



Caracterización macroscópica del fémur de ratones obesos

Daniela Paulina Witrago-Soto¹, Héctor Alfredo Valente-Godínez-Martínez²,
Gabriel Herrera-Pérez¹, Sergio López-Briones², Esmeralda Rodríguez-Miranda².

¹Instituto Tecnológico Superior de Irapuato Departamento de Ingeniería en
Materiales. Carretera Irapuato-Silao Km. 12.5, El Copal, C.P. 36821, Irapuato,
Guanajuato.

²Universidad de Guanajuato División Ciencias de la Salud, Departamento de
Medicina y Nutrición. Aquiles Serdán 924, Obregón, C.P. 37320, León,
Guanajuato.

Resumen

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa en el tejido adiposo que puede ser perjudicial para la salud. La obesidad es un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares, algunos cánceres, diabetes mellitus y enfermedades del sistema esquelético como la osteoporosis. La relación entre la obesidad y el metabolismo óseo es compleja y ocurre a través de factores mecánicos, hormonales e inflamatorios. El objetivo de este trabajo es evaluar macroscópicamente el fémur de ratones hembras y machos de la cepa C57BL6/J alimentados con una dieta alta en grasa. La meta es obtener información que aporte nuevo conocimiento que ayude a dilucidar el impacto de la obesidad sobre el metabolismo óseo.

Introducción

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. En 2016, según las estimaciones unos 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran



obesos. Si bien el sobrepeso y la obesidad antes se consideraban un problema propio de los países de ingresos altos, actualmente ambos trastornos aumentan en los países de ingresos bajos y medianos, en particular en los entornos urbanos. A nivel mundial, la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en niños y adolescentes (de 5 a 19 años) ha aumentado de forma alarmante, del 4 % en 1975 a más del 18 % en 2016. Este aumento ha sido similar en ambos sexos: un 18 % de niñas y un 19 % de niños con sobrepeso en 2016 [*Organización Mundial de la Salud Recuperado de: <http://www.who.int/topics/obesity/es/>*]. En México, el 70 % de los mexicanos padece sobrepeso y casi una tercera parte sufre de obesidad, este problema empieza en la infancia, permanece en la adolescencia y se exagera en la vida adulta. Uno de cada tres niños y adolescentes tiene sobrepeso u obesidad. En el estado de Guanajuato, según los datos del sector Salud federal a través del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, los casos de obesidad crecieron en un 20 % en 2018 en comparación con el 2017.

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas. Es decir, a un aumento en la ingesta de alimentos de alto contenido calórico que son ricos en grasa y un descenso en la actividad física debido a la naturaleza cada vez más sedentaria de muchas formas de trabajo, los nuevos modos de transporte y la creciente urbanización. La obesidad es factor de riesgo de enfermedades no transmisibles, como las enfermedades cardiovasculares (principalmente las cardiopatías y los accidentes cerebrovasculares), la diabetes; y algunos cánceres (endometrio, mama, ovarios, próstata, hígado, vesícula biliar, riñones y colon). Algunos trastornos sistema esquelético como la osteoporosis. Esta última es una enfermedad metabólica ósea caracterizada por un descenso en la resistencia ósea debido a una reducción en la cantidad y/o calidad ósea, que conduce a un mayor riesgo de fracturas espontáneas y traumáticas.

La relación entre el sobrepeso y el metabolismo óseo es controvertida. Por un lado, se ha reportado el aumento del peso corporal como un factor de incremento



de masa ósea y reducción del riesgo de fracturas [*De Laet et al 2005*]. Por otra parte, en los últimos años se han acumulado evidencias de que el sobrepeso y, sobre todo, el acúmulo de masa grasa puede tener una influencia negativa sobre el riesgo de fractura sobre todo al ajustar según la masa ósea del paciente [*Johansson Het al 2014*].

Entre los mecanismos implicados en un efecto beneficioso se ha postulado que el mayor peso corporal aumenta la carga sobre el esqueleto cortical lo cual estimularía la formación ósea y disminuiría la resorción ósea. Otros de los factores estarían dados por el hecho de que, al igual que el tejido óseo, los adipocitos expresan la aromatasa, una enzima que es responsable de un paso fundamental en la biosíntesis de los estrógenos, por lo cual el aumento de tejido graso incrementaría la actividad de la enzima a nivel local, y con ello los niveles de estrógenos, favoreciendo la formación ósea. Por otra parte, al existir mayor depósito de grasa se incrementarían los niveles séricos de leptina que estimularían directamente a los precursores osteoblásticos aumentando la formación ósea [*Rosen et al 2006*]. Sin embargo, estudios recientes evidenciaron que la masa magra, y no la masa grasa, favorece el desarrollo del esqueleto, postulando que la obesidad sería perjudicial para el hueso. Es importante tomar en cuenta que la obesidad interfiere con el metabolismo óseo a través de factores mecánicos, hormonales e inflamatorios por lo que es complejo la relación hueso y obesidad.

Objetivos

El objetivo del trabajo es evaluar macroscópicamente el fémur de ratones hembras y machos de la cepa C57BL6/J alimentados con una dieta alta en grasa. Nuestra meta es obtener información que aporte nuevo conocimiento que ayude a dilucidar el impacto de la obesidad sobre el metabolismo óseo.



Justificación

La obesidad se ha convertido no solo en una crisis de salud pública, sino también en un elemento que pone en peligro la competitividad del país. Por una parte, afecta la salud de los habitantes, lo que tiene un impacto en la dinámica familiar y genera altos costos de tratamiento médico. Por el otro, reduce la productividad de los trabajadores e impone retos significativos a las finanzas gubernamentales. De acuerdo a la definición de obesidad, un individuo tiene la responsabilidad absoluta sobre sus hábitos sin embargo, existen múltiples factores fisiológicos que son importantes conocer para poder entender las consecuencias de esta enfermedad. En este sentido, es necesario considerar que la relación entre grasa y hueso es compleja e incluye relaciones tanto sistémicas como locales. Es fundamental generar nuevo conocimiento utilizando modelos experimentales de obesidad para entender los mecanismos moleculares implicados. Este trabajo es el inicio para comprender la conexión de la composición química del hueso con la obesidad.

Metodología

A. Animales

Se utilizaron ratones de la cepa C57BL6/J hembras y machos, de entre 6 a 8 semanas de edad. Los animales se dividieron en dos grupos: a) Grupo Control cuya alimentación fue Rodent Diet 5010 (13 % de grasa, 20 % de proteína y 58 % de carbohidrato) y agua de garrafón *ad libitum*, b) Grupo experimental (HFD) cuya alimentación fue alta en grasa (60 % de grasa, 20 % de proteína y 20 % de carbohidrato) y agua de garrafón *ad libitum*. Los ratones de ambos grupos se pesaron semanalmente y después de 8 semanas de tratamiento, ambos grupos se sacrificaron por dislocación cervical. La manipulación y eutanasia de los animales se realizó de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio señalado en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 [Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Recuperado de: <http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/062zoo.pdf>]. La obesidad fue evaluada a la semana 8 del tratamiento mediante el índice de Lee, calculado por la raíz



cúbica del peso corporal (g) dividido entre la longitud hocico-ano (LHA) (cm). Un valor igual o menor a 0.30 fue considerado como normal; mayor que 0.30, los ratones fueron clasificadas como obesos [Bernardis 1979].

B. Obtención, limpieza y registro de parámetros macroscópicos del Fémur

Después del sacrificio de los ratones se realizó la disección del esqueleto para separar el tejido del hueso. Los esqueletos aún con poco tejido se colocaron en cajas de plástico con aserrín para su limpieza. Se utilizaron escarabajos del Orden Coleóptera y de la Familia Dermestidae para limpiar los fémures de los ratones sin utilizar algún tratamiento químico. Una vez que se obtuvieron el fémur derecho y el izquierdo se registró el peso, se les midió la longitud y los diámetros de la diáfisis, epífisis superior e inferior utilizando un vernier digital Figura 1.

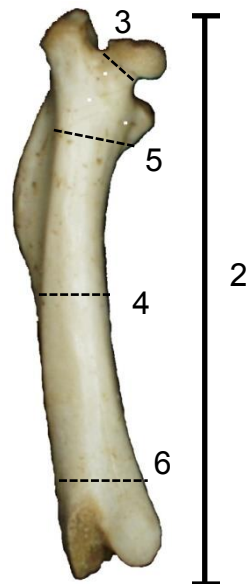


Figura 1 Parámetros macroscópicos

- 1.- Peso (g)
- 2.- Longitud total
- 3.- Cuello
- 4.- Diáfisis
- 5.- Epífisis superior
- 6.- Epífisis inferior

C. Disposición Final de Residuos Peligrosos Biológicos Infecciosos

Todos los residuos peligrosos se dispusieron de acuerdo con la norma oficial mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002 que refiere a la Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y



especificaciones de manejo [Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Recuperado de:

<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO3015.pdf>].

Resultados

Se utilizaron 4 ratones macho y 3 ratones hembra de entre 6 y 8 semanas de edad en cada grupo. A partir de la semana 2, se observó una mayor ganancia de peso en el grupo alimentado con una dieta alta en grasa (HFD) (datos no mostrados) tanto en machos como en hembras con respecto al grupo control, observándose la mayor ganancia de peso (67 %) en la semana 8 (Figura 2A). La diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa para machos y hembras.

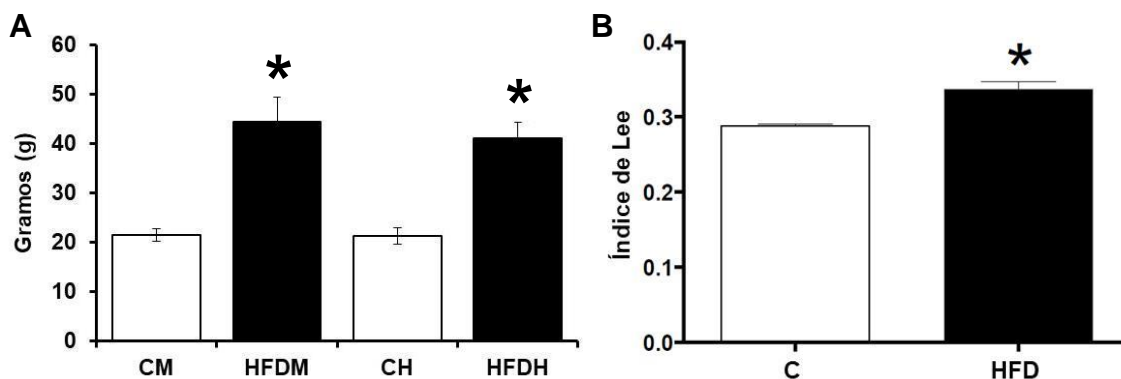


Figura 2 Ganancia de peso (A) e índice de Lee (B) de ratones machos (M, n=4) y hembras (H, n=3) después de 8 semanas de ingesta de una dieta control (C, □) y una alta en grasa (HFD, ■). Se muestra el promedio \pm desviación estándar. T-test $p > 0.05$.

La diferencia de pesos entre ambos grupos fue confirmada por el Índice de Lee (Figura 2B) en donde el grupo HFD presentaron un aumento del 17 % con respecto al grupo control. Con este criterio, los ratones alimentados con dieta alta en grasa fueron diagnosticados con obesidad. Como se mencionó previamente una vez que se obtuvieron los fémures se procedió a su limpieza utilizando un



tratamiento biológico para no afectar la composición química de tejido óseo. Una vez que se tuvieron limpios los fémures se procedió a medir la longitud total así como los diámetros del cuello femoral, la diáfisis, la epífisis superior e inferior utilizando un vernier digital (Figura 1). En la tabla 1 se muestra el registro de estos parámetros de ratones machos y hembras control y con HFD, los datos no muestran diferencias significativas entre ambos grupos.

Por otro lado, nuestros resultados mostraron que el diámetro del grupo HFD fue menor que el control tanto en machos como en hembras. La diferencia fue estadísticamente significativa. Estos datos son interesantes debido a que uno de los tipos más comunes de fractura de cadera ocurre en el cuello femoral la cual puede tener complicaciones que pueden ser potencialmente mortales sobre todo en pacientes de la tercera edad.

Tabla 1 Parámetros macroscópicos de ratones machos (M, n=4) y hembras (H, n=3) después de 8 semanas de ingesta de una dieta control (C) y una alta en grasa (HFD). Se muestra el promedio \pm desviación estándar. Se muestra el promedio \pm desviación estándar.

Parámetro (mm)	C Machos	C Hembras	HDF Machos	HDF Hembras
Longitud (largo)	15.48 \pm 0.19	15.41 \pm 0.37	15.56 \pm 0.36	15.93 \pm 0.07
Diáfisis	1.81 \pm 0.12	1.79 \pm 0.14	1.97 \pm 0.10	1.87 \pm 0.09
Epífisis superior	2.75 \pm 0.16	2.41 \pm 0.13	2.60 \pm 0.15	2.79 \pm 0.09
Epífisis inferior	2.17 \pm 0.07	2.16 \pm 0.08	2.27 \pm 0.15	2.42 \pm 0.19

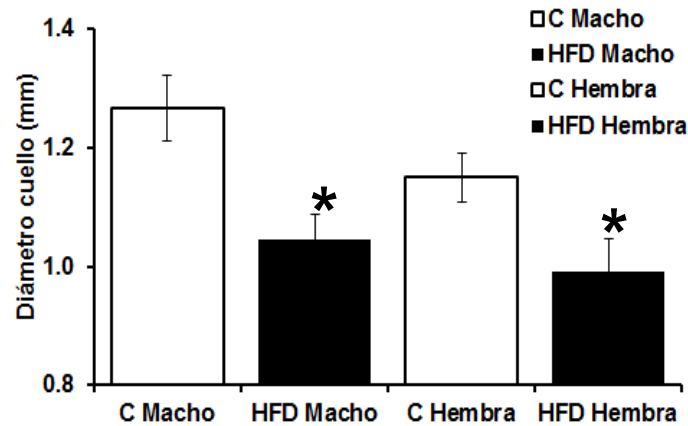


Figura 3. Diámetro de la cabeza del fémur de ratones machos (M, n=4) y hembras (H, n=3) después de 8 semanas de ingesta de una dieta control (C, □) y una alta en grasa (HFD, ■). Se muestra el promedio ± desviación estándar. T-test $p > 0.05$.

Conclusiones

En este trabajo obtuvimos ratones obesos de acuerdo con el índice de Lee. No se observó diferencia estadísticamente significativa en la longitud (largo) ni los diámetros de la diáfisis y la epífisis superior e inferior del fémur de ratones machos y hembras control y del grupo HFD, sin embargo el diámetro del cuello fue menor en el grupo experimental.

Referencias

Bernardis, L.L. 1970. *Prediction of carcass fat, water and lean body mass from Lee's "nutritive ratio" in rats with hypothalamic obesity.* *Experientia.*26 (7): 789-790. PMID: 4914444.

De Laet C, Kanis JA, Odén A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, Eisman JA, Kroger H, Fujiwara S, Garnero P, McCloskey EV, Mellstrom D, Melton LJ 3rd, Meunier PJ, Pols HA, Reeve J, Silman A, Tenenhouse A. (2005) *Body mass index as a predictor of fracture risk: A metaanalysis.* *Osteoporos Int.*; 16:1330-8.

Johansson H, Kanis JA, Oden A, McCloskey E, Chapurlat RD, Christiansen C. (2014) *A meta-analysis of the association of fracture risk and body mass index in women.* *J Bone Miner Res.*;29: 223-33.



Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Recuperado de:
<http://www.sagarpa.gob.mx/Dgg/NOM/062zoo.pdf>

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Recuperado de:
<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/agenda/DOFsr/DO3015.pdf>

Organización Mundial de la Salud Recuperado de:
<http://www.who.int/topics/obesity/es/>

Rosen CJ, Buxsein ML. *Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone?* Nat Clin Pract Rheumatol (2006); 2: 35-43.