los valores nacionales de referencia de los coeficientes de IMC y LMS⁸. Se utilizó la ARXED para valorar la composición corporal. La masa adiposa y la masa magra se midieron por ARXED mediante un densitómetro Lunar DPX-L (Lunar, Madison, WI, Estados Unidos). El examen se practicó con los sujetos en decúbito supino con ropa ligera. El día de la exploración se calibró el DPX-L según el procedimiento descrito por el fabricante. Para obtener la masa adiposa corporal se multiplicó el porcentaje de grasa corporal por el peso.

Diseño experimental

Después de realizar las determinaciones antropométricas y de composición corporal, se practicó una aspiración con aguja del tejido adiposo subcutáneo abdominal a 5-8 cm por fuera del ombligo, con los sujetos en situación postabsortiva, bajo anestesia local con xilocaína al 1%; se aspiraron 200-400 mg de tejido adiposo subcutáneo con una aguja de calibre 15.

Valoraciones del tejido adiposo

El tamaño de los adipocitos se valoró por microscopía óptica en preparaciones de tejido sin fijar. Para estimar el número total de adipocitos en el organismo se dividió la grasa corporal total por el tamaño medio de los adipocitos. Las muestras de grasa subcutánea obtenidas de la región abdominal se procesaron para someterlas a microscopía óptica y electrónica. Se fijaron las muestras con glutaraldehído al 2,5% en amortiguador de Sorensen durante 2 h; se posfijaron con tetraóxido de osmio al 1% en amortiguador de Sorensen durante 1 h; se deshidrataron con alcoholes graduados; se incluyeron en Epon-Araldite y se cortaron con un ultramicrotomo Ultracut E (Reichert-Jung, Viena,

Austria). Los cortes semifinos se tiñeron con azul de toluidina. Se analizaron 4 cortes semifinos en cada muestra. Los cortes ultrafinos se tiñeron con citrato de plomo y acetato de uranilo y se estudiaron con un microscopio electrónico EM10 (Zeiss, Oberkochen, Alemania).

La cuantificación de las lesiones se realizó en los cortes semifinos. Brevemente, el área total de corte del tejido adiposo y el área lesionada se seleccionaron y cuantificaron mediante el programa Image-Pro Plus (Media Cybernetics, San Diego, CA). Los resultados se expresaron en cociente porcentual entre el área lesionada y el área total de corte. Todos los valores se expresaron como la media \pm DE. Para valorar la significación estadística de los datos se utilizó la prueba ANOVA. El valor de $p < 0,05$ se aceptó como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

En el grupo de obesos, la PDE del IMC fue de $2,60 \pm 0,84$ (rango, 1,49-4,31), la masa adiposa corporal de $47 \pm 8\%$ (rango, 35-60) y el diámetro de los adipocitos de 86 ± 22 μ m (rango, 58-144). El número total de células adiposas en el organismo fue de $10,3 \pm 7,4 \times 10^{10}$ (rango, $3,4$ - $26,8 \times 10^{10}$). En el grupo no obeso, el IMC fue de $16,5 \pm 0,85$ (rango, 13,4-17,4), la masa adiposa corporal de $12,3 \pm 1,9\%$ (rango, 10-15) y el diámetro de los adipocitos de $37,2 \pm 1,9$ μ m (rango, 35-40).

En todos los niños obesos, el análisis del tejido adiposo por microscopía óptica y electrónica demostró la presencia de un proceso inflamatorio en el tejido (fig. 1). En el análisis cuantitativo, la lesión afectaba al $6,8 \pm 8,5\%$ del tejido adiposo examinado. Las lesiones eran más evidentes en los pacientes con un elevado IMC. De hecho, en el grupo obeso, los niños con PDE del IMC superior al valor medio (2,6) mostraron unas áreas lesivas significativamente mayores ($11,0 \pm 11,5\%$; $n = 8$) que en los niños con PDE del IMC inferiores al valor medio ($2,7 \pm 2,6$; $n = 11$; $p < 0,05$).

En el examen ultraestructural, la lesión elemental era un microgranuloma en torno a restos de adipocitos. Se hallaron a menudo uno o más macrófagos perivasculares (fig. 1A). Los macrófagos mostraban a menudo gotitas de lípidos. También se hallaron granulocitos (fig. 1B) o linfocitos (fig. 1C), aunque con menos frecuencia. Los adipocitos maduros mostraban una morfología normal y se caracterizaban por presentar unas láminas citoplásmicas muy delgadas; sin embargo, era frecuente observar adipocitos fragmentados en asociación con células inflamatorias (fig. 1D). Los capilares mostraban una morfología normal. En algunas áreas se halló un engrosamiento de los tabiques interadiposos, con un ligero grado de fibrosis. El tejido adiposo de los niños no obesos no mostraba signo inflamatorio alguno.

DISCUSIÓN

Los resultados del estudio muestran claramente una infiltración de elementos sanguíneos en el tejido adiposo de los niños obesos. La novedad de estos resultados consiste en la identificación de una lesión elemental mediante el análisis ultramicroscópico en sujetos jóvenes. El estudio ofrece la oportunidad de investigar la anatomía del tejido adiposo durante las fases tempranas de la obesidad. Los niños habían tenido sólo una breve exposición a la obesidad o sus complicaciones, que podrían

influir en el desarrollo o el mantenimiento de la inflamación en el tejido adiposo. Se observó que había un proceso inflamatorio en el tejido adiposo de los niños obesos, lo que confirma otros hallazgos previos en animales y adultos obesos y sugiere que este proceso constituye una alteración temprana en el tejido adiposo humano.

Además, se demostró que la acumulación de macrófagos en el tejido adiposo de los sujetos obesos es tan sólo uno de los componentes de la lesión inflamatoria, en la que hay además una degeneración de los adipocitos, una fibrosis y, en menor grado, una acumulación de polimorfonucleares y linfocitos. No se observaron elementos transicionales entre los adipocitos y los macrófagos, y estos últimos se hallaron principalmente en las zonas perivasculares. Ello sugiere una migración de los macrófagos sanguíneos, más que una diferenciación a partir de los preadipocitos, lo que confirmaría otros hallazgos previos en el adulto^{4,9}.

Aunque el diseño transversal del estudio no permitió establecer una relación de causa-efecto, es probable que el microgranuloma evolucione hacia la fibrosis, aunque ésta parece ser poco intensa. El hallazgo de fragmentos de adipocitos en la lesión elemental sugiere que estas células pueden degenerar. Aunque se desconocen las causas de esta fragilidad celular, cabría atribuirle a un deterioro en el citoesqueleto, la membrana celular o la trama conjuntiva. Un posible lugar de esta labilidad sería la lámina citoplásmica del adipocito. Los materiales liberados en este proceso reclutarían los macrófagos y, en menor grado, otros leucocitos.

CONCLUSIONES

El estudio demuestra que la lesión elemental en la obesidad temprana es un microgranuloma con aspectos lipodegenerativos. Probablemente, ello es consecuencia de una fragilidad de los adipocitos y el consiguiente reclutamiento de los macrófagos, y el proceso conduciría a una fibrosis moderada. En ulteriores estudios debe ponerse en claro si esta lesión es simplemente un epifenómeno que acompaña a la obesidad, o si desempeña un papel patogénico en el mantenimiento del estado inflamatorio que caracteriza a la obesidad.

Los hallazgos en el adulto y en animales sugieren que el proceso inflamatorio asociado con el aumento de la masa adiposa podría intervenir en las vías patogénicas de las complicaciones de la obesidad. El aumento de tejido adiposo contribuye a la creación de un medio proinflamatorio, y las adipocinas inflamatorias podrían promover una resistencia a la insulina, una disfunción endotelial y, finalmente, la aterosclerosis². Puede emitirse la hipótesis de una vía similar para la génesis del ateroma en los niños obesos, pues se ha demostrado que la rigidez arterial y la disfunción endotelial están relacionadas con la obesidad en la infancia¹⁰. La demostración de una afección inflamatoria en el tejido adiposo de los niños obesos sugiere un comienzo temprano de los mecanismos patogénicos que pueden favorecer las complicaciones de la obesidad.

La identificación de la lesión inflamatoria elemental en el tejido adiposo de los sujetos obesos puede sugerir nuevos objetivos potenciales para el tratamiento o la prevención de las complicaciones de la obesidad.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento a la Dra. Christine Harris por su revisión del original.

BIBLIOGRAFÍA

1. Yudkin JS. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27:25S-8S.
2. Lyon CJ, Law RE, Hsueh WA. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology.* 2003;144:2195-200.
3. Robker RL, Collins RG, Beaudet AL, Mersmann HJ, Smith CW. Leukocyte migration in adipose tissue of mice null for ICAM-1 and Mac-1 adhesion receptors. *Obes Res.* 2004;12:936-40.
4. Xu H, Barnes GT, Yang Q, et al. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 2003;112:1821-30.
5. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1796-808.
6. Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1785-8.
7. Tanner JM. Growth at adolescence. 2.^a ed. Oxford: Blackwell; 1962.
8. Luciano A, Bressan F, Zoppi G. Body mass index reference curves for children aged 3-19 years from Verona, Italy. *Eur J Clin Nutr.* 1997;51:6-10.
9. Curat CA, Miranville A, Sengenès C, et al. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes.* 2004;53:1285-92.
10. Tounian P, Aggoun Y, Dubern D, et al. Presence of increased stiffness of the common carotid artery and endothelial dysfunction in severely obese children: a prospective study. *Lancet.* 2001;358:1400-4.