

El adipocito en el laboratorio: historia, perspectivas y reporte de experiencia

The adipocyte in the laboratory: history, perspectives and report of experience

JULIO CÉSAR SÁNCHEZ¹, CÉSAR RAMÓN ROMERO², CRISTHIAN DAVID ARROYAVE²,
DIANA MARCELA DÍAZ², ANDRÉS FELIPE QUIROZ², JUAN FELIPE QUINTERO²

Forma de citar: Sánchez JC, Romero CR, Arroyave CD, Díaz DM, Quiroz AF, Quintero JF.

El adipocito en el laboratorio: historia, perspectivas y reporte de experiencia. Rev CES Med 2015;29(2): 271-282

RESUMEN

Introducción: el tejido adiposo humano está compuesto por diferentes tipos celulares, y ha sido objeto de múltiples estudios en los últimos años debido a su acción en diversas funciones.

Métodos: se realizó una búsqueda bibliográfica en PubMed, Scielo, Science Direct and Google Scholars y se reporta la experiencia de los autores.

Resultados: los primeros modelos de estudio fueron con tejido de roedores, y permitieron la comprensión del metabolismo de carbohidratos y ácidos grasos y facilitaron el estudio de la biología del adipocito, junto a estudios histológicos y el aislamiento de adipocitos maduros. Posteriormente se realizaron estudios con células precursoras (preadipocitos) que propiciaron el aislamiento de la línea celular 3T3-1L murina. En Latinoamérica, se han realizado diversos estudios con líneas celulares y con células madre mesenquimales precursoras de adipocitos para estudiar el efecto de hormonas y otras sustancias y para genotipificación. En Colombia se han realizado estudios con adipocitos 3T3-L1 para determinar los efectos de medicamentos y sustancias en estas células.

¹ Facultad Ciencias de la Salud, Director Grupo de Fisiología Celular y Aplicada. Universidad Tecnológica de Pereira. jcsanchez@utp.edu.co

² Facultad Ciencias de la Salud, Grupo de Fisiología celular y aplicada. Universidad Tecnológica de Pereira Semillero de Fisiología Aplicada y Neurociencias (SEFAN).

Recibido en: febrero 4 de 2015. **Revisado en:** septiembre 3 de 2015. **Aceptado en:** septiembre 9 de 2015



En el laboratorio de Fisiología Celular de la Universidad Tecnológica de Pereira el proceso de obtención de muestras ha evidenciado dificultades por tratarse de tejido humano, pero el protocolo de aislamiento y cultivo pudo ser estandarizado a lo largo de seis años de experimentación; se aislaron preadipocitos y adipocitos maduros que permitieron estudiar los efectos de hormonas, realizar caracterización electrofisiológica y estudiar la fisiología del calcio.

Conclusiones: este es un campo de investigación muy relevante debido a la implicación de este tipo celular en funciones metabólicas sistémicas y su relación con patologías de alta prevalencia como la obesidad y el síndrome metabólico.

PALABRAS CLAVE

Tejido adiposo

Adipocito

Preadipocito

Técnicas de cultivo celular

Cultivos celulares primarios

ABSTRACT

Introduction: The human adipose tissue is composed of different cell types. It has been subject of several studies in the past years due to its role on diverse functions.

Methods: A search in the PubMed, Scielo, Science direct and Google Scholars databases was performed and the authors experience was reported.

Results: The first model used was rodent fat, which allowed a better comprehension on carbohydrate and fatty acid metabolism and enhanced research in adipocyte cell biology in addition with histological studies and mature adipocyte isolation. Afterwards, learning about

precursor cell (pre-adipocytes) promoted the isolation of murine 3T3-L1 cell line.

In Latin America research has been conducted using cell lines and adipocyte precursor mesenchymal stem cells to describe effects of hormones and perform DNA sequencing. In Colombia, studies in 3T3-L1 cell line aimed to establish the effects of different compounds on these cells. In the Cell Physiology Laboratory of the Universidad Tecnológica de Pereira, sample collection process has shown difficulties because the source was human tissue; nevertheless isolation and cell culture protocols were standardized throughout the last six years of experimentation. Pre-adipocytes and mature adipocytes were isolated to study the effects of hormones, perform electrophysiological characterization and study calcium physiology.

Conclusions: This is a relevant research field since these cells have important systemic metabolic functions and they have a clear relationship with high-prevalence pathologies such as obesity and the metabolic syndrome.

KEY WORDS

Adipose tissue

Adipocyte

Preadipocyte

Cell culture techniques

Primary cell cultures

INTRODUCCIÓN

El tejido adiposo humano se compone de diferentes tipos celulares, tales como macrófagos, monocitos, eritrocitos, pericitos y adipocitos; estos últimos son las células más abundantes y tienen una gran importancia en la regulación del meta-

bolismo general. La relevancia de su estudio es notable, pues son células endocrinas que intervienen en la homeostasis general y regulan múltiples funciones. Por esta razón, desde hace más de treinta años se viene investigando a esta célula y los mensajeros químicos que produce, por medio de diversos modelos celulares obtenidos a través de cultivos de diversas características.

El presente artículo es una revisión de tema acerca de los métodos experimentales que han sido utilizados para el estudio de la biología de los adipocitos y el desarrollo de estos métodos experimentales en Latinoamérica y Colombia.

MÉTODOS

Se realizó una búsqueda en las bases de datos *PubMed*, *Scielo*, *Science Direct* and *Google Scholars*, utilizando los descriptores *adipocito*, *tejido adiposo*, *cultivos celulares*, *Latinoamérica*, *Colombia* y sus combinaciones, tanto en español como en inglés. También se realizó la consolidación de la información procedente de la experiencia del Laboratorio de Fisiología Celular y Aplicada de la Universidad Tecnológica de Pereira en los últimos cinco años.

RESEÑA HISTÓRICA

El interés por el tejido adiposo inició hacia la primera mitad del siglo XX, cuando se relacionó el riesgo aumentado de muerte con la obesidad en aquellas personas que tenían una masa corporal aumentada. La primera fuente de este tejido fueron los roedores empleados en los primeros estudios que describieron su actividad metabólica. Las muestras en fresco ayudaron a la comprensión de algunas funciones como la actividad metabólica de carbohidratos y ácidos grasos, las cuales fueron el punto de partida para el estudio de la biología celular del tejido adiposo (1).

Durante el periodo comprendido entre 1940 y 1960 se publicaron diversos estudios de tejido adiposo realizados *in vitro*, para describir la existencia de diferentes rutas metabólicas de los ácidos grasos; se emplearon marcadores bioquímicos como deuterio, ácidos grasos, carbohidratos o ésteres de colesterol, marcados con carbono radioactivo, en medios de cultivo con hormonas (insulina, ACTH) o enzimas (lipasas); con esto se logró estimar la capacidad del tejido adiposo para utilizar y producir ácidos grasos (1).

En 1964 Rodbell decantó los estudios *in vivo* e *in vitro* que a la fecha se habían realizado y produjo el primer experimento en el cual se logró aislar satisfactoriamente adipocitos maduros de una forma homogénea, a través de la digestión enzimática de tejido adiposo de rata, para que las células fueran liberadas y separadas de la fracción de estroma vascular (2).

De esta manera se dio inicio al estudio del rol metabólico del adipocito y su sensibilidad a la influencia hormonal, a partir de la estimulación con adrenalina, ACTH y glucagón; adicionalmente, se realizó la cuantificación de la liberación de ácidos grasos libres y de glicerol, métodos de gran utilidad para la comprensión de la homeostasis metabólica del adipocito, que pueden ser modificados de acuerdo al estudio a realizar (3).

Debido a la dificultad que planteó este método de aislamiento, paralelo a la comprensión de la biología y la histología del tejido adiposo, se dio el salto a la exploración de aquellas células precursoras de adipocitos maduros, los llamados preadipocitos. Los primeros reportes de aislamiento de preadipocitos datan de 1960, cuando se logró aislar con éxito una línea monoclonal de preadipocitos murinos, 3T3 L1, la cual se obtuvo de embriones de entre 17 a 19 días de ratones 3T3 suizos (4). A partir de ese momento continuó el desarrollo de diferentes modelos celulares que permitieron ampliar las investigaciones en adipocitos.

PROTOCOLOS UTILIZADOS Y LÍNEAS CELULARES

En el cuadro 1 se resumen diversas líneas comerciales derivadas de humanos y animales. Los protocolos de mantenimiento y diferenciación

· suelen ser estándar, basándose principalmente
· en medios suplementados con insulina y corti-
· coides, que se pueden emplear acorde a los re-
· querimientos experimentales, pues intervienen
· favorablemente en la maduración del adipocito
· al promover su metabolismo y la formación de
· las vacuolas grasas, incrementando la actividad
· adipogénica y por ende el número de células
· maduras del cultivo (5).

Cuadro 1. Líneas celulares comerciales de adipocitos

Línea celular	Origen	Referencia
3T3-L1 (F31/F411/F441B)*	Subclón de ratón suizo 3T3	(6)
3T3-F442A	Subclón de ratón suizo 3T3	(7)
Ob17/Ob1771	Adipocitos diferenciados de almohadilla de grasa epididimal de ratón C57BL/6J ob/ob	(8)
TA1	Subclón de C3H10T1/2	(9)
30A5	Subclón de C3H10T1/2	(10)
1246	Subclón adipogénico de CH3, línea celular T984	(11)
Preadipocitos primarios subcutáneos **	Humano, tejido adiposo maduro	
Tejido adiposo derivado de células madre **	Humano, células madre mesenquimales	
NIH3T3	NIH células de embriones de ratón suizo	(12)
Swiss 3T3	Células de embrión de ratón suizo	(13)
Balb/3T3	Células de embrión de ratón suizo	(14)
C3H 10T1/2, C3H A9, C3H L929, C3H B82	Células de embrión de ratón C3H	(15)
C2C12	Músculo de ratón C3H	(16)
G8	Músculo de feto de ratón suizo	(17)

Subrayados: Mayor potencial adipogénico. * Subtipos de la línea celular 3T3. **Líneas celulares pertenecientes a *The Essential of Life Science Research* (ATCC)

De los subtipos de adipocitos, los más usados en experimentación han sido el blanco y el par- do, los cuales se diferencian en su localización,

· morfología (vacuola y organelas) y funciones;
· estas células se pueden caracterizar por la ex-
· presión de marcadores como la leptina, expre-

sada primordialmente en el adipocito blanco y la UCPI (*uncoupled protein 1*), expresada exclusivamente en los adipocitos pardos (18).

Desde 1974 se ha usado la técnica de tinción con rojo de aceite para la identificación y visualización de adipocitos maduros en cultivo. Éste es un método cuantitativo de caracterización morfológica que consiste en teñir las vacuolas de grasas de estas células y posteriormente cuantificar la cantidad de colorante tomado después del lavado, a través de la medición de absorbancia por métodos convencionales. El método es fácil de implementar y es una herramienta útil en la caracterización del adipocito maduro en cultivo (4).

Otras líneas que se han establecido como ob17 u ob1771 tienen un comportamiento similar a las células en el contexto de la obesidad, pues provienen de ratones modificados genéticamente para desarrollar esta enfermedad (8).

Entre las ventajas que ofrece la línea celular frente a la utilización de cultivos primarios están las mayores tasas de sobrevivencia y las facilidades de manejo en el laboratorio, convirtiéndose en una nueva alternativa para estudiar las características del adipocito (19).

En décadas pasadas diferentes métodos de aislamiento y manipulación génica, permitieron emplear líneas celulares surgidas a partir de células totipotenciales, lo cual, además, permitió el desarrollo de linajes celulares con características particulares que han ampliado este campo de estudio. En Europa, en la década de los ochenta, se encontró actividad de canales iónicos selectivos y no selectivos en adipocitos (20), abriendo las puertas a la comprensión del papel de estas proteínas en la regulación metabólica e iniciando un amplio campo de trabajo: la electrofisiología celular del adipocito.

La caracterización de transportadores de membrana en el adipocito permite avanzar en el en-

tendimiento del desarrollo de diversas enfermedades, entre ellas el cáncer, dado que el tejido adiposo genera un microambiente óptimo para su desarrollo, por ser un reservorio de energía generador de ácidos grasos libres y productor de citocinas pro-inflamatorias, adipocinas y factores pro-angiogénicos, lo cual facilita el desarrollo de las neoplasias y sus metástasis (21).

El principal problema de la obesidad radica en su asociación con enfermedades metabólicas, entre ellas la diabetes, caracterizada por resistencia a la insulina y asociada a niveles altos de leptina y resistina en sangre (22); los cultivos celulares permiten manipular, de forma aislada, los efectos que diferentes hormonas, la hipoxia y los cambios de temperatura tienen sobre el adipocito y ayudan a individualizar sus efectos (23).

Otras áreas biológicas han partido de la utilización de células madre derivadas del tejido adiposo (CMM-AD), para diferenciarlas a varios linajes celulares, entre ellos miocitos, condrocitos, hepatocitos, neuronas, células endoteliales, entre otros. Estas células también han sido utilizadas para reconstrucción de tejidos (24).

EXPERIENCIA EN LATINOAMÉRICA Y COLOMBIA

En Latinoamérica es de resaltar el trabajo realizado en Brasil, donde se han cultivado adipocitos 3T3-L1 para determinar su actividad metabólica (25) y CMM-AD para diferenciarlas a adipocitos, osteoblastos y condrocitos (26).

En Chile también se ha realizado aislamiento de CMM-AD para estudiar la capacidad de diferenciación del mismo hacia otros linajes mesodérmicos (27). En México se ha utilizado el cultivo de adipocitos 3T3-L1 para determinar los efectos de la dopamina sobre la liberación de lep-

tina y también se han usado cultivos primarios tanto humanos como bovinos para estudios de genotipificación (28). En Cuba se han realizado cultivos de CMM-AD para su caracterización fenotípica (29); en el caso de Costa Rica se han comparado protocolos de cultivos de CMM-AD equinos para ser utilizados en regeneración tisular (30).

A pesar de toda esta experiencia, la mayoría de la literatura científica sobre tejido adiposo precedente de Latinoamérica se reduce a artículos de revisión, lo cual evidencia la necesidad de continuar investigando respecto a este tema en nuestro medio.

En Colombia, la investigación en adipocitos ha sido limitada, pero algunos grupos han realizado diversos estudios sobre el tejido adiposo, principalmente por medio del uso de la línea 3T3-L1, para la evaluación de efectos de medicamentos y otras sustancias en estas células (31). En Bogotá se han estudiado las acciones lipolíticas del resveratrol y el efecto de varios agentes sobre la diferenciación del adipocito, con el propósito de evaluar posibles estrategias terapéuticas para enfermedades de alta prevalencia como la obesidad relacionada con diabetes mellitus tipo II e hipertensión arterial en el síndrome metabólico (32).

Otros grupos han realizado cultivos celulares en los cuales se estimula la adipogénesis, a partir de la diferenciación de preadipocitos a adipocitos maduros, evidenciando la producción de triacilglicéridos a través de tinciones especiales y biofotometría, después de ser colocados en medios de diferenciación suplementados con rosiglitazona e insulina (33); también se ha experimentado con CMM-AD extraídas a partir de la grasa infrapatelar de Hoffa, para evaluar su potencial de diferenciación a otros linajes celulares, como alternativa en la medicina regenerativa (34).

En Medellín, usando cultivos primarios de adipocitos, se ha buscado la diferenciación a cé-

lulas madre a partir de la exposición a factores osteogénicos como dexametasona, ácido ascórbico y β -glicerol fosfato para su utilización en enfermedades osteogénicas (35).

En Cali, el cultivo de adipocitos ha sido utilizado en cirugía plástica con el objetivo de optimizar y estandarizar técnicas de lipoescultura con láser, observando los efectos de la luz en la morfología y funcionalidad de las células (36).

En el Laboratorio de Fisiología Celular de la Universidad Tecnológica de Pereira se ha desarrollado una línea de investigación en adipocitos humanos cultivados a partir de muestras de tejido adiposo subcutáneo. En la experiencia a lo largo de los últimos seis años se ha obtenido tejido adiposo de pacientes obesos y no obesos sometidos a diferentes procedimientos quirúrgicos, quienes han firmado un consentimiento informado para la utilización del tejido con fines de investigación. Estos pacientes no presentaban diabetes mellitus, infecciones activas ni cáncer.

Las muestras fueron obtenidas por los cirujanos correspondientes al inicio del procedimiento quirúrgico; se obtuvieron entre 10 y 20 gr de tejido celular subcutáneo no infiltrado con vasoconstrictores ni sometido a electrobisturí; la muestra de tejido fue inmediatamente sumergida en solución salina normal (0,9 %) a temperaturas entre 2 y 4 ° C y transportada al laboratorio para su procesamiento en las siguientes seis horas.

Con estas muestras se ha experimentado con protocolos exitosos en otros laboratorios reportados en la literatura (37-39), adaptándolos a las condiciones de nuestro laboratorio hasta obtener, según nuestra experiencia, el más útil para el aislamiento de adipocitos maduros y la obtención de preadipocitos y su posterior cultivo. También se ha experimentado con el aislamiento de adipocitos maduros en fresco utilizando la técnica del *ceiling* (40) (figura 1). Los medios utilizados y su composición están resumidos en el cuadro 2.

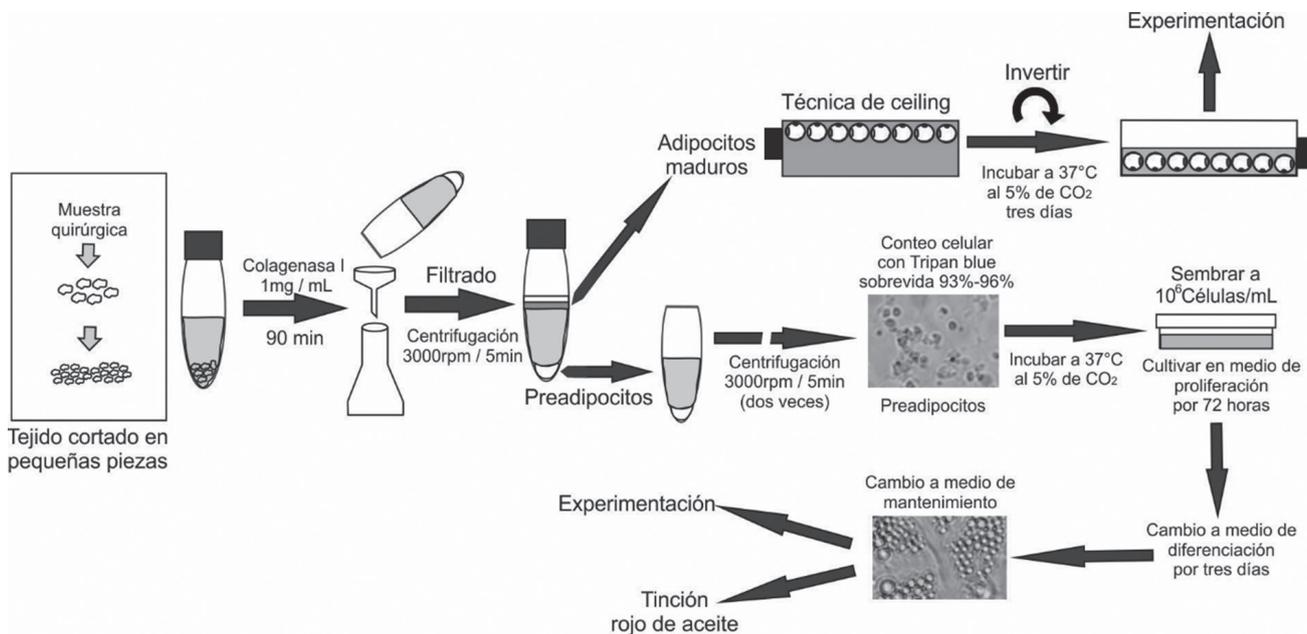


Figura 1. Protocolo de aislamiento de adipocitos maduros y preadipocitos

Se ha logrado la obtención de cultivos que han permitido el estudio de efectos de hormonas como leptina, insulina y factor de necrosis tumoral. También se han realizado estudios de caracterización electrofisiológica de estas células y de proteínas involucradas en la regulación del calcio (41, 42).

Las principales dificultades han tenido que ver con la disponibilidad de las muestras que ha venido disminuyendo en los últimos años, ya que los abordajes quirúrgicos han cambiado a ser, en su mayoría, de tipo laparoscópico, y en éstos la obtención de grasa presenta dificultades técnicas que no permiten la extracción de la cantidad necesaria de tejido. También es significativo el rechazo de algunos pacientes a la

extracción del tejido por temores o creencias infundadas.

Es necesario resaltar que este proceso depende de la colaboración de los cirujanos y el personal auxiliar de quirófanos, condición que no siempre se cumple, pues existen múltiples situaciones propias del quehacer quirúrgico que en ocasiones impiden invertir tiempo adicional obteniendo las muestras necesarias. Estas situaciones son imposibles de prever y por tanto, no pueden ser controladas. A pesar de que se ha experimentado con la posibilidad de cultivar células obtenidas de tejido graso extraído por liposucción, el cual es de más fácil acceso. La experiencia con este tipo de muestras no ha sido exitosa en nuestro laboratorio, aunque otros han reportado lo contrario (35).

Cuadro 2. Componentes de los medios utilizados para el cultivo de tejido adiposo

Medio	Componente	Concentración
Medio de inducción	Penicilina	100 UI/mL
	Estreptomina	100 µg/mL
	Neomicina	200 µg/mL
	Suero fetal bovino	10 %
	Glutamina	2 mM
Medio de diferenciación	Penicilina	100 UI/mL
	Estreptomina	100 µg/mL
	Neomicina	200 µg/mL
	Hidrocortisona	100 nM
	Triyodotironina	1,3 nM
	Transferrina	10 µg/mL
	Insulina	500 µUI/mL
Glutamina	2 mM	
Medio de mantenimiento	Composición igual al medio de diferenciación pero sin insulina	

Nota: todas las soluciones fueron preparadas en DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*)

CONCLUSIONES

Los cultivos de adipocitos de fuentes primarias continúan siendo un desafío de gran interés para la investigación biomédica, por ser una herramienta para el estudio del tejido adiposo. Este tejido tiene un papel fundamental en el metabolismo y la regulación hormonal del organismo en condiciones fisiológicas o patológicas como obesidad, diabetes mellitus e hipertensión arterial; además, la optimización de los procesos de cultivo de adipocitos puede ayudar significativamente en la búsqueda de posibles blancos terapéuticos para dichas enfermedades, que actúen sobre las diversas acciones alteradas de estas células. A pesar de las dificultades inherentes a los cultivos de adipocitos es necesario continuar en la búsqueda de métodos de optimización de las técnicas de laboratorio que permitan mejorar el proceso de obtención de cultivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lafontan M. Historical perspectives in fat cell biology: the fat cell as a model for the investigation of hormonal and metabolic pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;302(2):C327-59.
2. Rodbell M. Metabolism of isolated fat cells. I. Effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J Biol Chem.* 1964;239:375-80.
3. Sim AW, De Vries JW, Vincent JE. Concentrations of glycerol and non-esterified fatty acids in plasma during fat mobilization. *Biochemical Journal.* 1964;92(3):590-3.
4. Green H, Meuth M. An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell.* 1974;3(2):127-33.

5. Hauner H, Schmid P, Pfeiffer EF. Glucocorticoids and insulin promote the differentiation of human adipocyte precursor cells into fat cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;64(4):832-5.
6. Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):447-52.
7. Green H, Kehinde O. Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell.* 1976;7(1):105-13.
8. Negrel R, Grimaldi P, Ailhaud G. Establishment of preadipocyte clonal line from epididymal fat pad of ob/ob mouse that responds to insulin and to lipolytic hormones. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978;75(12):6054-8.
9. Chapman AB, Knight DM, Dieckmann BS, Ringold GM. Analysis of gene expression during differentiation of adipogenic cells in culture and hormonal control of the developmental program. *J Biol Chem.* 1984;259(24):15548-55.
10. Pape ME, Kim K-H. Effect of tumor necrosis factor on acetyl-coenzyme a carboxylase gene expression and preadipocyte differentiation. *Molecular Endocrinology.* 1988;2(5):395-403.
11. Darmon M, Serrero G, Rizzino A, Sato G. Isolation of myoblastic, fibro-adipogenic, and fibroblastic clonal cell lines from a common precursor and study of their requirements for growth and differentiation. *Experimental Cell Research.* 1981;132(2):313-27.
12. Jainchill JL, Aaronson SA, Todaro GJ. Murine sarcoma and leukemia viruses: assay using clonal lines of contact-inhibited mouse cells. *Journal of Virology.* 1969;4(5):549-53.
13. Todaro GJ, Green H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J Cell Biol.* 1963;17:299-313.
14. Aaronson SA, Todaro GJ. Development of 3T3-like lines from Balb/c mouse embryo cultures: Transformation susceptibility to SV40. *Journal of Cellular Physiology.* 1968;72(2):141-8.
15. Reznikoff CA, Brankow DW, Heidelberger C. Establishment and characterization of a cloned line of C3H mouse embryo cells sensitive to postconfluence inhibition of division. *Cancer Res.* 1973;33(12):3231-8.
16. Yaffe D, Saxel ORA. Serial passaging and differentiation of myogenic cells isolated from dystrophic mouse muscle. *Nature.* 1977;270(5639):725-7.
17. Christian C, Nelson P, Peacock J, Nirenberg M. Synapse formation between two clonal cell lines. *Science.* 1977;196(4293):995-8.
18. Rosenwald M, Wolfrum C. The origin and definition of brite versus white and classical brown adipocytes. *Adipocyte.* 2014;3(1):4-9.
19. Armani A, Mammi C, Marzolla V, Calanchini M, Antelmi A, Rosano GM, et al. Cellular models for understanding adipogenesis, adipose dysfunction, and obesity. *J Cell Biochem.* 2010;110(3):564-72.
20. Ramirez-Ponce MP, Acosta J, Bellido JA. Electrical activity in white adipose tissue of rat. *Rev Esp Fisiol.* 1990;46(2):133-8.
21. Park J, Morley TS, Kim M, Clegg DJ, Scherer PE. Obesity and cancer--mechanisms underlying tumour progression and recurrence. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(8):455-65.
22. Hyvonen MT, Spalding KL. Maintenance of white adipose tissue in man. *Int J Biochem Cell Biol.* 2014;56c:123-32.



23. Trayhurn P. Hypoxia and adipose tissue function and dysfunction in obesity. *Physiological reviews*. 2013;93(1):1-21.
24. Yoshimura K, Eto H, Kato H, Doi K, Aoi N. In vivo manipulation of stem cells for adipose tissue repair/reconstruction. *Regen Med*. 2011;6(6 Suppl):33-41.
25. Botelho AP, Santos-Zago LF, Oliveira ACd. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocyte culture. *Revista de Nutrição*. 2009;22:767-71.
26. Gaiba S, França LPd, França JPd, Ferreira LM. Characterization of human adipose-derived stem cells. *Acta Cirurgica Brasileira*. 2012;27:471-6.
27. Meruane M, Rojas M. Células troncales derivadas del tejido adiposo. *International Journal of Morphology*. 2010;28:879-89.
28. González Gallardo A, Varela Echavarría A, Shimada Miyasaka A, Mora Izaguirre O. Diferenciación in vitro de preadipocitos de tejido adiposo bovino. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 2012;46(2):195-204.
29. Macías-Abraham C, O del Valle-Pérez L, Galván Cabrera JA, de la Cuétara Bernal K, Socarrás Ferrer BB, Hernández Ramírez P, et al. Caracterización fenotípica de células madre mesenquimales humanas de médula ósea y tejido adiposo. Resultados preliminares. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2014;30:162-70.
30. Estrada R, Venegas P. Comparación de diferentes protocolos para el cultivo de células madre mesenquimales de origen adiposo. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*. 2007;28(1-2):21-8.
31. Clavijo MA, Gómez Camargo, Doris, Gómez Alegría, Claudio. Adipogénesis in vitro de células 3T3-L0000001. *Revista Med*. 2007;15:170-6.
32. Lizcano F, Vargas D. EID1-induces brown-like adipocyte traits in white 3T3-L1 preadipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;398(2):160-5.
33. Celis LG, Trujillo DV, Losada FL. Efecto de la modulación del receptor nuclear PPAR γ en la diferenciación de células de preadipocitos de fibroblastos. *NOVA-Publicidad Científica*. 2006;4(6):42-9.
34. Lizcano Losada F, Garay J, Acero E, Inés Maldonado M, Brochero J, Vargas D, et al. Aislamiento e identificación de células madre adultas a partir de la grasa infrapatelar de Hoffa. *Revista Científica Salud Uninorte*. 2010;25(2).
35. Pineda-Molina C, Londoño-Peláez C. Obtención de células madre del tejido adiposo y su potencial de diferenciación osteogénico. *Revista Ingeniería Biomédica*. 2009;3(5).
36. Neira R, Toledo L, Arroyave J, Solarte E, Isaiza C, Gutierrez O, et al. Low-level laser-assisted liposuction: the Neira 4 L technique. *Clin Plast Surg*. 2006;33(1):117-27.
37. Loffler G, Feick P, Hauner H, Herberg L. An adipogenic serum factor in genetically obese rodents. *FEBS letters*. 1983;153(1):179-82.
38. Papineau D, Gagnon A, Sorisky A. Apoptosis of human abdominal preadipocytes before and after differentiation into adipocytes in culture. *Metabolism: clinical and experimental*. 2003;52(8):987-92.
39. Maury E, Ehala-Aleksejev K, Guiot Y, Detry R, Vandenhooft A, Brichard SM. Adipokines oversecreted by omental adipose tissue in human obesity. *American Journal of*

- Physiology Endocrinology and Metabolism. 2007;293(3):E656-65. :
40. Zhang HH, Kumar S, Barnett AH, Eggo MC. Ceiling culture of mature human adipocytes: use in studies of adipocyte functions. J Endocrinol. 2000;164(2):119-28. :
41. Sánchez Naranjo J, López Zapata D. Intercambiador sodio-calcio y su regulación por insulina en adipocitos humanos cultivados de individuos obesos y no obesos. Chile: Biological Research; 2009. p. R-211. :
42. Sánchez Naranjo J, López Zapata D, Pinzón Duque O. Diferencias en la capacitancia y el potencial de membrana en adipocitos cultivados procedentes de individuos obesos y no obesos. Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas; 2010. p. 235. :

